

## ВИВЧЕННЯ РОЗПОВСЮДЖЕННЯ ТА БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ПОЛЬОВИХ ІЗОЛЯТІВ ЗБУДНИКІВ ІМУНОДЕФІЦИТУ І СПУМАВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

*Горбатенко С. К., Рудова Н. Г., Корнєйкова О. Б., Стегній М. Ю.,  
Коваленко Л. В., Кузнецова О. В., Мягких Н. В.*

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної  
ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: st.gorbatenko@gmail.com*

*На підставі аналізу даних МЕБ та світової наукової літератури вивчено розповсюдження спумавірусної інфекції та імунодефіциту великої рогатої худоби у тваринництві світу, а на підставі власних досліджень у тваринництві України. Вивчена адаптаційна здатність польових ізолятів збудників мінорних інфекцій до гомологічних, для великої рогатої худоби, культур клітин, генетична особливість збудників, ізольованих в різних регіонах України, вплив польових ізолятів збудника при їх інокуляції в організм на моделі лабораторних тварин на гематологічному, молекулярно-генетичному та біохімічному рівні*

**Ключові слова:** *мінорні інфекції, культура клітин, гематологічні та біохімічні дослідження*

Прибутковості тваринництва країн з розвинутою галуззю скотарства чинять перепону ряд хронічних вірусних інфекційних захворювань, збудники яких, обумовлюючи імуносупресивну дію, знижують ефективність засобів специфічної профілактики, рівень продуктивності та якості тваринницької продукції, загальної резистентності поголів'я. До них відноситься лейкоз, імунодефіцит, спумавірусна інфекція. Збудники вищезазначених захворювань є генетично та антигенно спорідненими ретровірусами, що, вражаючи велику рогату худобу, обумовлюють повільний перебіг хвороби [1–2].

Вищенаведені повільні, або мінорні, інфекції становлять загрозу здоров'ю поголів'я тварин та якості тваринницької продукції як при їх перебігу у формі моноінфекцій, так і при асоційованому прояві, причому, останній варіант є більш небезпечним. Окрім того, вказані ретровіруси несуть потенційно небезпечну медико-соціальну загрозу, оскільки є структурно близькими до збудників СНІД та Т-клітинного лейкозу людини [3–4].

Вірус імунодефіциту великої рогатої худоби (BIV) є лентівірусом, його персистенція в організмі інфікованих тварин викликає збільшення лімфатичних вузлів, лімфоцитоз, ураження центральної нервової системи, прогресуючу слабкість і виснаження тварин. Крім того, є свідчення, що BIV може призвести до імуносупресії, що спонукає прояв вторинних бактеріальних інфекцій та розвиток енцефаліту. Відомо, що BIV-інфекція може обумовлювати екзальтацію інфекційного процесу, викликаного вірусом лейкозу великої рогатої худоби (BLV).

Стосовно спумавірусної інфекції ВРХ, збудник якої передається при тісному контакті тварин або перинатальним шляхом, а саме при випоюванні молозива або молока, встановлено, що пінистий вірус великої рогатої худоби (BFV) виявляється в лейкоцитах периферійної крові, клітинах молока та слині худоби. Є підстави вважати негативним вплив продуктів метаболізму збудника за умов вживання тваринницької продукції від інфікованого поголів'я. [4–7].

При вивченні рівня розповсюдження мінорних інфекцій великої рогатої худоби у тваринництві України та біологічних властивостей польових ізолятів збудників, а саме BIV та BFV, передбачалось ряд етапів наукового пошуку — вивчення епізоотичної ситуації з повільних інфекцій великої рогатої худоби в тваринництві світу та України, генетичних особливостей збудників повільних інфекцій, що циркулюють на території України, адаптаційної здатності польових ізолятів збудників повільних інфекцій до культур клітин, гомологічних ВРХ. Окремим завданням передбачалось дослідити на клітинно-гуморальному та біохімічному рівні вплив збудників повільних інфекцій на організм тварин та визначити тенденцію розвитку епізоотичної ситуації з повільних інфекцій ВРХ у тваринництві України і напрями їх контролю.

