Антигенная вариабельность вируса ящура серотипа А и обоснование необходимости получения новых актуальных производственных штаммов

Мельник Р.Н.
Melnik R.N.

DOI CrossRef:10.30917/ATT-VK-1814-9588-2019-3-8
УДК 619:578.835:57.083.2

¹Мельник Р.Н. - кандидат биологических наук, заместитель директора;

¹Хаустова Н.В. - соискатель;

¹Мельник Н.В. - доктор ветеринарных наук, профессор, ведущий научный сотрудник;

¹Самуйленко А.Я. - доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, заместитель директора;

¹Гринь С.А. - доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, ВРИО директора;

¹Клюкина В.И. - доктор биологических наук, профессор, заведующая отделом иммунологии;

¹Святенко М.С. - соискатель;

²Литенкова И.Ю. - кандидат ветеринарных наук, главный технолог

¹ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности" (141142, Московская область, Щелковский район, пос. Биокombината, д. 17 тел.: +7 (496) 567-32-63, e-mail: vnitbp@mail.ru)

²ФКП "Щелковский биокombинат" (141142, Московская область, Щелковский район, п. Биокombината, тел.: +7 (495) 134-58-85, e-mail: info@biocombinat.ru)

Ключевые слова: ящур, вирус ящура, серотип А, антигенная вариабельность, вакцинный штамм, эпизоотическая ситуация, вакцина.

Резюме. Статья посвящена изучению антигенной вариабельности вируса ящура серотипа А и появлению новой генетической линии А/АSIA/G-VII. Эпизоотическая ситуация по ящуру в мире в настоящее время остается довольно напряженной в связи с появлением все новых генетически измененных штаммов вируса ящура. Серотип А вируса ящура в настоящее время присутствует на всех континентах, где регистрируется это заболевание. В 2017 году согласно данным МЭБ, серотип А вируса ящура занимает второе место по количеству выделенных изолятов, так как считается одним из самых разнообразных серотипов как антигенно, так и генетически, что осложняет успех програм-

Antigenic variability of FMD virus serotype A and the rationale for the need to obtain new relevant production strains

¹Melnik R.N.; ¹Khaustova N.V.; ¹Melnik N.V.;

¹Samuylenko A.Y.; ¹Grin S.A.; ¹Klyukina V.I.;

¹Svyatenko M.S.; ²Litenkova I.Yu.

¹All-Russia Scientific Research and Technological Institute for Biologic industry 141142, Moscow region, Shchelkovo district, Biocombinat, d.17 tel.: +7 (496) 567-32-63, e-mail: vnitbp@mail.ru

²FSE "Shchelkovo Biocombinat", 141142, Moscow region, Shchelkovo district, Biocombinat, tel.: +7 (495) 134-58-85, e-mail: info@biocombinat.ru

Key words: foot and mouth disease, FMD virus, serotype A, antigenic variation, vaccine strain, epizootic situation, vaccine.

Abstract. The article is devoted to the study of the antigenic variability of FMD virus serotype A and the emergence of new genetic lineage A/ASIA/G-VII. The epizootic situation of FMD in the world currently remains rather tense due to the emergence of all new genetically modified strains of FMD virus. The serotype A of FMDV virus is currently presents on all continents where this disease is registered. In 2017, according to the OIE, serotype A of the FMD virus ranks second place on the number of registered isolates, as it is considered one of the most diverse serotypes both antigenically and genetically, which complicates the success of the vaccination program against FMD. For today, 26 subtypes of FMD virus type A have been registered in the world. They form three geographically different genotypes (topotype): Asia (Asia), Europe-South America (Euro-SA) and Africa (Africa). Long-term studies of antigenic variability suggest that the antigenic variability of FMD virus is caused by amino acid substitutions in polypeptide fragments (antigenic epitopes) exposed on the surface of capsid proteins in the G-H loop region of VP1 protein. As a result, the generation of new variants of FMD virus serotype A and the emergence of new genetic lineages are occurring that can avoid the effects of immunity of a susceptible animal. The selection of recommended FMD vaccine strains for the production of FMD vaccine is based on the greatest likelihood of which strain subtypes can cause FMD outbreaks in the coming year. Taking into account the evolution of FMD virus type A and the worsening of the epizootic situation of FMD in border countries near the southern borders of Russia, as well as in the Middle East, there is a need for phylogenetic and antigenic analysis of FMD virus serotype A with constant epizootic monitoring to further select the current vaccine strain in programs FMD vaccination for different regions.

