НАУЧНАЯ СТАТЬЯ
https://doi.org/10.36233/0507-4088-77
© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2021

Распространение маркёров респираторных вирусов человека среди обезьян Адлерского приматологического центра

Корзая Л.И.[1], Догадов Д.И.[1], Гончаренко А.М.[1], Карлсен А.А.[2,3], Кюрегян К.К.[2,3], Михайлов М.И.[2,3]

[1]ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» Министерства науки и высшего образования (Минобрнауки) России, 354376, Сочи, Россия;
[2]ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, 125993, Москва, Россия
[3]ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия

Введение. Актуальность изучения циркуляции респираторных вирусов (РВ) человека среди лабораторных приматов связана с необходимостью испытания на этих моделях вакцин и антивирусных препаратов против вызываемых этими возбудителями инфекций, смертность от которых наиболее высока у детей и пожилых.
Целью данной работы являлось изучение распространённости серологических и молекулярно-генетических маркёров респираторных вирусных инфекций человека у лабораторных приматов, рождённых в Адлерском приматологическом центре (г. Сочи, Россия), а также у импортированных обезьян.
Материал и методы. От различных видов обезьян получены образцы сыворотки крови (n = 1971) и аутопсийного материала лёгких (n = 26). Образцы сывороток крови исследованы на наличие серологических маркёров возбудителей кори, парагриппа (ПГ) 1, 2, 3 типов, гриппа А и В, респираторно-синцитиальной (РС) и аденовирусной инфекций с помощью иммуноферментного анализа (ИФА). В аутопсийном материале осуществляли детекцию РНК РС-вируса, метапневмовируса, вируса ПГ типов 1–4, риновируса, коронавируса, а также ДНК аденовирусов групп B, C, E и бокавируса для исследования методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР).
Результаты и обсуждение. Частота выявления среди обезьян антител (АТ) к РВ в среднем была невысокой и составила: 11,3% (95% ДИ: 9,2–13,7%; n = 811) для вируса кори; 8,9% (95% ДИ: 6,2–12,2%; n = 381) для вируса ПГ 3 типа; 2,5% (95% ДИ: 0,8–5,6%; n = 204) для вируса ПГ 1 типа и 7,7% (95% ДИ: 3,8–3,7%, n = 130) – для аденовирусов. При тестировании всех 26 аутопсийных образцов лёгочной ткани от обезьян разных видов, погибших от пневмонии, в 2 образцах от павианов анубисов (*Papio anubis*) была выявлена РНК вируса ПГ типа 3.
Заключение. Полученные данные подтверждают необходимость строгого соблюдения сроков карантина и обязательного тестирования обезьян на наличие АТ к вирусу кори класса IgM, свидетельствующих о недавнем инфицировании. Установлена роль вируса ПГ 3 типа в патологии респираторного тракта у павианов анубисов.

Ключевые слова: *респираторные вирусы (РВ) человека – грипп А, В, парагрипп (ПГ) типов 1, 2, 3, 4, респираторно-синцитиальный (РС) вирус, аденовирус; вирус кори; антитела (АТ) (IgG, IgM); иммуноферментный анализ (ИФА); обезьяны*

Для цитирования: Корзая Л.И., Догадов Д.И., Гончаренко А.М., Карлсен А.А., Кюрегян К.К., Михайлов М.И. Распространение маркёров респираторных вирусов человека среди обезьян Адлерского приматологического центра. *Вопросы вирусологии*. 2021; 66(6): 425-433. DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-77

Для корреспонденции: Догадов Дмитрий Игоревич, канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории инфекционных вирусов, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» Министерства науки и высшего образования (Минобрнауки) России, 354376, Сочи, Россия. E-mail: dima_loko86@mail.ru

Участие авторов: Корзая Л.И. – написание текста, подготовка иллюстративного материала, обзор публикаций на тему статьи, статистическая обработка результатов; Догадов Д.И. – разработка дизайна исследования, написание и редактирование текста, обзор публикаций на тему статьи; Кюрегян К.К. – разработка дизайна исследования, обзор публикаций на тему статьи, редактирование текста; Карлсен А.А. – выполнение филогенетического анализа; Михайлов М.И. – разработка дизайна исследования, обзор публикаций на тему статьи.

Финансирование. Исследование выполнено за счёт государственного бюджета.
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, 23 July 2010). Протокол исследования одобрен Этическим комитетом организации (Протокол № 92 от 20.12.2012 г.).

Поступила 21.09.2021
Принята в печать 14.11.2021
Опубликована 30.12.2021

ORIGINAL ARTICLE
https://doi.org/10.36233/0507-4088-77

Prevalence of laboratory markers of human respiratory viruses in monkeys of Adler primate center

Lidiya I. Korzaya[1], Dmitriy I. Dogadov[1], Aleksandra M. Goncharenko[1], Anastasia A. Karlsen[2,3], Karen K. Kyuregyan[2,3], Mikhail I. Mikhailov[2,3]

[1]FSBRI «Research Institute of Medical Primatology» of the Ministry of Higher Education and Science of Russia, 354376, Sochi, Russia;
[2]FSBEI FPE «Russian Medical Academy of Continuous Professional Education» of the Ministry of Health of Russia, 125993, Moscow, Russia
[3]FSBRI «I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera», 105064, Moscow, Russia

Introduction. The relevance of studying the circulation of human respiratory viruses among laboratory primates is associated with the need to test vaccines and antiviral drugs against these infections on monkeys.
The **aim** of this work was to study the prevalence of serological and molecular markers of human respiratory viral infections in laboratory primates born at the Adler Primate Center and in imported monkeys.
Material and methods. Blood serum samples (*n* = 1971) and lung autopsy material (*n* = 26) were obtained from different monkey species. These samples were tested for the presence of serological markers of measles, parainfluenza (PI) types 1, 2, 3, influenza A and B, respiratory syncytial (RS) and adenovirus infections using enzyme immunoassay (ELISA). Detection of RS virus, metapneumovirus, PI virus types 1–4, rhinovirus, coronavirus, and adenoviruses B, C, E and bocavirus nucleic acids in this material was performed by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR).
Results and discussion. The overall prevalence of antibodies (Abs) among all monkeys was low and amounted 11.3% (95% CI: 9.2–13.7%, *n* = 811) for measles virus, 8.9% (95% CI: 6.2–12.2%, *n* = 381) for PI type 3 virus, 2.5% (95% CI: 0.8–5.6%, *n* = 204) for PI type 1 virus, and 7.7% (95% CI: 3.8–13.7%, *n* = 130) for adenoviruses. When testing 26 autopsy lung samples from monkeys of different species that died from pneumonia, 2 samples from Anubis baboons (*Papio anubis*) were positive for of parainfluenza virus type 3 RNA.
Conclusion. Our data suggest the importance of the strict adherence to the terms of quarantine and mandatory testing of monkey sera for the presence of IgM antibodies to the measles virus that indicate the recent infection. The role of PI virus type 3 in the pathology of the respiratory tract in Anubis baboons has been established.

