

КОЛЕКЦІЯ ШТАМІВ *TESCHOVIRUS A*, *SAPELOVIRUS A*, *ENTEROVIRUS G* ІНСТИТУТУ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКОЇ МІКРОБІОЛОГІЇ ТА АГРОПРОМИСЛОВОГО ВИРОБНИЦТВА НААН

С. В. Дерев'янку

Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН
вул. Шевченка, 97; м. Чернігів, 14035, Україна; e-mail: biopreparat@i.ua

Мета. Упорядкування колекції штамів ентеровірусів свиней (ЕВС), виділених на території України, відповідно до вимог Міжнародного комітету з таксономії вірусів і доповнення її новими штамми *Teschovirus A (TV-A)*, *Sapelovirus A (SV-A)*, *Enterovirus G (EV-G)*. **Методи.** Вірусологічні, серологічні, молекулярно-генетичні, інструментальні та статистичні. Виділення, культивування вірусів та визначення їхньої біологічної активності проводили у перещеплюваній культурі клітин нирки ембріону свині (СНЕВ). Типу вірусу розраховували за методом Ріда і Менча. Типову належність вірусів визначали в реакції нейтралізації вірусу в культурі клітин СНЕВ. Видову належність — у полімеразній ланцюговій реакції зі зворотною транскрипцією (ЗТ ПЛР) за використання видоспецифічних праймерів до *TV-A*, *SV-A* та *EV-G*, розроблених нами. Електронну мікроскопію вірусів проводили на трансмісійному електронному мікроскопі методом негативного контрастування. Статистичну обробку проводили в програмах Microsoft Office Excel та StatSoft STATISTICA 12. **Результати.** У підсумку епізоотичного обстеження впродовж 2002–2019 років відібрано 1216 зразків матеріалів для вірусологічних досліджень. Із застосуванням послідовних пасажів у культурі клітин СНЕВ виділено 274 ізоляти вірусів. За результатами вивчення їхніх фізико-хімічних, морфологічних, біологічних властивостей їх зараховано до ЕВС. У зв'язку зі зміною таксономії та номенклатури ЕВС проведено серологічну та генетичну рекласифікацію 30 штамів вірусів, виділених на території України, серед яких 14 еталонних штамів за класифікацією Романенка В. П., 7 виробничих штамів, 9 штамів з поліантигенними властивостями та 4 штами, які не мали антигенної спорідненості з вірусами відомих серотипів ЕВС за класифікацією Романенка В. П. Встановлено, що еталонні штами ЕВС за тривіальною класифікацією Романенка В. П. належать до виду *TV-A* роду *Teschovirus*. У підсумку проведених серологічних досліджень ЕВС-10 М 2323, ЕВС-12 К 22, ЕВС-13 Л 90, ЕВС-14 М 116, ЕВС-16 Г 95, ЕВС-17 В 111, ЕВС-18 Ч 184, ЕВС-19 Д 227, ЕВС-20 И 249, ЕВС-23 И 393 зараховано до *TV-A1*; ЕВС-11 К 9, ЕВС-15 Ч 73 — до *TV-A3*; ЕВС-22 В 151 — до *TV-A6*. ЕВС-21 П 142 не має антигенної спорідненості з еталонними штамми *TV-A*, *SV-A* та *EV-G* і належить до нового серотипу. Виробничі штами ЕВС-1 Перечинський 642, Березнянський 652, Чернігівський 2372 рекласифіковано як *TV-A1*. Штами ЕВС з поліантигенними властивостями Г 31 та Л 2661 мають міжтипові антигенні з *TV-A 1, 10, 11-го* та *TV-A 3, 6, 10-го* серотипів відповідно. Штам ЕВС нового серотипу Ч 881 рекласифіковано як *SV-A*. Штами ЕВС Т 3, Ч 863, Ч 878 є новими серотипами *TV-A*. **Висновки.** У підсумку проведених досліджень з 1216 проб матеріалу виділено 274 ізоляти вірусів. Доповнено колекцію 20 еталонними штамми *Teschovirus A*, *Sapelovirus A* та *Enterovirus G*. Проведено генетичну та серологічну рекласифікацію 30 штамів ЕВС, виділених в Україні. Упорядковано колекцію штамів вірусів відповідно до

сучасної таксономії й номенклатури. Депоновано 7 штамів вірусів. Доповнено колекцію вірусів 4 штамами *Teschovirus A* нових серотипів.

Ключові слова: *Teschovirus A*, *Sapelovirus A*, *Enterovirus G*, колекція штамів вірусів, таксономія, номенклатура.

Вступ. Ентеровіруси свиней (ЕВС) є збудниками багатьох хвороб. Ензоотичний енцефаломієліт є однією з найнебезпечніших хвороб свиней і характеризується негнійним запаленням мозку, паралічами і парезами. Trefny L. [1] вперше у 1930 році спостерігав цю хворобу в містечку Тешені (Чехія), звідки й походить друга її назва — хвороба Тешена свиней, або Тешенська хвороба. Klobouk A. у 1933 році описав хворобу й зробив припущення, що її етіологічним агентом є вірус [2].

У 60-х роках ХХ століття встановлено основні морфологічні, біологічні, фізико-хімічні та антигенні властивості ЕВС, які лягли в основу їх міжнародної класифікації. У 1971 р. за результатами вивчення антигенних властивостей 72 європейських, американських та японських штамів ЕВС, Dunne H. et al. [3] встановили 8 серотипів (ЕВС 1–8). Класифікацію ЕВС було продовжено і в наступні роки: Knowles N. et al. [4] доповнили класифікацію Dunne H. et al. трьома (ЕВС 9–11), а Auerbach J. et al. — двома (ЕВС 12 і 13) новими серотипами [5; 6]. Крім того, Honda E. et al. [7] встановили 4 нові серотипи ЕВС.

Вивчення ЕВС в нашій державі розпочалося в 1961 р. в Інституті сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН (ІСМАВ) з ініціативи академіка М. В. Рево та доктора В. А. Рождественського [8]. Академік В. П. Романенко [9] на теренах України в 1971 р. вперше діагностував ензоотичний енцефаломієліт свиней в Закарпатській області. Згодом колективом лабораторії вірусології Інституту сільськогосподарської мікробіології НААН була розроблена система заходів боротьби з цією хворобою, що передбачала живу вакцину (1984 р.) проти хвороби Тешена свиней [10] на основі вітчизняного авірулентного штаму, яка і на сьогоднішній день використовується в господарствах України, набір діагностикумів (1982 р.) для реакції нейтралізації в культурі клітин та прямої імунофлюоресценції [11; 12] та імуноферментного аналізу [13], а також інструкцію з заходів боротьби з ензоотичним енцефаломієлітом (хворобою Те-

шена) свиней (1979) [14].

Розроблено і впроваджено у практику ветеринарної медицини набори діагностикумів ентеровірусної пневмонії, ентеровірусного гастроентериту та ентеровірусних пневмоентеритів свиней [15–18].

За цей час співробітниками Інституту ідентифіковано сотні штамів, які зараховано до відомих і нових серотипів [19; 20]. Для класифікації виділених вірусів у 1970 від професора Derbyshire H. W. (Велика Британія) було отримано еталонні на той час штами ЕВС. У підсумку проведеної серологічної класифікації Романенко В. П з співавт. [21] встановили 14 нових серотипів ЕВС, які поки що не увійшли до міжнародної класифікації.

Крім того, нами та іншими дослідниками виділено ентеровіруси свиней, які в реакції нейтралізації вірусу мають міжтипові антигенні властивості, що ускладнює встановлення їхнього таксономічного положення на рівні серотипу [22; 23]. Усі ці штами зберігалися в колекції вірусів ІСМАВ.

У міру накопичення даних щодо генетичної структури вірусів на 11 Міжнародному конгресі з вірусології, який відбувся у 1999 році у Сіднеї, було прийнято низку змін щодо таксономії й номенклатури пікорнавірусів [24]. За рішенням Міжнародного комітету з таксономії вірусів (ICTV — The International Committee on Taxonomy of Viruses) скасовано всі наявні види (до цього вид був еквівалентом серотипу). Введено новий критерій виду. За рішенням ICTV, вид — це група подібних за своїми властивостями серотипів чи штамів вірусів. Таксони формуються за такими критеріями: властивості віріону, організація і реплікація геному, антигенні та біологічні властивості.

Найбільш суттєвих змін зазнав рід *Enterovirus*, зокрема ентеровіруси свиней. На основі генетичних досліджень, проведених Zell, R. et al., [25], Kaku Y. et al. [26] та Doherty M. et al. [27], ICTV рекласифікував ентеровіруси свиней на 3 види, які розподілено на 2 роди. ЕВС 1–7, 11–13-го серотипів зараховано до виду *Porcine teschovirus (PTV)*,

який нараховував 11 серотипів і винесено в окремий рід *Teschovirus*. Назва роду походить від назви найнебезпечнішої хвороби свиней — хвороби Тешена, яку можуть зумовлювати представники цього роду. Ентеровіруси свиней 8-го серотипу рекласифіковані як *Porcine enterovirus A*, а 9, 10-го — *Porcine enterovirus B*, які було зараховано до роду *Enterovirus*.

Згодом PTV рекласифіковано як вид *Teschovirus A* (TV-A) і віднесено до роду *Teschovirus*, який на цей час нараховує 14 серотипів (табл. 1). *Porcine enterovirus A* рекласифіковано в окремий рід *Sapelovirus*, вид *Sapelovirus A* (SV-A), а *Porcine enterovirus B* — у вид *Enterovirus G* (EV-G) у межах роду *Enterovirus* і нараховує 20 серотипів [28; 29].