мы вакцинации против ящура. На сегодняшний день зарегистрировано присутствие в мире 26 подтипов вируса ящура типа А. Они образуют три географически различные генотипа (топотипа): Азия (Asia), Европа-Южная Америка (Euro-SA) и Африка (Africa). Многолетние исследования антигенной вариабельности позволяют сделать вывод о том, что антигенная изменчивость вируса ящура обуславливается заменами аминокислот в полипептидных фраг-

Для цитирования / For citation

Мельник Р.Н. Антигенная вариабельность вируса ящура серотипа а и обоснование необходимости получения новых актуальных производственных штаммов // Ветеринария и кормление. - 2019. - №3 - С 29-31.

Melnik R.N. Antigenic variability of fmd virus serotype a and the rationale for the need to obtain new relevant production strains // Veterinaria i kormlenie. - 2019. - № 3 - P 29-31.

ментах (антигенных эпитопах), экспонированных на поверхности капсидных белков в зоне G-H петли белка VP1. Как следствие, происходит генерация новых вариантов вируса ящура серотипа А и появление новых генетических линий, которые могут избежать воздействия иммунитета восприимчивого животного. Выбор рекомендуемых вакцинных штаммов вируса ящура для производства противоящурной вакцины основывается на наибольшей вероятности того, какие подтипы штаммов могут вызвать вспышки ящура в предстоящем году. С учетом динамики эволюции вируса ящура типа А и обострения эпизоотической ситуации по ящуру в приграничных странах вблизи южных рубежей России, а также на Ближнем Востоке, возникает необходимость филогенетического и антигенного анализа вирусов ящура серотипа А с постоянным эпизоотическим мониторингом для дальнейшего выбора актуального вакцинного штамма в программах вакцинации против ящура для разных регионов.

Введение

Проблема антигенной вариабельности вируса ящура серотипа А кроме теоретического интереса имеет в настоящее время существенное практическое значение в программах вакцинации против ящура. Возбудитель ящура отличается значительной антигенной вариабельностью штаммов в пределах не только одного серотипа, но и генетических линий, и выявляется в различные временные промежутки на территориях различных стран. Антигенная изменчивость вируса ящура обуславливается заменами аминокислот в полипептидных фрагментах (антигенных эпитопах), экспонированных на поверхности капсидных белков в зоне G-H петли белка VP1[4]. Нуклеотидная последовательность гена VP1 вируса ящура используется для генетической характеристики штаммов вируса ящура из-за ее огромной роли в процессе прикрепления и проникновения вируса, выработке защитного иммунитета у животного и специфичности штамма. Филогенетический анализ на основе VP1 широко используется для отображения эволюционной динамики и установлении эпизоотической взаимосвязи между генетическими линиями, а также для отслеживания подлинного происхождения и движения штаммов, вызвавших вспышки.

Иммунная система организма животного часто не распознает вирусы ящура из-за постоянного формирования новых антигенных вариантов. Существенные изменения антигенных характеристик полевого штамма с большой вероятностью приводят к ослаблению специфического иммунитета, индуцированного негомологичным антигеном, что приводит к неэффективности проводимых программ вакцинации и повышению риска вспышек эпизоотий. В результате возникает необходимость создания противоящурных вакцин с новыми эффективными штаммами вируса

ящура с учетом его антигенной изменчивости.

Генетическая линия A/ASIA/G-VII вируса ящура типа А долгое время регистрировалась исключительно на Индийском полуострове и не распространялась на соседние государства. В Индии вирусы линии A/ASIA/G-VII были выделены в 1983 году и до 2001 года относились к генетической линии A/ASIA/G-VI. С 2001 года была выделена отдельная генетическая линия A/ASIA/G-VII [2]. С 2015 года в связи с неконтролируемым перемещением скота и военно-социальными конфликтами данная генетическая линия была идентифицирована в Саудовской Аравии, Иране, Турции, Армении, таким образом, вплотную приблизившись к буферной зоне Российской Федерации. По данным Референсных лабораторий МЭБ по ящуру, проведенные исследования по секвенированию области кодирования VP1 показали, что вспышки в Армении, Иране и Турции были тесно друг с другом связаны и, скорее всего, произошли из одного источника [2]. Учитывая ситуацию в мире, сложившуюся по распространению новой генетической линии вируса ящура типа А, и отсутствию производственного штамма данного генотипа в составе поливалентной противоящурной вакцины, для защиты буферной зоны Российской Федерации и стран Ближнего Востока от внезапного вторжения вируса со стороны Армении и Турции, было принято решение всесторонне изучить возможность защиты России от заболевания животных ящуром типа А генетической линии A/ASIA/G-VII.

