

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

<https://doi.org/10.36233/0507-4088-112>

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022



# Альтернативные подходы к диагностике африканской чумы свиней на территории Российской Федерации в 2017–2021 гг.

Шотин А.Р., Мазлум А., Иголкин А.С., Шевченко И.В., Елсукова А.А., Аронова Е.В., Власова Н.Н.

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», 600901, г. Владимир, мкр. Юрьеvec, Россия

**Введение.** В рамках борьбы с африканской чумой свиней (АЧС) на территории Российской Федерации проводятся мониторинговые исследования проб от свиней и кабанов. В ходе рутинной серологической диагностики специфические антитела к вирусу выявляют лишь в единичных образцах. При этом известно об обнаружении на территории России и сопредельных стран изолятов АЧС с ослабленной вирулентностью.

**Целью** данной работы являлись определение возможности использования альтернативных проб и оценка эффективности используемых методов диагностики АЧС у восприимчивых животных на территории РФ.

**Материалы и методы.** В работе использовали биоматериал, полученный в полевых условиях и от экспериментально инфицированных животных.

**Результаты.** Показано, что комплексное тестирование (ПЦР-РВ и ТФ-ИФА) является более эффективным способом диагностики хронической и бессимптомной формы АЧС, чем их раздельное использование. продемонстрирована возможность и эффективность использования альтернативных образцов в диагностике. Подтверждена высокая диагностическая чувствительность иммунопероксидазного метода, его способность выявлять антитела на более ранних, чем ТФ-ИФА, сроках и возможность использования расширенного спектра проб. Антитела к вирусу АЧС выявлены у домашних и диких свиней в пяти федеральных округах РФ. Установлено, что в пробах от инфицированных свиней, отрицательных в ПЦР-РВ, могут быть выявлены специфические антитела к вирусу АЧС при их серологическом исследовании. Наличие генома в образцах суставных тканей указывает на возможность животных с хронической и бессимптомной формой течения болезни выступать переносчиками инфекции. Обнаружение антител в пробах от отстрелянных кабанов (отрицательных или сомнительных в ПЦР-РВ) предполагает существование животных, выживших после инфицирования АЧС.

**Заключение.** Полученные данные требуют пересмотра стратегии надзора за АЧС, внедрения комплексных методов диагностики, направленных на параллельное обнаружение генома и антител и допускающих исследование образцов, альтернативных сыворотке, для обнаружения антител и (или) отбора и направления образцов сыворотки крови, в том числе от кабанов.

**Ключевые слова:** африканская чума свиней; серологическая диагностика; иммунопероксидазный анализ; иммуноферментный анализ; полимеразная цепная реакция; эпизоотология

**Для цитирования:** Шотин А.Р., Мазлум А., Иголкин А.С., Шевченко И.В., Елсукова А.А., Аронова Е.В., Власова Н.Н. Альтернативные подходы к диагностике африканской чумы свиней на территории Российской Федерации в 2017–2021 гг. *Вопросы вирусологии.* 2022; 67(4): 290-303. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-112>

**Для корреспонденции:** Шотин Андрей Романович, младший научный сотрудник референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», 600901, г. Владимир, мкр. Юрьеvec, Россия. E-mail: [shotin@arriah.ru](mailto:shotin@arriah.ru)

**Участие авторов:** Шотин А.Р. – концепция и дизайн исследования; Шотин А.Р., Мазлум А., Власова Н.Н., Аронова Е.В., Шевченко И.В., Елсукова А.А. – лабораторное исследование; Шотин А.Р., Мазлум А., Иголкин А.С. – сбор и обработка материала; Шотин А.Р., Мазлум А., Иголкин А.С., Шевченко И.В. – написание текста; Иголкин А.С., Мазлум А., Аронова Е.В., Власова Н.Н. – редактирование.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках тематики НИР «Проведение прикладных научных исследований за 2020–2021 гг.».

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Этическое утверждение.** Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с Consensus Author Guidelines for Animal Use (IAVES, July 23, 2010). Протокол исследования одобрен Комиссией по биоэтике ФГБУ «ВНИИЗЖ» (протокол б/н от 30.04.2020 г.).

Поступила 27.06.2022

Принята в печать 11.08.2022

Опубликована 31.08.2022

## ORIGINAL ARTICLE

<https://doi.org/10.36233/0507-4088-112>

# Alternative approaches to the diagnosis of African swine fever in the Russian Federation in 2017–2021

Andrey R. Shotin, Ali Mazloun, Alexey S. Igolkin, Ivan V. Shevchenko, Alexandra A. Elsukova, Elena V. Aronova, Natalia N. Vlasova

FGBI “Federal Centre for Animal Health”, 600901, Vladimir, Yuryevets microdistrict, Russia

**Introduction.** Prevention and control of African swine fever (ASF) transmission on the territory of the Russian Federation requires monitoring based on testing of samples from pigs and wild boars. Specific anti-ASFV antibodies are rarely detected in samples during routine serological diagnostics. Although, ASF isolates with weakened virulence were confirmed in Russia and neighboring countries.

**The aim** of this work was to determine the possibility of using alternative samples for ASF diagnosis and evaluate the effectiveness of the diagnostic methods used on the territory of Russia.

**Materials and methods.** Biological materials obtained from experimentally infected animals and samples collected in the “field” conditions were used in this study.

**Results.** Complex testing (RT-PCR and ELISA) is a more effective approach to diagnose chronic and asymptomatic forms of ASF compared to the separate use of these techniques. The possibility and efficiency of using alternative samples in diagnostics are demonstrated. It was confirmed that IPT method overcomes ELISA by high diagnostic sensitivity and detection of antibodies on earlier stages in extended range of samples. Anti-ASFV antibodies were detected in domestic and wild pigs in five regions of Russia. Samples from infected pigs that are negative in RT-PCR can be positive for anti-ASFV antibodies. The detection of antibodies in samples from shot wild boars (negative or uncertain in RT-PCR test) suggests the existence of animals surviving ASF infection.

**Conclusion.** The data obtained suggest a revision of the ASF surveillance strategy, by introducing complex diagnostic methods aimed at detection of both the virus genome and anti-ASFV antibodies simultaneously.

**Keywords:** African swine fever; serological diagnosis; immunoperoxidase analysis; enzyme-linked immunosorbent assay; polymerase chain reaction; epidemiology

**For citation:** Shotin A.R., Mazloun A., Igolkin A.S., Shevchenko I.V., Elsukova A.A., Aronova E.V., Vlasova N.N. Alternative approaches to the diagnosis of African swine fever in the Russian Federation in 2017–2021. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2022; 67(4): 290–303 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-112>

**For correspondence:** Shotin A.R., Junior Researcher, FGBI “Federal Centre for Animal Health”, 600901, Vladimir, Yuryevets microdistrict, Russia. E-mail: [shotin@arria.ru](mailto:shotin@arria.ru)

**Information about the authors:**

Shotin A.R., <https://orcid.org/0000-0001-9884-1841>

Mazloun A., <https://orcid.org/0000-0002-5982-8393>

Igolkin A.S., <https://orcid.org/0000-0002-5438-8026>

Shevchenko I.V., <https://orcid.org/0000-0001-6482-7814>

Elsukova A.A., <https://orcid.org/0000-0003-4524-4941>

Aronova E.V., <https://orcid.org/0000-0002-2072-6701>

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

**Contribution:** Shotin A.R. – research concept and design; Shotin A.R., Mazloun A., Vlasova N.N., Aronova E.V., Shevchenko I.V., Elsukova A.A. – performing of the laboratory research; Shotin A.R., Mazloun A., Igolkin A.S. – collection and processing of the material; Shotin A.R., Mazloun A., Igolkin A.S., Shevchenko I.V. – writing of the text; Igolkin A.S., Mazloun A., Aronova E.V., Vlasova N.N. – editing of the article.

**Funding.** This study was carried out within the scope of research work “Conducting applied scientific research for 2020–2021.”

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

**Ethics approval.** Authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with Consensus Author Guidelines for Animal Use (IAVES, July 23, 2010). The research protocol was approved by the Ethics Committee of the FGBI “Federal Centre for Animal Health” (protocol without number dated 30.04.2020).

Received 27 June 2022

Accepted 11 August 2022

Published 31 August 2022

## Введение

Африканская чума свиней (*Pestis africana suum*, АЧС) – контагиозная септическая болезнь домашних,

в том числе декоративных, свиней и диких кабанов всех возрастов и пород [1–3]. Резервуарами вируса являются бородавочники, кустарниковые, дикие свиньи и клещи рода *Ornithodoros* [4].

Возбудитель АЧС – арбовирус, содержащий двухцепочную дезоксирибонуклеиновую кислоту и отнесённый к отдельному семейству *Asfarviridae*. У чувствительных животных болезнь протекает от сверхострой до бессимптомной формы [5, 6].

В первичных очагах на неэндемичных территориях преобладает острая форма болезни, характеризующаяся коротким инкубационным (2–6 суток) и клиническим (1–5 суток) периодом со смертностью среди восприимчивых животных, близкой к 100%. В эндемичных областях возможно появление и увеличение числа подострых, хронических и субклинических инфекций со снижением смертности, связанные с циркуляцией изолятов вируса со средней и низкой вирулентностью. В этих случаях инфекция может распространяться за счёт того, что в организме инфицированных животных возбудитель болезни присутствует в течение нескольких месяцев, не вызывая каких-либо характерных симптомов, за исключением перемежающейся лихорадки, задержки роста и (или) истощения, являющихся общими (сходными) для целого ряда других болезней, таких как классическая чума свиней, респираторно-репродуктивный синдром, рожа и др. Гибель животных наступает преимущественно в течение нескольких недель после инфицирования, однако часть может выздороветь или остаться субклинически инфицированными в течение неопределённого периода времени [7–12].