**Мета досліджень.** Встановити епізоотичну ситуацію у тваринництві України стосовно спумавірусної інфекції та імунodefіциту великої рогатої худоби, вивчити біологічні властивості польових ізолятів збудників вищезазначених мінорних захворювань.

**Матеріал і методи.** З метою визначення розповсюдження збудників імунodefіциту та пінистого вірусу великої рогатої худоби в господарствах країн світу проведено аналіз баз даних Міжнародного епізоотичного бюро (МЕБ), національних баз даних з безпеки та якості тваринницької продукції країн Північної Америки, Європи, Азії. При вивченні поширення збудників мінорних інфекцій в тваринницьких господарствах різних областей України вибірково відбирали 10-15 проб стабілізованої крові від корів 12 господарств областей центрального і східного регіонів України.

Молекулярно-генетичні дослідження з індикації генетичного матеріалу збудників BIV, BFV та BLV проведени в умовах лабораторії молекулярної діагностики ННЦ «ІЕКВМ» за допомогою полімеразразної ланцюгової реакції у реальному часі згідно з рекомендаціями розробників відповідних праймерів (Materniak M. et al., 2016). Для детекції провірусної ДНК BFV використано системи праймерів Int1-Int2 (зовнішня пара, довжина ампліфікованого продукту становить 430 пар нуклеотидів (п.н.)) та Int3-Int4 (внутрішня пара, довжина ампліфікованого продукту 221 п.н.) шляхом «гніздового» варіанту ПЛР згідно з рекомендаціями розробників (Materniak M. et al., 2016).

З метою детекції провірусної ДНК BIV використано пару праймерів RT\_+(-), яка фланкує консервативний домен зворотної транскриптази (довжина ПЛР-продукту становить 495 п.н.), та пара праймерів BIV\_Pol\_+(-), яка фланкує ген *pol* вірусу імунodefіциту ВРХ (довжина ПЛР-продукту становить 235 п.н.). Ампліфікацію проведено шляхом стандартного варіанту ПЛР згідно з рекомендаціями розробників (Moody C.A. et al., 2002).

Для виявлення провірусної ДНК вірусу лейкозу ВРХ використана пара праймерів BLV-*env*\_3-4 згідно з рекомендаціями МЕБ (Fechner et al., 1996), яка фланкує фрагмент гена *env* BLV довжиною 444 п.н. Зворотну транскрипцію та отримання кДНК проведено з використанням ревертази MMLV згідно з рекомендаціями виробника. Ампліфікацію проведено на ампліфікаторі Biometra (США). Візуалізацію результатів ПЛР-аналізу проведено шляхом горизонтального гелелектрофорезу у (1,5-2) %-ому агарозному гелі.

Множинне вирівнювання обраних послідовностей гена *env* ВЛ ВРХ проводили за допомогою програми Bioedit, v. 7.0.0, модулю ClustalW програми Mega 4. Для проведення філогенетичного аналізу використовували програму Mega 4, v. 4.0.2 [8]. Для побудови традиційних дендрограм використовували дистанційно-матричний метод — метод зв'язування найближчих сусідів (Neighbour joining).

Для вивчення адаптаційної здібності польових ізолятів мінорних інфекцій до гомологічних культур клітин кожну пробу стабілізованої крові розводили до співвідношення 1:1 забуференим фізіологічним розчином з додаванням пеніциліну 100 ОД/см<sup>3</sup>, рН 7,2, потім нашаровували по 8 см<sup>3</sup> на розчин триомбасту з щільністю 1,075, який попередньо розливали у центрифужні пробірки по 2 см<sup>3</sup>. Після центрифугування в режимі 1000 об./хв. протягом 40 хвилин відбирали шар лімфоцитів в окрему пробірку, після чого відмивали 1 раз забуференим фізіологічним розчином з додаванням пеніциліну в режимі 1000 об./хв., 10 хвилин та 1 раз середовищем Ігла у вищезазначеному режимі. Об'єм суспензії лімфоцитів доводили до 10 см<sup>3</sup> середовищем Ігла для підрахунку кількості живих клітин за допомогою 0,1 % розчину трипанового синього.