У 2020 році до роду *Teschovirus* включено новий вид *Teschovirus B* (TV-B), який на-

раховує 3 нових серотипи. У 2018 році були виділені віруси, які спочатку іменували *Teschovirus A*. Після вивчення геному вірусів, їх біологічних та фізикохімічних властивостей, ці віруси були віднесені до окремого виду *Teschovirus B* у межах роду *Teschovirus* [30–33].

Класифікація та номенклатура вірусів є одним із найбільш динамічних розділів вірусології й постійно зазнає змін. На сьогодні сукупність усіх вірусів не має таксономічного рангу та не входить до трьохдоменного дерева життя. Вірусам не надається статусу домена або імперії. Натомість вони входять до так званого неклітинного життя [34]. Сучасна класифікація універсальна для всіх вірусів. Вона розробляється ICTV та поряд з вірусами містить інші форми неклітинного життя: сателіти, віроїди та агенти губчастих

Таблиця 1. Колекційні штами ентеровірусів свиней, використані у роботі

Серотип	Штами
1	Konratice, Talfan, Ч 2372, Б 652, П 642
2	Т 80, F 59, И 47, К 419
3	F 34, Ж 53, В 617
4	F 78, И 57, К 423, В 173
5	F 12, Б 547, Р 190
6	F 7, В 620
7	F 43
8	V 13, И 54, Д 2600
10	М 2323, Г 676
11	К 9, Р 100
12	К 22, М 2603
13	Л 90, Н 602, И 52
14	М 116, М 2607, Ж 75
15	Ч 73, Ч 72
16	Г 95, В 161
17	Б 111, Р 221
18	Ч 184
19	Д 227
20	И 249
21	П 142
22	В 151
23	И 393
Штами нових серотипів	Г 241, Г 242, С 246, Ч 881, Ч 863, Ч 878
Штами з міжтипovими антигенними властивостями	И 57, И 59, К 422, Р 501, Ч 756, Г 676, Л 2661, Р 507, Р 218, Г 680, И 23, И 397, Т 745, Б 695, Т 794, И 23, 706, Л 2661

енфалопатій (пріони) людини та деяких видів тварин. За даними ICTV, віруси містять у собі 6 світів (англ. *realms*), 10 царств, 17 філ (англ. *phyla*), 2 підфіли (англ. *subphyla*), 39 класів, 59 порядків, 8 підпорядків, 189 родин, 136 підродин, 2224 роди, 70 підродів та 9110 видів вірусів [35].

Згідно з рішеннями ICTV родина *Picornaviridae* містить 68 родів: *Aalivirus*, *Ailurivirus*, *Ampivirus*, *Anatavirus*, *Aphthovirus*, *Aquavirus*, *Avihepatovirus*, *Avisivirus*, *Boosepivirus*, *Bopivirus*, *Caecilivirus*, *Cardiovirus*, *Cosavirus*, *Crahelivirus*, *Crohivirus*, *Danipivirus*, *Dicipivirus*, *Diresapivirus*, *Enterovirus*, *Erbovirus*, *Felipivirus*, *Fipivirus*, *Gallivirus*, *Gruheliavirus*, *Grusopivirus*, *Harkavirus*, *Hemipivirus*, *Hepatovirus*, *Hunnivirus*, *Kobuvirus*, *Kunsagivirus*, *Limnipivirus*, *Livupivirus*, *Ludopivirus*, *Malagasivirus*, *Marsupivirus*, *Megrivirus*, *Mischivirus*, *Mosavirus*, *Mupivirus*, *Myrropivirus*, *Orivirus*, *Oscivirus*, *Parabovirus*, *Parechovirus*, *Pasivirus*, *Passerivirus*, *Pemapivirus*, *Poecivirus*, *Potamipivirus*, *Pygoscepivirus*, *Rabovirus*, *Rafivirus*, *Rajidapivirus*, *Rohelivirus*, *Rosavirus*, *Sakobuvirus*, *Salivirus*, *Sapelovirus*, *Senecavirus*, *Shanbavirus*, *Sicinivirus*, *Symapivirus*, *Teschovirus*, *Torchivirus*, *Tottorivirus*, *Tremovirus*, *Tropivirus* та охоплює 158 видів вірусів [36].

Згідно з останніми даними ICTV, EBC розподілено на 3 роди (*Teschovirus*, *Sapelovirus*, *Enterovirus*), які містять 4 види: *Teschovirus A* (14 серотипів), *Teschovirus B* (3 серотипи), *Sapelovirus A* (1 серотип), *Enterovirus G* (20 серотипів) [32; 37–40].

У зв'язку зі змінами, внесеними ICTV, виникла необхідність у проведенні генетичної та серологічної рекласифікації EBC, які виділено в Україні, в упорядкуванні колекції штамів ІСМАВ відповідно до нової класифікації та номенклатури пікорнавірусів.

Враховуючи вищенаведене, метою наших досліджень було упорядкування колекції штамів вірусів свиней, виділених на території України, відповідно до вимог Міжнародного комітету з таксономії вірусів і доповнення її новими штамми *Teschovirus A*, *Sapelovirus A*, *Enterovirus G*.

Матеріали й методи досліджень. У дослідках використано штамми EBC 21 серотипу згідно з тривіальною класифікацією Романенка В. П. [21; 41] із яких 7 штамів (Konratice, Talfan, T 80, F59, F34, F78, F12, F7, V13, 1–6

та 8-го серотипів) класифіковано Dunne H. W. зі співавт. [3] і 14 штамів (M2323, K9, K22, L90, M116, Ч73, Г95, Б111, Ч184, Д227, И249, П142, В151, И393, відповідно 10–23-го серотипів) виділено та класифіковані Романенко В. П. зі співавт. [21, 41].

Для досліджень використали штами ентеровірусів свиней, виділені в Україні, Ч 2372, Б 652, П 642, И 59, К 422, Р 501, Ч 756, В-15, Ч 881, Ч 863, Ч 878, И 47, К 419, Ж 53, В 617, 57, К 423, В 173, Б 547, Р 190, В 620, И 54, Д 2600, Г 676, Р 100, М 2603, Н 602, И 52, М 2607, Ж 75, Ч 72, В 161, Р 221, Г 241, Г 242, С 246, Г 676, Л 2661, Р 507, Р 218, Г 680, И 23, И 397, Т 745, Б 695, Т 794, И 23, 706, Л 2661. Ці штами виділені від поросят співробітниками лабораторії вірусології ІСМАВ і зберігаються в колекції штамів EBC (табл. 1).

Дослідження вірусів проводили в перещеплюваній культурі клітин нирки ембріону свині (СНЕВ). Для вирощування культур клітин використовували живильні середовища 199 та Ігла (ТОВ НВП «Біо-тест-лабораторія» та НМЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» НААН, Україна), сироватку крові великої рогатої худоби (АТ «Конотопм'ясо», Україна) та ембріональну сироватку крові великої рогатої худоби (Sigma-Aldrich, USU).

Для визначення біологічної активності штамів вірусів готували 10-кратні розведення вірусу на фізіологічному розчині. Віруси інкубували за температури 37 °С. Облік результатів цитопатичної дії (ЦПД) проводили на 3–7-у добу. Титр вірусів вираховували за методом Reed L. J. і Muench H. [42].

Фізико-хімічні властивості (стійкість до ліпідорозчинників, різних рН середовищ, інгібіторів синтезу ДНК, терморезистентність) досліджували загальноживими методами [43–46].

Електронну мікроскопію проводили на трансмісійних електронних мікроскопах Tesla (Чехословаччина), EM-125 K (Україна), JEOL JEM-1400 (Японія) методом негативного контрастування.

Гіперімунні кролячі сироватки крові до штамів вірусів отримані за модифікованою нами схемою, за допомогою почергового введення антигену внутрішньошкірно без ад'юванту та підшкірно з ад'ювантом Montanide ISA 25 (SEPPIC, Франція) [47].

Типову належність вірусів визначали в реакції нейтралізації (РН) в культурі клітин за використання 100 ТЦД₅₀ вірусу та 10 нейтралізуючих доз гіперімунних кролячих сироваток крові до еталонних штамів TV-A, SV-A, EV-G та EBC [48].

Для видової ідентифікації вірусів у полімеразній ланцюговій реакції зі зворотною транскрипцією (ЗТ ПЛР) використовували розроблені нами праймери [49]. Підбір праймерів здійснювали за результатами аналізу геномів TV-A, EV-G та SV-A з використанням програми «Align X (Vector NTI Suite)» і баз даних GenBank, EMBL, DDBJ.

Праймери для ідентифікації TV-A мають таку послідовність:

Sense Primer: **TeschoF51 5'-CCAGCAG CCTCTGTTTCAGAAAG**

Antisense Primer: **TeschoR51 5'-GC(A/G) TACTTGATGAGGCCCATC**

Вони фланкують ділянку гену поліпротеїну TV-A 11-го серотипу штаму Dresden (AF296096, Gene Bank) довжиною 650 нуклеотидних залишків, починаючи з 5271 по 5920 нуклеотид.

