

НАУЧНЫЙ ОБЗОР

<https://doi.org/10.36233/0507-4088-117>

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022

Проблемы специфической профилактики африканской чумы свиней

Власова Н.Н.¹, Верховский О.А.², Алипер Т.И.¹, Капустина О.В.¹, Алексеев К.П.¹, Южаков А.Г.¹, Гулюкин М.И.¹, Гулюкин А.М.¹

¹ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук», 109428, Москва, Россия;

²АНО «Научно-исследовательский институт диагностики и профилактики болезней человека и животных», 123098, Москва, Россия

В обзоре представлено современное состояние проблемы разработки и применения средств специфической профилактики африканской чумы свиней (АЧС) с кратким описанием её этиологии и патогенеза. Понимание уникальности природы вируса АЧС определило ряд ограничений и сложность решения проблемы создания вакцины, что стимулировало разработку высокоспецифичных методов диагностики для быстрого и точного выявления возбудителя болезни. В связи с этим приводятся результаты исследований, включая собственные, касающиеся сравнительного анализа генома вакцинных и вирулентных штаммов вируса АЧС, а также иммунодиагностических подходов для определения причин высокой вирулентности и низкой протективной активности этого вируса. Особое внимание уделено вопросу, связанному с разработкой безопасных и эффективных вакцин против АЧС. При этом подробно рассматриваются недостатки и возможные преимущества живых аттенуированных (ЖАВ) и рекомбинантных (РВ) вакцин. Приводятся результаты последних исследований по оценке иммуногенности генетически модифицированных вакцин (ГМВ), созданных в различных лабораториях мира. Полученные данные свидетельствуют о том, что вакцинопрофилактика АЧС в настоящее время является наиболее перспективной мерой борьбы с распространением этой болезни в нашей стране и мире, однако предыдущий опыт вакцинации против АЧС выявил ряд проблем её разработки и применения. Отмечен значительный вклад зарубежных исследователей в изучение основ вирулентности этого возбудителя и функций его генов. Возможное дальнейшее распространение АЧС в странах Европы и Азии на приграничных с Россией территориях, а также установленный факт распространения вируса АЧС среди диких кабанов свидетельствуют о постоянной угрозе его повторной интродукции в нашу страну. В заключение подчеркнута важность разработки безопасной вакцины против АЧС и анализа рисков создания искусственных источников возбудителя в природе в результате её применения.

Ключевые слова: африканская чума свиней; структура генома; структура вириона; генетически модифицированный вирус; протективная активность; антителозависимое усиление

Для цитирования: Власова Н.Н., Верховский О.А., Алипер Т.И., Капустина О.В., Алексеев К.П., Южаков А.Г., Гулюкин М.И., Гулюкин А.М. Проблемы специфической профилактики африканской чумы свиней. *Вопросы вирусологии*. 2022; 67(3): 206–216. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-117>

Для корреспонденции: Южаков Антон Геннадиевич, канд. биол. наук, заведующий лабораторией биохимии и молекулярной биологии ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук», 109428, Москва, Россия. E-mail: anton_oskol@mail.ru

Участие авторов: Власова Н.Н., Верховский О.А., Гулюкин А.М., Южаков А.Г. – сбор и обработка материалов; Власова Н.Н., Южаков А.Г., Капустина О.В., Алексеев К.П. – экспериментальные исследования; Власова Н.Н., Верховский О.А., Капустина О.В. – написание текста; Власова Н.Н., Алипер Т.И., Гулюкин А.М., Гулюкин М.И. – резюме, заключение, общая редакция.

Финансирование. Работа выполнена в рамках темы ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН № FGUG-2022-0009.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 24.04.2022

Принята в печать 02.06.2022

Опубликована 30.06.2022

REVIEW ARTICLE

https://doi.org/10.36233/0507-4088-117

Problems of specific prevention of African swine fever

Natalia N. Vlasova¹, Oleg A. Verkhovsky², Taras I. Aliper¹, Olga V. Kapustina¹,
Konstantin P. Alekseev¹, Anton G. Yuzhakov¹, Mikhail I. Gulukin¹, Aleksey M. Gulukin¹

¹Federal Scientific Center All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary named after the honorary K.I. Scriabin and Ya.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences, 109428, Moscow, Russia;

²Diagnostic and Prevention Research Institute for Human and Animal Diseases, 123098, Moscow, Russia

This review presents the current state of the problem of development and application of the specific prevention of African swine fever (ASF) with a brief description of its etiology and pathogenesis. The unique nature of the ASF virus (ASFV) determines some limitations and the complexity of solving the problem of vaccine development. Such situation stimulated the development of highly specific diagnostic methods for rapid and accurate detection of the ASFV. In this regard, results of studies, including our own, concerning the comparative analysis of the genome of vaccine and virulent strains of the ASFV, as well as immunodiagnostic approaches to determine causes of high virulence and low protective activity of the ASFV, are briefly presented. Special attention is given to the issue related to the development of safe and effective vaccines against ASF. In this context disadvantages and possible advantages of live attenuated (LAV) and recombinant (RV) vaccines are considered in details. Results of recent studies on the assessment of the immunogenicity of genetically modified vaccines (GMV) which developed in various laboratories around the world are presented. The obtained data indicate that ASF vaccination is currently the most promising measure to stop the spread of this disease in our country and in the world, however, previous experience with ASF vaccination has revealed some problems in its development and application. The significant contribution of foreign researchers to the study of the basics of virulence of this pathogen and the study of its genes functions are noted. The possible further expansion of ASF in Europe and Asia in bordering Russia territories, as well as the established fact of the persistence of ASFV in wild boar population indicate a constant threat of its re-introduction into our country. In conclusion, the importance of developing a safe effective vaccine against ASF and the assessing of the possible risks of creating the artificial sources of the infection in nature as a result of its use is emphasized.

Keywords: *African swine fever; genome and virion structure; genetically modified virus; protective activity; anti-body-dependent enhancement*

For citation: Vlasova N.N., Verkhovsky O.A., Aliper T.I., Kapustina O.V., Alekseev K.P., Yuzhakov A.G., Gulukin M.I., Gulukin A.M. Problems of specific prevention of African swine fever. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2022; 67(3): 206–216. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-117>

For correspondence: Anton G. Yuzhakov, PhD, Head of the Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology of Federal Scientific Center All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary named after the honorary K.I. Scriabin and Y.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences, 109428, Moscow, Russia. E-mail: anton_oskol@mail.ru

Information about the authors:

Vlasova N.N., <https://orcid.org/0000-0001-8707-7710>

Verkhovsky O.A., <https://orcid.org/0000-0003-0784-9341>

Kapustina O.V., <https://orcid.org/0000-0002-7382-8656>

Alekseev K.P., <https://orcid.org/0000-0001-9536-3127>

Yuzhakov A.G., <https://orcid.org/0000-0002-9354-6824>

Aliper T.I. <https://orcid.org/0000-0003-2696-1363>

Gulyukin M.I., <https://orcid.org/0000-0002-7489-6175>

Gulyukin A.M., <https://orcid.org/0000-0003-2160-4770>

Contribution: Vlasova N.N., Verkhovsky O.A., Gulukin A.M., Yuzhakov A.G. – collection and processing of materials; Vlasova N.N., Yuzhakov A.G., Kapustina O.V. – experimental research; Vlasova N.N., Verkhovsky O.A., Kapustina O.V. – spelling text; Vlasova N.N., Aliper T.I., Gulukin A.M., Gulyukin M.I. – summary, conclusion, general edition.

Funding. The work was carried out within the scientific theme №FGUG-2022-0009.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 24 April 2022

Accepted 02 June 2022

Published 30 June 2022

Введение

Динамичность эволюционных процессов в вирусных популяциях, высокая степень изменчивости и способность возбудителей преодолевать защитные барьеры восприимчивого организма, интродук-

ция и распространение эмерджентных инфекций на новых территориях, антропогенное влияние на эпизоотическую ситуацию указывают на неизменную актуальность изучения вирусных инфекций животных и совершенствования средств их диагностики и специфической профилактики [1–3]. Вирус-

ная природа этиологического агента африканской чумы свиней (АЧС) была установлена в 1921 г. Р.Е. Montgomery в исследованиях АЧС, которую он характеризовал как «очень заразную болезнь», вызывающую практически 100% смертность заболевших животных и отличающуюся от классической чумы свиней [4]. Хотя первоначально вирус АЧС отнесен к *Iridoviridae* на основе морфологии вириона, повышение уровня знаний молекулярной биологии привело к его реклассификации в качестве единственного нового члена семейства ДНК-содержащих вирусов *Asfarviridae* [5]. Сегодня вирус АЧС отнесен к суперсемейству крупных нуклеоцитоплазматических вирусов (NCLDV), предположительно имеющих общего предка [6]. Для этого суперсемейства было предложено новое название – *Megavirales*, которое точнее отражает особенности структуры и репродукции его членов [6].