Отримана суспензія лімфоцитів пройшла перевірку на стерильність з використанням бактеріологічних середовищ МПА, МПБ, ТЮ. Для стимулювання продукції вірусу проводили короткострокове культивування лімфоцитів, концентрація живих лімфоцитів складала 3-3.5 x 10<sup>6</sup> одиниць/см<sup>3</sup> на середовищі, до складу якого входить 90 % середовища Ігла, 10 % нативної сироватки ВРХ і 100 ОД/см<sup>3</sup> пеніциліну.

Для зараження використано дві перещеплювані культури клітин — легені ембріона корови (ЛЕК) та коронарні судини теляти (КСТ). Вищезазначені культури клітин були отримані з банку культур, що зберігається на базі лабораторії біотехнології ННЦ «ІЕКВМ», на рівні 2 пасажу. Проведена адаптація культур впродовж 4-5 пасажів, після чого культури клітин на рівні 24-48 годин росту з 50-75 % виповнення моношару були піддані інфікуванню досліджуваними ретровірусами шляхом заміни ростового середовища на суміш ростового з суспензією короткостроково культивованих лімфоцитів у співвідношенні 1:1. Пересів культур проводився по

мірі виконання моношару, в середньому кожні 4-5 діб. В якості контролю виступали ємності з неінфікованими культурами клітин ЛЕК та КСТ.

Кожен пасаж контролювався щодня візуально та з використанням світлової мікроскопії. На рівні третього і кожного п'ятого пасажів проби піддавали дослідженню молекулярно-генетичним методом (ПЛР) для виявлення генетичного матеріалу збудників.

При визначенні впливу збудника мінорних інфекцій на організм лабораторних тварин (на моделі кролів) вивчали зміни у чисельності лейкоцитарної фракції дослідних тварин, чисельність та співвідношення клітинних елементів лейкоцитарної фракції у мазках, підданих фарбуванню за Романовським-Гімза, а саме плазмоцитів, лімфоцитів, сегментоядерних гранулоцитів - еозинофілів, базофілів, нейтрофілів, атипових та молодих форм вищезазначених клітин. У динаміці вивчали рівень гемоглобіну гематинним методом по Салі та швидкості осадження еритроцитів (ШОЕ).

Біохімічні дослідження сироватки крові проводили з визначенням стартових показників стосовно рівня загального білку спектрофотометрично, білкового профілю (альбуміни, глобуліни) — за допомогою стандартних наборів реактивів виробництва фірми «Реагент» (Україна). Визначали концентрацію неспецифічних циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) середньої молекулярної маси — за методом Гриневича та Алферова, серомукоїдів — за методом Веймера та Мошина.

**Результати досліджень.** За матеріалами МЕБ та повідомлень світової наукової літератури інфіковані вірусом бичачого імунodefіциту тварини реєструються у багатьох країнах світу, водночас, нерідко реєструється асоційована інфікованість за участю як збудника інфекційного імунodefіциту, так і лейкозу великої рогатої худоби. Варто зауважити, що при серологічному дослідженні великої рогатої худоби в різних країнах на імунodefіцит за матеріалами окремих наукових публікацій виявлена значна розповсюдженість захворювання у тваринництві світу. Так, в США серопозитивність спостерігали на рівні 4 %, в Нідерландах — 1,4 %, в Канаді — 5,5 %, в Германії — 6,6 %, у Франції — 4 %. Імунodefіцит за наслідками лабораторних досліджень встановлено у Великобританії, Швеції, Коста-Ріці, Венесуелі, Новій Зеландії та Австралії. Наявність серопозитивної худоби по відношенні до здорової становила, у більшості випадків, 1-7 %. Однак в окремих стадах з хронічним перебігом захворювання (стаціонарність епізоотії) рівень інфікованості сягав до 50 %. Із 64 % серопозитивних до ВБІ-збудника тварин з лімфосаркомою, лімфаденопатією та іншими порушеннями 74 % були інфіковані саме збудником імунodefіциту. За матеріалами окремих авторів, інфекційний імунodefіцит ВРХ реєструється в Японії, Франції, Канаді, Ірані, Аргентині, Германії, Нідерландах, Італії, Бразилії, Туреччині, Камбоджі, Пакистані, Австралії, водночас, рівень інфікованості від 1 до 50 % та більше. Матеріали, що висвітлені у літературі, свідчать, що від 30 до 45 % ВРХ серопозитивні до збудника спумавірусної інфекції, а викликана ним інфекція розповсюджена в усьому світі.