С момента заноса в 2007 г. и по настоящий день на территориях РФ и Евразии циркулирует вирус АЧС II генотипа. Сегодня имеются противоречивые данные о роли выживших животных в распространении инфекции. Так, в работах P.L. Eblé и соавт. (2019) и С. Gallardo и соавт. (2015) зарегистрирована передача вируса от переболевших животных контактным [10, 13]. Однако противоположный результат получен в экспериментах I. Nurmoja и соавт. и С. Gallardo и соавт. (2018), где передача вируса выжившими после инфицирования животными контактным отсутствовала. Тем не менее в последней работе у одного из четырех поросят отмечались эпизодические лёгкие клинические признаки болезни и короткая виремия. Следовательно, несмотря на высокий уровень смертности от вируса АЧС II генотипа, широко распространённого за пределами Африканского континента и острова Сардиния (Италия), возможно существование как выживших после переболевания свиней, так и клинически здоровых носителей вируса, способных являться источником возбудителя АЧС [14, 15].

Полевые и экспериментальные данные, полученные в Европе, показывают, что большая часть инфицированных животных умирает до формирования у них защитного иммунитета. Выявление серопозитивных животных (дикие кабаны), которые ранее в вирусологических тестах были диагностированы как положительные по АЧС, либо на пределе их обнаружения, либо отрицательные, свидетельствует о возможности выживания и (или) выздоровления восприимчивых животных после инфекции. При этом возможность последних оставаться носителями вируса обуслов-

ливает риск становления эндемичных зон по АЧС и дальнейшего распространения болезни на новые территории [9, 15].

В Российской Федерации эпизоотия в период с 2016 по 2019 г. имела тренд на снижение количества вспышек, однако на данный момент общая ситуация остаётся напряжённой с вовлечением новых регионов и реинтродукцией возбудителя на оздоровлённые территории [16, 17]. Так, за 2021 г. в РФ официально notified 268 случаев инфекции, в том числе 174 среди домашних свиней и 91 в популяции дикого кабана (по состоянию на 31.12.2021 г.) [18].

В РФ ведущим фактором, способствующим широкому распространению вируса АЧС между регионами страны, являются факты нелегального перемещения инфицированных животных и продукции свиноводства. В случае присутствия и (или) заноса вируса в популяцию дикого кабана эпизоотическая ситуация неблагополучной зоны, как правило, приобретает эндемичный характер и способствует диффузному распространению инфекции как внутри популяции, так и за её пределы [19].

Выбор методов лабораторной диагностики АЧС зависит от эпизоотической ситуации и оснащённости лабораторий. Для обнаружения и идентификации возбудителя Всемирная организация здравоохранения животных (МЭБ) рекомендует использовать полимеразную цепную реакцию (ПЦР), вирусыведение и реакцию прямой иммунофлуоресценции (РПИФ), а для выявления антител – твёрдофазный иммуноферментный анализ (ГФ-ИФА), реакцию непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ), иммуноблоттинг (ИБ) и иммунопероксидазный метод (ИПМ) [20, 21].

При этом выявление всех вспышек (острые, подострые и хронические случаи) с наибольшей точностью и достоверностью возможно исключительно при использовании комплекса вирусологических и серологических методов [9, 10, 22].

Положительный результат на наличие возбудителя или его генома указывает на то, что во время отбора проб тестируемое животное находилось в активной фазе болезни после инфицирования. Одновременное обнаружение возбудителя или его генома и специфических антител к нему указывает на протекающую инфекцию (в том числе возможно хроническую или бессимптомную форму), длящуюся достаточное время для того, чтобы у животного выработались антитела в детектируемых количествах (не менее 7–14 суток в зависимости от животного и метода обнаружения). Обнаружение только специфических антител может указывать на переболевшее АЧС животное. В связи с этим для достижения цели повышения эффективности программ контроля и искоренения инфекции необходимо обладать достоверной информацией по эпизоотической ситуации АЧС на изучаемой территории, что невозможно без совместного применения вирусологических и серологических методов диагностики [15, 23, 24].

При подозрении на АЧС в дополнение к стандартно отбираемым органам (селезёнка, лимфатические

Таблица 1. Количество и вид полевых образцов, использованных в работе

Table 1. Number and type of field samples used in the study

Происхождение Source	Биологический материал Biological materials	Продукция свиноводства Pig products	Сыворотка крови Blood serum	Цельная кровь Whole blood	Всего Total
Кабаны Wild boars	Отстрел Hunted	4	—	3	440
	Падёж Dead	—	—	—	71
Свиньи* Domestic pigs*		21	63	19	186
Всего Total		25	63	22	697

**Примечание.** \*Пробы продукции свиноводства получены от убитых свиней; сыворотка и цельная кровь отобраны прижизненно; пробы биологического материала от свиней не разделялись на категории павших и убитых.

**Note.** \*Samples of pig products were obtained from slaughtered pigs; serum and whole blood were taken from live pigs; samples of biological material were not divided into categories of dead and slaughter.

узлы, почки, лёгкие и костный мозг) следует направлять и образцы сыворотки крови для серологического тестирования [12, 25].

ТФ-ИФА является наиболее часто используемым тестом для рутинной диагностики специфических антител к АЧС в сыворотках крови восприимчивых животных, однако его применение имеет ряд ограничений, связанных с недостаточной чувствительностью метода в случае исследования проб сыворотки крови, полученных в ранние дни после заражения (д.п.з.), так как при его использовании детектирование антител возможно начиная с 12–14-го д.п.з. Ввиду низкой точности при исследовании тканевых экссудатов (специфичность около 80%) метод ТФ-ИФА имеет узкий спектр проб для исследования – в основном это сыворотка крови. Кроме того, положительный результат в ТФ-ИФА требует подтверждения с помощью методов ИБ, ИПМ и (или) РНИФ [9, 15, 22, 24].

Использование метода ИБ возможно для исследования проб сыворотки и гомогенатов тканей, однако реакция плохо масштабируется: она требует наибольших затрат времени на пробоподготовку и проведение исследования, целесообразна лишь при исследовании небольшого числа проб, не превышающего нескольких десятков. При исследовании образцов из районов, где присутствуют хронически инфицированные животные, может быть получена недостоверная картина, затрудняющая интерпретацию результатов. В последнем случае потребуется проведение тестирования альтернативными подтверждающими серологическими методами диагностики, такими как РНИФ и (или) ИПМ [12, 23, 26].

ИПМ превосходит ТФ-ИФА по чувствительности и специфичности при исследовании образцов сыворотки крови. Кроме того, ИПМ позволяет исследовать не только сыворотки, но и пробы крови, экссудата и тканей, а также способен выявлять специфические антитела на более ранних сроках, чем ТФ-ИФА. Ввиду вышесказанного ИПМ является лучшим тестом для серологической диагностики АЧС [9, 15, 22–24].

Сообщения об обнаружении изолятов вируса АЧС со сниженной вирулентностью на территории как РФ,

так и сопредельных стран усложняет раннюю диагностику АЧС и создаёт новые вызовы в борьбе с болезнью [14, 27–30].

В данной статье представлены результаты анализа данных, полученных в ходе обнаружения специфических антител к вирусу АЧС в пробах в период с 2017 по 2021 г. на территории Российской Федерации.

### Материалы и методы

*Полевые образцы* отобраны в соответствии с «Правилами взятия патологического материала, крови, кормов и пересылки их для лабораторного исследования»<sup>1</sup>. Всего исследовано 775 образцов, в том числе 78 проб, полученных ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» («ВНИИЗЖ») в рамках научно-исследовательской работы (НИР), и 697 проб – в рамках государственного задания «Эпизоотический мониторинг» (ЭМ). Образцы для ЭМ были отобраны от домашних свиней и диких кабанов всех возрастов из 27 регионов РФ за период 2017–2021 гг. и включали 587 проб биологического материала (селезёнка, костный мозг и др.), 25 – продукции свиноводства (полуфабрикаты (свинина и кабанье мясо) и субпродукты), 63 пробы сыворотки крови и 22 пробы цельной крови (табл. 1).

Большая часть полевых проб представляла собой образцы, отобраные в 2021 г. (618 проб), в то время как период 2017–2020 гг. представлен 79 пробами.

*Экспериментальные образцы.* В рамках НИР по изучению биологических свойств адаптированного вируса АЧС штамм *ASF/ARRIAH/CV-1/60* в условиях виварного комплекса ФГБУ «ВНИИЗЖ» проведено заражение 12 поросят крупной белой породы массой 15–20 кг. У животных произведён отбор проб крови на 0, 12, 18, 25 и 32-й д.п.з. с последующим разделением на сгусток и сыворотку. На 35-й д.п.з. произведён убой

<sup>1</sup>«Правила взятия патологического материала, крови, кормов и пересылки их для лабораторного исследования» (утв. Минсельхозом СССР 24.06.1971) // Ветеринарное законодательство. М.: Колос, 1972. Т. II.