История изучения вируса африканской чумы свиней

На протяжении всей истории изучения АЧС исследователи сталкивались со значительными трудностями как при разработке классификации изолятов вируса АЧС, так и при создании средств специфической профилактики, что было обусловлено многообразием природных изолятов возбудителя, недостаточностью сведений о его геноме, сложностью структуры его вириона и незначительным количеством выживших после болезни животных.

Особо стоит отметить вклад российских учёных в исследование АЧС: впервые в нашей стране Я.Р. Коваленко с группой научных сотрудников Всесоюзного научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии (ВИЭВ) (М.А. Сидоров, Л.Г. Бурба и др.) в 1961–1965 гг. провели важные исследования по изучению АЧС в экспериментальных условиях, заложив основы методов исследования экзотических инфекционных болезней животных. Полученные данные позволили обобщить материалы по биологии вируса, его антигенным свойствам, устойчивости к различным физическим и химическим факторам, сохранению в окружающей среде, клиническому проявлению болезни и патологоанатомическим изменениям [7]. На основании разработок учёных ВИЭВ в 1965 г. была утверждена «Временная инструкция по профилактике и борьбе с африканской чумой свиней», в которой нашли своё отражение методы диагностики и борьбы с АЧС.

Дальнейшие исследования учёных Всероссийского научно-исследовательского института ветеринарной вирусологии и микробиологии (ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии) в 1970–1980-е гг. (Н.И. Митин, Ю.И. Петров и др.) позволили разработать серологическую классификацию природных вирулентных или аттенуированных изолятов и штаммов вируса АЧС, а также первые отечественные вакцины на основе аттенуированных штаммов вируса [8–10]. В дальнейшем В.М. Балышевым и соавт. серологическая классификация была дополнена: на настоящий момент

изоляты вируса АЧС группируются в 9 самостоятельных сероиммунологических типов, а изоляты, серотиповая принадлежность которых не соответствует результатам иммунологической пробы, и новые нетипированные изоляты вируса включены в отдельную, десятую группу [11].

После длительной экспансии вируса АЧС на европейском континенте в 1957–1995 гг. были получены многочисленные данные о возбудителе болезни, патогенезе и иммунитете при АЧС. Однако эффективная и безопасная специфическая профилактика при АЧС до сих пор не разработана. Неудача первых попыток массовой вакцинации была связана с высокой изменчивостью возбудителя и отсутствием контроля и учета наличия векторов передачи – распространения вируса (дикие кабаны и клещи) в полевых условиях, так как после вакцинации животные подвергались множественной реинфекции [12, 13].

Исследования структуры генома и антигенных свойств вируса африканской чумы свиней

Изучение различных изолятов вируса АЧС показало, что компоненты популяции его природных изолятов гетерогенны не только по вирулентным свойствам и способности к репродукции в гетерологичных системах [14], но и по серотиповой принадлежности отдельных вариантов [15]. Поскольку при АЧС иммунитет серотипоспецифичен, наличие более 9 серотипов вируса АЧС сильно усложняет задачу разработки вакцины.

При создании вакцины против АЧС определение серотипа циркулирующего вируса является первоочередной задачей для разработки средств специфической профилактики. К сожалению, для определения серотипа *in vitro* вновь выделенного изолята необходима гипериммунная специфическая сыворотка, которую не всегда удается получить даже при использовании фосфонуксусной кислоты, обладающей вирусстатическим действием [16].

Следует подчеркнуть, что вирус АЧС имеет сложную многослойную структуру (**рисунок**) [17]. Его внутриклеточные вирионы имеют электронно-плотный нуклеоид – нуклеопротеиновый кор (диаметр 70–100 нм), покрытый двумя слоями: внутренним – липидный слой, средний – капсид, состоящий из 1892–2172 капсомеров. Капсид имеет икосаэдрическую форму (диаметр 172–191 нм, T = 189–217). Внеклеточные вирионы в своей структуре имеют третий липидсодержащий внешний слой (диаметр 175–215 нм) [18]. Такая сложность строения вириона обуславливает высокую устойчивость вируса к факторам как внешней среды, так и иммунной защиты.

Интенсивные исследования структуры генома и антигенных свойств вируса АЧС подтвердили предположение о том, что в его популяциях присутствуют иммунологически и генетически различные варианты [15, 19]. Всего геном вируса АЧС кодирует более 160 различных белков [20], а в состав вириона входит более 50 структурных белков. Их молекулярные массы варьируют от 10 до 150 кДа [21], по функ-

циональным характеристикам они подразделяются на 5 основных групп: белки прикрепления и проникновения; белки, участвующие в морфогенезе вируса; структурные белки; белки, обеспечивающие тропизм и вирулентность вируса; а также регуляторные белки, отвечающие за ингибицию апоптоза, синтеза клеточных белков. К ним относятся ингибиторы гуморального ответа; белки, воздействующие на синтез интерферона; активаторы цитокинов и ингибиторы хемокинов; модуляторы функций основного комплекса гистосовместимости; а также модуляторы цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ, CD8⁺ Т-клетки) и натуральных киллеров (NK-клеток) [22].

Следовательно, белки вируса АЧС играют значительную роль в модуляции иммунного ответа организма-хозяина, что также является одним из факторов, препятствующих созданию вакцины против АЧС. Регуляторные белки вируса АЧС активно подавляют синтез интерферона-β, интерлейкина-8 и усиливают выработку противовоспалительных цитокинов и трансформирующего фактора роста [23]. Разрушение макрофагов вызывает высвобождение цитокинов и фактора некроза опухолей (TNF-α), индуцирующих апоптоз сначала Т-клеток, а потом и В-клеток, что также приводит к угнетению клеточной и гуморальной ветвей иммунного ответа [24]. Помимо индукции апоптоза, TNF-α увеличивает проницаемость сосудов, повышает коагуляцию, способствует образованию тромбов [25].

Вирус АЧС не только подавляет иммунный ответ хозяина, но также модифицирует репликацию в клетках хозяина. Экспрессия гена *J4R* на поздних стадиях инфекционного цикла приводит к образованию продукта, локализованного в ядре и цитоплазме инфицированных клеток, который связывается с комплексом α-цепи созревающего белка, образующего полипептид-ассоциированный комплекс (Nascent Polypeptide Associated Complex, NAC) вблизи клеточной мембраны и в цитоплазме. Предположительно, этот вирусный белок ингибирует транскрипцию генов клетки хозяина [26].

Две переменные области генома вируса АЧС на 3'- и 5'-конце молекулы содержат мультигенные семейства (MGF), которые участвуют в регуляции экспрессии генов и отличаются по количеству tandemных повторов. L. Zsak и соавт. (2001) показали, что члены MGF 360 и 530 играют важную роль в регуляции тропизма вируса и необходимы для его эффективной репликации в макрофагах [27]. Мутанты вируса с делецией нескольких генов MGF 360 и 530 вызывали раннюю гибель инфицированных макрофагов, что указывает на роль кодируемых вирусом белков в регуляции апоптоза и, соответственно, выживании клеток [27].

Сложноорганизованные вирусы, например вирус простого герпеса, вирус АЧС или вирус осповакцины, имеют гены, не только отвечающие за их репликацию, но и позволяющие ускользать от воздействия факторов иммунологического надзора организма-хозяина [23]. И, наконец, вирус АЧС содержит несколько генов, которые кодируют белки, имеющие гомологию с белками хозяина, что обеспечивает ему своеобразную ми-

микрию в отношении иммунного распознавания [28].

Следовательно, функциональные особенности возбудителя АЧС позволяют ему не только эффективно репродуцироваться в клетках организма свиней, но и в значительной степени перестраивать их функционирование, подавлять синтез протективных антител и снижать активность Т-клеток. Тем не менее, по данным D.L. Rock, создание вакцины против АЧС возможно, поскольку доказано существование протективного иммунитета к гомологичному вирусу, несмотря на то что трудно достичь высокого уровня антител, необходимых для защиты животных при АЧС, причем уровень антител коррелирует со степенью защищенности организма от инфекции [29].

