

- ference [Fundamental'nye i prikladnye aspekty izucheniya paraziticheskikh chlenistonogikh v XXI v.: materialy mezhdunarodnoy konferentsii]. St. Petersburg; 2013; 71–3. (in Russian)
- Leonova G.N. Tick-borne Encephalitis in the Primorsky Territory. [Kleshchevoy entsefalit v Primorskoy krae]. Vladivostok: Dal'nauka; 1997. (in Russian)
  - Pogodina V.V., Karan L.S., Kolyasnikova N.M., Levina L.S., Gerasimov S.G., Malenko G.V. et al. Siberian subtype of TBE virus dominating in Russia. Distribution and pathogenicity. *Meditsinskaya virusologiya*. 2013; 27 (1): 36. (in Russian)
  - Lukashev V.V. *Molecular Evolution and Phylogenetic Analysis [Molekulyarnaya evolyutsiya i filogeneticheskiy analiz]*. Moscow: BINOM; 2009. (in Russian)
  - Wong E.H.M., Smith D.K., Rabadan R., Peiris M., Poon L.L.M. Codon usage bias and the evolution of influenza A viruses. Codon Usage Biases of Influenza Virus. *BMC Evol. Biol.* 2010; 10: 253. Available at: <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/10/253>.
  - Belalov I.S., Lukashev A.N. Causes and Implications of Codon Usage Bias in RNA Viruses. *PLoS One*. 2013; 8 (2). Available at: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0056642>.
  - Qian W., Yang J.R., Pearson N.M., Maclean C., Zhang J. Balanced Codon Usage Optimizes Eukaryotic Translational Efficiency. *PLoS Genet.* 2012; 8 (3). Available at: <http://www.plosgenetics.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pgen.1002603>.
  - Schubert A.M., Putonti C. Evolution of the sequence composition of Flaviviruses. *Infect. Genet. Evol.* 2010; 10 (1): 129–36.
  - Perriere G., Thioulouse J. Use and misuse of correspondence analysis in codon usage studies. *Nucleic Acids Research*. 2002; 30 (20): 4548–55.
  - Shah P., Gilchrist M.A. Explaining complex codon usage patterns with selection for translational efficiency, mutation bias, and genetic drift. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2011; 108 (25): 10 231–6.
  - Su M.W., Lin H.M., Yuan H.S., Chu W.C. Categorizing host-dependent RNA viruses by principal component analysis of their codon usage preferences. *J. Comput. Biol.* 2009; 16 (11): 1539–47.
  - Plotkin J.B., Robins H., Levine A.J. Tissue-specific codon usage and the expression of human genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004; 101: 12 588–91.
  - Tello M., Saavedra J.M., Spencer E. Analysis of the use of codon pairs in the HE gene of the ISA virus shows a correlation between bias in HPR codon-pair use and mortality rates caused by the virus. *Virol. J.* 2013; 10. Available at: <http://www.virologyj.com/content/10/1/180>.
  - Frias D., Monteiro-Cunha J.P., Mota-Miranda A.C., Fonseca V.S., Oliveira T., Galvao-Castro B. et al. Human Retrovirus codon Usage from tRNA point of View: Therapeutic Insights. *Bioinform. Biol. Insights*. 2013; 7: 335–45.
  - Grantham R., Gouy M., Mercier R., Pave A. Codon catalog usage and the genome hypothesis. *Nucleic Acids Res.* 1980; 8 (1): 49–62.
  - Cardinale D.J., DeRosa K., Duffy S. Base composition and translational selection are insufficient to explain codon usage bias in plant viruses. *Viruses*. 2013; 5 (1): 162–81.
  - Sharp P.M., Tuohy T.M., Mosurski K.R. Codon usage in yeast: cluster analysis clearly differentiates highly and lowly expressed genes. *Nucleic Acids Res.* 1986; 14 (13): 5125–43.
  - Butvilovskiy A.V., Butvilovskiy V.E., Chernous E.A. Studies of protein's coding strategies. *Meditsinskiy zhurnal*. 2009; 2 (28): 29–33. (in Russian)
  - Khalyafyan A.A. *Tutorial STATISTIKA 6. Statistical Analysis of Data. [Uchebnik STATISTIKA 6. Statisticheskiy analiz dannykh]*. Moscow: Binom; 2007. (in Russian)
  - Orlov A.I. *Applied Statistics: a Textbook [Prikladnaya statistika: uchebnik]*. Moscow: Ekzamen; 2006. (in Russian)
  - Demina T.V. *The Questions and Analysis of Genetic Variability of Genotyping of Virus Encephalitis: Diss.* Irkutsk; 2012. (in Russian)
  - Starodub N.F., Rachkov A.E. Competition in the translation of eucariotic messenger RNAs. *Biopolimery i kletka*. 1986; 2 (4): 167–78. (in Russian)
  - Dittmar K.A., Goodenbour J.M., Pan T. Tissue-Specific Differences in Human Transfer RNA Expression. *PLoS Genetics*. 2006; 2 (12). Available at: <http://www.plosgenetics.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pgen.0020221>.
  - Nougaiere A., Fabritus L., Aubry F., Gould E.A., Holmes E.C., Lamballerie X. Random codon re-encoding induces stable reduction of replicative fitness of Chikungunya virus in primate and mosquito cells. *PLOS Pathog.* 2013; 9 (2). Available at: <http://www.plospathogens.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.ppat.1003172>.
  - Tyul'ko Zh.S., Yakimenko V.V. The nucleotide sequences variability of genomes of tick-borne encephalitis virus associated with their structure. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)*. 2012; 111 (4): 27–30. (in Russian)