Всемирная справочная лаборатория ФАО по ящуру (WRLFMD, Великобритания), работающая на базе Лаборатории Института Пирбрайт, предоставляет странам-членам МЭБ ежеквартальные и годовые отчеты с рекомендациями по выбору вакцинных штаммов вируса ящура, в том числе по типам вируса О, А, Азия-1, создающим угрозу в региональном пуле Евразии, включая Ближний Восток [7,8,9].

Выбор рекомендуемых вакцинных штаммов вируса ящура со стороны Европейской Комиссии по борьбе с ящуром для процесса производства противоящурной вакцины основывается на наибольшей вероятности того, какие подтипы штаммов могут вызвать вспышки ящура в предстоящем году. Выбор штаммов для вакцины основан не просто на географической распространенности штаммов, но и на анализе антигенной схожести или отличия между эпизоотическими изолятами и вакцинными штаммами.

Целью данного исследования явилось изучение антигенной вариабельности вируса ящура серотипа А и выбор изолята вируса ящура как кандидата в производственный штамм вируса ящура.

Материалы и методы

Для определения реальной угрозы заноса вируса ящура генетической линии A/ASIA/G-VII, выявления скорости его распространения нами были проанализированы еже-

Табл. 1. Вспышки вируса ящура типа А в 2015 году, принадлежащих к генетической линии A/ASIA/G-VII
Table 1. Outbreaks of FMD virus type A in 2015, belonging to the genetic line A/ASIA/G-VII

Страна	Кол-во изолятов	Название изолята
Саудовская Аравия	14	SAU/1/2015; SAU/2/2015; SAU/3/2015; SAU/4/2015; SAU/5/2015; SAU/6/2015; SAU/7/2015; SAU/8/2015; SAU/9/2015; SAU/14/2015; SAU/15/2015; SAU/16/2015 SAU/17/2015; SAU/21/2015
Армения	3	ARM/1/2015; ARM/2/2015; ARM/3/2015
Иран	10	IRN/8/2015; IRN/12/2015; IRN/13/2015; IRN/14/2015; IRN/17/2015; IRN/18/2015; IRN/21/2015; IRN/22/2015; IRN/25/2015; IRN/27/2015
Турция	1	Van/TUR/203/2015

Табл. 2. Результаты определения антигенного соответствия изолятов эпизоотического вируса ящура типа А вакцинным штаммам
Table 1. The results of the determination of antigenic matching of isolates of an epizootic of FMD virus type A vaccine strains

	A/SAU/1/2015	A/SAU/2/2015	A/SAU/8/2015	A/SAU/12/2015	IRN/12/2015	IRN/8/2015
A Iran 2005	N	N	N	N	N	N
A Iran 87	N	N	NT	NT	NT	NT
A Iran 96	N	N	NT	NT	NT	NT
A Iran 99	N	N	NT	NT	NT	NT
A SAU 95	N	N	N	N	N	N
A 22	N	N	NT	NT	N	N
A TUR 2006	N	N	N	N	N	N
A May 97	N	N	N	N	N	N

Примечание: N – изолят отличается от вакцинного штамма, вакцина из которого не приемлема для защиты от заражения полевым изолятом.
NT – не тестировалась.

годные и ежеквартальные отчеты Европейской Комиссии по Борьбе с Ящуром, Всемирной справочной лаборатории ФАО за 2010-2015 гг., отчеты по генотипированию Всемирной референтной лаборатории МЭБ по ящуру [7,8,9].

Результаты исследований

По данным отчетов Европейской Комиссии по Борьбе с Ящуром, вирус ящура генотипа A/ASIA/G-VII(G-18) циркулирует в Индии с 2000 года [6]. В 2015 году были зарегистрированы многочисленные вспышки вируса этого генотипа на территории Саудовской Аравии, Турции, Ирана и Армении [3].