Key words: *human respiratory viruses – influenza A, influenza B, parainfluenza types 1, 2, 3, 4, respiratory syncytial (RS) virus, adenovirus, measles virus; antibodies (IgG, IgM); enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); monkeys*

For citation: Korzaya L.I., Dogadov D.I., Goncharenko A.M., Karlsen A.A., Kyuregyan K.K., Mikhailov M.I. Prevalence of laboratory markers of human respiratory viruses in monkeys of Adler primate center. *Problems of Virology* (*Voprosy Virusologii*). 2021; 66(6): 425-433 (In Russ.). DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-77

For correspondence: Dmitriy I. Dogadov, Ph.D. (Biol.), Researcher of the Infection Virology Laboratory, FSBRI «Research Institute of Medical Primatology» of the Ministry of Higher Education and Science of Russia, 354376, Sochi, Russia. E-mail: dima_loko86@mail.ru

Information about the authors:
Korzaya L.I., https://orcid.org/0000-0003-2259-5773
Dogadov D.I., https://orcid.org/0000-0003-1596-0509
Goncharenko A.M. https://orcid.org/0000-0002-6979-9784
Kyuregyan K.K., https://orcid.org/0000-0002-3599-117X
Karlsen A.A., https://orcid.org/0000-0002-6013-7768
Mikhailov M.I., https://orcid.org/0000-0002-6636-6801

Contribution: Dogadov D.I. – writing of the text, creation of illustrations, reviewing of publications, statistical analysis of the results; Korzaya L.I. – developing the research design, writing and editing of the text, reviewing of publications; Kyuregyan K.K. – developing the research design, reviewing publications, editing of the text; Karlsen A.A. – phylogenetic analysis; Mikhailov M.I. – developing the research design, reviewing publications.

Funding. The research was funded by the State budget.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Ethics approval. The authors confirm compliance with the institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with «Consensus Author Guidelines for Animal Use» (IAVES, 23 July 2010). The study protocol was approved by the Ethics Committee of the organization (Protocol No. 92 dated 20.12.2012).

Received 21 September 2021
Accepted 14 November 2021
Published 30 December 2021

Введение

Актуальность изучения циркуляции респираторных вирусов (РВ) человека среди лабораторных приматов связана с необходимостью исследования на обезьянах вакцинных и антивирусных препаратов против вызываемых этими возбудителями инфекций, смертность от которых наиболее высока у детей и пожилых лиц [1–4]. Определение и характеристика специфических антител (АТ) в сыворотках экспериментальных животных представляют собой обязательный этап в подготовке их к исследованию и служат гарантией получения корректных результатов. Кроме того, до настоящего времени в большинстве случаев остаются неустановленными этиологические агенты, вызывающие у обезьян респираторные заболевания (пневмонии и бронхиты) со значительными показателями смертности [5]. Остаётся также не изученным вопрос, касающийся эпидемической опасности РВ человека для этих животных (за исключением вируса кори (ВК) (*Paramyxoviridae: Morbillivirus*), в отношении которого такая опасность хорошо документирована) [6].

Следует отметить, что возбудитель кори имеет особое значение для обезьян, которые являются единственными представителями животного мира, у которых регистрируются спорадические случаи этой инфекции. Многие виды африканских и азиатских обезьян, включая человекообразных, восприимчивы к данному инфекционному агенту [6, 7]. Случаев заболевания обезьян корью в естественных условиях не наблюдалось. Вместе с тем вспышки спонтанной кори с характерными клиническими признаками описывались с начала XX в. во многих приматологических центрах мира [8–11]. Имеются данные о том, что дети, как и взрослые, не имеющие кори в анамнезе и не привитые от неё, в случае контакта с больными обезьянами легко заражаются этой инфекцией от больных животных [7].

Целью настоящей работы являлось изучение распространённости серологических и молекулярно-генетических маркёров респираторных вирусных инфекций человека у лабораторных приматов, рождённых в Адлерском приматологическом центре (г. Сочи, Россия), и у импортированных обезьян.

Материал и методы

Всего была исследована 1971 сыворотка крови от обезьян различных видов. При определении АТ к РВ исследованы образцы от животных, рождённых в Адлерском приматологическом центре на протяжении 1979–2018 гг. (n = 477): макак резусов (*Macaca mulatta*), макак яванских (*M. fascicularis*), макак лапундеров *(M. nemestrina)*, зелёных мартышек (*Chlorocebus aethiops)* и павианов гамадрилов (*Papio hamadryas)*. Среди 334 обезьян, импортированных в 2014–2018 гг., были зелёные мартышки вервет (*Chlorocebus pygerythrus*), завезённые из мест естественного обитания (Танзания) в 2014 г. (n = 36), а также несколько групп макак яванских, поступивших из Социалистической Республики Вьетнам (СРВ) и Республики Маврикий за период 2015–2018 гг. (n = 298).

Для определения в сыворотках обезьян АТ к ВК (анти-ВК IgG и IgM) использовали коммерческие тест-системы иммуноферментного анализа (ИФА) «ВектоКорь IgG» и ИФА «ВектоКорь IgM» (ЗАО «Вектор-Бест», Россия). С целью детекции АТ класса IgG к вирусам парагриппа (ПГ) типов 1 и 3 (*Paramyxoviridae: Paramyxovirinae: Respirovirus*) и аденовирусам (*Adenoviridae: Mastadenovirus*) групп B, C и E применяли соответствующие иммуноферментные тест-системы (ЗАО «ЭКОлаб», Россия). АТ класса IgG к вирусам гриппа A и B (*Orthomyxoviridae*: *Influenza* {A, B} *virus*), респираторно-синцитиальному (РС) вирусу (*Paramyxoviridae: Paramyxovirinae: Pneumovirus*), а также вирусам ПГ типов 1, 3 (*Paramyxoviridae: Paramyxovirinae: Respirovirus*) и 2 (*Paramyxoviridae: Paramyxovirinae: Rubulavirus*) определяли в соответствующих тест-системах (DRG Diagnostic, Германия).