Поступила 06.02.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015  
УДК 616.98:578.821-036.1:619

Сергеев А.А., Кабанов А.С., Бульчев Л.Е., Сергеев А.А., Пьянков О.В., Боднев С.А., Галахова Д.О.,  
Замедянская А.С., Титова К.А., Шишукина Л.Н., Агафонов А.П., Сергеев А.Н.

## Течение заболевания у сурков при интраназальном заражении вирусом оспы обезьян

ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», 630559, пос. Кольцово, Новосибирская область

В экспериментах по изучению чувствительности сурков породы байбак к вирусу оспы обезьян (ВОО) при интраназальном (и/н) заражении было установлено, что 50% инфицирующая доза (ИД<sub>50</sub>) ВОО по внешним клиническим признакам заболевания составила 2,2 десятичного логарифма бляшкообразующих единиц (lg БОЕ). Процент летальности сурков слабо зависит от заражающей дозы ВОО, что не позволяет корректно определить величину летальной 50% дозы (ЛД<sub>50</sub>) у этого вида животных. У сурков были отмечены выраженные внешние клинические признаки заболевания: осподобная сыпь на коже по всей поверхности тела и слизистых оболочках, гнойные выделения из носовой полости, лимфаденит, нарушение координации, тремор конечностей, лихорадка, повышенная агрессивность, взъерошенность шерсти. В ходе экспериментов по определению динамики накопления ВОО в различных органах, тканях и сыворотке крови сурков, зараженных и/н дозой 3,7 lg БОЕ, обнаружено, что первичными органами-мишенями являются трахея, легкие и бифуркационные лимфоузлы. Органы максимальной продукции вируса – трахея, легкие, слизистая оболочка полости носа и кожа, что было зафиксировано через 5, 7, 9 и 12 сут после заражения. Перенос ВОО в вторичным органам-мишеням (слизистая оболочка полости носа, головной мозг, селезенка, двенадцатиперстная кишка, надпочечники и кожа) у сурков осуществляется по лимфогенному и гематогенному путям распространения инфекции.

Ключевые слова: вирус оспы обезьян; сурок; интраназальное заражение; чувствительность; клинические признаки заболевания; динамика накопления; диссеминация.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60 (6): 37–41.

Для корреспонденции: Сергеев Александр Александрович; науч. сотр.; e-mail: sergeev\_ala@vector.nsc.ru

## Development of the disease in marmot at the intranasal infection with the monkeypox virus

State Research Center for Virology and Biotechnology "Vector", 630559, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russia