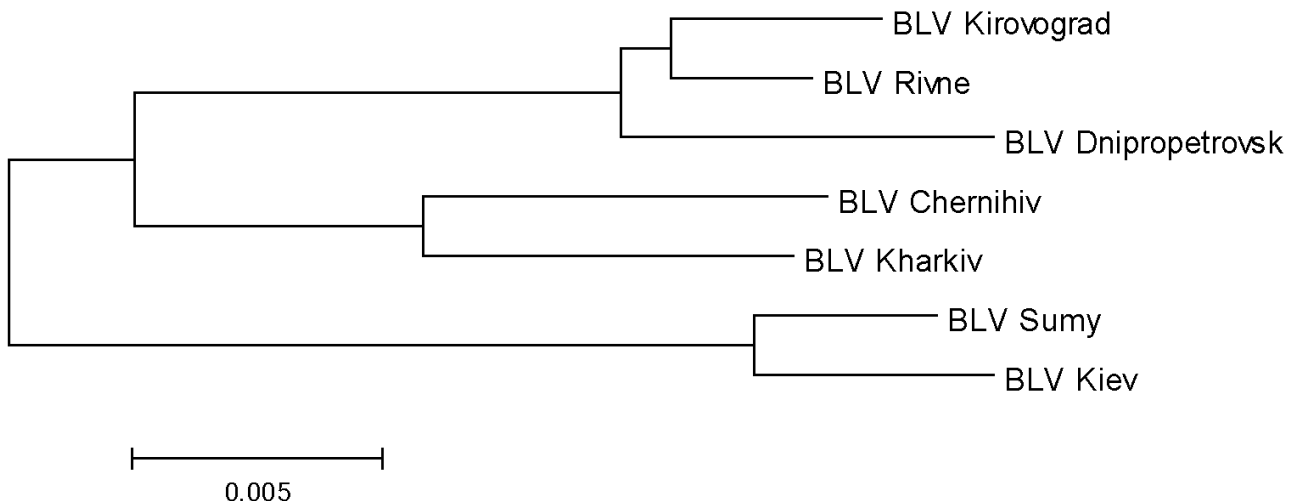
Вибірковими дослідженнями проб крові ряду тваринницьких господарств центрального та східного регіону областей України встановлено, з використанням молекулярно-генетичних методів, наявність генетичного матеріалу ВІV та ВFV збудників. Результати вибіркового досліджень наведені у таблиці 1. Зауважимо, що у значній чисельності випадків інфікування тварин обумовлюється асоціацією збудників лейкозу, імунodefіциту та спумавірусної інфекції великої рогатої худоби.

**Таблиця 1** — Результати молекулярно-генетичного дослідження проб крові великої рогатої худоби

Область	Господарство	n	Виявлено генетичний матеріал		
			BLV	BFV	BIV
Кіровоградська	№1	10	1	2	1
Полтавська	№2	15	4	1	-
Сумська	№3	10	-	1	1
Черкаська	№4	15	2	1	-
Харківська	№5	15	-	-	1
	№6	15	3	2	-
	№7	10	-	1	-

З метою виконання етапу, який передбачав вивчення генетичних особливостей збудників мінорних інфекцій, що циркулюють в межах тваринницьких господарств України, був проведений попередній пошук щодо наявності у міжнародних базах даних послідовностей основних генів (або їх фрагментів) збудників повільних інфекцій, ізольованих від поголів'я великої рогатої худоби різних регіонів України. За результатами даного інформаційного пошуку було сформовано електронну базу даних, яка містила 28 послідовностей генів *env* та *pol* ізолятів вірусу лейкозу ВРХ, циркулюючого у господарствах різних областей України. Відповідні дані стосовно збудників інших повільних інфекцій ВРХ (вірусу імунодефіциту та спумавірусу ВРХ) були відсутні.