Проблемы создания вакцины против африканской чумы свиней

Современная панзоотия АЧС стимулировала проведение активных научных изысканий в направлении создания эффективной и безопасной вакцины против АЧС, поскольку стратегия стемпинг аут не показывает положительных результатов в сдерживании распространения этой болезни. Многие лаборатории мира

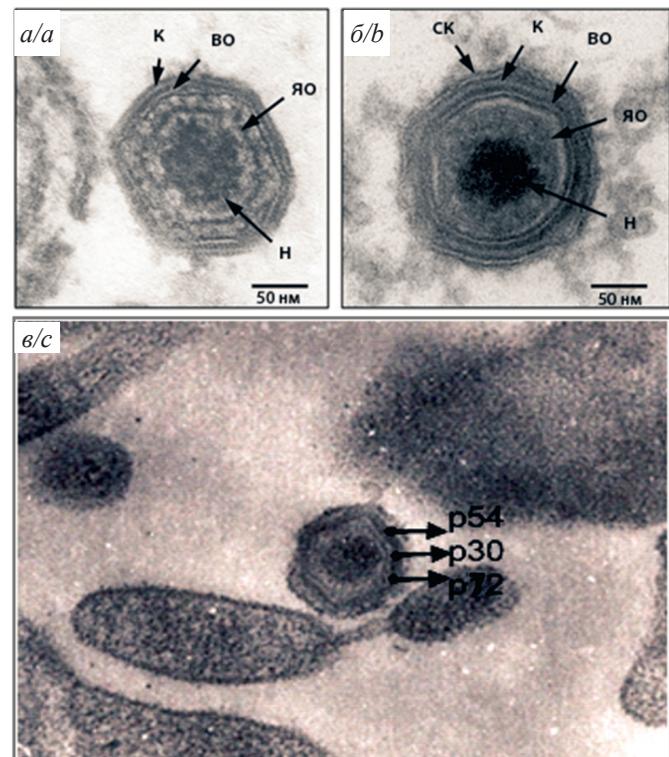


Рис. Структура вириона вируса АЧС: *a* – сформированный внутриклеточный вирион; *б* – зрелый внеклеточный вирион; *в* – локализация структурных протеинов в вирионе [17].

СК – суперкапсид; К – капсид; ВО – внутренняя липидная оболочка; YO (КО) – ядерная или коровая оболочка; Н – нуклеоид [18].

Fig. The structure of the ASF virus virion: *a* – formed intracellular virion; *b* – mature extracellular virion; *c* – localization of structural proteins in the virion [17].

CK – viral envelope; K – capsid; BO – inner lipid envelope; YO (KO) – nuclear or core envelope; H – nucleoid [18].

работают над созданием вакцины по нескольким перспективным направлениям: живые аттенуированные вакцины (ЖАВ), генетически модифицированные вакцины (ГМВ) или маркированные вакцины (МВ), субъединичные вакцины (СВ), а также ДНК-вакцины.

Инактивированные вакцины

Относительно применения инактивированных вакцин (ИВ) при АЧС проведённые исследования однозначно доказали, что инактивированный вирус не стимулирует выработку эффективной защиты [30]. Данный феномен объясняется уникальностью вируса АЧС, которая при инфицировании свиней проявляется в отсутствии синтеза вируснейтрализующих антител (ВНА), обусловленного многослойностью структуры вириона: лишённый суперкапсидной оболочки вирус АЧС сохраняет свою инфекционность, поскольку использует для своего проникновения в чувствительные клетки два различных механизма: рецептор-опосредованный эндоцитоз [17] и макропиноцитоз [31]. Как следствие, при взаимодействии вируса со специфическими антителами нейтрализации его инфекционной активности не происходит.

В более ранних исследованиях вируснейтрализующих антител были получены весьма неоднозначные данные: некоторые учёные предоставили доказательства пассивной защиты при введении антител от выживших свиней. Так, M. V. Vorca и соавт. (1994), D. Onisk и соавт. (1994) показали, что полная или частичная защита может быть достигнута пассивным переносом антител реконвалесцентов. При этом в ряде случаев наличие специфических антител снижало уровень виремии и увеличивало длительность инкубационного периода заболевания [32, 33]. По данным J. M. Escribano и соавт. (2013), индукция специфических антител обеспечивает различные степени защиты, поскольку антитела при АЧС могут индуцировать защиту, кроме вируснейтрализации, с использованием других механизмов, таких как комплемент-зависимый лизис, опсонияция и фагоцитоз, антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность [34]. Однако другие исследователи продемонстрировали результаты экспериментов, достоверно демонстрирующие отсутствие защиты от АЧС при пассивном переносе антител [35]. Кроме того, установлено, что вырабатываемые к некоторым белкам вируса АЧС антитела не только не обладают вируснейтрализующими свойствами и не обеспечивают защиты от болезни, но и нередко приводят к усилению инфекции и ускорению сроков гибели заражённых животных. Этот феномен антителозависимого усиления инфекции детально изучен для других вирусов, размножающихся в клетках иммунной системы [36, 37]. А. С. Першин и соавт. установили, что введение животным иммуноглобулинов от переболевших АЧС свиней на 1–2 дня ускоряет у них сроки развития болезни и наступления гибели [38].

Многочисленными усилиями исследователей определены основные причины отсутствия эффективных вакцин против АЧС: высокая скорость изменчивости

вируса АЧС (скорость замен в нуклеотидных последовательностях геномов вируса АЧС были намного выше, чем ожидалось, по сравнению с другими крупными двухцепочечными вирусами: скорость замен вируса АЧС варьировала от 1024 до 1025 и была сопоставима с РНК-содержащими вирусами, которые обычно имеют от 1022 до 1025 замен/позиция/год [39]); серотипоспецифичный иммунитет (все известные изоляты и штаммы вируса АЧС делятся на 9 серотипов); генетическая и серотиповая гетерогенность состава популяций некоторых изолятов; отсутствие нейтрализации вируса специфическими антителами и наличие антителозависимого усиления при АЧС.

Субъединичные вакцины

Детальное изучение иммунного ответа при АЧС с использованием рекомбинантных белков, проведённое P. Gómez-Puertas и соавт. (1998), позволило установить, что антитела к таким белкам вируса АЧС, как р30 и р54, необходимы для выработки протективного иммунитета [40], а дополнительное введение антител к р72 нарушает его. Кроме того, после иммунизации рекомбинантным р72 также отмечаются более ранние сроки гибели инфицированных вирусом АЧС животных (на 1,5–2 суток) и усиление выраженности клинических признаков по сравнению с контрольными. Эти работы послужили основой для создания субъединичных вакцин против АЧС, поскольку при разработке эффективной и безопасной вакцины следует учитывать наличие феномена антителозависимого усиления и скомпоновать высокоиммуногенный препарат, способный сформировать перевес в динамике антителообразования в пользу протективных антигенов, чтобы избежать усиления инфекции и маскирования вируса антителами к непротективным белкам. Тем не менее на текущий момент создание субъединичных вакцин сильно тормозит то обстоятельство, что ключевые антигены вируса АЧС, участвующие в индукции иммунитета, опосредованного Т-клетками, ещё не определены, существует лишь ограниченное количество протестированных белков:

– иммунизация свиней рекомбинантными р30 и р54 задерживала сроки наступления болезни и виремии, хотя 50% свиней выжили более 45 дней [40];

– как упоминалось ранее, иммунизация рекомбинантными белками р54, р30 и р72 сдерживала начало лихорадки, но не изменяла время наступления гибели [41].

Наравне с р30 и р54 иммунизация CD2v также приводила к созданию частичной защиты от заражения вирулентным штаммом. Недавние исследования предоставили доказательства того, что белки CD2v и (или) С-типа лектина являются важными для защиты от гомологичной инфекции вируса АЧС [42]: при иммунизации рекомбинантным белком CD2v три свиньи были полностью защищены, у одной не регистрировалась виремия, у двух она снижена в 10–100 раз. В настоящее время группа учёных под руководством Л. К. Dixon активно занимается поисками протективных белков вируса АЧС. Так, L. С. Goatley и соавт. (2020) описали индукцию АЧС-специфических анти-

тел в ответ на иммунизацию различными пулами рекомбинантных белков. Авторам удалось найти композицию из 8 белков, которая обеспечила 100% защиту животных от контрольного заражения вирулентным штаммом вируса АЧС [43]. Однако получены лишь предварительные результаты об основных защитных белках вируса АЧС как возможных компонентах разрабатываемой субъединичной вакцины.

Живые аттенуированные вакцины

На текущий момент одним из перспективных направлений считается создание живых аттенуированных вакцин. Проведённые в различных научных лабораториях исследования по разработке специфических средств профилактики при АЧС показали, что иммунизация аттенуированным вирусом АЧС защищает от заражения близкородственными вирулентными изолятами, т.е. вирулентными изолятами соответствующего серотипа [13, 30, 44]. Анализ иммунного ответа при использовании аттенуированного варианта АЧС помог установить наличие протективного ответа при заражении гомологичным вирулентным вирусом [45]. Установлено, что вакцинация свиней естественно ослабленным штаммом OURT 88/3 защищает их от заражения гомологичными вирулентными штаммами вируса АЧС [45], хотя была показана и частичная перекрестная защита для гетерологичных штаммов вируса. Уровень защиты животных варьировал от 66 до 100% в зависимости от массы тела и возраста свиней, дозы вируса, использованного для контрольного заражения, и пути его введения. В то же время свиньи, иммунизированные против одного серотипа вируса, при заражении вирулентным вирусом другого серотипа гибнут с тяжелейшими клинико-патологическими проявлениями АЧС, хотя у 10–30% иммунизированных особей наблюдается перекрестная защита против гетерологичного вируса АЧС [10].