In experimental study the sensitivity of the Marmota bobak species to the monkeypox virus (MPXV) with the intranasal (i/n) infection was tested. It was demonstrated that 50% of the infective dose (ID<sub>50</sub>) of the MPXV on external clinical signs of the disease was 2.2 lg plaque forming units (PFU). The percentage of the marmot mortality is slightly dependent on the infecting dose of the MPXV, therefore it is not possible to correctly determine the value of 50 % fatal dose (FD<sub>50</sub>) for these animals. The most pronounced external clinical signs of the disease were obtained in the marmots: pox-like skin rash throughout the surface of the body and mucous membranes, purulent discharge from the nose, lymphadenitis, discoordination, tremor of the extremities, fever, increased aggression, and ruffled fur. In the course of experiments intended to determine the dynamics of the accumulation of the MPXV in various organs, tissues, and blood serum of marmot infected i/n with dose of 3.7 lg PFU, it was found that the trachea, lungs, and the bifurcation lymph nodes are the primary target organs. The trachea, lungs, nasal mucosa membrane, and skin are the organs with maximal virus replication recorded at 5, 7, 9, and 12 days after the infection. The transfer of the MPXV into the secondary target organs (nasal mucosa membrane, brain, spleen, duodenum, adrenal glands, and skin) was carried out in marmots with lymphogenic and hematogenic ways of the dissemination of the infection.

This work was supported by FBUN GNC VB Vector and Russian Ministry of Education and Science (Project No 14.518.11.7035).

Key words: monkeypox virus; marmot; intranasal infection; susceptibility; clinical signs of disease; dynamics of accumulation; dissemination.

Received 27.03.14

For correspondence: Sergeev Aleksandr, research assistant; e-mail: sergeev\_ala@vector.nsc.ru  
Citation: Voprosy virusologii. 2015; 60(6): 37–41. (In Russ.)

При разработке препаратов против оспы обезьян некоторые зарубежные ученые используют различные виды животных, моделирующих данную инфекцию у человека (нечеловекообразные приматы, луговые собачки и другие) [1, 2]. Однако для ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», работающего в России с вирусами натуральной оспы и оспы обезьян, использование этих видов модельных животных крайне затруднительно (это связано с чрезвычайно высокой стоимостью нечеловекообразных обезьян и большими сложностями, возникающими при доставке животных из стран дальнего зарубежья). В связи с этим с целью поиска наиболее приемлемых модельных животных в наших предыдущих экспериментах выбраны доступные для нас виды животных (белые мыши, кролики, мини-свиньи и сурки). При изучении их чувствительности к вирусу оспы обезьян (ВОО) самыми восприимчивыми к данной инфекции оказались мыши и сурки [3]. Позже в научной литературе нами были представлены результаты различных экспериментов на мышах, интраназально (и/н) зараженных ВОО: данные о чувствительности к ВОО, клинической картине заболевания, диссеминации ВОО в их организме, электронной микроскопии органов и тканей, а также показана возможность их применения в качестве модельных животных для оценки эффективности лечебно-профилактического действия разрабатываемых препаратов против данной инфекции [4, 5]. В то же время аналогичные исследования не проводились на сурках, которые проявили высокую чувствительность к данному возбудителю заболевания при подкожном (п/к) введении [3].

Целью исследований, связанных с поиском модельных животных для ВОО, является изучение чувствительности сурков к данному возбудителю заболевания при и/н заражении, клинической картины заболевания и диссеминации ВОО в организме этого вида животных.

### Материалы и методы

Все эксперименты были проведены в лаборатории с максимальным уровнем биологической защиты (BSL-4) с использованием изолирующих пневмокапсюлов на базе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Россия.

*Вирус.* В работе использовали центральноафриканский

штамм ВОО V79-1-005, полученный из Государственной коллекции возбудителей вирусных инфекций и риккетсиозов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». При культивировании данного штамма в монослое клеток Vero была приготовлена вирусосодержащая суспензия, которую в дальнейшем использовали для инфицирования сурков. Концентрацию вируса в культуральной жидкости определяли путем титрования методом бляшек в культуре клеток Vero, рассчитывали и выражали в десятичных логарифмах бляшкообразующих единиц в 1 мл (lg БОЕ/мл) или в БОЕ/мл [6]. Концентрация вируса в наработанных для инфицирования образцах составляла  $5,0 \cdot 10^6$  и  $1,3 \cdot 10^7$  БОЕ/мл. Вирусосодержащий материал был расфасован в индивидуальные пробирки и хранился при  $-70^\circ\text{C}$ .

*Животные.* В исследованиях использовали 1–2-летних степных сурков вида байбак (*Marmota bobak*) обоего пола (массой 3–4 кг), полученных из Пушкинского питомника Московской области. Животных содержали на стандартном рационе с достаточным количеством воды согласно ветеринарному законодательству и требованиям по гуманному содержанию и использованию животных в экспериментальных исследованиях [7].