На цей час вивченню генетичної варіабельності та генетичних особливостей ВЛ ВРХ приділяють значну увагу внаслідок можливої ролі різних варіантів вірусу у розвитку інфекційного процесу [9]. Найбільш докладні дані стосовно мінливості отримані для гена *env* ВЛ ВРХ, описано декілька його типів, що визначають генотип вірусу та його імуногенність [10]. Крім того, ймовірно, ген *env* визначає ступінь інфекційності певного ізоляту ВЛ ВРХ. Зважаючи на це, був проведений аналіз генетичних особливостей ізолятів ВЛ ВРХ з 7 областей України шляхом філогенетичного аналізу на основі послідовностей саме цього гена. На рисунку 1 представлено реконструкцію філогенетичних взаємовідносин ізолятів ВЛ ВРХ, циркулюючих у тваринницьких господарствах Сумської, Київської, Чернігівської, Харківської, Кіровоградської та Рівненської областей України.



**Рис. 1.** Філогенетичний аналіз ізолятів вірусу лейкозу великої рогатої худоби, що циркулюють у різних регіонах України

За результатами проведеного аналізу топології побудованого філогенетичного дерева встановлено, що послідовності ген *env* утворюють 3 чітких кластери, що свідчить про циркуляцію, принаймні, трьох генотипів ВЛ ВРХ на території України.

Мікроскопічні дослідження перещеплюваних культур клітин, що були інфіковані польовими ізолятами збудників мінорних інфекцій, свідчать, що додавання короткостроково культивованих лімфоцитів не викликало деструктивних змін морфології клітин обох ліній. Клітини моношару розміщувались щільно, з чітко вираженими кордонами, в цитоплазмі спостерігалась незначна кількість вакуолей, ядра мали типову овальну форму. Після 1 пасажу ще частково зустрічались лімфоцити, але вже після 2 пасажу лімфоцити під час мікроскопії не виявлялись.

Спостереженнями за станом моношару культур клітин (ЛЕК+ВІВ) та (ЛЕК+ВІВ), на рівні 1, 2 та 3 пасажів встановлено задовільне заповнення моношару, морфологічно клітини експериментальної культури були подібні контрольним, за результатами ПЛР на рівні 3 пасажу була відмічена наявність генетичного матеріалу ВІВ та ВІВ в клітинах моношару. На 4–6 пасажах в експериментальній культурі клітин спостерігалась морфологічна деструкція клітин з ознаками симпластоутворення — в культурі зустрічались збільшені клітини з двома або трьома ядрами, клітини моношару знімали зі скла утруднено з використанням суміші версен-трипсину.

На рівні 7, 8 пасажів картина стану моношару залишалась подібною, при цьому відмічалось різке збільшення кількості відмерлих клітин в культуральній рідині.

Для детального вивчення морфології інфікованих клітин ЛЕК виконували висіви клітинної суспензії у пробірки з покривними скельцями за загальноприйнятим методом, після утворення моношару забарвлювали клітини культури за Романовським-Гімзе, при цьому спостерігали більш інтенсивне забарвлення в навколядерній зоні.

Всього було виконано по 15 пасажів культури (ЛЕК+ВІВ) та (ЛЕК+ВФV), генетичний матеріал збудників імунodefіциту та спумавірусної інфекції ВРХ за результатами ПЛР ще фіксувався на рівні 10 пасажу. Молекулярно-генетичне дослідження культури клітин в ПЛР на рівні 13 та 15 пасажів показали негативний результат.