Анализ данных по развитию устойчивости к АЧС, проведённый специалистами разных стран, позволил сделать вывод, что основным звеном в формировании протективного иммунного ответа у свиней является клеточный иммунитет, опосредованный ЦТЛ, которые прерывают репродукцию вируса в инфицированных клетках [46]. Неудивительно, что репликация вируса АЧС в первую очередь нарушает работу именно этого звена иммунного ответа. При иммунизации животных вакцинами из аттенуированных штаммов специфические антитела и активированные ЦТЛ играют значительную роль в формировании защиты. С. Оуга и соавт. (2004) продемонстрировали, что истощение ЦТЛ снижает или полностью нарушает защиту, сформированную при иммунизации аттенуированным штаммом OURT 88/3 [47]. Вместе с тем интенсивные исследования последних лет показали, что наличие специфических антител и активированных ЦТЛ – далеко не единственное условие устойчивости животных к контрольному заражению. Ранний апоптоз инфицированных клеток также нарушает репродукцию вируса АЧС, поэтому необходимо блокировать работу вирусных ингибиторов. После иммуни-

зации свиней аттенуированным вирусом перекрестная защита при заражении вирулентными изолятами разных генотипов коррелировала с его способностью эффективно стимулировать выработку интерферона- γ лимфоцитами иммунизированных животных [48].

Однако применение аттенуированных вакцин нередко вызывает ряд побочных эффектов: у 2–30% вакцинированных свиней проявлялись осложнения после вакцинации, включая перемежающуюся лихорадку и виремию, риниты, пневмонию, локомоторные нарушения, некротические очаги, аборт и даже гибель подопытных животных. Следовательно, до настоящего момента остаются нерешёнными три основных вопроса, связанных с потенциалом разработки живых аттенуированных штаммов – кандидатов на вакцину против АЧС:

- 1) не изучен потенциал устойчивости животных и передачи вируса в полевых условиях;
- 2) проблемы безопасности: у ослабленных животных наблюдаются такие побочные реакции, как перемежающаяся лихорадка, кардиореспираторные нарушения, геморрагические поражения кожи и скелетно-мышечные поражения;
- 3) живые аттенуированные вакцины обеспечивают самое быстрое достижение результата, но для оценки безопасности их использования в полевых условиях потребуется несколько лет.

Генетически модифицированные вакцины

Дальнейшие исследования применения средств специфической профилактики при АЧС показали наличие иммуносупрессии моноцит-макрофагальной системы, значительно осложняющей эту задачу [49]. Идентификация генов, ответственных за репродукцию вируса в определённых культурах клеток, в клещах и свиньях позволяет направленно вносить изменения в данные гены и получать созданные на основе использования генно-инженерных манипуляций аттенуированные штаммы, лишённые недостатков природно- и лабораторно-ослабленных штаммов.

Исходя из этих целей, современные разработки вакцин против АЧС направлены на создание живых ГМВ с помощью целенаправленной делеции генов. Этот подход обеспечивает возможность дифференциации вакцинированных животных от инфицированных (Differentiating Infected from Vaccinated Animals, DIVA-стратегия). Вакцинация генетически модифицированным вирусом АЧС, полученным путём инактивации определённых генов, ответственных за вирулентность или иммуносупрессию, значительно повышает безопасность вакцин: ГМВ АЧС с делециями в генах тимидинкиназы, *9GL (B119L)*, *DP71L* в MGF 360/505 индуцировали протективный иммунный ответ к заражению гомологичным вирулентным изолятом [50, 51]. В 2020 г. M.V. Ворса и соавт. опубликовали данные о том, что делеции гена *I177L (ASFV-G- Δ I177L)* приводили к полной утрате вирулентности исходного варианта вируса. В результате при экспериментальном заражении исходным вирулентным вирусом Georgia 2007/01 выжили

все 20 животных, вакцинированных ГМВ АЧС [52]. Однако, несмотря на видимый успех такого подхода, до сих пор нет информации о стабильности вакцинного вируса, об отсутствии возможности его реверсии к вирулентному типу, о длительности иммунитета и многих других важных параметрах. Авторы данного исследования имеют патенты 2016–2017 гг. на другие варианты ГМВ АЧС, также предотвращающих гибель животных при контрольном заражении: ГМВ АЧС на основе делеции генов MGF, полученная путём удаления из исходного изолята Georgia 2007/01 генов MGF 360: 12L, 13 и 14L; MGF505: 1R, 2R и 3R, отвечающих за вирулентность; ГМВ АЧС Δ9GL-UK, полученная на основе изолята Georgia 2007/01 за счёт делеции связанных с вирулентностью генов 9GL (B119L) и UK (DP96R) и защищающая от заражения изолятом Georgia 2007/01; ГМВ АЧС ASFV-G, созданная на основе изолята Georgia 2007/01 за счёт делеции фрагмента гена 9GL (B119L) и обеспечивающая защиту от заражения гомологичным изолятом Georgia 2007/01.

Однако в некоторых случаях иммунизация делеционными мутантными вирусами не создаёт защитного эффекта. Так, животные, иммунизированные ГМВ АЧС с удалёнными генами из MGF 360 и 505 и геном 9GL вируса Georgia 2007/1, не приобрели устойчивости к заражению исходным вирусом [53]. Введение модифицированного вируса, полученного путём удаления гена 9GL из генома вирулентного изолята Georgia 2007/1, не создавало защитного эффекта при контрольном заражении исходным штаммом. Опыт с удалением двух генов 9GL и UK продемонстрировал увеличение защитного эффекта по сравнению с удалением только гена 9GL [53].

ДНК-вакцины

США не является единственной страной, пытающейся разработать эффективный препарат для вакцинопрофилактики АЧС. Работа в указанном направлении ведётся в КНР (Zhejiang Nailong Biotechnology Co., Ltd), Испании (UCM – референтная лаборатория OIE), в России (ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ). В Испании разработана экспериментальная вакцина из негемадсорбирующего (свойство напрямую зависит от вирулентности) изолята вируса АЧС 2-го генотипа Lv17/WB/Rie1, выделенного на территории Латвии в 2017 г. от дикого кабана. В геноме данного изолята имеется мутантный ген, кодирующий укороченную версию CD2v-подобного белка, отвечающего за гемадсорбирующие свойства вируса. При оральной иммунизации диких кабанов экспериментальная вакцина обеспечила 92% защиту от заражения вирулентным изолятом вируса АЧС Argm07 (погиб 1 кабан из 12). Авторами проводятся дополнительные исследования по изучению устойчивости, реверсibility и биологических свойств данного изолята [54]. Недавнее изучение CD2v-делеционного мутанта вирулентного изолята вируса АЧС BA71 продемонстрировало возможность выработки протективного иммунитета к за-

ражению как гомологичным, так и гетерологичным вирусом АЧС [55].

Более ранние подходы к разработке защитных средств от АЧС на основе использования ДНК-вакцин также показали неоднозначные результаты. Так, при иммунизации пулами ДНК, кодирующими белки вируса АЧС, достигалась защита на 30–50% (J.M. Argilaguuet и соавт. (2012)). Иммунизация плазмидами с генами CD2v, p30, p54, слитыми с геном убиквитина, вызывала сильный ЦТЛ-ответ и создавала частичную защиту при отсутствии продукции специфических антител [56]. Установлено, что вакцины на основе ДНК и аттенуированных вирусов индуцируют клеточный и гуморальный специфический иммунный ответ к вирусу АЧС, хотя на сегодняшний день они приводят лишь к частичной защите от заражения [56]. S. Lokhandwala и соавт. (2016) получили устойчивый клеточный и гуморальный иммунный ответ при иммунизации рекомбинантным аденовирусом, продуцирующим определённые белки вируса АЧС, и повторной иммунизации рекомбинантным модифицированным вирусом Анкара (MVA), несущим те же самые гены вируса АЧС. Однако эти эксперименты не были завершены проведением контрольного заражения иммунизированных животных, что не позволило установить положительного результата иммунизации [57].

Возможность выработки протективного иммунитета при АЧС была подтверждена исследованиями по ДНК-иммунизации, демонстрирующими корреляцию между формированием защиты против летального заражения вирусом АЧС и обнаружением большого количества индуцированных ДНК-вакциной антиген-специфических ЦТЛ [58]. Как видно из представленных материалов, все перечисленные варианты вакцин являются экспериментальными образцами, до внедрения которых в сельскохозяйственную практику необходимо дальнейшее изучение этой проблемы.