двух подопытных животных с признаками хронической формы течения АЧС: опухание суставов, перемежающаяся лихорадка и кратковременная (до 18–25 д.п.з.) вирусемия с последующим патолого-анатомическим вскрытием и отбором проб тканей и органов (лимфоузлы, печень, почка, селезёнка, лёгкие, мышечная ткань и ткани поражённых суставов). Таким образом, для исследований отобрано 60 образцов крови (разделённая на сгусток и сыворотку) и 18 проб органов и тканей.

Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с Consensus Author Guidelines for Animal Use (IAVES, July 23, 2010). Протокол исследования одобрен Комиссией по биоэтике ФГБУ «ВНИИЗЖ» (протокол б/н от 30.04.2020).

Обнаружение антител к вирусу АЧС проводили с использованием ТФ-ИФА с помощью коммерческой тест-системы Ingezim PPA Compac (Ingenasa, Испания) в соответствии с инструкцией производителя<sup>2</sup> и иммунопероксидазным методом (используется как референтный метод при проведении серологической диагностики на АЧС) [21], согласно «Методическим рекомендациям по выявлению антител к вирусу африканской чумы свиней иммунопероксидазным методом» (разработчик ФГБУ «ВНИИЗЖ», Владимир)<sup>3</sup>.

С целью обнаружения антител в тканях инфицированных животных использовали супернатанты (надосадочную жидкость), полученные путём изготовления 10% тканевых гомогенатов при добавлении 0,85% NaCl последующей двукратной заморозкой при  $-18 \pm 2^\circ\text{C}$  и центрифугированием при 850 g в течение 30 мин.

Сыворотку крови перед исследованием осветляли центрифугированием при 850 g в течение 10 мин.

Пробы крови использовали без предварительной подготовки.

Пробы мясного сока получали путём двукратного цикла заморозки – оттаивания цельных образцов при  $-18 \pm 2^\circ\text{C}$  с последующим отбором образовавшейся жидкости и её центрифугированием при 850 g в течение 10 мин.

Обнаружение генома вируса АЧС проводили с помощью тест-системы «АЧС» для выявления вируса АЧС методом полимеразной цепной реакции (производитель ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва) согласно прилагаемой инструкции<sup>4</sup>,

а также в соответствии с «Методическими указаниями по выявлению генома вируса африканской чумы свиней методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени» (разработчик ФГБУ «ВНИИЗЖ», Владимир)<sup>5</sup>.

Выделение вируса АЧС проводили согласно «Методическим рекомендациям по выделению и титрованию вируса африканской чумы свиней в культуре клеток селезёнки свиней» (разработчик ФГБУ «ВНИИЗЖ», Владимир)<sup>6</sup>.

## Результаты

В результате экспериментального заражения свиней установлено, что адаптированный вариант вируса АЧС ASF/ARRIAH/CV-1/60 вызывает хроническую или бессимптомную форму течения болезни. У животных в ходе эксперимента наблюдались перемежающаяся лихорадка, опухание суставов конечностей и кратковременная (до 12–32 д.п.з.) вирусемия. Результаты исследования проб крови от экспериментально заражённых животных с помощью методов ПЦР-РВ (в реальном времени), ИПМ и ТФ-ИФА представлены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, специфические антитела к вирусу АЧС детектировали в пробах крови всех заражённых животных начиная с 12-го д.п.з. в ИПМ и только с 32-го д.п.з. в ТФ-ИФА. Доля проб, содержащих геном вируса АЧС, уменьшалась на протяжении эксперимента: так, на 12-й д.п.з. положительными в ПЦР-РВ являлись 67% заражённых животных, а к 32-му д.п.з. все животные имели негативный статус по наличию генома возбудителя в крови. Использование комбинации ПЦР-РВ и ТФ-ИФА в течение эксперимента показало большую долю обнаружения инфицированных животных, чем использование только одного из них.

Образцы органов от двух убитых свиней, имеющих клинические признаки хронической формы АЧС (опухание суставов конечностей), отрицательные по наличию генома возбудителя АЧС в крови на 35-й д.п.з. исследовали параллельно на наличие генома вируса и специфических антител к нему методами ПЦР-РВ и ИПМ.

Геном вируса АЧС детектировали исключительно при исследовании проб суставных тканей от двух убитых животных № 1 и 2 ( $Ct = 14,57$  и  $18,13$  соответственно), сомнительный результат ( $Ct = 26,45$ ) получен при исследовании мышечной ткани свиньи № 1. Образец считали положительным при величине  $Ct$  менее 20, сомнительным – от 20 до 35, отрицательным – при отсутствии значений  $Ct$ . При параллельном исследовании в ИПМ во всех 18 исследованных

<sup>2</sup>Blocking Immunoenzymatic assay for detection of antibodies to African Swine Fever virus (ASFV) in porcine serum. Ingezim PPA COMPAC. Prod Ref: 11.PPA.K3. Last revision: 18-12-18. Ingenasa, Madrid, Spain.

<sup>3</sup>Методические рекомендации по выявлению антител к вирусу африканской чумы свиней иммунопероксидазным методом / А.С. Першин, Т.Н. Комова, А.Р. Шотин [и др.]; ФГБУ «ВНИИЗЖ». Владимир, 2020. 12 с.

<sup>4</sup>Инструкция по применению тест-системы «АЧС» для выявления вируса африканской чумы свиней методом полимеразной цепной реакции (обновление от 18.06.2019) Режим доступа: [https://interlabservice.ru/upload/iblock/f5d/%D0%90%D0%A7%D0%A1\\_%D0%90%D0%95\\_180619.pdf](https://interlabservice.ru/upload/iblock/f5d/%D0%90%D0%A7%D0%A1_%D0%90%D0%95_180619.pdf) (дата обращения: 12.01.2021).

<sup>5</sup>Методические указания по выявлению генома вируса африканской чумы свиней методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени: утв. Россельхознадзором. 2017. 13 с.

<sup>6</sup>Методические рекомендации по выделению и титрованию вируса африканской чумы свиней в культуре клеток селезёнки свиней / А. Мазлум, Д.В. Шарыпова, В.Л. Гаврилова, [и др.]; ФГБУ «ВНИИЗЖ». Владимир, 2019. 24 с.

**Таблица 2. Результаты исследования проб крови с помощью методов ПЦР-РВ, ИПМ и ТФ-ИФА**

**Table 2. Results of the blood samples testing using real-time PCR, IPT and ELISA methods**

День после заражения days post-infection	Доля положительных результатов (%) Percent of positive results (%)			
	ПЦР-РВ Real-time PCR	ИПМ IPT	ТФ-ИФА ELISA	Параллельное тестирование в ПЦР-РВ и ТФ-ИФА Simultaneous testing in real-time PCR and ELISA
0	0	0	0	0
12	67	100	42	75
18	50	100	58	83
25	33	100	67	67
32	0	100	100	100
За всё время During the whole experiment	37	100	67	79

**Примечание.** Сомнительные результаты интерпретировали как положительные ввиду известного статуса животных; отсутствие положительных результатов на 0-й д.п.з. говорит об отсутствии контакта животных с вирусом АЧС до момента начала опыта и не учитывалось при заполнении графы таблицы «За всё время».

**Note.** Uncertain results were interpreted as positive due to the known status of the animals; no positive results at 0 dpi indicates that the animals did not have contact with ASF virus before the start of the experiment and was not taken into account when filling out the table column “During the whole experiment”.

**Таблица 3. Результаты исследования проб от домашних свиней с помощью методов ПЦР-РВ, ИПМ и ТФ-ИФА**

**Table 3. The results of the testing of samples from domestic pigs using real-time PCR, IPT and ELISA methods**

Вид пробы Sample type	Исследовано проб (n) Tested samples (n)	Метод исследования		
		ПЦР-РВ, количество положительных (n (%)) Real-time PCR Positive results (n (%))	ИПМ, количество положительных (n (%)) IPT Positive results (n (%))	ТФ-ИФА, количество положительных/сомнительных (n (%)) ELISA Positive/uncertain results (n (%))
Сыворотка Serum	63	55 (87,3)	50 (79,4)	4 (6,4) / 5 (8)
Кровь Blood	19	19 (100)	6 (31,6)	0 (0) / 0 (0)
Биологический материал Biological material	83	72 (86,8)	27 (32,5)	0 (0) / 0 (0)
Продукция свиноводства Pig products	21	7 (33,3)	3 (14,3)	0 (0) / 0 (0)
Всего Total	186	153 (82,3)	86 (46,2)	4 (6,4) / 5 (8)

**Примечание.** При исследовании всех положительных в ИПМ и ТФ-ИФА образцов методом ПЦР-РВ получен положительный результат.

**Note.** All samples positive in IPT and ELISA were tested positive in real-time PCR.

пробах тканей обнаружили специфические антитела к возбудителю АЧС.

При исследовании полевых образцов сывороток крови от домашних свиней, полученных в 2020–2021 гг. референтной лабораторией по АЧС при реализации государственного задания ЭМ и проведении референтных испытаний, в 153 пробах обнаружили геном вируса АЧС, а в 86 – специфические антитела к возбудителю болезни. Результаты представлены в **табл. 3**.

Как видно из **табл. 3**, геном возбудителя и специфические антитела к вирусу АЧС детектировали во всех группах образцов. При этом геном виру-

са АЧС выявляли во всех *положительных в ИПМ и ТФ-ИФА образцах*. Данные пробы отобраны в период с 2020 по 2021 г. в 5 федеральных округах РФ (**табл. 4**).