Результаты ИФА учитывали на лабораторном спектрофотометре «Immunochem-2100» (High Technology Inc., США) с использованием фильтра с длиной волны 450 нм. Реактивность сывороток в отношении РВ оценивали по значениям $ОП_{450}$ (оптическая плотность исследуемых образцов сывороток при длине волны 450 нм в ИФА), для ВК – дополнительно в МЕ/мл. Результаты интерпретировали в соответствии с инструкциями производителя, согласно которым серопозитивными по кори считались образцы, в которых концентрация АТ класса IgG превышала 0,18 МЕ/мл.

Помимо этого, на наличие ДНК/РНК РВ человека выборочно исследованы 26 образцов тканей лёгких от погибших животных. Забор материала выполняли при вскрытии с использованием одноразовых скальпеля и пинцета в стерильные пробирки. Суспензию готовили при помощи гомогенизатора «Minilys» (Bertin Technologies, Франция) из расчёта 5–6 г материала в 1 мл 0,1 М Na-фосфатного буфера pH 7,4, затем центрифугировали 30 мин при 3000 об/мин на холодовой центрифуге «Allegra» (Beckman Coulter, США) для удаления осадка. Приготовленный таким образом 10% супернатант использовали в дальнейшем исследовании.

Выделение нуклеиновых кислот производили из полученного 10% лёгочного супернатанта с применением набора «РИБО-преп» (ЗАО «ИнтерЛабСервис», Россия) согласно инструкции производителя. С целью синтеза комплементарных ДНК (кДНК) на матрице суммарной РНК использовали комплект реагентов «Реверта» (ЗАО «ИнтерЛабСервис») также в соответствии с инструкцией производителя.

Полученные кДНК амплифицировали с использованием набора для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени «Амплисенс ОРВИ-скринFL» (ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Россия) в целях выявления возбудителей острых респираторных вирусных инфекций (РС-вирус; метапневмовирус; вирусы ПГ 1, 2, 3 и 4 типов; коронавирус (*Coronaviridae: Human coronavirus* {α, β}); риновирус (*Picornaviridae: Enterovirus: Human rhinovirus* {A...C}); аденовирусы групп B, C и E; бока-

вирус (*Parvoviridae: Parvovirinae: Bocavirus*)) согласно инструкции производителя. Амплификацию и анализ результатов осуществляли при помощи прибора Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия).

кДНК вируса ПГ человека 3 типа амплифицировали с праймерами к участку генома вируса, кодирующему белок L [8]. Результаты учитывали методом электрофореза продуктов ПЦР (10 мкл) с помощью набора реагентов для электрофоретической детекции (ЗАО «ИнтерЛабСервис»). Величина ампликона, получаемого в результате ПЦР, составляла 367 п.н. Ампликоны очищали из агарозного геля посредством набора QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen) и проводили секвенирование по Сэнгеру на автоматизированном генетическом анализаторе ABI3500 (ABI, США) с набором реагентов Big Dye Terminator v.3 Cycle Sequencing Kit (ThermoFisher Scientific, США) в соответствии с протоколом производителя.

Полученные нуклеотидные последовательности выравнивали относительно друг друга и соответствующих участков полных или частичных геномных последовательностей вируса ПГ 3 человека, доступных в базе данных GenBank на момент проведения исследования. Филогенетическое дерево строили по методу максимального правдоподобия (maximum likelihood) в программном обеспечении MEGA X.

Результаты подвергали статистической обработке по общепринятым методикам с использованием программы GraphPad. Статистическая обработка данных включала: определение показателей средних величин (*M*), расчёт 95% доверительного интервала (ДИ), выявление достоверности различий средних значений показателей в сравниваемых группах с применением критерия Фишера (различия оценивались как достоверные при вероятности 95% – $p \leq 0{,}05$).

Результаты и обсуждение

В **табл. 1** представлены средние показатели частоты выявления АТ класса IgG к ВК, вирусам гриппа А, В, ПГ типов 1, 2, 3, РС-вирусу и аденовирусу у обезьян 2 групп: рождённых в питомнике и импортированных. В сыворотках лабораторных приматов выявлены АТ только к 4 из 7 исследованных вирусов: к ВК – 11,3% (95% ДИ: 9,2–13,7%; *n* = 811); ПГ 3 типа – 8,9% (95% ДИ: 6,2–12,2%; *n* = 381); ПГ 1 типа – 2,5% (95% ДИ: 0,8–5,6%; *n* = 204) и аденовирусам – 7,7% (95% ДИ: 3,8–13,7%, *n* = 130). АТ к вирусам гриппа А, гриппа В и РС вирусу не обнаружены в обеих группах животных, что свидетельствует об отсутствии циркуляции этих агентов среди обезьян Адлерского приматологического центра.

В **табл. 2** представлены результаты выявления АТ к ВК у обезьян, рождённых в Адлерском питомнике в разные годы (*n* = 477). В целом доля серопозитивных к этому вирусу особей, рождённых в условиях питомника, была невысокой – 10,5% (95% ДИ: 7,8–13,6%). Количество серопозитивных животных оказалось сходным среди макак резусов, макак лапундеров, зелёных мартышек и павианов гамадрилов (10,5–13,3%); лишь для макак яванских этот показатель составил 4,9%, однако различия были недостоверны ($p > 0{,}05$). Не выявлено значимых различий и в значениях концентрации АТ среди различных видов серопозитивных обезьян, рождённых в приматологическом центре. Средняя концентрация АТ составила 1,78 ± 0,23 МЕ/мл.

Проведённый анализ показал (**табл. 2**), что серопозитивные по кори особи (40,7%; 95% ДИ: 9,2–13,7%) обнаруживались лишь среди животных, рождённых с 1979 по 1992 гг. (*n* = 123) и не выявлялись в группе рождённых в период 1993–2017 гг. (*n* = 354). Это свидетельствует о прекращении циркуляции ВК среди обезьян Адлерского питомника после 1993 г.