Для ідентифікації SV-A було отримано праймери, які фланкують ділянку гену поліпротеїну («2A protein») SV-A штаму V13 (AF406813, Gene Bank) з 3141 по 3598 нуклеотиди, довжиною 458 нуклеотидних залишків:

Sense Primer: **Pev8F6 5'-TGCCAAACTA AGAACGCCACTG**

Antisense Primer: **Pev8R6 5'-TCACCTT CTGCCATCCACAATC**

Видоспецифічні праймери для геному EV-G мають таку послідовність:

Sense Primer: **Pev9F1 5'-GGATTGCGG TCAAGCACTTCTGTT**

Antisense Primer: **Pev9R1 5'-CGTGGTT AGGATTAGCCGCATTC**

Вони підібрані до ділянки гена поліпротеїну EV-G штаму UKG/410/73 (AF363453, Gene Bank) у межах 187–513 нуклеотидів, розмір ПЛР-фрагменту складає 327 нуклеотидних залишків.

Рибонуклеїнову кислоту (РНК) вірусів виділяли з досліджуваних зразків за допомогою набору «РНК-сорб-В» (Центральний науково-дослідний інститут епідеміології, РФ). З виділеної РНК отримували кДНК за допомогою реакції зворотної транскрипції. Полімеразну ланцюгову реакцію проводили на чотирьохканальному ампліфікаторі «Терцик» (НВФ «ДНК-Технологія», РФ). Реакційна суміш об'ємом 0,025 см³ вміщувала: 67 ммоль трис-НСІ (рН 8,8), 16,6 ммоль (NH₄)₂SO₄, 2,0 ммоль MgCl₂, 0,01 % твін-20, по 100 мкмоль дАТФ, дГТФ, дТТФ, дЦТФ, 2 нмоль (НВФ «ДНК Технологія») кожного з пари специфічних праймерів, 2 од. Таq-полімерази, 0,005 см³ зразків кДНК.

Ампліфікацію специфічних ділянок кДНК інфекційних агентів проводили за параметрами, представленими в табл. 2.

Детекцію продуктів реакції проводили методом електрофорезу у 1,5 % агарозному гелі, забарвленому бромідом етидію з використанням трис-боратного буфера (НВФ «ДНК-Технологія», РФ) за градієнту напруги 10 В/см. Результати оцінювали візуально переглядом гелю після електрофорезу на трансільюмінаторі під УФ світлом за наявності (або відсутності) червоно-помаранчевих фрагментів ДНК певного розміру. Специфічність ампліфікованого фрагмента ДНК визначали за його розміром щодо фрагментів стандартних маркерів.

Таблиця 2. Температурні та часові параметри ампліфікації специфічної ділянки кДНК

№ циклу	Температура ампліфікації, °С			Час, хв.	Кількість циклів
	TV-A	SV-A	EV-G		
1	95	95	95	5	1
2	94	94	94	1	5
	58	58	60	1	
	74	74	74	1	
3	94	94	94	0,5	35
	58	58	60	0,5	
	73	73	73	0,5	
4	72	72	72	5	1

Результати та їх обговорення. Для поповнення колекції ЕВС ІСМАВ у період з 2002 по 2019 роки проведено епізоотичне обстеження 5 свинарських господарств, 257 присадибних господарств 15 населених пунктів України. Для досліджень відібрано 1216 зразків матеріалів, взятих у клінічно здорових свиней та тих, у яких виявлено симптоми енцефаломієліту, гастроентериту, пневмонії та пневмоентериту; свиней, які одужали від згаданих хвороб; зразки м'яса та сала, які продавались на ринках, інструментів, які використовувались у роботі з тваринами, зразки корму, води та ґрунту з прилеглих територій; а також зразки від синантропних та диких тварин і птахів. Методом послідовних пасажів у культурі клітин СНЕВ виділено 274 ізоляти вірусів, що становить 22,5 % від загальної кількості зразків, і які було використано в подальших дослідженнях.

До 2005 року для встановлення серотипової належності в реакції нейтралізації в культурі клітин СНЕВ проводили типування виділених ізолятів вірусів з гіперімунними сироватками крові до 21 референтного штаму ЕВС за класифікацією Романенка В. П. зі співавт. [21]. Усі досліджувані ізоляти вірусів, виділені від свиней та синантропних тварин, мали антигенну спорідненість з ЕВС від 3 до 15-го серотипами, 5 із них мали антигенну спорідненість з ЕВС першого серотипу. Встановлено, що ізоляти вірусів мають біологічні, фізико-хімічні, морфологічні та

антигенні властивості, притаманні ЕВС.

Для проведення серологічної та генетичної рекласифікації ЕВС, виділених в Україні, відповідно до вимог ICTV у 2002–2003 роках нами проведено роботу з отримання еталонних штамів *Teschovirus A*, *Sapelovirus A*, *Enterovirus G*. У 2003 році від професора Мальте Даубера з Інституту вірусної діагностики ім. Ф. Леффлера Федерального центру вірусних хвороб тварин (Німеччина) нами було отримано 20 еталонних штамів (табл. 3): *Teschovirus A* 11 серотипів згідно з чинною міжнародною класифікацією [35] (Teschen 199, Talfan, Tirol, DS1520/93, T 80, O 3b, O 2b, PS 36, F 26, PS 37, F 43, UKG 173/74, DS 805/92, VIR 2899/84, VIR 460/88, Dresden), штами *Sapelovirus A* V 13 та Potsdam 5116, штами *Enterovirus G* UKG 410/73 та LP 54.

За рішенням Державного департаменту ветеринарної медицини місцем зберігання еталонних штамів було визначено колекції ЕВС ІСМАВ. Отже, було доповнено колекцію вірусів 20 еталонними штамми.

Для проведення серологічної рекласифікації ЕВС, виділених на території України, до еталонних штамів TV-A, SV-A, EV-G отримано гіперімунні сироватки крові кролів. Встановлено, що титри віруснейтралізуювальних антитіл у гіперімунних сироватках крові кролів, одержаних до еталонних штамів, коливаються в межах 1:128–1:512 (табл. 4).

Таблиця 3. Еталонні штами TV-A, SV-A та EV-G

Рід	Вид	Серотип	Еталонні штами вірусів
<i>Teschovirus</i>	<i>Teschovirus A</i>	1	Talfan, Teschen 199, Tirol, DS1520/93
		2	T 80, O 3b
		3	O 2b
		4	PS 36
		5	F 26
		6	PS 37
		7	F 43
		8	UKG 173/74, DS 805/92
		9	VIR 2899/84
		10	VIR 460/88
		11	Dresden
<i>Sapelovirus</i>	<i>Sapelovirus A</i>	1	V13, Potsdam 5116
<i>Enterovirus</i>	<i>Enterovirus G</i>	1	UKG 410/73
		2	LP 54

Таблиця 4. Титри віруснейтралізуючих антитіл в кролячих гіперімунних сироватках крові до еталонних штамів TV-A, SV-A та EV-G

Штам	Серотип тешо-, ентеровірусів	Титр вірусу lg ТЦД ₅₀ /см ³	Титр сироватки крові
Teschen 199	TV-A1	7,5	1:256
O 3b	TV-A2	6,5	1:512
O 2b	TV-A3	7,0	1:128
PS 36	TV-A4	6,5	1:256
F 26	TV-A5	6,5	1:512
PS 37	TV-A6	6,0	1:128
F 43	TV-A7	8,0	1:128
UKG 173/74	TV-A8	6,5	1:256
VIR 2899/84	TV-A9	6,0	1:512
VIR 460/88	TV-A10	8,0	1:512
Dresden	TV-A11	6,5	1:512
V 13	SV-A	7,5	1:256
UKG 410/79	EV-G1	7,0	1:256
LP 54	EV-G2	6,0	1:128

За використання отриманих гіперімунних сироваток крові до еталонних штамів TV-A, SV-A та EV-G у реакції нейтралізації вірусу проведено серологічну рекласифікацію референтних штамів ЕВС за тривіальною класифікацією Романенка В. П. та встановлено таксономічне положення інших штамів ЕВС, виділених в Україні. Паралельно, за використання розроблених нами видоспецифічних праймерів, в ЗТ ПЛР проведено генетичну класифікацію цих штамів. Результати досліджень представлено в таблиці 5.

У підсумку проведених молекулярно-генетичних досліджень встановлено, що всі референтні штами ЕВС за тривіальною класифікацією Романенка В. П. належать до виду TV-A роду *Teschovirus*. Щодо типової належності, то у підсумку проведених серологічних досліджень ЕВС-10 М 2323, ЕВС-12 К 22, ЕВС-13 Л 90, ЕВС-14 М 116, ЕВС-16 Г 95, ЕВС-17 В 111, ЕВС-18 Ч 184, ЕВС-19 Д 227, ЕВС-20 И 249, ЕВС-23 И 393 зараховано до TV-A1; ЕВС-11 К 9, ЕВС-15 Ч 73 — до TV-A3; ЕВС-22 В 151 — до TV-A6. ЕВС-21 П 142 не має антигенної спорідненості з еталонними штамми TV-A, SV-A та EV-G і належить до нового серотипу. Отже, референтні штами, за винятком штаму П 142, розподілилися в межах наявних серотипів згідно з міжнародною класифікацією

(табл. 5).

Виробничі штами ЕВС-1 Перечинський 642, Березнянський 652, Чернігівський 2372 рекласифіковано як *Teschovirus-A* першого серотипу (табл. 5).