*Метод инфицирования сурков.* В проводимых нами экспериментах сурков заражали и/н, при этом вирусосодержащую жидкость животным вводили по 1 мл суммарно в обе ноздри. Перед данной процедурой животных наркотизировали внутримышечно (в/м) с помощью ветеринарного раствора для анестезии, состоящего из смеси действующих веществ в соотношении 1:1 тилетамин гидрохлорида и золазепам гидрохлорида, в дозе 60 мг/гол. В опытах по изучению чувствительности животных к ВОО инфицировали по 4 головы на дозу (-1,8 – 4,2 lg БОЕ/гол.), используя разведения с 100-кратным шагом. При этом 50% инфицирующую дозу (ИД<sub>50</sub>) ВОО у сурков определяли по клиническим признакам заболевания. Кроме того, была сделана попытка определить 50% летальную дозу (ЛД<sub>50</sub>) ВОО у животных. При изучении динамики накопления ВОО в органах и тканях инфицированных сурков использовали дозу вируса 3,7 lg БОЕ/гол. За инфицированными сурками наблюдали в течение 21 сут после заражения (п/з).

*Изучение накопления вируса в органах сурков.* При изучении динамики накопления ВОО в органах, тканях и сыворотке крови сурков (клетки крови, сыворотка крови, слизистая оболочка полости носа, головной мозг, трахея, бифуркационные лимфоузлы, легкие, печень, селезенка, поджелудочная железа, мезентериальные лимфоузлы, двенадцатиперстная кишка, почки, надпочечники и кожа) взято по 1 животному на каждую временную точку: 2, 3, 5, 7, 9 и 12 сут п/з. При заборе крови сурков наркотизировали в/м с помощью вышеуказанного раствора для анестезии в дозе 60 мкг/гол. Из крови путем центрифугирования получали сыворотку и ступок форменных элементов. При заборе органов и тканей сурков подвергали эвтаназии, вводя в/м летальную дозу (200 мкг/гол.) того же анестетика, затем готовили 5% гомогенаты путем механической дезинтеграции в ступке с речным песком и раствором Хенкса. Перед титрованием гомогенаты от инфицированных сурков хранили при  $-70^{\circ}\text{C}$ .

*Вирусологический анализ проб.* Концентрацию жизнеспособного вируса в гомогенатах органов и тканей, а также в сыворотке крови животных определяли традиционным методом титрования и подсчета количества бляшек в монослое клеток Vero, инфицированных разными разведениями [6]. Минимальное количество вируса, которое могло быть выявлено в гомогенатах органов и тканях, а также в сыворотке крови при использованном нами методе титрования, составляло 0,4 lg БОЕ/мл.

*Статистическая обработка результатов.* Статистическую обработку результатов осуществляли стандартными методами [8]. Концентрацию ВОО в органах сурков определяли в 4 повторах для каждого гомогената органа и представляли как среднее значение  $\pm 95\%$  доверительный интервал ( $M \pm I_{95}$ ).  $ID_{50}$  рассчитывали с использованием формулы Спирмена-Кербера [8].

### Результаты и обсуждение

На первом этапе при изучении чувствительности сурков к центральноафриканскому штамму (V79-1-005) ВОО при и/н заражении была определена  $ID_{50}$  по внешним клиническим признакам заболевания, которая составила 2,2 lg БОЕ/гол. При этом у животных регистрировали ряд клинических проявлений заболевания (осподообразная сыпь на коже по всей поверхности тела и слизистых оболочках, гнойные выделения из носовой полости, лимфаденит, нарушение координации, тремор конечностей, лихорадка, повышенная агрессивность, взъерошенность шерсти) через 10–13 сут п/з, а через 13–22 сут п/з 5 сурков, имеющих клинические признаки заболевания, погибли. Сыпь на теле сурков имела дискретный характер с постепенно сменяющимися форменными элементами: макулой, папулой, везикулой, пустулой (см. рисунок). Следует отметить, что нам не удалось определить  $LD_{50}$  ВОО для этих животных, вероятно, из-за того, что процент летальности сурков слабо зависит от величины заражающей дозы. Так, при использовании ВОО в дозе  $4 \cdot 10^6$  БОЕ/гол. погибло 50% сурков (1 из 2), в дозе  $10^5$  БОЕ/гол. – 25% (1 из 4),  $1,5 \cdot 10^4$  БОЕ/гол. – 25% (1 из 4),  $1,5 \cdot 10^2$  БОЕ/гол. – 50% (2 из 4), 1,5 БОЕ/гол. – 0% (0 из 4), 0,015 БОЕ/гол. – 0% (0 из 4). При этом процент инфицированности сурков имел четкую зависимость доза – эффект.