Дослідженням щодо можливості інтеграції польових форм збудників повільних інфекцій імунodefіциту ВРХ (ВІВ) та пінистого вірусу ВРХ (ВФV) в перещеплювану культуру клітин КСТ встановлено більш низьку, у порівнянні з культурою клітин ЛЕК, чутливість клітин цієї культури до вірусів сімейства *Retroviridae*. За результатами ПЛР на рівні 3 пасажу була виявлена наявність генетичного матеріалу ВІВ та ВФV в клітинах моношару культури КСТ і вже на цьому рівні культивування спостерігали багаточисельну вакуолізацію в клітинах зараженого моношару (КСТ+ВФV) та деструктивні зміни в стані моношару, які виражались в його частковому руйнуванні з утворенням чисельної кількості відмерлих клітин. На рівні 4 та 5 пасажів вакуолізація та синцитійутворення спостерігалось в більшій частині (70-80 %) клітин моношару. Всього було проведено 7 пасажів. На рівні 5 пасажу за результатами ПЛР ще відслідковувалася наявність генетичного матеріалу збудників ретровірусних інфекцій, а матеріал 7 пасажу дав негативний результат.

Гематологічні показники через 30 днів після інокуляції дослідній групі кролів генетичного матеріалу спумавірусу вказують на збільшення кількості лейкоцитів (до  $9.8-9.9 \times 10^3/\text{мл}$ ). Зважаючи на розрахунки лейкоцитарної формули, відбулось це за рахунок підвищення кількості паличкоядерних гранулоцитів, також незначною мірою збільшилися показники гемоглобіну у всіх кролів дослідної групи (до 15-17 г/дл) в порівнянні з контрольною групою, в якій таких змін гематологічних показників не спостерігалось, виростили показники швидкості осідання еритроцитів до 3-4 мм на годину. Подібні зміни характерні для запальних процесів. У наступному гематологічні показники крові дослідної групи кролів (лейкоцити, гранулоцити, ШОЕ) відновились до рівня початкових величин. Це свідчить про те, що наявність збудника спумавірусної інфекції в організмі кролів суттєво не впливає на гематологічні показники їх крові, хоч звертає на себе увагу перерозподіл елементів лейкоцитарної фракції у бік значного (до 80-88 %) збільшення співвідношення лімфоцитів, що свідчить про розвиток імуносупресивного стану в організмі дослідних тварин.

Аналіз отриманих результатів біохімічних досліджень свідчить, що після зараження кролів спумавірусом виражені зміни досліджених показників відбулись через 39 діб, коли спостерігалась тенденція до підвищення рівня загального білку на 9,4 % загалом за рахунок підвищення глобулінової фракції, вміст якої збільшився на 17,4 % та зниження концентрації ЦІК (циркулюючих імунних комплексів) на 8,6 % порівняно з відповідними показниками контрольної групи. При цьому статистично вірогідне підвищення встановлено щодо рівня серомукоїдів — на 21,2 %.

Через 60 діб після зараження спостерігали зниження концентрації ЦІК на 22,2 % ( $p \leq 0,05$ ) та тенденцію до зниження серомукоїдів (на 6,5 %) порівняно з показниками контролю. Під час останнього взяття крові (97 доба досліду) встановлено статистично вірогідне зниження концентрації ЦІК та підвищення рівня серомукоїдів на 21,5 % та 17,6 % відповідно, а також тенденцію до зниження рівня глобулінів, яке склало 15,5 %. Беручи до уваги біологічну роль досліджених біомаркерів неспецифічного імунітету (ЦІК середньої молекулярної маси є індукторами клітинної ланки, а серомукоїди — супресорами гуморальної ланки вродженого імунітету), можна зробити висновок, що експериментальне зараження кролів спумавірусом викликає незначну активізацію імунної системи через 30 діб після інфікування, яке змінюється вираженим пригніченням функціонального стану обох ланок неспецифічного імунітету у наступні 60 діб досліду (період дослідження).

**Висновки.** 1. Збудники повільних інфекцій великої рогатої худоби, а саме лейкозу, імунодефіциту та спумавірусної інфекції (BLV, BIV, BFV), згідно класифікації віднесені до сімейства *Retroviridae*, мають широке розповсюдження в тваринницьких господарствах світу.

2. Вибірковими дослідженнями проб крові великої рогатої худоби господарств областей центрального та східного регіонів України з використанням молекулярно-генетичних методів встановлено наявність генетичного матеріалу BLV, BIV та BFV збудників. У ряді випадків спостерігається асоціативний характер інфікування тварин декількома збудниками повільних інфекцій.