Штами ЕВС з поліантигенними властивостями Р 501, И 59, Д 32, Д 33, Д 34 рекласифіковано як TV-A1. Штам ЕВС Ч 756 з поліантигенними властивостями згідно з серологічною класифікацією зараховано до *Teschovirus A* першого серотипу, проте за результатами генетичної рекласифікації цей штам не належить до жодного виду, тобто він є генетично відмінним від TV-A, SV-A та EV-G. Штами ЕВС з поліантигенними властивостями Г 31 та Л 2661 після генетичної рекласифікації зараховано до *Teschovirus A*, за результатами серологічних досліджень штам Г 31 має антигенну спорідненість з еталонними штамми TV-A 1, 10 та 11-го серотипів, а штам Л 2661 — з TV-A 3, 6 та 10-го серотипів, тобто вони мають міжтипіві антигенні властивості згідно з новою міжнародною класифікацією (табл. 5).

Штам ентеровірусів свиней Ч 881, який не мав антигенної спорідненості з референтними штамми ЕВС за класифікацією Романенка В. П., у серологічних дослідженнях було зараховано до SV-A, а у молекулярно-генетичних дослідженнях з праймерами до

Таблиця 5. Типова та видова належність ЕВС, виділених в Україні, відповідно до вимог ICTV

Штам вірусу	Типова належність за результатами РН	Видова належність за результатами ПЛР
ЕВС-1 П 642	TV-A1	TV-A
ЕВС-1 Б 652	TV-A1	TV-A
ЕВС-1 Ч 2372	TV-A1	TV-A
ЕВС-10 М 2323	TV-A1	TV-A
ЕВС-11 К9	TV-A3	TV-A
ЕВС-12 К 22	TV-A1	TV-A
ЕВС-13 Л 90	TV-A1	TV-A
ЕВС-14 М 116	TV-A1	TV-A
ЕВС-15 Ч 73	TV-A3	TV-A
ЕВС-16 Г 95	TV-A1	TV-A
ЕВС-17 В 111	TV-A1	TV-A
ЕВС-18 Ч 184	TV-A1	TV-A
ЕВС-19 Д 227	TV-A1	TV-A
ЕВС-20 И 249	TV-A1	TV-A
ЕВС-21 П 142	Новий серотип	TV-A
ЕВС-22 В 151	TV-A6	TV-A
ЕВС-23 И 393	TV-A1	TV-A
ЕВС ПА Р 501	TV-A1	TV-A
ЕВС ПА К 422	TV-A3	TV-A
ЕВС ПА Ч 756	TV-A1	Генетично відмінний
ЕВС ПА И 59	TV-A1	TV-A
ЕВС ПА Г 31	TV-A1, 10, 11	TV-A
ЕВС ПА Д 32	TV-A1	TV-A
ЕВС ПА Д 33	TV-A1	TV-A
ЕВС ПА Д 34	TV-A1	TV-A
ЕВС ПА Л 2661	TV-A3, 6, 10	TV-A
ЕВС НС Ч 881	SV-A	Генетично відмінний
ЕВС НС Ч 878	Новий серотип	TV-A
ЕВС НС Ч 863	Новий серотип	TV-A
ЕВС НС Т 3	Новий серотип	TV-A

Примітка: НС — новий серотип; ПА — поліантигенні штами (штами вірусів, які міжтипові антигенні зв'язки з еталонними штамами декількох серотипів).

TV-A, SV-A та EV-G — не зараховано до жодної з цих таксономічних груп, що потребує додаткових досліджень. Штами ЕВС Т 3, Ч 863, Ч 878, які не мали антигенної спорідненості з референтними штамами ЕВС за класифікацією Романенка В. П., у підсумку генетичних досліджень зараховано до TV-A;

у серологічних дослідженнях з сироватками крові до еталонних штамів TV-A, SV-A та EV-G — не належать до жодного серотипу цих таксономічних груп, тобто є новими серотипами TV-A (табл. 5).

Отже, відповідно до вимог ICTV проведено генетичну та серологічну класифікацію

14 референтних штамів ЕВС згідно з класифікацією Романенка В. П., підтверджено таксономічне положення 3 виробничих штамів ЕВС, визначено таксономічне положення 9 штамів ЕВС з поліантигенними властивостями та 4 штамів ЕВС нових серотипів, виділених в Україні, які зберігаються в колекції вірусів ІСМАВ. Упорядковано таксономію та номенклатуру колекційних штамів вірусів відповідно до вимог ІСТV.

У зв'язку зі зміною номенклатури та проведеною рекласифікацією ЕВС, виділених на території України, виникла необхідність у депонуванні виробничих штамів та прототипних штамів тешовірусів свиней нових серотипів.

Штами тешовірусів свиней Т 3, Ч 878, які антигенно відрізняються від тешовірусів відомих серотипів, депоновано в Державному науково-контрольному інституті біотехнології і штамів мікроорганізмів (ДНКІБШ).

За фізико-хімічними властивостями (стійкість до ліпідорозчинників, різних рН середовищ, інгібіторів синтезу ДНК, терморезистентність) та морфологічними властивостями досліджувані штами належать до тешовірусів свиней.

Встановлення типової належності вірусів проводили в реакції віруснейтралізації з кролячими робочими типоспецифічними сироватками до еталонних штамів TV-A, SV-A та EV-G.

У проведених дослідженнях підтверджено, що штами Т 3 та Ч 878 тешовірусів свиней за антигенними властивостями відрізняються від еталонних штамів TV-A, SV-A та EV-G свиней відомих серотипів.

У підсумку комісійних випробувань підтверджено паспортні характеристики цих штамів та одержано на них свідоцтва про депонування (реєстраційні номери, надані штаму тешовірусу Ч 878 — 487, Т 3 — 488) На штам Т 3 отримано патент України [50].

Проведено комісійну виробничу перевірку та підтверджено паспортні дані щодо біологічних та фізико-хімічних характеристик одного контрольного — Чернігівський 2372, одного вакцинного — Перечинський 642 та трьох діагностичних — Березнянський 652, Р 501, И 59 штамів. На штами в ДНКІБШ одержано свідоцтва про депонування з номерами 121, 122, 313, 314, 315 відповідно.

Крім того, для виробництва ветеринарних імунобіологічних препаратів за результатами вивчення біологічних, фізико-хімічних, морфологічних, молекулярно-генетичних, імуногенних та антигенних властивостей відібрано штами тешовірусів свиней 1-го серотипу Дніпровський 34 та штам Городнянський 31, який має антигенні зв'язки з еталонними штамами 1-го, 10-го, 11-го серотипів. У депозитарії ДНКІБШМ проведено їх депонування та одержано реєстраційні свідоцтва за номерами 486 і 489. На штам Дніпровський 34 отримано патент України на копію модель [51].

Отже, поповнено колекцію штамів вірусів ІСМАВ 20 еталонними штамами TV-A, SV-A та EV-G. Проведено генетичну та серологічну рекласифікацію 30 штамів ЕВС, виділених в Україні. За результатами проведеної роботи змінено таксономічне положення та номенклатуру 30 колекційних штамів. Геном штаму Ч 881, який рекласифіковано як SV-A, та штамів Т 3, Ч 863, Ч 878, які є новими серотипами TV-A, необхідно секвенувати та рекомендувати їх ІСТV як прототипні.

За даними Міжнародного епізоотичного бюро (МЕБ), помірні або безсимптомні інфекції, зумовлені *Teschovirus A* (TV-A), реєструються в усьому світі [52]. На противагу цьому, тешовірусний енцефаломієліт (хвороба Тешена) свиней на сьогодні є рідкісним захворюванням. За останні два десятиліття стало відомо про спалахи хвороби Тешена на Мадагаскарі і в Центральній та Східній Європі. За період 1971–2005 рр. хворобу Тешена було зареєстровано в усіх областях України [52]. Останні роки завдяки проведеним протиепізоотичним заходам спостерігається стійке благополуччя щодо цієї хвороби. Проте в деяких областях України і сьогодні проводять вакцинопрофілактику. Щодо поширення *Enterovirus G* (EV-G) та *Sapelovirus A* (SV-A) як у світі, так і в Україні даних існує недостатньо. Інформація щодо поширення *Teschovirus B* взагалі відсутня, оскільки дані про цей вид опубліковано на сайті ІСТV лише у 2020 році [30].

Пікорнавіруси різних родів відіграють значну етіологічну роль у захворюванні свиней, що призводить до великих економічних збитків у сільському господарстві різних

країн світу. Однією із найнебезпечніших хвороб є ензоотичний енцефаломієліт свиней [9]. Пневмонія, гастроентерит та пневмоентерит належать до найбільш поширених хвороб [31; 53; 54]. Повідомляється й про зумовлені пікорнавірусами порушення репродукційних функцій у свиней [55; 56]. Етіологічними агентами цих хвороб можуть бути TV-A, TV-B, SV-G та EV-A різних серотипів.

Співробітники ІСМАВ починаючи з 1961 року із різних біологічних матеріалів виділили десятки штамів (вакцинні, вірулентні, діагностичні, референтні, прототипні), які було ідентифіковано як ентеровіруси свиней, рекласифіковані згідно з вимогами ICTV і зберігаються в колекції штамів вірусів ІСМАВ, яка на сьогодні налічує 92 штамми. На основі штамів, які зберігаються в колекції, розроблено 2 вакцини та 10 діагностичних тест-систем та наборів. Прототипні та еталонні штами використовуються у різних наукових установах для контролю специфічності діагностичних тест-систем, напруженості імунітету вакцин, інших наукових дослідженнях.