Важным является факт отсутствия АТ класса IgM к указанному вирусу у представителей различных видов (*n* = 127), родившихся в 1993–2016 гг., что также подтверждает отсутствие новых случаев данной инфекции на территории питомника. Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что IgM-АТ к ВК у обезьян появляются на 7 сут после заражения и циркулируют в течение 30 сут [12].

Кроме того, мы проанализировали частоту выявления АТ к ВК среди обезьян, импортированных за период 2014–2018 гг. (**табл. 3**). Необходимо отметить, что до 2014 г. животные в питомник не импортировались. АТ не обнаруживались у зелёных мартышек вервет (*n* = 36), прибывших в 2014 г. из мест естественного обитания (Танзания). У макак яванских, поступивших из Вьетнама (5 групп), выявлены АТ класса IgG к ВК, в среднем в 17% наблюдений (95% ДИ: 11,2–20,4%; *n* = 334). Количество серопозитивных результатов в различных партиях варьировало от 2,3 до 57,5% (группы 1–4); обезьяны же 5 группы (*n* = 100) были серонегативными. Эти животные были значительно моложе (на 1,9–2,6 года) обезьян из других групп, где присутствовали серопозитивные особи (старше 4 лет). Наличие АТ IgG (6,8% наблюдений) установлено также среди прибывших из Республики Маврикий макак яванских (*n* = 44). Значение реактивности сывороток к ВК у представителей этого вида, импортированных из Вьетнама и Маврикия, находилось в пределах от 0,30 ± 0,12 до 1,65 ± 0,53 МЕ/мл и в среднем было равным 1,26 ± 0,17 МЕ/мл.

Случаи выявления АТ класса IgM к ВК среди импортированных обезьян отсутствовали, однако значительная частота детекции АТ IgG в некоторых группах (до 57,5%) указывает на высокую интенсивность циркуляции вируса во вьетнамском питомнике и возможность заноса инфекции в Адлерский приматологический центр, где циркуляция возбудителя кори отсутствует на протяжении последних 25 лет. В связи с этим необходим контроль за содержанием обезьян в карантине с соблюдением его сроков в странах экспорта и импорта. Кроме этого, обязательно следует проводить тестирование импортированных животных на наличие противокоревых АТ класса IgM, свидетельствующих о недавнем инфицировании.

Наибольшее количество сывороток, содержащих

АТ к вирусу ПГ типа 3, обнаружено среди макак яванских – 23,8% (95% ДИ: 12,0%–39,4%, n = 42), что достоверно (p = 0,01) превышало средний показатель серопозитивности среди особей, рождённых в питомнике, – 8,1% (95% ДИ: 4,4–13,5%, n = 160). Следует отметить, что возраст серопозитивных макак яванских варьировал от 8 до 17 лет. Среди макак резусов и зелёных мартышек доля позитивных сывороток

Таблица 1. Частота выявления антител класса IgG к респираторным вирусам человека среди обезьян Адлерского приматологического центра (рождённых в питомнике и импортированных)

Table 1. Detection rates of IgG antibodies to human respiratory viruses among monkeys of the Adler Primate Center (born in the nursery and imported)

Группа обезьян Monkey's group	Вид обезьян Monkey species	Антитела класса IgG к респираторным вирусам* IgG antibodies to respiratory viruses*							
		Корь Measles	Парагрипп 1 тип Parainfluenza 1	Парагрипп 3 тип Parain-fluenza 3	Аденовирусы Adenoviruses	Респиратор-но-синци-тиальный вирус Respiratory syncytial virus	Грипп А Influenza A	Грипп В Influenza B	Пара-грипп 2 тип Parain-fluenza 2
Рождённые в приматологическом центре Born in the Primate Center	Всего Total	50/477 (10,5 ± 2,8)	5/160 (3,1 ± 2,7)	13/160 (8,1 ± 4,2)	3/68 (4,4 ± 4,9)	0/77 (0)	0/122 (0)	0/42 (0)	0/42 (0)
	Макаки резусы Rhesus monkeys *(Macaca mulatta)*	31/241 (12,9 ± 4,2)	0/46 (0)	2/46 (4,3 ± 5,9)	0/24 (0)	0/36 (0)	0/65 (0)	0/28 (0)	0/28 (0)
	Макаки яванские Cynomolgus monkeys *(M. fascicularis)*	4/81 (4,9 ± 4,7)	3/42 (7,1 ± 7,8)	10/42 (23,8 ± 12,9)	3/22 (13,6 ± 14,3)	0/31 (0)	0/57 (0)	0/14 (0)	0/14 (0)
	Макаки лапундеры Pig-tailed macaques (*M. nemestrina*)	5/42 (11,9 ± 9,8)	0/9 (0)	0/9 (0)	0/9 (0)	н.и.** n.i.**	н.и.** n.i.**	н.и.** n.i.**	н.и.** n.i.**
	Зелёные мартышки Grivet monkeys (*Chlorocebus aethiops)*	11/75 (14,7 ± 8,0)	1/37 (2,7 ± 5,2)	2/37 (5,4 ± 7,3)	0/6 (0)	0/10 (0)	н.и.** n.i. **	н.и.** n.i.**	н.и.** n.i.**
	Павианы гамадрилы Hamadryas baboons (*Papio hamadryas)*	4/38 (10,5 ± 9,7)	1/26 (3,8 ± 7,3)	0/26 (0)	0/7 (0)	н.и.** n.i.**	н.и.** n.i.**	н.и.** n.i.**	н.и.** n.i.**
Импортированные Imported	Всего Total	42/334 (12,6 ± 3,6)	0/44 (0)	21/221 (9,5 ± 3,9)	7/62 (11,3 ± 7,9)	0/64 (0)	0/16 (0)	0/16 (0)	0/36 (0)
	Макаки яванские (Вьетнам) Cynomolgus monkeys (Vietnam) (*M. fascicularis*)	42/298 (14,1 ± 3,9)	0/36 (0)	19/213 (8,9 ± 3,8)	3/35 (8,6 ± 9,3)	0/36 (0)	0/16 (0)	0/16 (0)	0/36 (0)
	Зелёные мартышки вервет (Танзания) Vervet monkeys (Tanzania) (*Chlorocebus pygerythrus*)	0/36 (0)	0/8 (0)	2/8 (25 ±3 0,0)	4/27 (14,8 ± 13,4)	0/8 (0)	н.и. n.i.	н.и. n.i.	н.и. n.i.
Итого по двум группам Total for two groups		92/811 (11,3 ± 2,2)	5/204 (2,5 ± 2,1)	34/381 (8,9 ± 2,8)	10/130 (7,7 ± 4,6)	0/171 (0)	0/138 (0)	0/58 (0)	0/78 (0)

Примечание. *данные представлены в виде соотношения – количество серопозитивных особей/количество обследованных особей обезьян (значение в процентах ± ДИ 95%); **н.и. – не исследовано

Note. *the data are presented as a ratio of the number of seropositive individuals/number of examined individuals (percentage ± 95% CI), **n.i., not investigated.