Несмотря на проведение профилактических ежегодных мероприятий по вакцинации животных против ящура в этих странах, противоящурная вакцина не смогла обеспечить необходимую защиту против генотипа A/ASIA/G-VII, что привело к дальнейшему распространению и циркуляции ящура типа A генотипа ASIA/G-VII на территориях Евразии, включая Ближний Восток [8].

Согласно данным ежегодного отчета за 2015 год Всемирной справочной лаборатории ФАО по изучению ящура, было проанализировано 268 образцов изолята вируса ящура типа A [7].

Согласно отчетам по генотипированию в 2015 году было зарегистрировано 28 изолятов вируса ящура, относящихся именно к генетической линии A/ASIA/G-VII и представляющих риск эпизоотий в этих странах и за ее пределами (таблица 1) [7,8].

Результаты сопоставления поствакцинальных сывороток, представленных в таблице 2 и полученных на известные производственные штаммы, с эпизоотическими изолятами линии A/ASIA/G-VII in vitro, проведенного во Всемирной справочной лаборатории ФАО по изучению ящура (WRLFMD) в Институте Пирбрайта в Великобритании, продемонстрировали отсутствие антигенного соответствия (r1) со всеми коммерчески доступными штаммами (A22/Iraq, A/IRAN-05, A/TUR-2006, A/IND-2000, A/SAU-95), входящими в состав вакцин. Особенно значимым был результат сопоставления антигенного соответствия (r1) с вакцинными штаммами A/ASIA/Iran-05 и A/SAU/95, применяемыми для профилактической вакцинации против ящура в регионах распространения новой линии. Результаты тестирования показали, что вакцина, которая содержит эти вакцинные штаммы, не создает защитного иммунитета против вируса ящура типа A генотипа A/ASIA/G-VII [7,8].

Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей капсидного белка VP1 показал, что вирусы типа A генетической линии A/ASIA/G-VII, которые явились причиной вспышек ящура на территории Евразии и Ближнего Востока, относятся к топотипу ASIA. Эти вирусы вошли в генетическую линию A/ASIA/G-VII, антигенно и филогенетически отличную от предыдущих линий, которые циркулировали в регионе.

На основании полученных данных и проведенных исследований в годовом отчете Всемирной справочной лаборатории ФАО по ящуру за 2015 год, были рекомендованы штаммы с наивысшим приоритетом для включения в вакцинный антигенный банк с учетом обстановки по ящуру в эндемичных странах. Одним из таких штаммов стал штамм вируса ящура новой генетической линии "A/ASIA/G-VII (G-18)" [7]. Исходя из этих данных, филогенетических и антигенных свойств изолятов вируса ящура линии A/ASIA/G-VII, нами был выбран изолят A/SAU/1/2015 как кандидат для получения производственного штамма и использования в противоящурной вакцине. Данный штамм был наиболее изучен Всемирной справочной лабораторией по ящуру в 2015 году по антигенным и филогенетическим свойствам [3].

Изолят вируса ящура A/SAU/1/2015 был выделен из клинического образца путем одного пассажа в первичных клетках щитовидной железы крупного рогатого скота. Геном был секвенирован с использованием технологии MiSeq (Illumina, США). Нуклеотидная последовательность полного генома изолята вируса ящура A/SAU/1/2015 была депонирована в базу данных GenBank под номером доступа KU127247. Доступ к нуклеотидной последовательности ге-

нома дал возможность генетически сравнивать изоляты и штаммы и определять степень их филогенетического родства с помощью программы анализа нуклеотидных последовательностей BLAST.

С учетом динамики эволюции вируса ящура типа A и обострения эпизоотической ситуации по ящуру генетической линии A/ASIA/G-VII в приграничных странах вблизи южных рубежей России, было принято решение заказать во Всемирной справочной лаборатории ФАО по ящуру изолят, перекрывающий антигенный спектр генетической линии ASIA/G-VII и перспективный для получения производственного штамма.

Заключение

Анализ материалов МЭБ и сообщений СМИ свидетельствует о том, что эпизоотическая ситуация по ящуру в мире за истекшие годы остается довольно напряженной. Ситуация осложняется появлением все новых генетически измененных штаммов вируса ящура. Новая генетическая линия вируса ящура A/ASIA/G-VII продолжает циркулировать в эндемичных очагах по всему региону Ближнего Востока и Западной Евразии. Филогенетический и антигенный анализ изолятов вируса ящура серотипа A в 2015 году, ставших причиной вспышек эпизоотий ящура на Ближнем Востоке, Армении и Турции, показал актуальность дальнейшего изучения свойств изолята A/SAU/1/2015 как кандидата в производственный штамм.