Незважаючи на стійке епізоотичне благополуччя в Україні щодо хвороб свиней зумовлених тешовірусами, на нашу думку, необхідно відновити дослідження щодо циркуляції TV-A, SV-A та EV-G на території України.

У зв'язку з доповненням міжнародної класифікації 3 новими серотипами *Teschovirus B*, 18 новими серотипами *Enterovirus G* необхідно розпочати роботу з отримання еталонних штамів вірусів цих серотипів, розробку праймерів для видової ідентифікації *Teschovirus B*. Зважаючи на те, що TV-A здатні до репродукції в культурах клітин людини [57], ці віруси становлять потенційну небезпеку для людини. Зважаючи на масштаби збитків, заподіяних вірусом SARS-CoV-2, який мігрував від тварин до людини, необхідно проводити постійний моніторинг вірусних інфекцій серед тварин, зокрема і *Teschovirus A*, *Teschovirus B*, *Sapelovirus A* та *Enterovirus G*, що дозволить запобігти можливим соціальним та економічним наслідкам і сприятиме біобезпеці держави.

Висновки. У період із 2002 по 2019 рік у підсумку проведених досліджень з 1216 проб матеріалу виділено 274 ізолятів вірусів.

Доповнено колекцію 20 еталонними штамми *Teschovirus A*, *Sapelovirus A* та *Enterovirus G*. Проведено генетичну та серологічну рекласифікацію 30 штамів ЕВС, виділених в Україні. Упорядковано колекцію штамів вірусів відповідно до сучасної таксономії й номенклатури. Депоновано 7 штамів вірусів. Доповнено колекцію вірусів 4 штамми *Teschovirus A* нових серотипів.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Trefny L. Massenerkangungen von Schweinen in Teschener Lend. *Zverolek. Obzor*. 1930. № 23. С. 253–236.
2. Klobouk A. Encephalomyelitis enzootica sum. Immunisation activa. *Zverolek. Rozpravy*. 1935. № 9. С. 73–85.
3. Dunne H. W., Wang T. J., Ammermann E. H. Classification of North American porcine Enteroviruses: a comparison with European and Japanese strains. *Infect. Immunol.* 1971. Т. 4, № 5. С. 619–631. <https://doi.org/10.1128/iai.4.5.619-631.1971>
4. Knowless N. J., Buckley L. S., Pereira H. G. Classification of porcine enteroviruses by antigenic analysis and cytopathic effects in tissue culture: description of 3 new serotypes. *Arch. Virol.* 1979. Vol. 62. № 3. С. 201–208. <https://doi.org/10.1007/BF01317552>
5. Auerbach J. Serologische Klassifizierung porziner Enterovirus Feldisolate aus Schweinen mit zentralnervosen Storungen mittels Neutralisations-test und indirekter Immunfluoreszenz und Beschreibung von zwei neuen Serotypen (PEV12 und PEV13) / Giessen: Fachbereich Veterinar medizin, Justus-Liebig-Universitat (Germany), 1993.
6. Auerbach J., Prager D., Neuhaus S., Loss U., Witte K. H. Grouping of porcine enteroviruses by indirect immunofluorescence and description of two new serotypes. *Journal of Veterinary Medicine. Series B*. 1994. Vol. 41. № 4. P. 277–282. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.1994.tb00228.x>
7. Honda E., Kimata, A., Hattori I., Kumagai T., Tsuda T., Tokui T. A serological comparison of 4 Japanese isolates of porcine enteroviruses with the International Reference strains. *Japanese Journal of Veterinary Science*. 1990. Vol. 52. № 1. P. 49–54. <https://doi.org/10.1292/jvms1939.52.49>
8. Рождественский В. А. Эпизоотологическое значение энтеровирусом свиней. Научно-техническая конференция «Сельскохозяйственная наука — производству». Тез. Докл. Чернигов, 1967. С. 137–140.
9. Романенко В. П. Хвороба Тешена: монографія. К. : Урожай, 1974. 80 с.
10. Вакцина против болезни Тешена свиней: пат. 931 Украина. МПК А61К 39/125, В. П. Ро-

- маненко, О. Г. Прус; заявитель и патентообладатель: Украинский головной научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии. № 2838704/30-15, заявл. 15.11.79; опубл. 15.12.1993.
11. Романенко В. Ф., Прус О. Г., Полевик Е. И. Диагностики болезни Тешена свиней. *Ветеринария*. 1988. № 11. С. 65.
 12. Романенко В. Ф., Прус О. Г., Купневская Л. В. Иммунофлуоресцентный метод диагностики энзоотического энцефаломиелита свиней. *Ветеринария*. 1982. № 4. С. 69–70.
 13. Бова Т. О., Дерев'янку С. В., Сорока В. І. Прискорений метод діагностики ензоотичного енцефаломієліту (хвороби Тешена) свиней. *Мікробіологічний журнал*. 2005. Т. 67. № 9. С. 49–56.
 14. Романенко В. Ф. Инструкция о мероприятиях по борьбе с энзоотическим энцефаломиелитом (болезнью Тешена) свиней. *Ветеринария*. 1979. № 2. С. 35–37.
 15. Набор для диагностики энтеровирусного гастроэнтерита свиней: пат. 2006179 РФ. МКИ G 01 N 33/533, В. Ф. Романенко, Е. И. Полевик; заяв. Украинский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, заявл. 02.02.1991; опубл. 29.12.1994.
 16. Набір діагностикумів етеровірусного гастроентериту свиней: пат. 25055 Україна. МПК А61К 39/225, В. П. Романенко, О. І. Полевик; заяв. Інститут сільськогосподарської мікробіології УААН, № 93007062, заявл. 20.05.1993; опубл. 25.12.1998, Бюл. № 6.
 17. Набор для диагностики энтеровирусной пневмонии свиней: пат. 2006037 РФ. МКИ G 01 N 33/533, В. Ф. Романенко, И. Н. Пинчук, А. А. Бокун, Н. В. Бабич; заяв. Украинский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, № 5016275, заявл. 02.12.1991; опубл. 15.01.1994.
 18. Романенко В. П., Прус О. Г., Полевик О. І., Бабіч Н. В., Дерев'янку С. В. Компактний набір препаратів для діагностики ентеровірусних пневмоентеритів свиней. *Аграрна наука виробництва*. 1998. № 4. С. 20.
 19. Derevianko S., Golovko A. Properties of strains Teschovirus A of new serotypes isolated in Ukraine. V. Blikhar et al. (Eds.) *New stages of development of modern science in Ukraine and EU countries*. Riga, Latvia : Baltija Publishing, 2019. P. 187–204. <https://doi.org/10.30525/978-9934-588-15-0-76>
 20. Романенко В. Ф., Дерев'янку С. В. Антигенные свойства циркулирующих штаммов энтеровирус свиней. *Ветеринария*. 2002. № 5. С. 18–22.
 21. Романенко В. Ф., Полевик Е. И., Прус О. Г., Бабич Н. В., Бокун А. А., Пинчук И. Н. Таксономия энтеровирус свиней. *Ветеринария*. 1993. № 5. С. 26–29.
 22. Дерев'янку С. В., Полевик О. І., Сорока В. І. Рекомбінація і її значення в еволюції ентеровірусів свиней. Наукове обґрунтування сталого розвитку агроекологічних систем Чернігівщини в ринкових умовах і обмеженого ресурсного забезпечення: матеріали Науково-практичної конференції молодих вчених-аграріїв Чернігівщини (м. Чернігів, 5–6 квітня). Чернігів, 1999. С. 32–35.
 23. Дерев'янку С. В. Антигенна характеристика ізолятів ентеровірусів свиней, виділених в господарствах України. Вчимося господарювати: матеріали Науково-практичного семінару молодих вчених та спеціалістів (м. Чернігів, 22–23 листопада). Чернігів, 1999. С. 292–293.
 24. Pringle C. R. Virus taxonomy at the XIth international congress of virology, Sydney, Australia, 1999. *Archives of virology*. 1999. Т. 144. № 10. С. 2065–2070. <https://doi.org/10.1007/s007050050728>
 25. Zell R., Dauber M., Krumbholz A., Henke A., Birch-Hirschfeld E., Stelzner A., Prager D., Wurm R. Porcine Teschovirus comprise at least eleven distinct serotypes: molecular and evolutionary aspects. *J. Virol*. 2001. Т. 75. № 4. С. 1620–1631. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.4.1620-1631.2001>
 26. Kaku Y., Sarai A., Murakami Y. Genetic reclassification of porcine enteroviruses. *J. Gen. Virol*. 2001. Т. 82. № 2. P. 417–424. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-82-2-417>
 27. Doherty M., Todd D., McFerran N., Hoey E. M. Sequence analysis of a porcine enterovirus serotype 1 isolate: relationships with other picornaviruses. *J. Gen. Vir*. 1999. Т. 80. С. 1929–1941. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-80-8-1929>
 28. Adams M. J., Lefkowitz E. J., King A. M., Harrach B., Harrison R. L., Knowles N. J. et al. Changes to taxonomy and the International Code of Virus Classification and Nomenclature ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Arch Virol*. 2017. Т. 162. № 8. С. 2505–2538. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3358-5>
 29. Zell R., Delwart E., Gorbalenya A. E., Hovi T., King A. M. Q., Knowles N. J. et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: Picornaviridae. *J. Gen. Virol*. 2017. Т. 98. № 1. С. 2421–2422. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000911>
 30. Genus: Teschovirus – Picornaviridae – Positive-sense RNA Viruses – ICTV: веб-сайт ICTV. URL: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/picornavirales/w/picornaviridae/704/genus-teschovirus (дата звернення: 02.12.2021).
 31. Oba M., Naoi Y., Ito M., Masuda T.,