Таблица 2. Частота выявления антител класса IgG к вирусу кори среди обезьян, рождённых в Адлерском приматологическом центре в разные годы

Table 2. Detection rates of IgG antibodies to measles virus among monkeys born in the Adler Primate Center in different years

Вид обезьян Monkey species	Антитела класса IgG к вирусу кори в сыворотках обезьян, рождённых в разные периоды времени (годы)* IgG antibodies to measles virus in sera of monkeys born at different periods of time (years)*		
	1979–2017	1979–1992	1993–2017
Макаки резусы Rhesus monkeys *(Macaca mulatta)*	31/241 (12,9 ± 4,2)	31/58 (53,4 ± 12,8)	0/183 (0)
Макаки яванские Cynomolgus monkeys *(M. fascicularis)*	4/81 (4,9 ± 4,7)	4/14 (28,6 ± 23,7)	0/67 (0)
Макаки лапундеры Pig-tailed macaques (*M. nemestrina*)	5/42 (11,9 ± 9,8)	5/14 (35,7 ± 25,1)	0/28 (0)
Зелёные мартышки Grivet monkeys (*Chlorocebus aethiops)*	11/75 (14,7 ± 8,0)	10/17 (58,8 ± 23,4)	0/58 (0)
Павианы гамадрилы Hamadryas baboons (*Papio hamadryas)*	4/38 (10,5 ± 9,7)	4/20 (20,0 ± 17,5)	0/18 (0)
Всего Total	50/477 (10,5 ± 2,8)	50/123 (40,7 ± 8,7)	0/354 (0)

Примечание. *данные представлены в виде соотношения – количество позитивных сывороток/число исследованных сывороток (значение в процентах ± 95% ДИ).

Note. *the data are presented as a ratio of the number of positive sera/number of examined sera (percentage ± 95% CI).

Таблица 3. Частота обнаружения антител классов IgG и IgM к вирусу кори в сыворотках импортированных обезьян

Table 3. Anti-measles IgG and IgM antibodies detection rates in sera of imported monkeys

Вид обезьян Monkeys' species	№ группы Group No.	Страна импорта (дата поступления) Country of import (receipt date)	Возраст (годы) Age (years)	Антитела к вирусу кори (ИФА) Anti-measles antibodies (ELISA)		
				IgG*	МЕ/мл** IU/ml**	IgM*
Зелёные мартышки вервет Vervet monkeys (*Chlorocebus pygerythrus*)	1	Танзания Tanzania (01.06.2014)	3,0–6,0	0/36 (0)	0 (0)	0/36 (0)
Макаки яванские Cynomolgus monkeys *(Macaca fascicularis)*	1	Вьетнам Vietnam (08.11.2015)	4,0–8,1	23/40 (57,5 ± 15,3)	1,27 ± 0,24	0/40 (0)
	2	Вьетнам (05.08.2016) Vietnam	3,8–6,7	1/44 (2,3 ± 4,4)	1,2 ± 0,0	0/44 (0)
	3	Вьетнам (22.04.2017) Vietnam	3,7–8,3	8/35 (22,2 ± 13,8)	1,65 ± 0,53	0/35 (0)
	4	Вьетнам (11.05.2017) Vietnam	3,11–8,4	7/35 (20,0 ± 13,2)	1,21 ± 0,24	0/35 (0)
	5	Вьетнам (14.02.2018) Vietnam	1,9–2,6	0/100 (0)	0 (0)	0/100 (0)
		Всего Total		39/254 (15,4 ± 4,4)	1,33 ± 0,34	0/254 (0)
Макаки яванские Cynomolgus monkeys (*M. fascicularis*)	1	Маврикий (17.09.2016) Mauritius	4,9–9,7	3/44 (6,8 ± 7,4)	0,30 ± 0,12	0/44 (0)
Итого по видам Total by species				42/ 334 (12,6 ± 3,6)	1,26 ± 0,17	0/334 (0)

Примечание. *данные представлены в виде соотношения – количество позитивных сывороток/количество исследованных сывороток (значение в процентах ± 95% ДИ); **реактивность сывороток в МЕ/мл ($M \pm m$); ИФА – иммуноферментный анализ.

Note. *the data are presented as a ratio of the number of positive sera/number of examined individuals (percentage ± 95% CI), **reactivity of sera in IU/ml, $M \pm m$, ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay.

не превышала 5,4%. У макак лапундеров и павианов гамадрилов АТ к данному вирусу не выявлялись. Среди импортированных макак яванских и зелёных мартышек АТ к вирусу ПГ типа 3 определялись в 8,9 ± 1,9 и 25 ± 15,3% случаев соответственно. Возраст серопозитивных обезьян (n = 21) был менее 6 лет. Среднее значение титра положительных сывороток практически не отличалось от такового для родившихся в питомнике особей (1 : 250).