3. Збудники повільних інфекцій великої рогатої худоби, а саме імунодефіциту та спумавірусної інфекції великої рогатої худоби (BIV та BFV), спроможні інтегрувати в культури клітин гомологічного для великої рогатої худоби типу, що підтверджується результатами молекулярно-генетичних методів досліджень (ПЛР).

4. Експериментальне зараження кролів спумавірусом викликає незначну активізацію імунної системи через 30 днів після інфікування, яке змінюється у подальшому вираженим пригніченням функціонального стану неспецифічного імунітету

**Перспективи подальшого використання отриманих результатів.** Накопичення вірусного матеріалу збудників маловивчених мінорних інфекцій (спумавірусу та імунодефіциту) з використанням гомологічних для великої рогатої худоби культур клітин з метою розробки вітчизняних серологічних засобів діагностики

### Список літератури

1. Колотвин В. В. Вирус иммунодефицита крупного рогатого скота: индикация инфекции и распространённость в хозяйствах Российской Федерации : автореферат диссертации на соискание учёной степени кандидата биологических наук. Москва, 2007.
2. Красников Е. С. Эпизоотическая ситуация по вирусному иммунодефициту крупного рогатого скота в городе Саратове и Саратовской области. *Вестник ветеринарии*. 2011. Т. 59, № 4. С. 70–71.
3. Супотницкий М. В. Эволюционная патология. К вопросу о месте ВИЧ-инфекции и ВИЧ/СПИД-пандемии среди других инфекционных, эпидемических и пандемических процессов. Москва : Вузовская книга, 2009. 400 с.
4. Meas S. et al. Vertical transmission of bovine leukemia virus and bovine immunodeficiency virus in dairy cattle herds. *Vet Microbiol*. 2002. Vol. 84. P. 275–282. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(01\)00458-8](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(01)00458-8).
5. Romen F. et al. Serological detection systems for identification of cows shedding bovine foamy virus via milk. *Virology*. 2007. Vol. 364, No 1. P. 123–131. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.03.009>.
6. Murray S. M. et al. Expanded tissue targets for foamy virus replication with simian immunodeficiency virus-induced immunosuppression. *J Virol*. 2006. Vol. 80, No 2. P. 663–670. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.80.2.663-670.2006>.
7. Orr K. A., O'Reilly K. L., Scholl D. T. Estimation of sensitivity and specificity of two diagnostics tests for bovine immunodeficiency virus using Bayesian techniques. *Preventive veterinary medicine*. 2003. Vol. 61, No 2. P. 79–89. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2003.08.001>.
8. Tamura K. et al. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol*. 2007. Vol. 24, No 8. P. 1596–1599. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msm092>.
9. Asfaw Y. et al. Distribution and superinfection of bovine leukemia virus genotypes in Japan. *Arch Virol*. 2005. Vol. 150, No 3. P. 493–505. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00705-004-0433-5>.
10. Rodriguez S. M. et al. Bovine leukemia virus can be classified into seven genotypes: evidence for the existence of two novel clades. *J Gen Virol*. 2009. Vol. 90, Pt. 11. P. 2788–2797. DOI: <https://doi.org/10.1099/vir.0.011791-0>.

### STUDY THE DISTRIBUTION AND BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF FIELD ISOLATES OF BOVINE IMMUNODEFICIENCY AND SPUMAVIRUS INFECTION PATHOGENS

**Gorbatenko S. K., Rudova N. G., Kornieikova O. B., Stegnyy M. Yu.,  
Kovalenko L. V., Kuznetsova O. V., Miahkykh N. V.**

*National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine*

*Based on the analysis of OIE data and world scientific literature, the spread of spumavirus infection and bovine immunodeficiency in livestock production worldwide, and on the basis of our own research in Ukrainian livestock production was studied. The adaptive ability of field isolates of minor infections to homologous cell cultures for cattle, genetic characteristics of pathogens isolated in different regions of Ukraine, the effect of field isolates of the pathogen when inoculated into the body of laboratory animal models at the hematological, molecular genetic and biochemical levels have been studied*

**Keywords:** *minor infections, cell culture, hematological and biochemical studies*