- Katayama, Y., Sakaguchi, S. et al. Metagenomic identification and sequence analysis of a *Teschovirus A* — related virus in porcine feces in Japan, 2014–2016. *Infection, Genetics and Evolution*. 2018. Т. 66. С. 210–216. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.10.004>
32. Yang T., Li R., Yao Q., Zhou X., Liao H., Ge M., Yu X. Prevalence of porcine teschovirus genotypes in Hunan, China: identification of novel viral species and genotypes. *Journal of General Virology*. 2018. Т. 99. № 9. С. 1261–1267. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001129>
33. Yang T., Lu Y., Zhang L., Li X., Chang Y. Novel species of *Teschovirus B* comprises at least three distinct evolutionary genotypes. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2020. Т. 67. № 2. С. 1015–1018. <https://doi.org/10.1111/tbed.13400>
34. Witzany G. Crucial steps to life: From chemical reactions to code using agents. *Biosystems*. 2016. Т. 140. С. 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.biosystems.2015.12.007>
35. ICTV: веб-сайт. URL: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (дата звернення: 02.12.2021).
36. Picornaviridae – Picornaviridae – Positive-sense RNA Viruses – ICTV: веб-сайт. URL: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/picornavirales/w/picornaviridae (дата звернення: 02.12.2021).
37. Oba M., Naoi Y., Ito M., Masuda T., Katayama Y., Sakaguchi S. et al. Metagenomic identification and sequence analysis of a *Teschovirus A* — related virus in porcine feces in Japan, 2014–2016. *Infection, Genetics and Evolution*. 2018. Т. 66. С. 210–216. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.10.004>
38. Tseng C. H., Tsai H. J. Sequence analysis of a duck picornavirus isolate indicates that it together with porcine enterovirus type 8 and simian picornavirus type 2 should be assigned to a new picornavirus genus. *Virus Res*. 2007. Т. 129. № 2. С. 104–114. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2007.06.023>
39. Boros Á., Nemes C., Pankovics P., Kapusinszky B., Delwart E., Reuter G. Porcine teschovirus in wild boars in Hungary. *Arch Virol*. 2012. Т. 157. № 8. С. 1573–1578. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1327-6>
40. Buitrago D., Cano-Gómez C., Agüero M., Fernandez-Pacheco P., Gómez-Tejedor C., Jiménez-Clavero M. Á. A survey of porcine picornaviruses and adenoviruses in fecal samples in Spain. *J Vet Diagn Invest*. 2010. Т. 22. № 5. С. 763–766. <https://doi.org/10.1177/104063871002200519>
41. Романенко В. Ф., Прусс О. Г., Бабич Н. В. Классификация энтеровирусів свиней. *Вісник аграрної науки*. 1993. № 1. С. 94–101.
42. Reed L. J., Muench H. A simple method of estimation of fifty per cent endpoints. *Am. J. Hyg.* 1938. Т. 27. № 3. P. 493–497. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a118408>
43. Bogel K., Maer A. Untersuchungen über die Chloroform-resistenz der Enteroviren des Rindes und des Schwienes. *Zbl. Vet. Med.* 1961. Т. 8, № 9. С. 908–922. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.1961.tb00665.x>
44. Mayr A., Bachmann P. A., Bibrack B., Wittmann G. Virologische Arbeitsmethoden. Jena : VEB Gustav Fischer Verlag, 1977. 321 p.
45. Rovozzo G. C., Burke C. N. A manual of basic virological techniques. Inc. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1973. 376 p.
46. Matheka H. D., Mayr A. Der stabilisierende und reaktivierende Einfluss von Trypsin auf das Virus der Teschener Krankheit (Schweinelahmung) und die Inaktivierung von Maul-und-Klauenseuche (MKS) Virus durch dieses Enzym. *Arch. ges. Virusforsch.* 1962. Т. 12. № 4. С. 463–471.
47. Спосіб одержання гіперімунної сироватки крові до вірусів тварин і рослин: пат. 58734 Україна. МПК G12N 33/53 (2006.01), Т. О. Бова, І. В. Волкова, С. В. Дерев'яно; заявл. 26.04.2011; опубл. 26.04.2011, Бюл. № 8.
48. Сорока В. І., Бокун А. О., Божок Л. В., Дерев'яно С. В., Бова Т. О. Рекомендації з діагностики, профілактики та ліквідації тешо-, ентеровірусних енцефаломієлітів свиней. Чернігів, 2006. 28 с.
49. Головка А. М., Дерев'яно С. В., Бова Т. О., Сорока В. І., Кацімон В. В. Конструювання видоспецифічних праймерів для молекулярно-генетичної ідентифікації тешовірусів та ентеровірусів А і В. *Сільськогосподарська мікробіологія: Міжвідомчий тематичний науковий збірник*. Чернігів : ЦНТЕІ. 2009. № 10. С. 156–165.
50. Штам *Porcine teschovirus* для удосконалення діагностики тешовірусних хвороб свиней: пат. 75115 Україна. МПК (2012.01) C12N 7/00, A61K 39/25 (2006.01), С. В. Дерев'яно, Т. О. Бова, В. І. Сорока, А. О. Бокун, Л. В. Божок, Н. В. Бабіч; заявл. 12.04.2012; опубл. 26.11.2012, Бюл. № 22.
51. Штам *Porcine teschovirus* для виробництва ветеринарних імунобіологічних препаратів: пат. 57372 Україна. МПК (2011.01) C12N 7/00, A61K 39/125, A61K 39/187 (2011.01), C12R 1/92 (2006.01), С. В. Дерев'яно, В. І. Сорока, А. А. Бокун, Л. В. Божок, Т. О. Бова; заявл. 26.07.2010; опубл. 25.02.2011, Бюл. № 4.
52. [OIE] Office International des Epizooties. Manual. Manual of Standards for Diagnostic Test and Vaccines. Paris, 2008. 598 p.
53. Романенко В. Ф., Полевик Е. И. Этиоло-

гия ентеровірусного гастроентерита свиней. *Ветеринария*. 1992. № 3. С. 29–30.

54. Романенко В. П., Пінчук І. М. Вірусологічні дослідження та критерії визначення етіології ентеровірусної пневмонії свиней. *Вісник аграрної науки*. 1993. № 4. С. 25–27.

55. Lin W., Cui S., Zell R. Phylogeny and evolution of porcine teschovirus 8 isolated from pigs in China with reproductive failure. *Archives of virology*. 2012. Т. 157. № 7. Р. 1387–1391. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1315-x>

56. Malik Y. S., Bhat S., Vlasova A. N.,

Wang F. I., Touil N., Ghosh S. et al. Teschovirus. In: *Emerging and Transboundary Animal Viruses. Livestock Diseases and Management* / Malik Y., Singh R., Yadav M. (eds). Singapore : Springer, 2020. 377 p. https://doi.org/10.1007/978-981-15-0402-0_6

57. Божок Л. В., Дерев'янка С. В., Сорока В. І., Гриценко Л. М., Задорожна В. І. Циркуляція ентеровірусів свиней та визначення їх антигенних зв'язків з ентеровірусами людини. *Мікробіологічний журнал*. 2003. Т. 65. № 4. С. 62–67.

Отримано 03.09.2021

<https://doi.org/10.35868/1997-3004.34.69-85>

UDC 578.835

COLLECTION OF THE STRAINS *TESCHOVIRUS A*, *SAPELOVIRUS A*, *ENTEROVIRUS G* OF THE INSTITUTE OF AGRICULTURAL MICROBIOLOGY AND AGROINDUSTRIAL MANUFACTURE OF THE NAAS

S. V. Derevianko

Institute of Agricultural Microbiology and Agroindustrial Manufacture, NAAS, Chernihiv
e-mail: biopreparat@i.ua