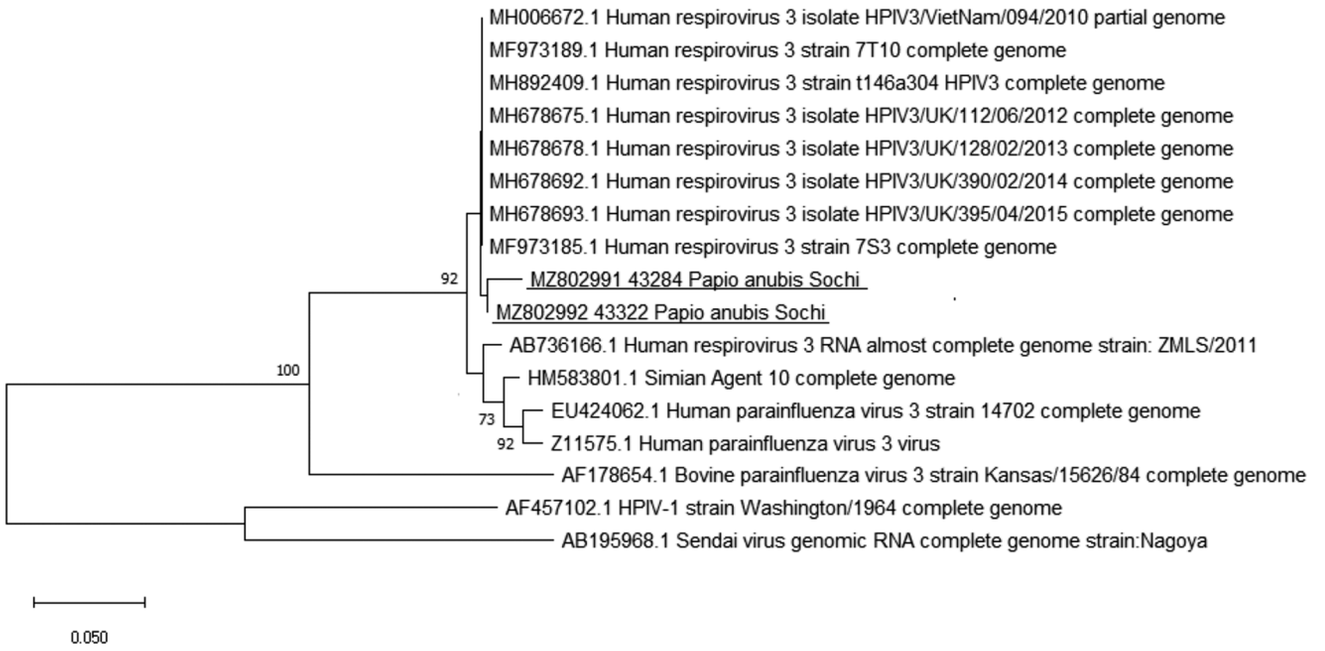
Средняя частота случаев определения АТ к вирусу ПГ 1 типа оказалась невысокой у животных, рождённых в условиях питомника (3,1 ± 1,4%); у импортированных особей указанные АТ не обнаружены. Средняя величина титра позитивных сывороток была равной 1 : 280.

Количество обезьян, имевших АТ к аденовирусам, было в 2,6 раз ниже у рождённых в питомнике (4,4%;95%ДИ:0,9–12,4%,n=68)посравнениюсимпортированными животными (11,3%; 95% ДИ: 4,6– 1,9%, n = 62), однако различия также были недостоверны (p > 0,05). Среди 5 видов приматов, родившихся в питомнике и обследованных на АТ к этим вирусам (n = 68), данный маркёр выявлен только у макак яванских (13,6%; 95% ДИ: 9,2–12,4%; n = 22). Средний относительный коэффициент позитивности реактивных образцов был невысоким – 1,1. У поступивших из Вьетнама макак яванских процент положительных особей составил 8,6% (95% ДИ: 1,8–23,1%; n = 35), а средний коэффициент позитивности реактивных образцов практически не отличался от такового в аналогичных образцах обезьян, родившихся в условиях питомника (1,3). У зелёных мартышек из Танзании (n = 27) выявлены IgG-АТ в 14,8% (95% ДИ: 4,2–33,7%) случаев, а также обнаружены АТ класса IgM в 7,4% (95% ДИ: 0,9–24,3%) наблюдений, что свидетельствует о недавней перенесённой инфекции у этих животных. Средний коэффициент позитивности для положительных по IgG и IgM образцов составил 1,1 и 1,6 соответственно.

На наличие молекулярно-генетических маркёров выборочно проверены 26 образцов лёгочной ткани разных видов обезьян, погибших от пневмонии. Павшие животные представляли 3 возрастные группы: от 1 до 7 дней (n = 13), от 1 мес до 1 года (n = 7) и от 1 года и старше (n = 6). Обнаружены 2 образца (7,7%), содержавших РНК вируса ПГ 3 типа. Генетический материал остальных инфекционных агентов (РС-вируса, метапневмовируса, вирусов ПГ 1, 2 и 4 типов, рино-, корона-, адено- и бокавирусов) в образцах ткани лёгких погибших животных не выявлен. Значения порогового числа циклов (cycle threshold, Ct) в ПЦР для 2 позитивных по РНК вируса ПГ 3 типа образцов были равными 18 и 23 соответственно. Данный биоматериал получен от рождённых в питомнике павианов анубисов в возрасте 3 и 4 мес с диагнозами «двусторонняя крупноочаговая пневмония» и «двусторонняя полисегментарная пневмония». Обезьяны находились в одной вольере и погибли с интервалом в 4 сут. Принадлежность геноизолятов к 3 генотипу вируса ПГ показана также посредством ПЦР с праймерами к участку генома L. Специфичность детекции РНК вируса ПГ типа 3 подтверждена прямым секвенированием амплифицированных фрагментов величиной 367 п.н. Поиск гомологов заданной последовательности нуклеотидов BLAST (basic local alignment search tool) в базе данных NSBI (National Center for Biotechnology Information, Национальный центр биотехнологической информации) и филогенетический анализ (**рисунок**) позволили подтвердить принадлежность амплифицированных последовательностей к участку L генома вируса ПГ человека типа 3. Его последовательности, выделенные от павианов анубисов, были депонированы в GenBank (№№ MZ802991 и MZ802992).

Полученные в исследовании данные согласуются с литературными, в которых имеются сведения о наличии АТ к РВ человека у макак, павианов и зелёных мартышек [6–10], а также о выявлении РНК вируса ПГ человека типа 3 у павианов [13]. По данным литературы, частота обнаружения указанных АТ у обезьян рода макак, содержащихся в питомниках, составляет 60–100% для ВК [6], 9,1% для вируса ПГ типа 2 и 36,4% – для вируса ПГ типа 3 [14]. В этой связи представляются важными результаты исследования по выявлению АТ к вирусу ПГ 3 типа у 19% обследованных павианов (*Papio cynocephalus* и *P. ursinus*) и у 6,7% зелёных мартышек из различных регионов Замбии. В этом же исследовании у 2,1% павианов установлено наличие РНК вируса ПГ типа 3 человека [13]. Представляют интерес также серологические и вирусологические данные об инфицировании вирусом гриппа А разных видов макак (6,0–29,2%) в естественных условиях обитания при тесном контакте с человеком в странах Юго-Восточной Азии и Индонезии [15]. Кроме того, имеются сообщения о циркуляции среди макак резусов штаммов аденовируса, близкородственных вирусам человека [16], а также о причастности этого патогена к вспышке острой респираторной инфекции у 4 из 9 павианов (*P. hamadryas*, *P. anubis*) в неволе [17].