Таким образом, отсутствие на настоящий момент эффективной и безопасной вакцины против АЧС вызвано не только особенностью структуры вируса АЧС, наличием большого количества белков с функцией подавления иммунного ответа макроорганизма, а также высокой скоростью его изменчивости, но и необходимостью отработки методов исследования и модификации возбудителя, разработки процессов культивирования вакцинного варианта, длительностью отработки оптимальных условий получения вирусосодержащего материала или рекомбинантных антигенов. После получения прототипа вакцины предстоит решение вопросов по организации промышленного производства препарата, оценки его безопасности, разработки подходов к его применению, направленных на предотвращение распространения вируса АЧС. Поскольку современные стандарты OIE требуют применения вакцин, позволяющих дифференцировать вакцинированных и переболевших животных в рамках осуществления DIVA-стратегии, необходимы разработка и валидация сопутствующих

тест-систем, позволяющих дифференцировать вакцинированных и естественно инфицированных или переболевших животных.

Заключение

В завершение обзора следует отметить, что АЧС не единственная инфекция, при которой вакцина не гарантирует эффективной защиты от болезни из-за особенностей возбудителя и его воздействия на иммунную систему: репродуктивно-респираторный синдром свиней, хламидиоз, лейкоз и некоторые другие болезни вирусной или бактериальной этиологии не всегда удаётся победить только с помощью вакцинопрофилактики [59].

Поэтому создание эффективной и безопасной вакцины против АЧС – это длительный процесс, требующий тесного взаимодействия учёных-исследователей, ветеринарных специалистов и государственных и межгосударственных структур, обеспечивающих как получение разрешения на испытание и использование вакцины, так и повышение уровня биозащиты свиноводческих хозяйств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mebus C. African swine fever. *Adv. Virus Res.* 1988; 35: 251–69.
2. Dixon L.K., Abrams C.C., Chapman D.G., Zhang F. African swine fever virus. In: Mettenleiter T.C., Sobrino F., eds. *Animal Viruses: Molecular Biology*. Norfolk: Caister Academic Press; 2008: 457–521.
3. Sanchez-Vizcaino J.M., Martinez-Lopez B., Martinez-Aviles M., Martins C., Boinas F., Vial L., et al. Scientific review on African swine fever. *EFSA Supporting Publications*. 2009; 6(8): 5E.
4. Montgomery R.E. On a form of swine fever occurring in British East Africa (Kenya Colony). *J. Comp. Pathol.* 1921; 34: 159–91.
5. Dixon L.K., Costa J.V., Escribano J.M., Rock D.L., Vinuela E., Wilkinson P.J. Family Asfarviridae. In: Van Regenmortel M.H.V., Fauquet C.M., Bishop D.H.L., Carestens E.B., Estes M.K., Lemon S.M., eds. *Virus Taxonomy: Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego: Summers Academic Press; 2000: 159–65.
6. Colson P., De Lamballerie X., Yutin N., Asgari S., Bigot Y., Bideshi D.K., et al. “Megavirales”, a proposed new order for eukaryotic nucleocytoplasmic large DNA viruses. *Arch. Virol.* 2013; 158(12): 2517–21. <https://doi.org/10.1007/s00705-013-1768-6>
7. Гулюкин М.И. 120 лет Всероссийскому научно-исследовательскому институту экспериментальной ветеринарии имени Я.Р. Коваленко. *Труды Всероссийского НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко*. 2018; 80(1): 12–36. <https://doi.org/10.30917/ATT-PRINT-2018-1>
8. Митин Н.И., Балышев В.М., Федорищев И.В., Шевченко А.А., Петров Ю.И. Схема классификации вируса АЧС. В кн.: *Материалы научной конференции ВНИИВВиМ. Том 1*. Покров; 1986: 69–73.
9. Вишняков И.Ф., Митин Н.И., Петров Ю.И., Черятников Л.Л., Киселев А.В., Бурлаков В.А. и др. Сероиммунологическая классификация природных изолятов вируса африканской чумы свиней. В кн.: *Актуальные вопросы ветеринарной вирусологии: материалы научно-практической конференции «Классическая чума свиней – неотложные проблемы науки и практики»*. Покров; 1995: 141–3.
10. Бурлаков В.А. *Иммунологические свойства вируса и проблемы разработки средств специфической профилактики АЧС*: Автореф. дисс. д-ра вет. наук. Покров; 1979.
11. Балышев В.М., Книзе А.В., Цыбанов С.Ж. География АЧС и серотиповая гетерогенность возбудителя болезни. В кн.: *Материалы конференции Московской ветеринарной академии*. М.; 1999: 92–4.
12. Manso-Ribeiro J., Nunes-Petisca J.L., Lopez-Fraza F., Sobral M. Vaccination against ASF. *Bull. Off. Int. Epizoot.* 1963; 60: 921–37.
13. Boinas F., Hutchings G., Dixon L., Wilkinson P. Characterization of pathogenic and non-pathogenic African swine fever virus isolates from *Ornithodoros erraticus* inhabiting pig premises in Portugal. *J. General Virol.* 2004; 85(Pt. 8): 2177–87. <https://doi.org/10.1099/vir.0.80058-0>
14. Моргунов Ю.П., Петров Ю.И. Изучение иммунологических свойств вируса АЧС 5 типа: выделение, идентификация и типирование референтного штамма. *Проблемы биологии продуктивных животных*. 2010; (4): 104–11.
15. Балышев В.М., Лагуткин Н.А., Салина М.В., Зубаиров М.М., Федорищев И.В., Карпов Г.М. Экспресс-метод получения типоспецифических референс-сывороток при АЧС. В кн.: *Материалы Международной научно-практической конференции «Диагностика, профилактика и меры борьбы с особо опасными и экзотическими болезнями животных»*. Покров; 1998: 64–5.
16. Carrascosa J.L., Carazo J.M., Carrascosa A.L., Garcia N., Santisteban A., Vinuela E., et al. General morphology and capsid fine structure of African swine fever virus particles. *Virology*. 1984; 132(1): 160–72.
17. Salas M.L., Andrés M.G. African swine fever virus morphogenesis. *Virus Res.* 2012; 173(1): 29–41. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.09.016>
18. Dixon L.K., Baylis S.A., Vydelingum S., Twigg S.R., Hammond J.M., Hingamp P.M., et al. African swine fever virus genome content and variability. *Arch. Virol. Suppl.* 1993; 7: 185–99. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-9300-6_15
19. Dixon L.K., Chapman D.A., Netherton C.L., Upton C. African swine fever virus replication and genomics. *Virus Res.* 2013; 173: 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.10.020>
20. Yáñez R.J., Rodríguez J.M., Nogal M.L., Yuste L., Enriquez C., Rodríguez J.F., et al. Analysis of the complete nucleotide sequence of African swine fever virus. *Virology*. 1995; 208(1): 249–78. <https://doi.org/10.1006/viro.1995.1149>
21. Gonzalez A., Talavera A., Almendral J.M., Viñuela E. Hairpin loop structure of African swine fever virus DNA. *Nucleic Acids Res.* 1986; 14(17): 6835–44. <https://doi.org/10.1093/nar/14.17.6835>
22. Vlasova N.N., Vlasova A.N. African Swine Fever Virus pathogenesis and vaccine development: challenges and possible approaches. Charter I. In: *Fever: Types, Treatments and Health Risks*. New York: Nova Science Publishers, Inc.; 2013: 3–26.
23. Dixon L.K., Abrams C.C., Bowick G., Goatley L.C., Kay-Jackson P.C., Chapman D., et al. African swine fever virus proteins involved in evading host defence systems. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2004; 100(3–4): 117–34. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2004.04.002>
24. Dixon L.K., Abrams C.C., Chapman D.G., Zhang F. African swine fever virus. In: Sobrino T.C.M.F., ed. *Animal Viruses Molecular Biology*. Norwich: Caister Academic Press; 2008: 457–521.
25. Gomez-Villamandos J.C., Bautista M.J., Carrasco L., Chacon-Manrique de Lara F., Hervás J., Wilkinson P.J., et al. Thrombocytopenia associated with apoptotic megakaryocytes in a viral haemorrhagic syndrome induced by a moderately virulent strain of African swine fever virus. *J. Comp. Pathol.* 1998; 118(1): 1–13. [https://doi.org/10.1016/s0021-9975\(98\)80023-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9975(98)80023-6)
26. Goatley L.C., Twigg S.R., Miskin J.E., Monaghan P., St-Arnaud R., Smith G.L., et al. The African swine fever virus protein p72 binds to the alpha chain of nascent polypeptide-associated complex. *J. Virol.* 2002; 76(19): 9991–9. <https://doi.org/10.1128/jvi.76.19.9991-9999.2002>
27. Zsak L., Lu Z., Burrage T.G., Neilan J.G., Kutish G.F., Moore D.M., et al. African swine fever virus multigene family 360 and 530 genes are novel macrophage host range determinants. *J. Virol.* 2001; 75(7): 3066–76. <https://doi.org/10.1128/jvi.75.7.3066-3076.2001>
28. Tulman E.R., Rock D.L. Novel virulence and host range genes of African swine fever virus. *Curr. Opin. Microbiol.* 2001; 4(4): 456–61. [https://doi.org/10.1016/s1369-5274\(00\)00235-6](https://doi.org/10.1016/s1369-5274(00)00235-6)
29. Rock D.L. Challenges for African swine fever vaccine development – “...perhaps the end of the beginning.” *Vet. Microbiol.* 2017; 206: 52–8. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.10.003>
30. Blome S., Gabriel C., Beer M. Modern adjuvants do not enhance the efficacy of an inactivated African swine fever virus vaccine preparation. *Vaccine*. 2014; 32(31): 3879–82. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.05.051>
31. Alonso C., Galindo I., Cuesta-Geijo M.A., Cabezas M., Hernaiz B., Munoz-Moreno R. African swine fever virus-cell interactions: From virus entry to cell survival. *Virus Res.* 2013; 173(1): 42–57. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.12.006>
32. Borca M.V., Irusta P., Carrillo C., Afonso C.L., Burrage T., Rock D.L. African swine fever virus structural protein p72 contains