Как видно из **табл. 3** и **4**, в образцах сыворотки крови, отобранной в 2021 г. в двух свиноводческих комплексах (СК) Тамбовской области (5 и 50 проб), выявлен как геном (55 проб), так и специфические антитела к вирусу АЧС (50 проб). В то же время при исследовании 5 проб сыворотки в ТФ-ИФА получены сомнительные результаты, а при их тестировании в ИПМ – положительные. Также при случайной вы-

**Таблица 4. Обнаружение генома вируса АЧС и специфических антител к нему в образцах от свиней, отобранных в 2020–2021 гг.**  
**Table 4. Detection of the ASF virus genome and specific antibodies to this virus in samples from pigs collected in 2020–2021**

Федеральный округ Federal district	Регион Region	Сыворотка Serum		Кровь Blood		Продукция свиноводства Pig products		Прочий биологический материал Other biological material		Всего Total	
		Геном Genome	АТ Ab.	Геном Genome	АТ Ab.	Геном Genome	АТ Ab.	Геном Genome	АТ Ab.	Геном Genome	АТ Ab.
Центральный Central	Владимирская область Vladimir	—	—	—	—	2	0	31	6	33	6
	Воронежская область Voronezh	—	—	—	—	—	—	5	1	5	1
	Курская область Kursk	—	—	—	—	—	—	1	1	1	1
	Тамбовская область Tambov	55	50	8	5	—	—	2	—	65	55
	Тверская область Tver	—	—	—	—	3*	1*	—	—	3	1
	Ярославская область Yaroslavl	—	—	—	—	2	2	8	4	10	6
	Всего Total	55	50	8	5	7	3	47	12	117	70
Северо-Западный North-West	Республика Коми Republic of Komi	—	—	—	—	—	—	8	6	8	6
Южный South	Волгоградская область Volgograd	—	—	8	1	—	—	4	—	12	1
Приволжский Volga	Нижегородская область Nizhigorodskaya	—	—	—	—	—	—	2	—	2	0
	Забайкальский край Zabaykali	—	—	—	—	—	—	2	1	2	1
Дальневосточный Far east	Магаданская область Magadan	—	—	—	—	—	—	2	2	2	2
	Приморский край Primoriya	—	—	—	—	—	—	7	6	10	6
	Всего Total	0	0	3	0	0	0	11	9	14	9
Итого Total		55	50	19	6	7	3	72	27	153	86

**Примечание.** АТ – антитела. \*Пробы отобраны в 2020 г.; остальные пробы отобраны в 2021 г. Прочий биологический материал – образцы проб органов (селезёнка, лимфатические узлы, костный мозг и др.).

**Note.** Ab. – antibodies; \*Samples collected in 2020; the remaining samples were collected in 2021. Other biological material – samples of organs (spleen, lymph nodes, bone marrow, etc.).

борке исследовано 5 проб на наличие вируса АЧС, получен положительный результат.

В результате исследований проб крови, отобранных на территории 3 регионов (Приморский край, Волгоградская и Тамбовская области, 2021 г.), специфические антитела обнаружены в 6 образцах (СК Тамбовской области и личные подсобные хозяйства (ЛПХ) Волгоградской области) при использовании ИПМ, при тестировании 2 образцов обнаружен вирус АЧС.

При тестировании методом ПЦР-РВ 7 проб свинины, отобранных в Тверской (2020 г.), Владимирской (2021 г.) и Ярославской (2021 г.) областях, обнаружен геном вируса АЧС. При этом в одной пробе свинины из Тверской области обнаружены специфические антитела, а в двух пробах (1 образец свинины и 1 – субпродуктов) из Ярославской области – антитела и вирус АЧС.

Положительные на геном вируса АЧС пробы биологического материала отобраны на территории 11 регионов. Большая часть проб (31) отобрана на территории четырех ЛПХ двух районов Владимирской области. При этом антитела обнаружили у свиней в 3 хозяйствах. Также антитела детектировали у свиней в ЛПХ Забайкальского и Приморского краёв, Магаданской и Ярославской областей, в пробах от трупов свиней (владелец не установлен), обнаруженных на территориях Курской области и Приморского края.

При исследовании полевых образцов, отобранных от диких кабанов, полученных в 2017–2021 гг. референтной лабораторией по АЧС ФГБУ «ВНИИЗЖ» при реализации ЭМ и референтных (подтверждающих) исследований, в 110 пробах обнаружили геном вируса АЧС, при исследовании 5 проб методом ПЦР-РВ получили сомнительный результат, а в 29 детектировали наличие специфических антител к вирусу АЧС. Результаты представлены в табл. 5.

Как видно из табл. 5, геном вируса АЧС регистрировали во всех группах образцов, за исключением проб крови. Специфические антитела детектировали исключительно в группах прочего биологического материала. При этом во всех образцах от павших кабанов обнаружили геном вируса АЧС и в 16 (22,5%) пробах специфические антитела. В 39 (8,9%) и 5 (1,14%) образцах от отстрелянных животных при исследовании методом ПЦР-РВ получили положительные и сомнительные результаты соответственно, а при исследовании 13 (3%) образцов выявили специфические антитела. Однако при сводной оценке положительных результатов были интерпретированы как положительные уже 45 (10,2%) образцов.

В табл. 6 представлена информация об обнаружении генома и специфических антител в пробах, отобранных от отстрелянных и павших кабанов

Таблица 5. Результаты исследования проб от кабанов методами ПЦР-РВ и ИПМ

Table 5. Results of the testing of samples from wild boars by real-time PCR and IPT

Вид пробы Sample type		Результаты Results			
Отстрел/ падеж Hunted/ Dead	Вид материала Sample type	Исследовано (n) Tested (n)	ПЦР-РВ, количество положительных/ сомнительных (n (%)) Real-time PCR Positive/doubtful (n (%))	ИПМ, количество положительных (n (%)) IPT Positive (n (%))	Параллельное тестирование (ПЦР-РВ + ИПМ), количество положитель- ных/сомнительных (n (%)) Simultaneous testing (real-time PCR and IPT) Positive/uncertain (n (%))
	Кровь Blood	3	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Отстрел Hunted	Прочий биологический материал Other biological material	433	36 (8,3) / 5 (1,15)	13 (3)	42 (9,7) / 4 (0,92)
	Полуфабрикаты Semi manufactured products	4	3 (75) / 0 (0)	0 (0)	3 (75) / 0 (0)
	Всего Total	440	39 (8,9) / 5 (1,14)	13 (3)	45 (10,2) / 4 (0,91)
Павшие Dead	Прочий биологический материал Other Biological materials	71	71 (100) / 0 (0)	16 (22,5)	71 (100) / 0 (0)
	Всего отстрелянных и павших Total dead and hunted	511	110 (21,5) / 5 (0,98)	29 (5,3)	116 (22,7) / 4 (0,78)

**Примечание.** Прочий биологический материал – образцы проб органов (селезёнка, лимфатические узлы, костный мозг и др.).

**Note.** Other biological material – organ samples (spleen, lymph nodes, bone marrow, etc.).

**Таблица 6. Обнаружение генома вируса АЧС и специфических антител к нему в образцах от кабанов, отобранных в 2017–2021 гг.**  
**Table 6. Detection of the ASF virus genome and specific antibodies to this virus in samples from wild boars collected in 2017–2021**

Федеральный округ Federal district	Регион Region	2017		2018		2020		2021		Всего	
		Геном Genome Отстрел/ падёж Hunted/ dead	АТ Ab. Отстрел/ падёж Hunted/ dead	Геном Genome Отстрел/ падёж Hunted/ dead	АТ Ab. Отстрел/ падёж Hunted/ dead	Геном Genome Отстрел/ падёж Hunted/ dead	АТ Ab. Отстрел/ падёж Hunted/ dead	Геном Genome Отстрел/ падёж Hunted/ dead	АТ Ab. Отстрел/ падёж Hunted/ dead	Геном Genome Отстрел/ падёж Hunted/dead	АТ Ab. Отстрел/ падёж Hunted/ dead
	Владимирская область Vladimir	1 (1*) / 0	2 / 0	1 / 0	3 / 0	–	–	0 / 0	1 / 0	2 (1*) / 0	6 / 0
Центральный Central	Калужская область Kaluga	–	–	–	–	–	–	1 / 0	0 / 0	1 / 0	0 / 0
	Ярославская область Yaroslavl	–	–	–	–	–	–	6 / 8	0 / 2	6 / 8	0 / 2
Северо-Западный North-West	Калининградская область Kaliningrad	1 / 2	1 / 0	1 / 0	0 / 0	–	–	–	–	2 / 2	1 / 0
	Волгоградская область Volgograd	–	–	–	–	1 / 0	1 / 0	2 / 0	0 / 0	3 / 0	1 / 0
Южный South	Ростовская область Rostov	–	–	–	–	–	–	0 / 12	0 / 1	0 / 12	0 / 1
	Республика Крым Crimea	–	–	0 / 5	0 / 2	–	–	–	–	0 / 5	0 / 2
Приволжский Volga	Саратовская область Saratov	–	–	–	–	–	–	0 / 7	0 / 1	0 / 7	0 / 1
	Республика Татарстан Republic of Tatarstan	–	–	–	–	4 (4**) / 0	3 / 0	7 / 1	0 / 0	11 (4**) / 1	3 / 0
Дальневосточный Far east	Приморский край Primoriya	–	–	–	–	–	–	5 / 18	0 / 8	5 / 18	0 / 8
	Хабаровский край Khabarovsk	–	–	–	–	–	–	9 / 18	2 / 2	9 / 18	2 / 2
Итого Total		2 (1) / 2	3 / 0	2 / 5	3 / 2	5 (4) / 0	4 / 0	30 / 64	3 / 14	39 (1*, 4**) / 71	13 / 16

**Примечание.** В скобках отмечено количество сомнительных результатов. \*При исследовании методом вирусывыделения получен отрицательный результат. \*\*При исследовании методом вирусывыделения получен положительный результат.