Большое значение, на наш взгляд, имеют результаты скрининга на АТ к ВК, указывающие на длительное отсутствие циркуляции данного вируса в Адлерском питомнике и высокий риск заноса инфекции с импортированными животными. Эта ситуация кардинально отличается от таковой в Сухумском обезьяньем питомнике (г. Сухум, Абхазия) (1982–1983 гг.), когда противокоревые АТ были выявлены почти у 100% родившихся в условиях питомника макак начиная с годовалого возраста [9]. Кроме того, при обследовании в динамике наблюдалось интенсивное естественное инфицирование ВК обезьян, прибывших в питомник из мест их естественного обитания. Аналогичная картина отмечалась и в других приматологических центрах мира, когда АТ к этому возбудителю определялись, как указывалось выше, у 60–100% обследованных животных [6, 7]. Таким образом, обезьяны могут служить своего рода «индикаторной группой» для оценки эпидемической ситуации по кори в окружающем регионе.



Филогенетическое дерево для нуклеотидных последовательностей участка генома вируса парагриппа 3 человека, кодирующего белок L, величиной 321 п.н. (позиции генома 11 196–11 517, нумерация по прототипному штамму Z11575.1). Дерево построено методом максимального правдоподобия (1000 независимых построений). В узлах дерева указаны значения достоверности поддержки ветвей.

Phylogenetic tree for 321 bp fragment of genome sequences of human parainfluenza virus type 3 encoding L protein (genome positions 11,196–11,517, numbering according to the prototype strain Z11575.1). The tree was built using the maximum likelihood method (1,000 independent constructions). In the tree nodes the bootstrap values for branch support are indicated.

Заключение

Результаты работы свидетельствуют о циркуляции аденовируса и вирусов ПГ человека типов 1 и 3 среди рождённых в питомнике и импортированных обезьян, а также о причастности вируса ПГ человека 3 типа к патологии респираторного тракта у павианов анубисов. Подтверждена необходимость строгого соблюдения сроков карантина и обязательного тестирования обезьян на наличие АТ к ВК класса IgM, свидетельствующих о недавнем инфицировании.

Полученные данные указывают на целесообразность дальнейших исследований, направленных на поиск и идентификацию этих и других вирусных агентов при различных респираторных инфекциях у обезьян.

ЛИТЕРАТУРА

1. Boonnak K., Paskel M., Matsuoka Y., Vogel L., Subbarao K. Evaluation of replication, immunogenicity and protective efficacy of a live attenuated cold-adapted pandemic H1N1 influenza virus vaccine in non-human primates. *Vaccine.* 2012; 30(38): 5603–10. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.06.088
2. Durbin A.P., Elkins W.R., Murphy B.R. African green monkeys provide a useful nonhuman primate model for the study of human parainfluenza virus types-1, -2, and -3 infection. *Vaccine.* 2001; 18(22): 2462–9. https://doi.org/10.1016/s0264-410x(99)00575-7
3. Rimmelzwaan G.F., Kuiken T., van Amerongen G., Bestebroer T.M., Fouchier R.A., Osterhaus A.D. Pathogenesis of influenza A (H5N1) virus infection in a primate model. *J. Virol.* 2001; 75(14): 6687–91. https://doi.org/10.1128/JVI.75.14.6687-6691.2001
4. Taylor G. Animal models of respiratory syncytial virus infection. *Vaccine.* 2017; 35(3): 469–80. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.11.054
5. Köndgen S., Kühl H., Goran P.K.N., Walsh P.D., Schenk S., Ernst N., et al. Pandemic human viruses cause decline of endangered great apes. *Curr. Biol.* 2008; 18(4): 260–4. https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.01.012
6. Kalter S.S., Heberling R.L., Cooke A.W., Barry J.D., Tian P.Y., Northam W.J. Viral infection of nonhuman primates. *Lab. Anim. Sci.* 1997; 47(5): 461–7.
7. Лапин Б.А., Джикидзе Э.К., Крылова Р.И., Стасилевич З.К., Яковлева Л.А. *Проблемы инфекционной патологии обезьян.* М.: Изд-во РАМН; 2004: 29–31.
8. Корзая Л.И., Догадов Д.И., Гончаренко А.М., Лапин Б.А. Сравнительное изучение противокоревого иммунитета у взрослого населения города Сочи и обезьян Адлерского приматологического центра. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2019; 96(2): 61–7. https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-2-61-67
9. Корзая Л.И., Кебурия В.В., Гончаренко А.М., Догадов Д.И., Лапин Б.А. Маркёры вирусных инфекций у лабораторных приматов. В кн.: *Материалы второй международной научной конференции «Фундаментальные и прикладные аспекты медицинской приматологии»*. Сочи; 2011: 79–88.
10. Choi Y.K., Simon M.A., Kim D.Y., Yoon B.I., Kwon S.W., Lee K.W., et al. Fatal measles virus infection in Japanese macaques (*Macaca fuscata*). *Vet. Pathol*. 1999; 36(6): 594–600. https://doi.org/10.1354/vp.36-6-594
11. Willy M.E., Woodward R.A., Thornton V.B., Wolff A.V., Flynn B.M., Heath J.L., et al. Management of a measles outbreak among old world nonhuman primates. *Lab. Anim. Sci.* 1999; 49(1): 42–8.