Objective. Arrangement of the collection of porcine enteroviruses (PEV) strains isolated on the territory of Ukraine in accordance with the requirements of the International Committee on Virus Taxonomy and supplementing it with new strains *Teschovirus A* (TV-A), *Sapelovirus A* (SV-A), *Enterovirus G* (EV-G). **Methods.** Virological, serological, molecular genetic, instrumental and statistical. Isolation, cultivation of viruses and determination of their biological activity were performed in passaged culture of porcine embryonic kidney cells (CHEB). The viral titre was calculated by the method of Reed and Muench. The typical affiliation of viruses was determined in the virus neutralization reaction in CHEB cell culture. Species affiliation was determined by reverse transcription polymerase chain reaction (RT PCR) using species-specific primers for TV-A, SV-A and EV-G, developed by us. Electron microscopy of viruses was performed on a transmission electron microscope by negative contrast enhancement method. Statistical processing was performed in Microsoft Office Excel and StatSoft STATISTICA 12. **Results.** As a result of the epizootic survey during 2002–2019, 1,216 samples for virological testing were selected. Successive passages of CHEB cell culture resulted in obtaining 274 viral isolates. According to the results of studying physicochemical, morphological, biological properties of these isolated, they are classified as PEV. In connection with the change of taxonomy and nomenclature of PEV, serological and genetic reclassification of 30 strains of viruses isolated in Ukraine, including 14 reference strains according to the classification of V. P. Romanenko, 7 production strains, 9 strains with polyantigenic properties and 4 strains that did not have antigenic affinity with viruses of known PEV serotypes according to the classification of V. P. Romanenko was performed. It has been established that the reference strains of PEV according to the trivial classification of V. P. Romanenko belong to the species TV-A of the genus *Teschovirus*. As a result of conducted serological testing, PEV-10 M 2323, PEV-12 K 22, PEV-13 L 90, PEV-14 M 116, PEV-16 G 95, PEV-17 V 111, PEV-18 Ch 184, PEV-19 D 227, PEV-20 I 249, PEV-23 I 393 were classified as TV-A1; PEV-11 K 9, PEV-15 Ch 73 — as TV-A3, PEV-22 V 151 —

as TV-A6. PEV-21 P 142 did not have antigen affinity with reference strains TV-A, SV-A and EV-G and belongs to a new serotype. Production strains of PEV-1 Perechynskiy 642, Berezhnianskyi 652, Chernihivskiy 2372 were reclassified as TV-A1. PEV strains with polyantigenic properties such as G 31 and L 2661 have intertypic antigens with TV-A 1, 10, 11 and TV-A 3, 6, 10 serotypes, respectively. PEV strain of a new serotype Ch 881 was reclassified as SV-A. PEV strains T 3, Ch 863, Ch 878 are the new serotypes of TV-A. **Conclusion.** As a result of studies, 274 viral isolates were isolated from 1,216 samples of material. The collection was supplemented with 20 reference strains of Teschovirus A, Sapelovirus A and Enterovirus G. Genetic and serological reclassification of 30 PEV strains isolated in Ukraine was performed. The collection of viral strains has been arranged in accordance with modern taxonomy and nomenclature. Seven viral strains were deposited. The collection of viruses has been supplemented with 4 strains of new serotypes of Teschovirus A.

Key words: *Teschovirus A, Sapelovirus A, Enterovirus G, collection of viral strains, taxonomy, nomenclature.*

REFERENCES

1. Trefny, L. (1930). Massenerkrankungen von Schweinen in Teschener Lend [Mass disease of pigs in Teschen region]. *Zverolek Obzor*, 23, 235–236 [in German].
2. Klobouk, A. (1935). Encephalomyelitis enzootica suum. Immunisation activa [Enzootic encephalomyelitis. Active immunization]. *Zverolek. Rozpravy*, 9, 73–85 [in Latin].
3. Dunne, H. W., Wang, J. T., & Ammerman, E. H. (1971). Classification of North American porcine enteroviruses: a comparison with European and Japanese strains. *Infection and immunity*, 4(5), 619–631. <https://doi.org/10.1128/iai.4.5.619-631.1971>
4. Knowles, N. J., Buckley, L. S., & Pereira, H. G. (1979). Classification of porcine enteroviruses by antigenic analysis and cytopathic effects in tissue culture: description of 3 new serotypes. *Archives of virology*, 62(3), 201–208. <https://doi.org/10.1007/BF01317552>
5. Auerbach, J. (1993). *Serologische Klassifizierung porziner Enterovirus-Feldisolate aus Schweinen mit zentralnervösen Störungen mittels Neutralisationstest und indirekter Immunfluoreszenz und Beschreibung von zwei neuen Serotypen (PEV12 und PEV13)* [Serological classification of porcine enterovirus field isolates from pigs with central nervous disorders using a neutralization test and indirect immunofluorescence and description of two new serotypes (PEV12 and PEV13)] (Doctoral dissertation, Justus Liebig-Universität Giessen) [in German]. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.1994.tb00228.x>
6. Auerbach, J., Prager, D., Neuhaus, S., Loss, U., & Witte, K. H. (1994). Grouping of porcine enteroviruses by indirect immunofluorescence and description of two new serotypes. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 41(1–10), 277–282. <https://doi.org/10.1292/jvms1939.52.49>
7. Honda, E., Kimata, A., Hattori, I., Kumagai, T., Tsuda, T. & Tadashi, T. (1990). A serological comparison of 4 Japanese isolates of porcine enteroviruses with the international reference strains. *The Japanese Journal of Veterinary Science*, 52(1), 49–54. <https://doi.org/10.1292/jvms1939.52.49>
8. Rozhdestvenskii, V. A. (1967). Epizootologicheskoe znachenie enterovirusov svinei [Epizootic role of porcine enteroviruses]. Proceedings of the Scientific and technical conference “Agricultural science — to the industry” (pp. 137–140), Chernihiv [in Ukrainian].
9. Romanenko, V. P. (1974). Khvoroba Teshe-na [Teschen disease]. Kyiv: Urozhai [in Ukrainian].
10. Pat. 931 UA, МПК: А61К 39/125. Vaccine against Teschen disease of pigs, Pruss, O. H., & Romanenko, V. P. Publ. 15.12.1993 [in Ukrainian].
11. Romanenko, V. F., Pruss, O. G., & Polevik, E. I. (1988). Diagnostiki bolezni Teshena svinei [Diagnostics of Teschen disease of pigs]. *Veterynaryia — Veterynary*, 11, 65 [in Russian].
12. Romanenko, V. F., Pruss, O. G., & Kupnevskaya, L. V. (1982). Immunofluorescentnyi metod diagnostiki enzooticheskogo entsefalomielita svinei [Immunofluorescent diagnostics of enzootic encephalomyelitis of pigs]. *Veterinariia — Veterinary*, 4, 69–70 [in Russian].
13. Bova, T. O., Derevianko, S. V., & Soroka, V. I. (2005). Prys-korenyi metod diahnostryky enzootychnoho entsefalomielitu (khvoroby Teshena) svinei [Fast method of enzootic encephalomyelitis diagnostics]. *Mikrobiolohichniy zhurnal — Microbiological journal*, 67(9), 49–56 [in Ukrainian].
14. Romanenko, V. F. (1979). Instruktsiia o meropriiatiiakh po borbe s enzooticheskim entsefalomielitom (bolezniu Teshena) svinei [Instruction on the measures for enzootic encephalomyelitis (Teschen disease) of pigs control]. *Veterinariia — Veterinary*, 2, 35–37 [in Russian].
15. Pat. 2006179 RF, МКІ G 01 N 33/533. A set of tools for enterovirus gastroenteritis of pigs diagnostics, Romanenko, V. F., & Polevik, E. I. Publ. 29.12.1994 [in Russian].
16. Pat. 25055 UA, МПК: А61К 39/225. A set of tools for enterovirus gastroenteritis of pigs diagnostics, Romanenko, V. P. Publ. 25.12.1998 [in Ukrainian].

17. Pat. 2006037 RF, МКИ G 01 N 33/533. A set of tools for enterovirus pneumonia of pigs diagnostics, Romanenko, V. F., Pinchuk, I. N., Bokun, A. A., & Babich, N. V. Publ. 15.01.1994 [in Russian].
18. Romanenko, V. P., Pruss, O. G., Polevik, E. I., Babich, N. V., & Derevianko, S. V. (1998). Kompaktnyi nabir preparativ dlia diahnostryky enterovirusnykh pnevmoenterytiv svynei [A compact set of tools for enterovirus pneumoenteritis of pigs diagnostics]. *Ahrarna nauka vyrobnytstvu — Agricultural science for industry*, 4, 20 [in Ukrainian].
19. Derevianko, S., & Golovko, A. (2019). Properties of strains Teschovirus A of new serotypes isolated in Ukraine. *Publishing House "Baltija Publishing"*. <https://doi.org/10.30525/978-9934-588-15-0-76>
20. Romanenko, V. F., & Derevianko, S. V. (2002). Antigennye svoistva tcirkuliruiushchikh shtammov enterovirusov svinei [Antigenic features of circulating porcine enteroviruses strains]. *Veterinariia — Veterinary*, 5, 18–22 [in Russian].
21. Romanenko, V. F., Polevik, E. I., Pruss, O. G., Babich, N. V., Bokun, A. A., & Pinchuk, I. N. (1993). Taksonomiia enterovirusov svinei [Taxonomy of porcine enteroviruses]. *Veterinariia — Veterinary*, 5, 26–29.
22. Derevianko, S. V., Polevik, O. I., & Soroka, V. I. (1999, April 5–6). Rekombinatsiia i yii znachennia v evoliutsii enterovirusiv svynei [Recombination and its role in porcine enteroviruses evolution]. Proceedings of the scientific and practical conference of junior scientists-agronomists of Chernihiv region Scientific substantiation of sustainable development of agroecological systems of Chernihiv region in market conditions and limited resource provision (pp. 32–35), Chernihiv [in Ukrainian].
23. Derevianko, S. V. (1999, November 22–23). Antyhenna kharakterystyka izoliativ enterovirusiv svynei, vydilyenykh v hospodarstvakh Ukrainy [Antigenic characteristics of porcine enteroviruses isolates, isolated in Ukrainian farms]. Proceedings of scientific and practical seminar of junior scientists and specialists We learn to manage (pp. 292–293), Chernihiv [in Ukrainian].
24. Pringle, C. R. (1999). Virus taxonomy at the XIth international congress of virology, Sydney, Australia, 1999. *Archives of virology*, 144(10), 2065–2070. <https://doi.org/10.1007/s007050050728>
25. Zell, R., Dauber, M., Krumbholz, A., Henke, A., Birch-Hirschfeld, E., Stelzner, A. et al. (2001). Porcine teschoviruses comprise at least eleven distinct serotypes: molecular and evolutionary aspects. *Journal of Virology*, 75(4), 1620–1631. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.4.1620-1631.2001>
26. Kaku, Y., Sarai, A., & Murakami, Y. (2001). Genetic reclassification of porcine enteroviruses. *Journal of General Virology*, 82(2), 417–424. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-82-2-417>
27. Doherty, M., Todd, D., McFerran, N., & Hoey, E. M. (1999). Sequence analysis of a porcine enterovirus serotype 1 isolate: relationships with other picornaviruses. *Journal of General Virology*, 80(8), 1929–1941. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-80-8-1929>
28. Adams, M. J., Lefkowitz, E. J., King, A. M., Harrach, B., Harrison, R. L., Knowles, N. J., ... & Davison, A. J. (2017). Changes to taxonomy and the International Code of Virus Classification and Nomenclature ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses *Archives of virology*, 162(8), 2505–2538. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3358-5>
29. Zell, R., Delwart, E., Gorbalenya, A. E., Hovi, T., King, A. M. Q., Knowles, N. J., ... & Consortium, I. R. (2017). ICTV virus taxonomy profile: Picornaviridae. *The Journal of general virology*, 98(10), 2421. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000911>
30. International Committee on Taxonomy of Viruses. (2021). *Genus: Teschovirus – Picornaviridae – Positive-sense RNA Viruses – ICTV*. https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/picornavirales/w/picornaviridae/704/genus-teschovirus
31. Oba, M., Naoi, Y., Ito, M., Masuda, T., Katayama, Y., Sakaguchi, S., ... & Nagai, M. (2018). Metagenomic identification and sequence analysis of a Teschovirus A-related virus in porcine feces in Japan, 2014–2016. *Infection, Genetics and Evolution*, 66, 210–216. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.10.004>
32. Yang, T., Li, R., Yao, Q., Zhou, X., Liao, H., Ge, M., & Yu, X. (2018). Prevalence of porcine teschovirus genotypes in Hunan, China: identification of novel viral species and genotypes. *Journal of General Virology*, 99(9), 1261–1267. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001129>
33. Yang, T., Lu, Y., Zhang, L., Li, X., & Chang, Y. (2020). Novel species of teschovirus B comprises at least three distinct evolutionary genotypes. *Transboundary and emerging diseases*, 67(2), 1015–1018. <https://doi.org/10.1111/tbed.13400>
34. Witzany, G. (2016). Crucial steps to life: From chemical reactions to code using agents. *Biosystems*, 140, 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.biosystems.2015.12.007>
35. International Committee on Taxonomy of Viruses. (2021). *ICTV*. <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>
36. International Committee on Taxonomy of Viruses. (2021). *Picornaviridae – Picornaviridae – Positive-sense RNA Viruses – ICTV*. https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/w/picornaviridae