Литература

1. Инфекционная патология животных. Руководство: в 7 т. Т. 1. Ящур / ред. А. Я. Самуйленко. - М.: ВНИТИБП, 2014. - 264 с
2. Bachanek-Bankowska K, Di Nardo A, Wadsworth J, Henry E, Parlak U, Timina A, et al. Foot-and-Mouth Disease in the Middle East Caused by an A/ASIA/G-VII Virus Lineage, 2015-2016. *Emerg Infect Dis.* 2018;24(6):1073-1078. <https://dx.doi.org/10.3201/eid2406.170715>
3. Bachanek-Bankowska K, Wadsworth J, Thapa B, King DP, Knowles NJ. Complete genome sequence of a serotype A foot-and-mouth disease virus from an outbreak in Saudi Arabia during 2015. *Genome Announc.* 2016;4:e01591-15
4. Domingo, E., Mateu, M. G., Martinez, M. A., Dopazo, J., Moya, A. and Sorbino, F. (1990): Genetic variability and antigenic diversity of foot and mouth disease virus. *Applied Virol. Res.*, 2:233-266
5. Knowles N. J., Samuel A. R. Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease virus // *Virus Res.* - 2003. - Vol. 91, No. 1. - P. 65-80
6. Mohapatra JK, Subramaniam S, Pandey LK, Pawar SS, De A, Das B, et al. Phylogenetic structure of serotype A foot-and-mouth disease virus: global diversity and the Indian perspective. *J Gen Virol.* 2011;92:873-9
7. Annual Reports for the OIE/FAO Reference Laboratory Network For Foot-and-Mouth Disease. - URL: <http://www.wrlfmd.org/ref-lab-reports#panel-5472> (датаобращения: 10.10.18).
8. Molecular epidemiology reports by the FAO World Reference Laboratory for FMD. - URL: <http://www.wrlfmd.org/country-reports/western-and-central-asia> (датаобращения: 15.10.18).
9. Quarterly Reports from the WRLFMD. - URL: <http://www.wrlfmd.org/ref-lab-reports> (датаобращения: 10.10.18).

References

1. Infectious pathology of animals. Leadership: in 7 T. T. 1. Foot and mouth disease / edited by A. Ya. Samoilenko. - M.: VNITIBP, 2014. - 264 p.
2. Bachanek-Bankowska K, Di Nardo A, Wadsworth J, Henry E, Parlak U, Timina A, et al. Foot-and-Mouth Disease in the Middle East Caused by an A/ASIA/G-VII Virus Lineage, 2015-2016. *Emerg Infect Dis.* 2018;24(6):1073-1078. <https://dx.doi.org/10.3201/eid2406.170715>
3. Bachanek-Bankowska K, Wadsworth J, Thapa B, King DP, Knowles NJ. Complete genome sequence of a serotype A foot-and-mouth disease virus from an outbreak in Saudi Arabia during 2015. *Genome Announc.* 2016;4:e01591-15
4. Domingo, E., Mateu, M. G., Martinez, M. A., Dopazo, J., Moya, A. and Sorbino, F. (1990): Genetic variability and antigenic diversity of foot and mouth disease virus. *Applied Virol. Res.*, 2:233-266
5. Knowles N. J., Samuel A. R. Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease virus // *Virus Res.* - 2003. - Vol. 91, No. 1. - P. 65-80
6. Mohapatra JK, Subramaniam S, Pandey LK, Pawar SS, De A, Das B, et al. Phylogenetic structure of serotype A foot-and-mouth disease virus: global diversity and the Indian perspective. *J Gen Virol.* 2011;92:873-9
7. Annual Reports for the OIE/FAO Reference Laboratory Network For Foot-and-Mouth Disease. - URL: <http://www.wrlfmd.org/ref-lab-reports#panel-5472> (датаобращения: 10.10.18).
8. Molecular epidemiology reports by the FAO World Reference Laboratory for FMD. - URL: <http://www.wrlfmd.org/country-reports/western-and-central-asia> (датаобращения: 15.10.18).
9. Quarterly Reports from the WRLFMD. - URL: <http://www.wrlfmd.org/ref-lab-reports> (датаобращения: 10.10.18).