12. van Binnendijk R.S., van der Heijden R.W.J., van Amerongen G., UytdeHaag F.G.C.M., Osterhaus A.D.M.E. Viral replication and development of specific immunity in macaques after infection with different measles virus strains. *J. Infect. Dis.* 1994; 170(2): 443–8. https://doi.org/10.1093/infdis/170.2.443
13. Sasaki M., Ishii A., Orba Y., Thomas Y., Hang'ombe B.M., Moonga L., et al. Human parainfluenza virus type 3 in wild nonhuman primates, Zambia. *Emerg. Infect. Dis*. 2013; 19(9): 1500–3. https://doi.org/10.3201/eid1909.121404
14. Schillaci M.A., Jones-Engel L., Engel G.A., Kyes R.C. Exposure to human respiratory viruses among urban performing monkeys in Indonesia. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 2006; 75(4): 716–9.
15. Karlsson E.A., Engel G.A., Feeroz M.M., San S., Rompis A., Lee B.P., et al. Influenza virus infection in nonhuman primates. *Emerg. Infect. Dis*. 2012; 18(10): 1672–5. https://doi.org/10.3201/eid1810.120214
16. Roy S., Sandhu A., Medina A., Clawson D.S., Wilson J.M. Adenoviruses in fecal samples from asymptomatic rhesus macaques, United States. *Emerg. Infect. Dis*. 2012; 18(7): 1081–8. https://doi.org/10.3201/eid1807.111665
17. Chiu C.Y., Yagi S., Lu X., Yu G., Chen E.C., Liu M., et al. A novel adenovirus species associated with an acute respiratory outbreak in a baboon colony and evidence of coincident human infection. *mBio*. 2013; 4(2): e00084. https://doi.org/10.1128/mBio.00084-13

REFERENCES

1. Boonnak K., Paskel M., Matsuoka Y., Vogel L., Subbarao K. Evaluation of replication, immunogenicity and protective efficacy of a live attenuated cold-adapted pandemic H1N1 influenza virus vaccine in non-human primates. *Vaccine.* 2012; 30(38): 5603–10. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.06.088
2. Durbin A.P., Elkins W.R., Murphy B.R. African green monkeys provide a useful nonhuman primate model for the study of human parainfluenza virus types-1, -2, and -3 infection. *Vaccine.* 2001; 18(22): 2462–9. https://doi.org/10.1016/s0264-410x(99)00575-7
3. Rimmelzwaan G.F., Kuiken T., van Amerongen G., Bestebroer T.M., Fouchier R.A., Osterhaus A.D. Pathogenesis of influenza A (H5N1) virus infection in a primate model. *J. Virol.* 2001; 75(14): 6687–91. https://doi.org/10.1128/JVI.75.14.6687-6691.2001
4. Taylor G. Animal models of respiratory syncytial virus infection. *Vaccine.* 2017; 35(3): 469–80. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.11.054
5. Köndgen S., Kühl H., Goran P.K.N., Walsh P.D., Schenk S., Ernst N., et al. Pandemic human viruses cause decline of endangered great apes. *Curr. Biol.* 2008; 18(4): 260–4. https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.01.012
6. Kalter S.S., Heberling R.L., Cooke A.W., Barry J.D., Tian P.Y., Northam W.J. Viral infection of nonhuman primates. *Lab. Anim. Sci.* 1997; 47(5): 461–7.
7. Lapin B.A., Dzhikidze E.K., Krylova R.I., Stasilevich Z.K., Yakovleva L.A. *Problems of Infectious Pathology in Monkeys [Problemy infektsionnoy patologii obez'yan]*. Moscow: RAS Publishing; 2004: 29–31. (in Russian)
8. Korzaya L.I., Dogadov D.I., Goncharenko A.M., Lapin B.A. Comparative study of anti-measles immunity in adult population of Sochi and laboratory primates of Adler primate center *[Sravnitel'noe izuchenie protivokorevogo immuniteta u vzroslogo naseleniya goroda Sochi i obez'yan Adlerskogo primatologicheskogo tsentra]*. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2019; 96(2): 61–7. https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-2-61-67 (in Russian)
9. Korzaya L.I., Keburiya V.V., Goncharenko A.M., Dogadov D.I., Lapin B.A. Markers of laboratory primates' viral infections. In: *Materials of the 2nd International Scientific Conference «Fundamental and Applied Aspects of Medical Primatology» [Markery virusnykh infektsiy u laboratornykh primatov. V kn.: Materialy vtoroy mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii «Fundamental'nye i prikladnye aspekty meditsinskoy primatologii»]*. Sochi; 2011: 79–88. (in Russian)
10. Choi Y.K., Simon M.A., Kim D.Y., Yoon B.I., Kwon S.W., Lee K.W., et al. Fatal measles virus infection in Japanese macaques (*Macaca fuscata*). *Vet. Pathol*. 1999; 36(6): 594–600. https://doi.org/10.1354/vp.36-6-594
11. Willy M.E., Woodward R.A., Thornton V.B., Wolff A.V., Flynn B.M., Heath J.L., et al. Management of a measles outbreak among old world nonhuman primates. *Lab. Anim. Sci.* 1999; 49(1): 42–8.
12. van Binnendijk R.S., van der Heijden R.W.J., van Amerongen G., UytdeHaag F.G.C.M., Osterhaus A.D.M.E. Viral replication and development of specific immunity in macaques after infection with different measles virus strains. *J. Infect. Dis.* 1994; 170(2): 443–8. https://doi.org/10.1093/infdis/170.2.443
13. Sasaki M., Ishii A., Orba Y., Thomas Y., Hang'ombe B.M., Moonga L., et al. Human parainfluenza virus type 3 in wild nonhuman primates, Zambia. *Emerg. Infect. Dis*. 2013; 19(9): 1500–3. https://doi.org/10.3201/eid1909.121404
14. Schillaci M.A., Jones-Engel L., Engel G.A., Kyes R.C. Exposure to human respiratory viruses among urban performing monkeys in Indonesia. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 2006; 75(4): 716–9.
15. Karlsson E.A., Engel G.A., Feeroz M.M., San S., Rompis A., Lee B.P., et al. Influenza virus infection in nonhuman primates. *Emerg. Infect. Dis*. 2012; 18(10): 1672–5. https://doi.org/10.3201/eid1810.120214
16. Roy S., Sandhu A., Medina A., Clawson D.S., Wilson J.M. Adenoviruses in fecal samples from asymptomatic rhesus macaques, United States. *Emerg. Infect. Dis*. 2012; 18(7): 1081–8. https://doi.org/10.3201/eid1807.111665
17. Chiu C.Y., Yagi S., Lu X., Yu G., Chen E.C., Liu M., et al. A novel adenovirus species associated with an acute respiratory outbreak in a baboon colony and evidence of coincident human infection. *mBio*. 2013; 4(2): e00084. https://doi.org/10.1128/mBio.00084-13