**Note.** Ab. – antibodies. The number of uncertain results is indicated in parentheses. \*Negative result for virus isolation. \*\*Positive result for virus isolation.

в 2017, 2018, 2020 и 2021 г. из 11 регионов 5 федеральных округов.

За указанные годы геном вируса АЧС детектировали у павших и отстрелянных кабанов, при этом большая часть проб (50) отобрана в 2021 г. в Дальневосточном федеральном округе.

Специфические антитела к вирусу АЧС в группе отстрелянных животных также детектировали во все представленные годы (в среднем 3–4 образца в год), при этом большая часть проб отобрана на территории Владимирской области (6 проб). Также поло-

жительные результаты получили при исследовании проб из Калининградской и Волгоградской областей (по 1 пробе), Республики Татарстан (3 пробы) и Хабаровского края (2 пробы).

Положительные результаты ИПМ в группе павших кабанов регистрировали в 2018 и 2021 гг., при этом большая часть проб отобрана в Приморском крае (8 проб). Также положительный результат получили в пробах из Республики Крым (2 пробы), Ярославской (2 пробы), Ростовской (1 проба) и Саратовской (1 проба) областей и Хабаровского края (2 пробы).

Отмечено, что большая часть позитивных на наличие антител и генома АЧС проб представлена образцами, отобранными от диких кабанов в Дальневосточном федеральном округе.

Также следует отметить, что при исследовании сомнительных в ПЦР-РВ образцов с помощью метода вирусыведения в 4 пробах из Республики Татарстан обнаружен вирус АЧС при одновременном отрицательном результате на наличие антител.

Из полученных результатов выделяются случаи регистрации АЧС в образцах из Владимирской области. Так, из всех исследованных проб (59) в 2 образцах обнаружен геном вируса АЧС (восточная часть области, 2017–2018 гг.). При исследовании образца из южной части (2017 г.) в ПЦР-РВ получен сомнительный результат, а при его анализе методом вирусыведения возбудитель выявить не удалось. Помимо этого, при исследовании 6 (3 – западная (2018 г.) и 3 – южная (2017 и 2021 гг.) части Владимирской области) проб ИПМ получен положительный результат, в то время как вирус АЧС и его геном детектировать не удалось.

### Обсуждение

Российская Федерация остаётся неблагополучной по АЧС с момента заноса в 2007 г. Так, на 27 декабря 2021 г. официально нотифицированы 2087 вспышек болезни, в том числе 1256 среди домашних свиней и 831 в популяции дикого кабана [30]. Для борьбы с АЧС в стране разработан комплекс мер, который позволяет в условиях циркуляции вируса АЧС сохранять и развивать свиноводство. Частью этих мер является проведение лабораторных исследований проб (мониторинговые и подтверждающие) как от домашних, так и от диких свиней [16, 31]. Так, из более чем 550 тыс. лабораторных исследований (2011–2017 гг.) положительные результаты получены преимущественно (1645 проб) при использовании ПЦР-РВ, а специфические антитела к вирусу АЧС были выявлены только в 31 пробе сыворотки крови свиней (в том числе 28 в разгар эпизоотии на одном из СК). В то же время в Европейском союзе за период 2014–2017 гг. отмечено ежегодное увеличение выявляемой серопревалентности в популяции диких кабанов, а всего специфические антитела детектировали более чем в 600 образцах, полученных от животных данного вида [32].

Причинами низкого количества обнаружения специфических антител к вирусу АЧС на территории РФ могут являться:

- использование для мониторинговых исследований исключительно метода ТФ-ИФА, который может применяться преимущественно для исследования чистой сыворотки крови (не имеющей следов гемолиза);
- направления в случае подозрения на АЧС только цельной крови или патологического материала для исследования методами ПЦР-РВ и (или) вирусыведения, которые детектируют геном и вирус АЧС соответственно;
- сложности отбора и доставки образцов сыворотки от диких кабанов.

При этом имеются сообщения об обнаружении изолятов вируса со сниженной вирулентностью, выделенных на территории как РФ (Московская и Липецкая области), так и сопредельных стран (Латвия, Эстония и Китай), которые вызывают хроническую и даже бессимптомную формы инфекции. Распространение данных вариантов может значительно усложнить диагностику болезни и, как следствие, борьбу и профилактику [15, 28, 29, 33, 34].

Исследование с помощью стандартных методов диагностики инфекции проб крови от свиней с хронической и бессимптомной формой болезни, полученных при экспериментальном заражении поросят, показало, что на ранних сроках (12-й д.п.з.) при использовании рутинных методов диагностики большая доля (67%) инфицированных животных детектируется при использовании ПЦР-РВ, в то время как на более поздних сроках (32-й д.п.з.) предпочтительным методом является ТФ-ИФА (100%). Однако при сравнении обобщённых результатов наиболее эффективно (79% обнаружения инфицированных животных) проводить тестирование образцов двумя методами параллельно. Использование ПЦР-РВ и ТФ-ИФА по отдельности позволило обнаружить меньшее число заражённых животных (37 и 67% соответственно). При этом использование ИПМ вне зависимости от д.п.з. позволило выявить специфические антитела в 100% исследованных проб.

Параллельное исследование в ПЦР-РВ и ИПМ проб органов и тканей от подопытных животных, убитых на 35-й д.п.з., показало, что предпочтительным методом диагностики является ИПМ, который выявил специфические антитела к вирусу АЧС в 100% отобранных проб органов и тканей. При этом геном вируса АЧС детектировали исключительно в образцах суставной ткани, в то время как исследование общерекомендованных образцов (селезёнка, лимфатические узлы, миндалины, лёгкие, почки, костный мозг) показало отрицательный результат [35]. Полученные данные показывают, что инфицированные свиньи, при исследовании рекомендованных проб от которых в ПЦР-РВ геном возбудителя АЧС не обнаруживается, могут выявляться при тестировании на наличие специфических антител. Наличие генома в пробах суставных тканей указывает на возможность этих животных являться переносчиками и источником инфекции.

С целью изучения серопревалентности и сравнения методов диагностики проведено исследование 697 проб (4 вида), отобранных от домашних свиней, а также отстрелянных и павших диких кабанов на наличие генома, вируса и специфических антител к вирусу АЧС.

Полевые образцы от домашних свиней, отобранные в 2020–2021 гг., представляли собой сыворотку крови, цельную кровь, биологический материал и продукцию свиноводства (полуфабрикаты и субпродукты) и исследованы параллельно на наличие генома (ПЦР-РВ) и специфических антител (ТФ-ИФА для сыворотки крови и ИПМ для всех видов проб).

В большей части проб (82,3%) обнаружен геном вируса АЧС, в то время как антитела детектировали в 86 из 156 образцов, положительных в ПЦР-РВ. Для полевых проб сыворотки, как и в описанном выше опыте, использование ТФ-ИФА позволило обнаружить меньшее количество инфицированных животных (4 пробы), чем ИПМ (50 проб). Результаты экспериментальных исследований подтверждают большую чувствительность ИПМ в сравнении с ТФ-ИФА, что позволяет говорить об отборе проб от животных на ранних сроках инфицирования (3–12-й д.п.з.), а обнаружение специфических антител в альтернативных для серологической диагностики образцах подтверждает возможность исследования проб данного типа, по крайней мере для ИПМ.

Параллельное исследование проб от отстрелянных и павших диких кабанов осуществляли с помощью ПЦР-РВ на наличие генома и ИПМ на наличие специфических антител. Метод ТФ-ИФА не использовали ввиду отсутствия проб сыворотки крови от кабанов.

Пробы от павших кабанов представляли собой образцы, направленные региональными лабораториями в ФГБУ «ВНИИЗЖ» с целью подтверждения диагноза АЧС. При исследовании образцов данного типа в 100% проб получили положительный результат в ПЦР-РВ, а при исследовании ИПМ антитела обнаружены в 22,5% образцов, что может говорить о падеже большей части животных вследствие перенесённой острой или подострой формы инфекции и (или) снижения титра антител (детектируемого в ИПМ) ввиду отбора проб от трупов кабанов на различных стадиях разложения.

При диагностике методом ПЦР-РВ в большей части образцов от отстрелянных кабанов геном вируса АЧС не детектировали (90% проб). Положительный и сомнительный результат получили при исследовании данным методом 39 и 5 проб соответственно. Отрицательный результат для образцов крови и меньшее число общего обнаружения могут быть связаны с исследованием образцов, направленных из благополучных районов для доказательства отсутствия циркуляции вируса АЧС, а высокая доля обнаружения в пробах кабаньего мяса (75%) связана с направлением проб данного вида исключительно с целью подтверждения лабораторного диагноза. Специфические антитела к вирусу АЧС детектировали исключительно в группе образцов биологического материала и составили 3% от общего числа исследованных проб (13).