- a conformational neutralizing epitope. *Virology*. 1994; 201(2): 413–8. <https://doi.org/10.1006/viro.1994.1311>
33. Onisk D., Borca M., Kutish S., Kramer E., Irusta P., Rock D.L. Passively transferred African swine fever virus antibodies protect swine against lethal infection. *Virology*. 1994; 198(1): 350–4. <https://doi.org/10.1006/viro.1994.1040>
 34. Escribano J.M., Galindo I., Alonso C. Antibody-mediated neutralization of African swine fever virus: Myths and facts. *Virus Res*. 2013; 173(1): 101–9. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.10.012>
 35. Ruiz-Gonzalvo F., Carnero M.E., Caballero C., Martínez J. Inhibition of African swine fever infection in the presence of immune sera in vivo and in vitro. *Am. J. Vet. Res*. 1986; 47(6): 1249–52.
 36. Halstead S.B., Chow J., Marchette N.J. Immunologic enhancement of Dengue virus replication. *Nat. New Biol*. 1973; 243(122): 24–6.
 37. Tirado S.M., Yoon K.J. Antibody-dependent enhancement of virus infection and disease. *Viral Immunol*. 2003; 16(1): 69–86. <https://doi.org/10.1089/088282403763635465>
 38. Першин А.С., Ремыга С.Г., Шевченко И.В., Жуков И.Ю., Шевцов А.А., Ерофеев С.Г. и др. Влияние пассивной иммунизации на клинические и патологоанатомические изменения у свиней, зараженных изолятом Мартинс-Крым 01/16 вируса АЧС. *Ветеринария*. 2018; (1): 25–31. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2018.21.1.25-31>
 39. Hanada K., Suzuki Y., Gojobori T. A large variation in the rates of synonymous substitution for RNA viruses and its relationship to a diversity of viral infection and transmission modes. *Mol. Biol. Evol*. 2004; 21(6): 1074–80. <https://doi.org/10.1093/molbev/msh109>
 40. Gómez-Puertas P., Rodríguez F., Oviedo J.M., Brun A., Alonso C., Escribano J.M. The African swine fever virus proteins p54 and p30 are involved in two distinct steps of virus attachment and both contribute to the antibody-mediated protective immune response. *Virology*. 1998; 243(2): 461–71. <https://doi.org/10.1006/viro.1998.9068>
 41. Neilan J.G., Zsak L., Lu Z., Burrage T.G., Kutish G.F., Rock D.L. Neutralizing antibodies to African swine fever virus proteins p30, p54, and p72 are not sufficient for antibody-mediated protection. *Virology*. 2004; 319(2): 337–42. <https://doi.org/10.1016/j.viro.2003.11.011>
 42. Ruiz-Gonzalvo F., Rodriguez F., Escribano J. Functional and immunological properties of the baculovirus-expressed hemagglutinin of African swine fever virus. *Virology*. 1996; 218(1): 285–9. <https://doi.org/10.1006/viro.1996.0193>
 43. Goatley L.C., Reis A.L., Portugal R., Goldswain H., Shimmon G.L., Hargreaves Z., et al. A pool of eight virally vectored African swine fever antigens protect pigs against fatal disease. *Vaccines (Basel)*. 2020; 8(2): 234. <https://doi.org/10.3390/vaccines8020234>
 44. Leitão A., Cartaxeiro C., Coelho R., Cruz B., Parkhouse R.M.E., Portugal F.C., et al. The non-haemadsorbing African swine fever virus isolate ASFV/NH/P68 provides a model for defining the protective anti-virus immune response. *J. Gen. Virol*. 2001; 82(Pt. 3): 513–23. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-82-3-513>
 45. Mulumba-Mfumu L.K., Goatley L.C., Saegerman C., Takamatsu H.H., Dixon L.K. Immunization of African indigenous pigs with attenuated genotype I African swine fever virus OURT88/3 induces protection against challenge with virulent strains of genotype I. *Transbound. Emerg. Dis*. 2016; 63(5): e323–7. <https://doi.org/10.1111/tbed.12303>
 46. Takamatsu H.H., Denyer M.S., Lacasta A., Stirling C.M., Argilagué J.M., Netherton C.L., et al. Cellular immunity in ASFV responses. *Virus Res*. 2013; 173(1): 110–21. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.11.009>
 47. Oura C.A.L., Denyer M.S., Takamatsu H., Parkhouse R.M.E. In vivo depletion of CD8⁺ T lymphocytes abrogates protective immunity to African swine fever virus. *J. Gen. Virol*. 2005; 86(Pt. 9): 2445–50. <https://doi.org/10.1099/vir.0.81038-0>
 48. Arias M., de la Torre A., Dixon L., Gallardo C., Jori F., Laddomada A., et al. Approaches and perspectives for development of African swine fever virus vaccines. *Vaccines (Basel)*. 2017; 5(4): 35. <https://doi.org/10.3390/vaccines5040035>
 49. Gallardo C., Soler A., Nieto R., Cano C., Pelayo V., Sánchez M.A., et al. Experimental infection of domestic pigs with African swine fever virus Lithuania 2014 genotype II field isolate. *Transbound. Emerg. Dis*. 2017; 64(1): 300–4. <https://doi.org/10.1111/tbed.12346>
 50. Sanford B., Holinka L., O'Donnell V., Krug P., Carlson J., Alfano M., et al. Deletion of the thymidine kinase gene induces complete attenuation of the Georgia isolate of African swine fever virus. *Virus Res*. 2016; 213: 165–71. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2015.12.002>
 51. Reis A.L., Abrams C.C., Goatley L.C., Netherton C., Chapman D.G., Sanchez-Cordon P., et al. Deletion of African swine fever virus interferon inhibitors from the genome of a virulent isolate reduces virulence in domestic pigs and induces a protective response. *Vaccine*. 2016; 34(39): 4698–705. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.08.011>
 52. Borca M.V., Ramirez-Medina E., Silva E., Vuono E., Rai A., Pruitt S., et al. Development of a highly effective African Swine Fever virus vaccine by deletion of the I177L gene results in sterile immunity against the current epidemic Eurasia strain. *J. Virol*. 2020; 94(7): e02017-19. <https://doi.org/10.1128/JVI.02017-19>
 53. O'Donnell V., Holinka L.G., Gladue D.P., Sanford B., Krug P.W., Lu X., et al. African swine fever virus Georgia isolate harboring deletions of MGF360 and MGF505 genes is attenuated in swine and confers protection against challenge with virulent parental virus. *J. Virol*. 2015; 89(11): 6048–56. <https://doi.org/10.1128/JVI.00554-15>
 54. Barasona J.A., Gallardo C., Cadenas-Fernández E., Jurado C., Rive-ra B., Rodríguez-Bertos A., et al. First oral vaccination of Eurasian wild boar against African swine fever virus genotype II. *Front. Vet. Sci*. 2019; 6: 137. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00137>
 55. Monteagudo P.L., Lacasta A., López E., Bosch L., Collado J., Pina-Pedrero S., et al. BA71ΔCD2: a new recombinant live attenuated African swine fever virus with cross-protective capabilities. *J. Virol*. 2017; 91(21): e01058-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.01058-17>
 56. Argilagué J.M., Pérez-Martín E., Nofrarias M., Gallardo C., Accensi F., Lacasta A., et al. DNA vaccination partially protects against African swine fever virus lethal challenge in the absence of antibodies. *PLoS One*. 2012; 7(9): e40942. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040942>
 57. Lokhandwala S., Petrovan V., Popescu L., Sangewar N., Elijah C., Stoian A., et al. Adenovirus-vectored African Swine Fever Virus antigen cocktails are immunogenic but not protective against intranasal challenge with Georgia 2007/1 isolate. *Vet. Microbiol*. 2019; 235: 10–20. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.06.006>
 58. Lacasta A., Ballester M., Monteagudo P.L., Rodríguez J.M., Salas M.L., Accensi F., et al. Expression library immunization can confer protection against lethal challenge with African swine fever virus. *J. Virol*. 2014; 88(22): 13322–32. <https://doi.org/10.1128/JVI.01893-14.58>
 59. Nedosekov V., Martyniuk A., Stepanova T., Yustyniuk V., Gulyukina I., Parshikova A., et al. Chlamydiae of dogs and cats in modern cities. *E3S Web Conf*. 2021; 258: 04004. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202125804004>