В зарубежной научной литературе имеются данные о высокой чувствительности к ВОО луговых собак, относящихся к семейству беличьих [1]. Кроме того, клиническая картина заболевания у этих животных напоминает таковую у человека. В наших исследованиях был взят другой представитель этого же семейства – сурок. Этот вид животных из семейства беличьих оказался наиболее доступным для нас, так как сурков в настоящее время выращивают в некоторых зверохозяйствах

России. Проведенные эксперименты с использованием сурков показали их высокую чувствительность к ВОО, причем, кроме летального эффекта, у них наблюдалась клиническая картина соответствующего заболевания, в общем виде напоминающая таковую у луговых собак. Следует отметить, что зарубежные исследователи также обнаружили, что процент летальности луговых собак (как и сурков в нашем случае) мало зависит от заражающей дозы ВОО [1].

На втором этапе была изучена динамика накопления центральноафриканского штамма (V79-1-005) ВОО в органах, тканях и сыворотке крови сурков через 2, 3, 5, 7, 9 и 12 сут п/з. Результаты представлены в таблице. Из таблицы видно, что через 2 и 3 сут п/з возбудитель заболевания не был обнаружен в органах, тканях и сыворотке крови сурков. Только через 5 сут п/з вирус впервые был зарегистрирован сразу в нескольких первичных органах-мишенях: трахее, бифуркационных лимфоузлах и легких, где он оставался вплоть до 12-х суток п/з. В селезенке патоген обнаружен через 7 сут п/з, а в последующие сроки уже не выявлялся. Через 9 сут п/з ВОО зарегистрирован в слизистой оболочке полости носа, головном мозге, двенадцатиперстной кишке, надпочечниках и коже, причем через 12 сут п/з в головном мозге и двенадцатиперстной кишке вирус не обнаружили, а в слизистой оболочке полости носа, надпочечниках и коже он присутствовал. Более того, через 12 сут п/з в оспинах кожи его концентрация достигала максимального уровня (см. рисунок, таблицу). Также было отмечено, что органами и тканями максимального накопления ВОО являются трахея и легкие (5 сут п/з), слизистая оболочка полости носа (9 сут п/з) и кожа (12 сут п/з). В то же время во все сроки исследования в клетках и сыворотке крови, печени, поджелудочной железе, мезентериальных лимфоузлах и почках ВОО вообще не удалось обнаружить при использованном нами методе титрования.

Во всех представленных выше экспериментах мы применяли и/н способ инфицирования ВОО сурков, который связан с первичным попаданием инфекционного материала в респираторный тракт, как это обычно наблюдается во время эпидемических вспышек заболевания. При этом мы ожидали обнаружить первичное размножение ВОО во всех органах дыхательного тракта, однако данный возбудитель был зарегистрирован только в трахее и легких, а в слизистой оболочке полости носа не выявлялся на начальном этапе развития инфекции. Примечательно, что через 5 сут п/з, т. е. в то же время, что в легких и трахее, ВОО появлялся в бифуркационных лимфоузлах. Это свидетельствовало о том, что они тоже являются первичными органами размножения данного вируса у сурков. По-видимому, диссеминация ВОО в организме сурков сначала происходит по лимфогенному пути с вовлечением бифуркационных лимфоузлов, где осуществляется несколько циклов его размножения, а затем при поступлении лимфы в венозные кровотоки – по гематогенному пути распространения инфекции [9]. При этом нам не удалось обнаружить ВОО ни в сыворотке крови, ни в ее форменных элементах с помощью использованного метода титрования (минимальный предел обнаружения вируса 0,4 lg БОЕ/мл). Эти обстоятельства указывают на присутствие вируса в крови у сурков в предельно малом количестве, но достаточном для заражения вторичных органов-мишеней. Факт наличия вируса в минимальных концентрациях в крови подтверждается отсутствием одновременного инфицирования большинства вторичных органов, имеющих чувствительные клетки к этому патогену. Так, у сурка, эвтаназированного через 7 сут п/з, вирус обнаруживался только в селезенке; у сурка, эвтаназированного через 9 сут п/з, он обнаруживался в головном мозге, двенад-

**Динамика накопления штамма V79-1-005 ВОО в органах, тканях и сыворотке крови сурков, и/н инфицированных дозой 3,7 lg БОЕ/гол.**