При этом, в отличие от образцов от домашних свиней и павших кабанов, где антитела детектировали исключительно в пробах, положительных в ПЦР-РВ, а доля их обнаружения была в 1,5–3 раза меньше, чем для случаев обнаружения генома, в группе отстрелянных кабанов параллельное обнаружение генома и антител отмечено только для 7 из 13 образцов, что в 5,5 раза меньше, чем случаи обнаружения генома.

Пробы, положительные в ИПМ, а также сомнительные и отрицательные в ПЦР-РВ, поступили из Владимирской области, где вспышки АЧС регистрировали в 2013–2018 гг. среди как свиней (34 случая), так

и кабанов (29 случаев) практически во всех районах области. При этом в 2016–2018 гг. болезнь регистрировали в тех же районах, где она была установлена в предыдущие годы, что могло быть обусловлено недостаточной эффективностью проведённых ранее противозoonотических мероприятий [36].

При постановке вирусовыделения положительных и сомнительной проб в ПЦР-РВ и проб, положительных в ИПМ, выявили наличие вируса исключительно в группе положительных на наличие вирусного генома. Сомнительный результат в ПЦР-РВ, отрицательный в вирусовыделении и положительный на антитела, мог явиться следствием отбора проб крови после выздоровления при перенесённой хронической или бессимптомной форме инфекции. Наличие положительных на антитела и отрицательных на геном проб, отобранных в южной части Владимирской области в 2017–2021 г. и западной в 2018 г. (последний положительный результат на геном в данных частях региона детектирован в 2017 г.), может являться следствием выздоровления данных животных (в том числе при инфицировании вариантом вируса с пониженной вирулентностью), что требует проведения параллельных (на геном и антитела) исследований с достоверной выборкой.

Таким образом, можно предположить, что на территории Владимирской области циркулировали (циркулируют) как высоковирулентные варианты вируса АЧС в северо-восточной части региона, так и варианты со сниженной вирулентностью в южной и западной частях. Однако положительный результат в ПЦР-РВ и отрицательный на антитела при исследовании проб, отобранных от отстрелянных животных, не даёт информации по свойствам циркулирующего изолята (циркулирующих изолятов) на данной территории и допускает переболевание заражённых им кабанов.

При исследовании образцов от одной группы отстрелянных кабанов, отобранных на территории охотничьего хозяйства Республики Татарстан, в 4 из 6 проб обнаружен геном вируса АЧС, а при исследовании 2 проб получен сомнительный результат. При их анализе методом вирусовыделения во всех образцах обнаружен вирус, в то время как антитела к возбудителю детектировали только в 3 пробах, из которых все были положительны в ПЦР-РВ. Данный факт может свидетельствовать о разном времени заражения животных, инкубационном периоде болезни, индивидуальных особенностях животных и (или) биологических свойствах циркулирующего изолята (циркулирующих изолятов), что требует дополнительного изучения.

В целом специфические антитела к вирусу АЧС детектировали во всех видах образцов в каждом из исследуемых годов, за исключением проб крови и полуфабрикатов от отстрелянных кабанов, отобранных на территории 17 регионов РФ. При этом большая часть серопозитивных образцов отобрана на территориях Центрального и Дальневосточного федеральных округов по 70 и 9 проб среди домашних свиней, а также по 9 и 12 среди кабанов соответственно.

Как и в описанном выше эксперименте, максимальное число инфицированных животных выявляли при параллельном исследовании образцов методами ПЦР и ИПМ. Однако данный результат получен при анализе ограниченного количества образцов от отстрелянных животных. Полученные данные подтверждают необходимость проведения параллельного тестирования проб для выявления большего числа инфицированных животных с разными формами течения болезни и раннего выявления изолятов со сниженной вирулентностью с целью принятия своевременных и редактирования текущих мер борьбы с инфекцией [9, 13, 23, 24, 37, 38].

### Заключение

Эпизоотологическая ситуация по АЧС в РФ остается критичной и напряжённой с вовлечением новых регионов и возвращением болезни на оздоровлённые территории. В рамках борьбы с болезнью на территории страны проводятся мониторинговые исследования проб, полученных как от свиней, так и кабанов, молекулярно-генетическими, серологическими и вирусологическими методами. Однако положительные результаты в подавляющем большинстве случаев регистрируют при исследовании проб методом ПЦР-РВ, что может быть связано с тем, что для проведения исследований на специфические антитела к вирусу АЧС направляются исключительно пробы сыворотки крови, отобранные от домашних свиней из промышленных свиноводческих хозяйств. При этом поступают сообщения о циркуляции изолятов вируса АЧС с ослабленной вирулентностью (в том числе вызывающие хроническую и бессимптомную форму болезни), обнаруженных на территории как РФ (изоляты Odintsovo 02/14 и Lipetsk 12/16), так и сопредельных стран (изоляты Lv17/WB/Rie1 (Латвия), HLJ/HRB1/20 и HeB/Q3/20 (КНР)), что позволяет инфекции стать эндемичной, усложняет её раннюю диагностику, создаёт новые проблемы при борьбе с болезнью и требует проведения параллельной молекулярно-генетической и серологической диагностики [28–30].

Проведена оценка эффективности используемых методов, и изучена возможность использования различных видов проб при диагностике хронической и бессимптомной формы АЧС. Получены подтверждающие данные о меньшей эффективности использования только одного метода исследования при сравнении с комплексным тестированием (ПЦР-РВ и ТФ-ИФА). Подтверждена большая чувствительность и возможность исследования разнообразных видов проб тканей в ИПМ, а также его способность выявлять специфические антитела на более ранних сроках, по сравнению с ТФ-ИФА. Исследование общепринятых образцов тканей и органов, отобранных от животных с хронической формой течения болезни, методом ПЦР-РВ показало отрицательный результат, в то время как геном вируса АЧС выявляли при исследовании проб суставной ткани, а в одном случае получен сомнительный результат в образце мышечной ткани.

Данные, полученные при исследовании полевых проб, подтверждают присутствие серопозитивных животных на территории РФ. Так, положительные результаты на наличие специфических антител получены при исследовании образцов, отобранных на территории 17 регионов РФ, а большая часть положительных в ИПМ проб отобрана на территории Центрального и Дальневосточного федеральных округов.

Тестирование отобранных в полевых условиях проб сыворотки крови в ИПМ позволило выявить наличие антител в большем количестве образцов, по сравнению с ТФ-ИФА (79,4 и 6,4% соответственно).

Обнаружение специфических антител исключительно в образцах, положительных на геном и отобранных от домашних свиней и павших кабанов, может говорить об отборе проб от инфицированных животных с текущим течением АЧС от сверхострой до подострой формы.

Впервые на территории Владимирской области обнаружили специфические антитела в полевых ПЦР-РВ отрицательных и одном сомнительном образцах от отстрелянных кабанов, отобранных в южной (2017 и 2021 гг.) и западной частях (2018 г.). Следует отметить, что официально notiфицированных очагов в вышеназванном регионе начиная с середины 2018 г. не выявлено.

Выявлена особенность течения инфекции в группе образцов от отстрелянных кабанов, отобранных в Республике Татарстан, где в части проб положительный результат получен исключительно при исследовании методом вирусыведения, а вторая часть образцов оказалась положительной по наличию вируса АЧС, его генома и специфических антител.

Полученные данные показывают возможность выживания части животных при инфицировании вирусом АЧС и не исключают вероятность циркуляции изолятов с пониженной вирулентностью, что требует пересмотра применяемой стратегии надзора в отношении болезни, внедрения комплексных методов диагностики, позволяющих проведение исследования образцов, альтернативных сыворотке крови, с целью обнаружения антител и (или) отбора и направления образцов сыворотки крови, в том числе от кабанов, а также доказывают необходимость проведения параллельных исследований проб методами, направленными на обнаружение как генома, так и антител.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Груздев К.Н., Иголкин А.С., Рахманов А.М., Шевцов А.А. Африканская чума свиней в России: распространение и клинико-анатомическое проявление. *Ветеринария сегодня*. 2014; (4): 10–24.
2. Beltran-Alcrudo D., Arias M., Gallardo C., Kramer S., Penrith M.L. *FAO Animal Production and Health Manual No. 19. African swine fever: Detection and diagnosis*. Rome; 2017.
3. Родионова О.М., Бабаков В.А., Колодуб Г.В. О правовой природе компенсации за убой животных в очаге эпизоотии. *Вестник Томского государственного университета. Право*. 2020; (35): 196–215. <https://doi.org/10.17223/22253513/35/17>
4. Пенрит М.Л., Губерти В., Делнер К., Луборт Х. *Пособие по подготовке чрезвычайных планов действий на случай эпидемии африканской чумы свиней. Пособие ФАО по здравоохранению и воспроизводству животных № 8*. Ереван; 2011.