37. Oba, M., Naoi, Y., Ito, M., Masuda, T., Katayama, Y., Sakaguchi, S., ... & Nagai, M. (2018). Metagenomic identification and sequence analysis of a Teschovirus A-related virus in porcine feces in Japan, 2014–2016. *Infection, Genetics and Evolution*, 66, 210–216. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.10.004>
38. Tseng, C. H., & Tsai, H. J. (2007). Sequence analysis of a duck picornavirus isolate indicates that it together with porcine enterovirus type 8 and simian picornavirus type 2 should be assigned to a new picornavirus genus. *Virus research*, 129(2), 104–114. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2007.06.023>
39. Boros, Á., Nemes, C., Pankovics, P., Kapusinszky, B., Delwart, E., & Reuter, G. (2012). Porcine teschovirus in wild boars in Hungary. *Archives of virology*, 157(8), 1573–1578. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1327-6>
40. Buitrago, D., Cano-Gómez, C., Agüero, M., Fernandez-Pacheco, P., Gómez-Tejedor, C., & Jiménez-Clavero, M. Á. (2010). A survey of porcine picornaviruses and adenoviruses in fecal samples in Spain. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 22(5), 763–766. <https://doi.org/10.1177%2F104063871002200519>
41. Romanenko, V. F., Pruss, O. G., & Babich, N. V. (1993). Klassifikatsiia enterovirusov svinei [Porcine enteroviruses classification]. *Visnyk ahrarnoi nauky — Bulletin of Agricultural Science*, 1, 94–101 [in Ukrainian].
42. Reed, L. J., & Muench, H. (1938). A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *American journal of epidemiology*, 27(3), 493–497. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a118408>
43. Bögel, K., & Mayr, A. (1961). Untersuchungen über die Chloroformresistenz der Enteroviren des Rindes und des Schweines [Investigations of the cattle and pigs enteroviruses' resistance to the chloroform]. *Zentralblatt für Veterinärmedizin*, 8(9), 908–922 [in German]. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.1961.tb00665.x>
44. Mayr, A., Bachmann, P. A., Bibrack, B., & Wittmann, G. (1997). Virologische Arbeitsmethoden. II. Serologie [Virological techniques. Volume II. Serology]. In: Fischer [in German].
45. Rovozzo, G. C., & Burke, C. N. (1973). *A manual of basic virological techniques*.
46. Matheka, H. D., & Mayr, A. (1962). Der stabilisierende und reaktivierende Einfluss von Trypsin auf das Virus der Teschener Krankheit (Schweinelähmung) und die Inaktivierung von Maul- und Klauenseuche (MKS) Virus durch dieses Enzym [The stabilizing and reactivating influence of trypsin on the Teschen disease virus (pig paralysis) and the inactivation of foot-and-mouth disease (FMD) virus by this enzyme]. *Arch. ges. Virusforsch*, 12(4), 463–471 [in German].
47. Pat. 58734 UA, МПК G12N 33/53 (2006.01). Method for production of hyper-immune blood serum to animal and plant viruses, Bova, T. O., Volkova, I. V., Derevianko, S. V. Publ. 26.04.2011 [in Ukrainian].
48. Soroka, V. I., Bokun, A. O., Bozhok, L. V., Derevianko, S. V., & Bova, T. O. (2006). *Rekomendatsii z diahnozyky, profilaktyky ta likvidatsii tesho-, enterovirusnykh entsefalomyelitiv svynei* [Recommendations for the diagnostics, prevention and elimination of tesho-, enterovirus encephalomyelitis of pigs]. Chernihiv [in Ukrainian].
49. Holovko, A. M., Derevianko, S. V., Bova, T. O., Soroka, V. I., & Katsymon, V. V. (2009). Konstruiuvannia vydospetsyfychnykh praimeriv dlia molekuliarno-henetychnoi identyfikatsii teshovirusiv ta enterovirusiv svynei A i B [Construction of species-specific primers for molecular-genetic identification of porcine teschoviruses and enteroviruses A and B]. *Silskohospodarska mikrobiologhiia — Agricultural microbiology*, 10, 156–165 [in Ukrainian].
50. Pat. 75115 UA, МПК (2012.01) C12N 7/00, A61K 39/25 (2006.01). Strain of porcine teschovirus for diagnostics improvement of porcine teschovirus diseases, Derevianko, S. V., Bova, T. O., Soroka, V. I., Bokun, A. O., Bozhok, L. V., Babich, N. V. Publ. 26.11.2012 [in Ukrainian].
51. Pat. 57372 UA, МПК (2011.01) C12N 7/00, A61K 39/125, A61K 39/187 (2011.01), C12R 1/92 (2006.01). Strain of porcine teschovirus for production of veterinary immunobiological preparations, Derevianko, S. V., Soroka, V. I., Bokun, A. A., Bozhok, L. V., & Bova, T. O., Publ. 25.02.2011 [in Ukrainian].
52. [OIE] Office International des Epizooties. (2008). Manual of standards for diagnostic test and vaccines.
53. Romanenko, V. F., & Polevik, E. I. (1992). Etiologiia enterovirusnogo gastroenterita svinei [Etiology of enterovirus gastroenteritis of pigs]. *Veterinariia — Veterinary*, 3, 29–30 [in Ukrainian].
54. Romanenko, V. P., & Pinchuk, I. M. (1993). Virusolohichni doslidzhennia ta kryterii vyznachennia etiologii enterovirusnoi pnevmonii svynei [Virological studies and criteria for determining the etiology of swine enterovirus pneumonia]. *Visnyk ahrarnoi nauky — Bulletin of Agricultural Science*, 4, 25–27 [in Ukrainian].
55. Lin, W., Cui, S., & Zell, R. (2012). Phylogeny and evolution of porcine teschovirus 8 isolated from pigs in China with reproductive failure. *Archives of virology*, 157(7), 1387–1391. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1315-x>
56. Malik, Y. S., Bhat, S., Vlasova, A. N., Wang, F. I., Touil, N., Ghosh, S., ... & Singh, R. K. (2020). Teschovirus. *Emerging and Transboundary Animal Viruses*, 123 [in Ukrainian]. https://doi.org/10.1007/978-981-15-0402-0_6

57. Bozhok, L. V., Derevianko, S. V., Soroka, V. I., Hrytsenko, L. M., & Zadorozhna, V. I. (2003). Tsyrculiatsiia enterovirusiv svynei ta vyznachennia yikh antyhennykh zviazkiv z enterovirusamy liudyny [Circulation of porcine enteroviruses

and determination of their antigenic relation to human enteroviruses]. *Mikrobiolohichnyi zhurnal — Microbiological journal*, 65(4), 62–67 [in Ukrainian].

Received 03.09.2021