Органы и ткани сурков (n = 4)	Концентрация ВОО в органах и тканях через раз- личное время п/з, lg БОЕ/мл, М±1 <sub>95</sub>					
	2 сут	3 сут	5 сут	7 сут	9 сут	12 сут
Клетки крови	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4
Сыворотка	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4
Слизистая оболочка полости носа	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	6,7±0,1	2,6±0,3
Головной мозг	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	1,6±0,6	< 0,4
Трахея	< 0,4	< 0,4	6,5±0,3	1,7±0,1	2,9±0,1	4,5±0,1
Бифуркационные лимфоузлы	< 0,4	< 0,4	2,0±0,1	3,1±0,3	3,9±0,3	2,5±0,1
Легкие	< 0,4	< 0,4	6,5±0,3	5,9±0,3	3,2±0,3	6,5±0,1
Печень	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4
Селезенка	< 0,4	< 0,4	< 0,4	1,3±0,1	< 0,4	< 0,4
Поджелудочная железа	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4
Мезентериальные лимфоузлы	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4
Двенадцатиперстная кишка	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	3,8±0,3	< 0,4
Почки	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4
Надпочечники	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	1,6±0,3	1,4±0,6
Кожа	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	3,0±0,1	6,6±0,3

**Примечание.** n – число повторов определения; < 0,4: в случаях, когда в гомогенатах органов инфицированных сурков вирус ВОО не выявлялся из-за существующего порога чувствительности метода титрования, использовали значение минимального количества вируса, выявляемого при данном методе титрования (0,4 lg БОЕ/мл).

цатиперстной кишке, слизистой оболочке полости носа, надпочечниках и коже, а у сурка, эвтаназированного через 12 сут п/з, – в слизистой оболочке полости носа, надпочечниках и коже. Такая хаотичность инфицирования вторичных органов-мишеней свидетельствует о наличии элемента случайности попадания в них патогена и может быть обусловлена присутствием вируса в крови в предельно низкой концентрации, а также его распространением по разветвленной глубокой и поверхностной сети лимфатических сосудов из легких и трахеи в другие части организма, в том числе в кожу и слизистую оболочку носовой полости [9, 10].

В зарубежной научной литературе имеется некоторая информация о накоплении ВОО в организме различных видов животных [11, 12]. Так, в образцах крови, взятых у луговых собачек (наиболее близкого к суркам вида животных) через 3, 6, 9, 12, 15, 18 и 21 сут п/з западноафриканским штаммом МРХV-2003-004 или центральноафриканским (бассейна р. Конго) штаммом МРХV-2003-358 ВОО, выявляли только ДНК вируса, но не жизнеспособный (бляшкообразующий) вирус [12]. Накопление этого патогена в органах и тканях было изучено только у погибших луговых собачек через 11 и 12 сут после скарификационного (2 особи из 4) и через 13 сут после и/н (1 особь из 4) заражения штаммом МРХV-2003-358 [12]. В сыворотке крови у погибших луговых собачек авторы обнаружили вирус

в высокой концентрации (более 6lg БОЕ/мл), тогда как в наших экспериментах у инфицированных ВОО сурков не удалось зарегистрировать вирус в сыворотке и форменных элементах крови. Вероятно, это связано с различиями между использованными в экспериментах штаммами вируса и видами животных, а также с особенностями развития генерализованной инфекции ВОО, приводящей к летальному исходу. Кроме того, в отличие от зарубежных исследований в нашей работе изучение размножения ВОО в органах и тканях сурков осуществлялось не у погибших, а у эвтаназированных животных в разные сроки после их и/н инфицирования.

Таким образом, в ходе проведенных экспериментов по изучению чувствительности сурков породы байбак к ВОО при и/н заражении установлено, что ИД<sub>50</sub> ВОО по внешним клиническим признакам заболевания составила 2,2 lg БОЕ/гол. Процент летальности сурков мало зависит от заражающей дозы ВОО, что не позволяет корректно определить величину ЛД<sub>50</sub> у этого вида животных. У сурков были отмечены выраженные внешние клинические признаки заболевания: оспоподобная сыпь на коже по всей поверхности тела и слизистых оболочках, гнойные выделения из носовой полости, лимфаденит, нарушение координации, тремор конечностей, лихорадка, повышенная агрессивность, взъерошенность шерсти. В ходе экспериментов по определению динамики накопления ВОО в различных органах, тканях и крови сурков, зараженных и/н дозой 3,7 lg БОЕ/гол., обнаружено, что первичными органами-мишенями являются трахея, легкие и бифуркационные лимфоузлы. Органы максимальной продукции вируса – трахея, легкие, слизистая оболочка полости носа и кожа, что было зафиксировано в период с 5-х по 12-е сутки п/з. Перенос ВОО к вторичным органам-мишеням сурков (слизистая оболочка полости носа, головной мозг, селезенка, двенадцатиперстная кишка, надпочечники и кожа) осуществляется по лимфогенному (с размножением в бифуркационных лимфоузлах) и гематогенному (без размножения в клетках крови) путям распространения инфекции.