References

1. Mebus C. African swine fever. *Adv. Virus Res*. 1988; 35: 251–69.
2. Dixon L.K., Abrams C.C., Chapman D.G., Zhang F. African swine fever virus. In: Mettenleiter T.C., Sobrino F., eds. *Animal Viruses: Molecular Biology*. Norfolk: Caister Academic Press; 2008: 457–521.
3. Sanchez-Vizcaino J.M., Martinez-Lopez B., Martinez-Aviles M., Martins C., Boinas F., Vial L., et al. Scientific review on African swine fever. *EFSA Supporting Publications*. 2009; 6(8): 5E.
4. Montgomery R.E. On a form of swine fever occurring in British East Africa (Kenya Colony). *J. Comp. Pathol*. 1921; 34: 159–91.
5. Dixon L.K., Costa J.V., Escribano J.M., Rock D.L., Vinuela E., Wilkinson P.J. Family Asfarviridae. In: Van Regenmortel M.H.V., Fauquet C.M., Bishop D.H.L., Carestens E.B., Estes M.K., Lemon S.M., eds. *Virus Taxonomy: Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego: Summers Academic Press; 2000: 159–65.
6. Colson P., De Lamballerie X., Yutin N., Asgari S., Bigot Y., Bideshi D.K., et al. “Megavirales”, a proposed new order for eukaryotic nucleocytoplasmic large DNA viruses. *Arch. Virol*. 2013; 158(12): 2517–21. <https://doi.org/10.1007/s00705-013-1768-6>
7. Gulyukin M.I. 120 years of the All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after Y.R. Kovalenko. *Trudy Vserossiyskogo NII eksperimental'noy veterinarii im. Ya.R. Kovalenko*. 2018; 80(1): 12–36. <https://doi.org/10.30917/ATT-PRINT-2018-1> (in Russian)
8. Mitin N.I., Balyshev V.M., Fedorishchev I.V., Shevchenko A.A., Petrov Yu.I. Classification scheme of the ASF virus. В кн.: *Materials of the Scientific Conference of the All-Russian Research Institute of Veterinary Virology and Microbiology. Volume 1 [Materialy*

- nauchnoy konferentsii VNIIViM. Tom 1]. Pokrov; 1986: 69–73. (in Russian)
9. Vishnyakov I.F., Mitin N.I., Petrov Yu.I., Cheryatnikov L.L., Kiselev A.V., Burlakov V.A., et al. Seroimmunological classification of natural isolates of the African swine fever virus. In: *Topical Issues of Veterinary Virology: Materials of the Scientific and Practical Conference «Classical Swine Fever – Urgent Problems of Science and Practice» [Aktual'nye voprosy veterinarnoy virusologii: materialy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Klassicheskaya chuma sviney – neotlozhnye problemy nauki i praktiki»]*. Pokrov; 1995: 141–3. (in Russian)
 10. Burlakov V.A. *Immunological properties of the virus and the problems of developing specific ASF prevention tools*: Diss. Pokrov; 1979. (in Russian)
 11. Balyshv V.M., Knize A.V., Tsybanov S.Zh. ASF geography and serotype heterogeneity of the pathogen. In: *Materials of the Conference of the Moscow Veterinary Academy [Materialy konferentsii Moskovskoy veterinarnoy akademii]*. Moscow; 1999: 92–4. (in Russian)
 12. Manso-Ribeiro J., Nunes-Petisca J.L., Lopez-Fraza F., Sobral M. Vaccination against ASF. *Bull. Off. Int. Epizoot.* 1963; 60: 921–37.
 13. Boinas F., Hutchings G., Dixon L., Wilkinson P. Characterization of pathogenic and non-pathogenic African swine fever virus isolates from Ornithodoros erraticus inhabiting pig premises in Portugal. *J. General. Virol.* 2004; 85(Pt. 8): 2177–87. <https://doi.org/10.1099/vir.0.80058-0>
 14. Morgunov Yu.P., Petrov Yu.I. Study of the immunological properties of ASF type 5 virus: isolation, identification and typing of the reference strain. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh.* 2010; (4): 104–11. (in Russian)
 15. Balyshv V.M., Lagutkin N.A., Salina M.V., Zubairov M.M., Fedorishchev I.V., Karpov G.M. Express method of obtaining type-specific reference serums in ASF. In: *Materials of the International Scientific and Practical Conference «Diagnostics, Prevention and Measures to Combat Especially Dangerous and Exotic Animal Diseases» [Materialy Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Diagnostika, profilaktika i mery bor'by s osobo opasnymi i ekzoticheskimi boleznyami zhivotnykh»]*. Pokrov; 1998: 64–5. (in Russian)
 16. Carrascosa J.L., Carazo J.M., Carrascosa A.L., Garcia N., Santesteban A., Vinuela E., et al. General morphology and capsid fine structure of African swine fever virus particles. *Virology.* 1984; 132(1): 160–72.
 17. Salas M.L., Andrés M.G. African swine fever virus morphogenesis. *Virus Res.* 2012; 173(1): 29–41. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.09.016>
 18. Dixon L.K., Baylis S.A., Vydelingum S., Twigg S.R., Hammond J.M., Hingamp P.M., et al. African swine fever virus genome content and variability. *Arch. Virol. Suppl.* 1993; 7: 185–99. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-9300-6_15
 19. Dixon L.K., Chapman D.A., Netherton C.L., Upton C. African swine fever virus replication and genomics. *Virus Res.* 2013; 173: 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.10.020>
 20. Yáñez R.J., Rodríguez J.M., Nogal M.L., Yuste L., Enriquez C., Rodríguez J.F., et al. Analysis of the complete nucleotide sequence of African swine fever virus. *Virology.* 1995; 208(1): 249–78. <https://doi.org/10.1006/viro.1995.1149>
 21. Gonzalez A., Talavera A., Almendral J.M., Viñuela E. Hairpin loop structure of African swine fever virus DNA. *Nucleic Acids Res.* 1986; 14(17): 6835–44. <https://doi.org/10.1093/nar/14.17.6835>
 22. Vlasova N.N., Vlasova A.N. African Swine Fever Virus pathogenesis and vaccine development: challenges and possible approaches. Charter I. In: *Fevers: Types, Treatments and Health Risks*. New York: Nova Science Publishers, Inc.; 2013: 3–26.
 23. Dixon L.K., Abrams C.C., Bowick G., Goatley L.C., Kay-Jackson P.C., Chapman D., et al. African swine fever virus proteins involved in evading host defence systems. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2004; 100(3-4): 117–34. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2004.04.002>
 24. Dixon L.K., Abrams C.C., Chapman D.G., Zhang F. African swine fever virus. In: Sobrino T.C.M.F., ed. *Animal Viruses Molecular Biology*. Norwich: Caister Academic Press; 2008: 457–521.
 25. Gomez-Villamandos J.C., Bautista M.J., Carrasco L., Chacon-Manrique de Lara F., Hervas J., Wilkinson P.J., et al. Thrombocytopenia associated with apoptotic megakaryocytes in a viral haemorrhagic syndrome induced by a moderately virulent strain of African swine fever virus. *J. Comp. Pathol.* 1998; 118(1): 1–13. [https://doi.org/10.1016/s0021-9975\(98\)80023-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9975(98)80023-6)
 26. Goatley L.C., Twigg S.R., Miskin J.E., Monaghan P., St-Arnaud R., Smith G.L., et al. The African swine fever virus protein p72 binds to the alpha chain of nascent polypeptide-associated complex. *J. Virol.* 2002; 76(19): 9991–9. <https://doi.org/10.1128/jvi.76.19.9991-9999.2002>
 27. Zsak L., Lu Z., Burrage T.G., Neilan J.G., Kutish G.F., Moore D.M., et al. African swine fever virus multigene family 360 and 530 genes are novel macrophage host range determinants. *J. Virol.* 2001; 75(7): 3066–76. <https://doi.org/10.1128/jvi.75.7.3066-3076.2001>
 28. Tulman E.R., Rock D.L. Novel virulence and host range genes of African swine fever virus. *Curr. Opin. Microbiol.* 2001; 4(4): 456–61. [https://doi.org/10.1016/s1369-5274\(00\)00235-6](https://doi.org/10.1016/s1369-5274(00)00235-6)
 29. Rock D.L. Challenges for African swine fever vaccine development – “...perhaps the end of the beginning.” *Vet. Microbiol.* 2017; 206: 52–8. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.10.003>
 30. Blome S., Gabriel C., Beer M. Modern adjuvants do not enhance the efficacy of an inactivated African swine fever virus vaccine preparation. *Vaccine.* 2014; 32(31): 3879–82. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.05.051>
 31. Alonso C., Galindo I., Cuesta-Geijo M.A., Cabezas M., Hernaiz B., Munoz-Moreno R. African swine fever virus-cell interactions: From virus entry to cell survival. *Virus Res.* 2013; 173(1): 42–57. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.12.006>
 32. Borca M.V., Irusta P., Carrillo C., Afonso C.L., Burrage T., Rock D.L. African swine fever virus structural protein p72 contains a conformational neutralizing epitope. *Virology.* 1994; 201(2): 413–8. <https://doi.org/10.1006/viro.1994.1311>
 33. Onisk D., Borca M., Kutish S., Kramer E., Irusta P., Rock D.L. Passively transferred African swine fever virus antibodies protect swine against lethal infection. *Virology.* 1994; 198(1): 350–4. <https://doi.org/10.1006/viro.1994.1040>
 34. Escribano J.M., Galindo I., Alonso C. Antibody-mediated neutralization of African swine fever virus: Myths and facts. *Virus Res.* 2013; 173(1): 101–9. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.10.012>
 35. Ruiz-Gonzalvo F., Carnero M.E., Caballero C., Martínez J. Inhibition of African swine fever infection in the presence of immune sera in vivo and in vitro. *Am. J. Vet. Res.* 1986; 47(6): 1249–52.
 36. Halstead S.B., Chow J., Marchette N.J. Immunologic enhancement of Dengue virus replication. *Nat. New Biol.* 1973; 243(122): 24–6.
 37. Tirado S.M., Yoon K.J. Antibody-dependent enhancement of virus infection and disease. *Viral Immunol.* 2003; 16(1): 69–86. <https://doi.org/10.1089/088282403763635465>
 38. Pershin A.S., Remyga S.G., Shevchenko I.V., Zhukov I.Yu., Shevtsov A.A., Erofeev S.G. Influence of passive immunization on clinical and pathological features of pigs infection with isolate Martins-Crimea 01/16 ASFV. *Veterinariya.* 2018; (1): 25–31. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2018.21.1.25-31> (in Russian)
 39. Hanada K., Suzuki Y., Gojbori T. A large variation in the rates of synonymous substitution for RNA viruses and its relationship to a diversity of viral infection and transmission modes. *Mol. Biol. Evol.* 2004; 21(6): 1074–80. <https://doi.org/10.1093/molbev/msh109>
 40. Gómez-Puertas P., Rodríguez F., Oviedo J.M., Brun A., Alonso C., Escribano J.M. The African swine fever virus proteins p54 and p30 are involved in two distinct steps of virus attachment and both contribute to the antibody-mediated protective immune response. *Virology.* 1998; 243(2): 461–71. <https://doi.org/10.1006/viro.1998.9068>
 41. Neilan J.G., Zsak L., Lu Z., Burrage T.G., Kutish G.F., Rock D.L. Neutralizing antibodies to African swine fever virus proteins p30, p54, and p72 are not sufficient for antibody-mediated protection. *Virology.* 2004; 319(2): 337–42. <https://doi.org/10.1016/j.viro.2003.11.011>
 42. Ruiz-Gonzalvo F., Rodríguez F., Escribano J. Functional and immunological properties of the baculovirus-expressed hemagglutinin of African swine fever virus. *Virology.* 1996; 218(1): 285–9. <https://doi.org/10.1006/viro.1996.0193>
 43. Goatley L.C., Reis A.L., Portugal R., Goldswain H., Shimmion G.L., Hargreaves Z., et al. A pool of eight virally vectored African swine fever antigens protect pigs against fatal disease. *Vaccines (Basel).* 2020; 8(2): 234. <https://doi.org/10.3390/vaccines8020234>
 44. Leitão A., Cartaxeiro C., Coelho R., Cruz B., Parkhouse R.M.E., Portugal F.C., et al. The non-haemadsorbing African swine fever virus isolate ASFV/NH/P68 provides a model for defining the protective anti-virus immune response. *J. Gen. Virol.* 2001; 82(Pt. 3): 513–23. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-82-3-513>