5. Alonso C., Borca M., Dixon L., Revilla Y., Rodriguez F., Escrbano J.M. ICTV Report Consortium. ICTV Virus Taxonomy Profile: Asfarviridae. *J. Gen. Virol.* 2018; 99(5): 613–4. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001049>
6. Pérez J., Fernández A.I., Sierra M.A., Herráez P., Fernández A., Martín de las Mulas J. Serological and immunohistochemical study of African swine fever in wild boar in Spain. *Vet. Rec.* 1998; 143(5): 136–9. <https://doi.org/10.1136/vr.143.5.136>
7. Ремыга С.Г., Першин А.С., Шевченко И.В., Иголкин А.С., Шевцов А.А. Клинические и патологоанатомические изменения у диких европейских кабанов и домашних свиней при заражении вирусом африканской чумы свиней. *Ветеринария сегодня.* 2016; (3): 46–51.
8. Макаров В.В., Сухарев О.И., Цветнова И.В. Эпизоотологическая характеристика вируса африканской чумы свиней. *Ветеринарная практика.* 2013; (1): 6–16.
9. Gallardo M.C., Reoyo A.T., Fernández-Pinero J., Iglesias I., Muñoz M.J., Arias M.L. African swine fever: a global view of the current challenge. *Porcine Health Manag.* 2015; 1: 21. <https://doi.org/10.1186/s40813-015-0013-y>
10. Gallardo C., Soler A., Nieto R., Sánchez M.A., Martins C., Pelayo V., et al. Experimental transmission of African swine fever (ASF) low virulent isolate NH/P68 by surviving pigs. *Transbound. Emerg. Dis.* 2015; 62(6): 612–22. <https://doi.org/10.1111/tbed.12431>
11. Gogin A., Gerasimov V., Malogolovkin A., Kolbasov D. African swine fever in the North Caucasus region and the Russian Federation in years 2007–2012. *Virus Res.* 2013; 173(1): 198–203. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.12.007>
12. Серета А.Д., Дубровская О.А., Имамдинов А.Р., Стрижакова О.М., Васильев А.П., Синдрякова И.П. и др. Лабораторная диагностика хронической и бессимптомной форм африканской чумы свиней. *Сельскохозяйственная биология.* 2016; 51(4): 459–66. <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2016.4.459rus>
13. Eblé P.L., Hagenaars T.J., Weesendorp E., Quak S., Moonen-Leusen H.W., Loeffen W. Transmission of African Swine Fever Virus via carrier (survivor) pigs does occur. *Vet. Microbiol.* 2019; 237: 108345. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.06.018>
14. Nurmoja I., Petrov A., Breidenstein C., Zani L., Forth J.H., Beer M., et al. Biological characterization of African swine fever virus genotype II strains from north-eastern Estonia in European wild boar. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64(6): 2034–41. <https://doi.org/10.1111/tbed.12614>
15. Gallardo C., Nurmoja I., Soler A., Delicado V., Simón A., Martín E., et al. Evolution in Europe of African swine fever genotype II viruses from highly to moderately virulent. *Vet. Microbiol.* 2018; 219: 70–9. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.04.001>
16. Груздев К.Н., Караулов А.К., Иголкин А.С. Опыт борьбы с африканской чумой свиней в Российской Федерации и его значение для других стран. *Ветеринария сегодня.* 2020; (1): 38–43. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2020-1-32-38-43>
17. Петрова О.Н., Коренной Ф.И., Караулов А.К., Шевцов А.А., Гуленкин В.М. Прогноз по африканской чуме свиней в Российской Федерации на 2020 год. Available at: [https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/asf/publications/asf\\_prognoz2020.pdf](https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/asf/publications/asf_prognoz2020.pdf)
18. Россельхознадзор. Эпизоотическая ситуация по АЧС в Российской Федерации в 2021 г.; 2021. Available at: <https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/asf/2021/12-13/01.pdf>
19. Gervasi V., Marcon A., Bellini S., Guberti V. Evaluation of the efficiency of active and passive surveillance in the detection of African Swine Fever in wild boar. *Vet. Sci.* 2019; 7(1): 5. <https://doi.org/10.3390/vetsci7010005>
20. Gallardo C., Nieto R., Soler A., Pelayo V., Fernández-Pinero J., Markowska-Daniel I., et al. Assessment of African swine fever diagnostic techniques as a response to the epidemic outbreaks in eastern European union countries: how to improve surveillance and control programs. *J. Clin. Microbiol.* 2015; 53(8): 2555–65. <https://doi.org/10.1128/JCM.00857-15>
21. OIE Terrestrial Manual 2019. Chapter 3.8.1. African swine fever (infection with African swine fever virus). Available at: [https://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health\\_standards/tahm/3.08.01\\_ASF.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/3.08.01_ASF.pdf)
22. Global African Swine Fever Research Alliance (GARA) Gap Analysis Report; 2018. Available at: <https://go.usa.gov/xPfwr>
23. Gallardo C., Fernández-Pinero J., Arias M. African swine fever (ASF) diagnosis, an essential tool in the epidemiological investigation. *Virus Res.* 2019; 271: 197676. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2019.197676>
24. Mur L., Igolkin A., Varentsova A., Pershin A., Remyga S., Shevchenko I., et al. Detection of African swine fever antibodies in experimental and field samples from the Russian Federation: implications for control. *Transbound. Emerg. Dis.* 2016; 63(5): e436–40. <https://doi.org/10.1111/tbed.12304>
25. Sánchez-Vizcaino J.M., Mur L., Gomez-Villamandos J.C., Carasco L. An update on the epidemiology and pathology of African swine fever. *J. Comp. Pathol.* 2015; 152(1): 9–21. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2014.09.003>
26. Мима К.А., Бурмакина Г.С., Васильев А.П., Казакова А.С., Дубровская О.А., Малоголовкин А.С. и др. Сравнение методов серологической диагностики африканской чумы свиней. *Ветеринария.* 2016; (9): 49–54.
27. Стрижакова О.М., Лыска В.М., Малоголовкин А.С., Новикова М.Б., Сидлик М.В., Ногина И.В. и др. Валидация ИФА-набора для обнаружения антител к вирусу африканской чумы свиней в крови и селезенке домашних свиней и диких кабанов. *Сельскохозяйственная биология.* 2016; 51(6): 845–52. <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2016.6.845rus>
28. Pershin A., Shevchenko I., Igolkin A., Zhukov I., Mazloun A., Aronova E., et al. A long-term study of the biological properties of ASF virus isolates originating from various regions of the Russian Federation in 2013–2018. *Vet. Sci.* 2019; 6(4): 99. <https://doi.org/10.3390/vetsci6040099>
29. Gallardo C., Soler A., Rodze I., Nieto R., Cano-Gómez C., Fernández-Pinero J., et al. Attenuated and non-haemadsorbing (non-HAD) genotype II African swine fever virus (ASFV) isolated in Europe, Latvia 2017. *Transbound. Emerg. Dis.* 2019; 66(3): 1399–404. <https://doi.org/10.1111/tbed.13132>
30. Sun E., Zhang Z., Wang Z., He X., Zhang X., Wang L., et al. Emergence and prevalence of naturally occurring lower virulent African swine fever viruses in domestic pigs in China in 2020. *China Life Sci.* 2021; 64(5): 752–65. <https://doi.org/10.1007/s11427-021-1904-4>
31. Россельхознадзор. Эпизоотическая ситуация по АЧС в Российской Федерации, 2007–2021 гг. Available at: <https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/asf/2021/12-27/03.pdf>
32. Шевцов А.А., Петрова О.Н., Ремыга С.Г., Першин А.С., Груздев К.Н., Иголкин А.С. Анализ проведения лабораторных исследований по ряду вирусных болезней свиней на территории России в 2011–2017 гг. *Ветеринария сегодня.* 2018; (1): 42–8. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2018-1-24-42-48>
33. European Food Safety Authority. Epidemiological analyses of African swine fever in the European Union (November 2018 to October 2019). *EFSA J.* 2020; 18(1): e05996. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.5996>
34. Zani L., Forth J.H., Forth L., Nurmoja I., Leidenberger S., Henke J., et al. Deletion at the 5'-end of Estonian ASFV strains associated with an attenuated phenotype. *Sci. Rep.* 2018; 8(1): 6510. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24740-1>
35. Terrestrial Animal Health Code; 2019. Available at: <https://www.oie.int/en/standard-setting/terrestrial-code/access-online/>
36. Журавлёва В.А., Сидлик М.В., Лыска В.М., Власов М.Е., Балышев В.М. Роль кабанов в распространении африканской чумы свиней на территории Владимирской области. *Ветеринария.* 2019; (5): 3–8. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2019.22.5.03-08>
37. Schulz K., Staubach C., Blome S., Viltrop A., Nurmoja I., Conraths F.J., et al. Analysis of Estonian surveillance in wild boar suggests a decline in the incidence of African swine fever. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 8490. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44890-0>
38. Schulz K., Staubach C., Blome S., Nurmoja I., Viltrop A., Conraths F.J., et al. How to demonstrate freedom from African swine fever in wild boar – Estonia as an example. *Vaccines (Basel).* 2020; 8(2): 336. <https://doi.org/10.3390/vaccines8020336>

## REFERENCES

1. Груздев К.Н., Иголкин А.С., Ракманов А.М., Шевтсов А.А. Африканская чума свиней в России: распространение, клинические и анатомические проявления. *Ветеринария сегодня.* 2014; (4): 10–24. (in Russian)
2. Beltran-Alcrudo D., Arias M., Gallardo C., Kramer S., Penrith M.L. *FAO Animal Production and Health Manual No. 19. African swine fever: Detection and diagnosis.* Rome; 2017.