Полученная нами информация о чувствительности сурков к ВОО при и/н заражении, клинической картине заболевания и распространении ВОО в организме этих животных может внести определенный вклад в решение вопросов, касающихся поиска перспективных модельных животных для оценки эффективности разрабатываемых лечебно-профилактических препаратов.



Сыпь на коже сурка после его и/н заражения центральноафриканским штаммом V79-1-005 ВОО.

Данная научная работа проведена при финансовой поддержке ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» и Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках Государственного контракта № 14.518.11.7035.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1, 2, 6, 11, 12 см.  
REFERENCES)

3. Сергеев Ал.А., Булычев Л.Е., Пьянков О.В., Сергеев Ар.А., Боднев С.А., Кабанов А.С. и др. Чувствительность различных видов животных к вирусу оспы обезьян. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; 1 (111): 88–92.

4. Кабанов А.С., Сергеев Ал.А., Шишкина Л.Н., Булычев Л.Е., Скарнович М.О., Сергеев Ар.А. и др. Сравнительное изучение противовирусной активности химических соединений в отношении ортопоксвирусов в экспериментах in vivo. *Вопросы вирусологии*. 2013; 4: 39–43.

5. Сергеев Ал.А., Кабанов А.С., Булычев Л.Е., Пьянков О.В., Сергеев Ар.А., Таранов О.С. и др. Использование мышей в качестве модельного животного для оценки эффективности лечебно-профилактического действия разрабатываемых препаратов против оспы обезьян. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2013; 2: 60–5.

7. *Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных*: Пер. с англ. Вашингтон: National Academy Press; 1996.

8. Закс Л. *Статистическое оценивание*. М.: Статистика; 1976.

9. Струков А.И. Инфекционные болезни. Available at: [http://vmede.org/sait/?page=28&id=Anatomija\\_patologicheskaja\\_strukov\\_2010&menu=Anatomija\\_patologicheskaja\\_strukov\\_2010](http://vmede.org/sait/?page=28&id=Anatomija_patologicheskaja_strukov_2010&menu=Anatomija_patologicheskaja_strukov_2010). (Дата обращения 16.12.2013).

10. Бороноев С.А. *Клиническая оториноларингология. Учебно-методическое пособие*. Улан-Удэ: Издательство Бурятского государственного университета; 2008.

REFERENCES

1. Hutson C.L., Carroll D.S., Self J., Weiss S., Hughes C.M., Braden Z. et al. Dosage comparison of Congo Basin and West African strains of monkeypox virus using a prairie dog animal model of systemic orthopoxvirus disease. *Virology*. 2010; 402 (1): 72–82.

2. Zaucha G., Jahrling P., Geisbert T., Swearingen J., Hensley L. The pathology of experimental aerosolized monkeypox virus infection in

cynomolgus monkeys (*macaca fascicularis*). *Lab. Invest.* 2001; 81: 1581–600.

3. Sergeev Al.A., Bulychev L.E., Piankov O.V., Sergeev Ar.A., Bodnev S.A., Kabanov A.S. et al. Sensitivity of different animal types to monkeypox virus. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2012; 1 (111): 88–92. (in Russian)

4. Kabanov A.S., Sergeev Al.A., Shishkina L.N., Bulychev L.E., Skarnovich M.O., Sergeev Ar.A. et al. Comparative studying antiviral activity of chemical compounds concerning of orthopoxviruses in vivo experiments. *Voprosy virusologii*. 2013; 4: 39–43. (in Russian).