45. Mulumba-Mfumu L.K., Goatley L.C., Saegerman C., Takamatsu H.H., Dixon L.K. Immunization of African indigenous pigs with attenuated genotype I African swine fever virus OURT88/3 induces protection against challenge with virulent strains of genotype I. *Transbound. Emerg. Dis.* 2016; 63(5): e323–7. <https://doi.org/10.1111/tbed.12303>
46. Takamatsu H.H., Denyer M.S., Lacasta A., Stirling C.M., Argilagué J.M., Netherton C.L., et al. Cellular immunity in ASFV responses. *Virus Res.* 2013; 173(1): 110–21. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.11.009>
47. Oura C.A.L., Denyer M.S., Takamatsu H., Parkhouse R.M.E. In vivo depletion of CD8⁺ T lymphocytes abrogates protective immunity to African swine fever virus. *J. Gen. Virol.* 2005; 86(Pt. 9): 2445–50. <https://doi.org/10.1099/vir.0.81038-0>
48. Arias M., de la Torre A., Dixon L., Gallardo C., Jori F., Laddomada A., et al. Approaches and perspectives for development of African swine fever virus vaccines. *Vaccines (Basel)*. 2017; 5(4): 35. <https://doi.org/10.3390/vaccines5040035>
49. Gallardo C., Soler A., Nieto R., Cano C., Pelayo V., Sánchez M.A., et al. Experimental infection of domestic pigs with African swine fever virus Lithuania 2014 genotype II field isolate. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64(1): 300–4. <https://doi.org/10.1111/tbed.12346>
50. Sanford B., Holinka L., O'Donnell V., Krug P., Carlson J., Alfano M., et al. Deletion of the thymidine kinase gene induces complete attenuation of the Georgia isolate of African swine fever virus. *Virus Res.* 2016; 213: 165–71. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2015.12.002>
51. Reis A.L., Abrams C.C., Goatley L.C., Netherton C., Chapman D.G., Sanchez-Cordon P., et al. Deletion of African swine fever virus interferon inhibitors from the genome of a virulent isolate reduces virulence in domestic pigs and induces a protective response. *Vaccine*. 2016; 34(39): 4698–705. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.08.011>
52. Borca M.V., Ramirez-Medina E., Silva E., Vuono E., Rai A., Pruitt S., et al. Development of a highly effective African Swine Fever virus vaccine by deletion of the I177L gene results in sterile immunity against the current epidemic Eurasia strain. *J. Virol.* 2020; 94(7): e02017-19. <https://doi.org/10.1128/JVI.02017-19>
53. O'Donnell V., Holinka L.G., Gladue D.P., Sanford B., Krug P.W., Lu X., et al. African swine fever virus Georgia isolate harboring deletions of MGF360 and MGF505 genes is attenuated in swine and confers protection against challenge with virulent parental virus. *J. Virol.* 2015; 89(11): 6048–56. <https://doi.org/10.1128/JVI.00554-15>
54. Barasona J.A., Gallardo C., Cadenas-Fernández E., Jurado C., Rivera B., Rodríguez-Bertos A., et al. First oral vaccination of Eurasian wild boar against African swine fever virus genotype II. *Front. Vet. Sci.* 2019; 6: 137. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00137>
55. Monteagudo P.L., Lacasta A., López E., Bosch L., Collado J., Pina-Pedrero S., et al. BA71ΔCD2: a new recombinant live attenuated African swine fever virus with cross-protective capabilities. *J. Virol.* 2017; 91(21): e01058-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.01058-17>
56. Argilagué J.M., Pérez-Martín E., Nofrarias M., Gallardo C., Accensi F., Lacasta A., et al. DNA vaccination partially protects against African swine fever virus lethal challenge in the absence of antibodies. *PLoS One*. 2012; 7(9): e40942. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040942>
57. Lokhandwala S., Petrovan V., Popescu L., Sangewar N., Elijah C., Stoian A., et al. Adenovirus-vectored African Swine Fever Virus antigen cocktails are immunogenic but not protective against intranasal challenge with Georgia 2007/1 isolate. *Vet. Microbiol.* 2019; 235: 10–20. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.06.006>
58. Lacasta A., Ballester M., Monteagudo P.L., Rodríguez J.M., Salas M.L., Accensi F., et al. Expression library immunization can confer protection against lethal challenge with African swine fever virus. *J. Virol.* 2014; 88(22): 13322–32. <https://doi.org/10.1128/JVI.01893-14.58>
59. Nedosekov V., Martyniuk A., Stepanova T., Yustyniuk V., Gulyukina I., Parshikova A., et al. Chlamydiosis of dogs and cats in modern cities. *E3S Web Conf.* 2021; 258: 04004. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202125804004>