3. Rodionova O.M., Babakov V.A., Kolodub G.V. About the legal nature of compensation for animal slaughter in the epizootic center. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Pravo*. 2020; (35): 196–215. <https://doi.org/10.17223/22253513/35/17> (in Russian)
4. Penrith M.L., Guberti V., Depner K., Lubroth J. *Preparation of African swine fever contingency plans. FAO Animal Production and Health Manual No. 8*. Rome; 2009.
5. Alonso C., Borca M., Dixon L., Revilla Y., Rodriguez F., Escribano J.M. ICTV Report Consortium. ICTV Virus Taxonomy Profile: Asfarviridae. *J. Gen. Virol.* 2018; 99(5): 613–4. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001049>
6. Pérez J., Fernández A.I., Sierra M.A., Herráez P., Fernández A., Martín de las Mulas J. Serological and immunohistochemical study of African swine fever in wild boar in Spain. *Vet. Rec.* 1998; 143(5): 136–9. <https://doi.org/10.1136/vr.143.5.136>
7. Remyga S.G., Pershin A.S., Shevchenko I.V., Igolkin A.S., Shevtsov A.A. Clinical and post-mortem signs in European wild boars and domestic pigs infected with African swine fever virus. *Veterinariya segodnya*. 2016; (3): 46–51. (in Russian)
8. Makarov V.V., Sukharev O.I., Tsvetnova I.V. Epizootological characteristics of African swine fever virus. *Veterinarnaya praktika*. 2013; (1): 6–16. (in Russian)
9. Gallardo M.C., Reoyo A.T., Fernández-Pinero J., Iglesias I., Muñoz M.J., Arias M.L. African swine fever: a global view of the current challenge. *Porcine Health Manag.* 2015; 1: 21. <https://doi.org/10.1186/s40813-015-0013-y>
10. Gallardo C., Soler A., Nieto R., Sánchez M.A., Martins C., Pelayo V., et al. Experimental transmission of African swine fever (ASF) low virulent isolate NH/P68 by surviving pigs. *Transbound. Emerg. Dis.* 2015; 62(6): 612–22. <https://doi.org/10.1111/tbed.12431>
11. Gogin A., Gerasimov V., Malogolovkin A., Kolbasov D. African swine fever in the North Caucasus region and the Russian Federation in years 2007–2012. *Virus Res.* 2013; 173(1): 198–203. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.12.007>
12. Sereda A.D., Dubrovskaya O.A., Imatdinov A.R., Strizhakova O.M., Vasil'ev A.P., Sindryakova I.P., et al. Laboratory diagnostics of chronic and asymptomatic forms of african swine fever. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya*. 2016; 51(4): 459–66. <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2016.4.459rus> (in Russian)
13. Eblé P.L., Hagenaaers T.J., Weesendorp E., Quak S., Moonen-Leusen H.W., Loeffen W. Transmission of African Swine Fever Virus via carrier (survivor) pigs does occur. *Vet. Microbiol.* 2019; 237: 108345. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.06.018>
14. Nurmoja I., Petrov A., Breidenstein C., Zani L., Forth J.H., Beer M., et al. Biological characterization of african swine fever virus genotype II strains from north-eastern Estonia in European wild boar. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64(6): 2034–41. <https://doi.org/10.1111/tbed.12614>
15. Gallardo C., Nurmoja I., Soler A., Delicado V., Simón A., Martín E., et al. Evolution in Europe of African swine fever genotype II viruses from highly to moderately virulent. *Vet. Microbiol.* 2018; 219: 70–9. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.04.001>
16. Gruzdev K.N., Karaulov A.K., Igolkin A.S. Experience in African swine fever control in the Russian Federation and its value for the other countries. *Veterinariya segodnya*. 2020; (1): 38–43. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2020-1-32-38-43> (in Russian)
17. Petrova O.N., Korennoy F.I., Karaulov A.K., Shevtsov A.A., Gulenkin V.M. Forecast for African swine fever in the Russian Federation for 2020. Available at: [https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/asf/publications/asf\\_prognoz2020.pdf](https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/asf/publications/asf_prognoz2020.pdf) (in Russian)
18. Rosselkhoznadzor. ASF epizootic situation in the Russian Federation in 2021. Available at: <https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/asf/2021/12-13/01.pdf> (in Russian)
19. Gervasi V., Marcon A., Bellini S., Guberti V. Evaluation of the efficiency of active and passive surveillance in the detection of African Swine Fever in wild boar. *Vet. Sci.* 2019; 7(1): 5. <https://doi.org/10.3390/vetsci7010005>
20. Gallardo C., Nieto R., Soler A., Pelayo V., Fernández-Pinero J., Markowska-Daniel I., et al. Assessment of African swine fever diagnostic techniques as a response to the epidemic outbreaks in eastern European union countries: how to improve surveillance and control programs. *J. Clin. Microbiol.* 2015; 53(8): 2555–65. <https://doi.org/10.1128/JCM.00857-15>
21. OIE Terrestrial Manual 2019. Chapter 3.8.1. African swine fever (infection with African swine fever virus). Available at: [https://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health\\_standards/tahm/3.08.01\\_ASF.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/3.08.01_ASF.pdf)
22. Global African Swine Fever Research Alliance (GARA) Gap Analysis Report; 2018. Available at: <https://go.usa.gov/xPFWr>
23. Gallardo C., Fernández-Pinero J., Arias M. African swine fever (ASF) diagnosis, an essential tool in the epidemiological investigation. *Virus Res.* 2019; 271: 197676. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2019.197676>
24. Mur L., Igolkin A., Varentsova A., Pershin A., Remyga S., Shevchenko I., et al. Detection of African swine fever antibodies in experimental and field samples from the Russian Federation: implications for control. *Transbound. Emerg. Dis.* 2016; 63(5): e436–40. <https://doi.org/10.1111/tbed.12304>
25. Sánchez-Vizcaino J.M., Mur L., Gomez-Villamandos J.C., Carrasco L. An update on the epidemiology and pathology of African swine fever. *J. Comp. Pathol.* 2015; 152(1): 9–21. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2014.09.003>
26. Mima K.A., Burmakina G.S., Vasil'ev A.P., Kazakova A.S., Dubrovskaya O.A., Malogolovkin A.S., et al. Comparison methods of serological diagnostic African swine fever. *Veterinariya*. 2016; (9): 49–54. (in Russian)
27. Strizhakova O.M., Lyska V.M., Malogolovkin A.S., Novikova M.B., Sidlik M.V., Nogina I.V., et al. Validation of an ELISA kit for detection of antibodies against ASF virus in blood or spleen of domestic pigs and wild boars. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya*. 2016; 51(6): 845–52. <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2016.6.845rus> (in Russian)
28. Pershin A., Shevchenko I., Igolkin A., Zhukov I., Mazloum A., Aronova E., et al. A long-term study of the biological properties of ASF virus isolates originating from various regions of the Russian Federation in 2013–2018. *Vet. Sci.* 2019; 6(4): 99. <https://doi.org/10.3390/vetsci6040099>
29. Gallardo C., Soler A., Rodze I., Nieto R., Cano-Gómez C., Fernandez-Pinero J., et al. Attenuated and non-haemadsorbing (non-HAD) genotype II African swine fever virus (ASFV) isolated in Europe, Latvia 2017. *Transbound. Emerg. Dis.* 2019; 66(3): 1399–404. <https://doi.org/10.1111/tbed.13132>
30. Sun E., Zhang Z., Wang Z., He X., Zhang X., Wang L., et al. Emergence and prevalence of naturally occurring lower virulent African swine fever viruses in domestic pigs in China in 2020. *Sci. China Life Sci.* 2021; 64(5): 752–65. <https://doi.org/10.1007/s11427-021-1904-4>
31. Rosselkhoznadzor. ASF epizootic situation in the Russian Federation, 2007–2021. Available at: <https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/asf/2021/12-27/03.pdf> (in Russian)
32. Shevtsov A.A., Petrova O.N., Remyga S.G., Pershin A.S., Gruzdev K.N., Igolkin A.S. Analysis of laboratory tests for several viral swine diseases in Russia in 2011–2017 foot-and-mouth disease. *Veterinariya segodnya*. 2018; (1): 42–8. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2018-1-24-42-48> (in Russian)
33. European Food Safety Authority. Epidemiological analyses of African swine fever in the European Union (November 2018 to October 2019). *EFSA J.* 2020; 18(1): e05996. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.5996>
34. Zani L., Forth J.H., Nurmoja I., Leidenberger S., Henke J., et al. Deletion at the 5'-end of Estonian ASFV strains associated with an attenuated phenotype. *Sci. Rep.* 2018; 8(1): 6510. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24740-1>
35. Terrestrial Animal Health Code; 2019. Available at: <https://www.oie.int/en/standard-setting/terrestrial-code/access-online/>
36. Zhuravleva V.A., Sidlik M.V., Lyska V.M., Vlasov M.E., Balyshv V.M. The role of wild boars in the spread of ASF in the Vladimir region. *Veterinariya*. 2019; (5): 3–8. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2019.22.5.03-08> (in Russian)
37. Schulz K., Staubach C., Blome S., Viltrop A., Nurmoja I., Conraths F.J., et al. Analysis of Estonian surveillance in wild boar suggests a decline in the incidence of African swine fever. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 8490. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44890-0>
38. Schulz K., Staubach C., Blome S., Nurmoja I., Viltrop A., Conraths F.J., et al. How to demonstrate freedom from African swine fever in wild boar – Estonia as an example. *Vaccines (Basel)*. 2020; 8(2): 336. <https://doi.org/10.3390/vaccines8020336>