5. Sergeev Al.A., Kabanov A.S., Bulychev L.E., Piankov O.V., Sergeev Ar.A., Taranov O.S. et al. Exploitation of mouse model for assessment of therapeutic and prophylactic efficacy of drugs against monkeypox. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2013; 2: 60–5. (in Russian)

6. Lepar-Goffart I., Poirier B., Garin D., Tissier M.H., Fuchs F., Crance J.M. Standardization of a neutralizing anti-vaccinia antibodies titration method: an essential step for titration of vaccinia immunoglobulins and smallpox vaccines evaluation. *J. Clin. Virol.* 2005; 32 (1): 47–52.

7. *The Guide to the Care and Use of Laboratory Animals. [Rukovodstvo po soderzhaniyu i ispol'zovaniyu laboratornykh zhivotnykh]*: Transl. from Engl. Washington: National Academy Press; 1996. (in Russian)

8. Zaks L. *Statistical Estimation [Statisticheskoe otsenivanie]*. Moscow: Statistika; 1976. (in Russian)

9. Strukov A.I. Infectious diseases. Available at: [http://vmede.org/sait/?page=28&id=Anatomija\\_patologicheskaja\\_strukov\\_2010&menu=Anatomija\\_patologicheskaja\\_strukov\\_2010](http://vmede.org/sait/?page=28&id=Anatomija_patologicheskaja_strukov_2010&menu=Anatomija_patologicheskaja_strukov_2010). (Access 16 December 2013) (in Russian)

10. Boronoev S.A. *Clinical Otolaryngology. Teaching Aid. [Klinicheskaya otorinolaringologiya. Uchebno-metodicheskoe posobie]*. Ulan-Ude: Izdatel'stvo Buryatskogo gosuniversiteta; 2008. (in Russian)

11. Americo J.L., Moss B., Earl P.L. Identification of wild-derived inbred mouse strains highly susceptible to monkeypox virus infection for use as small animal models. *J. Virol.* 2010; 84 (16): 8172–80.

12. Hutson C.L., Olson V.A., Carroll D.S., Abel J.A., Hughes C.M., Braden Z.H. et al. A prairie dog animal model of systemic orthopoxvirus disease using West African and Congo Basin strains of monkeypox virus. *J. Gen. Virol.* 2009; 90 (Pt. 2): 323–33.

Поступила 27.03.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015  
УДК 578.831.1/578.832.083.3

Виткова О.Н.<sup>1</sup>, Капустина О.В.<sup>2</sup>, Лобова Т.П.<sup>1</sup>, Михайлова В.В.<sup>1</sup>, Сафонов Г.А.<sup>5</sup>, Власова Н.Н.<sup>3</sup>, Белоусова Р.В.<sup>4</sup>

## Сравнительное изучение чувствительности и специфичности иммуноферментного анализа с хемилюминесцентной и колориметрической детекцией для выявления антигенов и антител к вирусам гриппа птиц и болезни Ньюкасла

<sup>1</sup>ФГБУ «Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория» Россельхознадзора, 111622, г. Москва; <sup>2</sup>ГНУ «Всероссийский НИИ ветеринарной вирусологии и микробиологии» Российской академии сельскохозяйственных наук, 601120, г. Покров; <sup>3</sup>ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ») Россельхознадзора, 600901, г. Владимир; <sup>4</sup>ФГБОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии» Министерства сельского хозяйства Российской Федерации, 109472, г. Москва; <sup>5</sup>Российская академия наук, 117334, г. Москва

В статье представлены результаты исследований по разработке твердофазного иммуноферментного анализа (ТФ ИФА) с иммунохемилюминесцентной (ИХА) и колориметрической детекцией для выявления специфических вирусных антигенов и антител при диагностике гриппа птиц и болезни Ньюкасла. Показана высокая специфичность и чувствительность ИХА, которая в 10–50 раз превышает таковую ИФА с колориметрическим методом детекции. Высокая результативность наряду с автоматизацией процесса лабораторного исследования (использование планшетного люминометра) позволяют рекомендовать ИХА для включения в число методов для первичного скрининга указанных инфекций.

Ключевые слова: иммуноферментный анализ; хемилюминесцентная детекция; иммунохемилюминесцентный анализ; твердофазный иммуноферментный анализ; грипп птиц; болезнь Ньюкасла; пероксидаза хрена; люминометрический метод; люминол.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60 (6): 41–45.

Для корреспонденции: Виткова Ольга Николаевна, канд. вет. наук, зам. директора по диагностической работе; e-mail: [olgavitkova@mail.ru](mailto:olgavitkova@mail.ru)