

На правах рукописи

**КАЛАЙДЖЯН**

**Акоп Андроникович**

**ВЫДЕЛЕНИЕ НОВОГО ШТАММА ВИРУСА ЭНЦЕФАЛОМИОКАРДИТА  
И ИЗУЧЕНИЕ ЕГО ЦИРКУЛЯЦИИ В АДЛЕРСКОМ ПИТОМНИКЕ  
ОБЕЗЬЯН**

(03.02.02. – Вирусология)

**НАУЧНЫЙ ДОКЛАД**

Сочи-2019

**Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Научно-исследовательский институт медицинской приматологии»**

**Научный руководитель:**

**научный руководитель  
ФГБНУ «НИИ МП»,  
доктор медицинских наук,  
академик РАН  
Лапин Борис Аркадьевич**

**Научный консультант:**

**ведущий научный сотрудник  
лаборатории инфекционной вирусологии  
ФГБНУ «НИИ МП»,  
кандидат медицинских наук  
Вышемирский Олег Иванович**

**Рецензенты:**

**заведующий лабораторией  
инфекционной вирусологии  
ФГБНУ «НИИ МП»,  
доктор медицинских наук  
Корзая Лидия Ивановна**

**Профессор кафедры управления  
и технологий в туризме и сервисе  
доктор медицинских наук  
Брюханова Галина Дмитриевна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследования.** Вирус энцефаломиокардита (ЭМКВ) был впервые выделен в 1945 году Хелвигом и Шмидтом в Майами, Флорида, США [1, 2]. Изолирован вирус был от самца гиббона, живущего в неволе, который внезапно погиб от отека легких и миокардита. Первые находки в нашей стране - вирус виллойского энцефалита - были совершены в 1954-57 гг. Фармановой и Чумаченко. Вирус распространен практически повсеместно. Согласно литературным данным, описывающим вирус энцефаломиокардита, последний является причиной вирусных миокардитов у приматов различных питомников и зоопарков. Вирус выделен от бабуинов [13], шимпанзе [7, 14], лемуру [9], макак резусов [15], орангутанов [7, 16]. Вспышки внезапных смертей, связанных с инфицированием ЭМКВ, среди различных животных зарегистрированы в зоопарке Аудубон, Н.Орлеан в 1985 г. [5], также среди слонов в зоопарке Флориды в 1997г. [6]. Спорадические вспышки ЭМКВ-инфекции отмечались в зоопарке Таронга, Австралия в 1987-1995 гг. [7], у вольно живущих слонов Национального Парка Крюгер, Южная Африка между 1993 – 1994гг. [8, 9]. Также в зоопарках Италии среди 15 различных видов приматов 2006-2008гг [9]. У приматов Сухумского питомника Обезьян, АССР (1974г) и в Адлерском питомнике Обезьян, РФ (с 2001г.) также регистрировалась ЭМКВ-инфекция [10]. В Азии ЭМКВ выделили от свиней в Южной Корее и Тайвани, как причина внезапных смертей и репродуктивных расстройств (мертворождение, внутриутробная мумификация плода) [11, 12].

Такое широкое распространение вируса среди различных животных однозначно говорит о возможностях преодоления межвидового барьера ЭМКВ.

В период с июля 2001 по январь 2002 годы произошло 4 случая внезапной смерти от миокардита из 26 орангутангов в Сингапурском Зоологическом саду.

Вирус был выделен из тканей миокарда и легких на культуре Vero. Исследование культуральной жидкости на электронном микроскопе. Было получено 2 изолята ЭМКВ, названных Sing-M100-02 и Sing-M105-02. Изоляты отличались участками, кодирующими VP1 и 3Dpol, гомологичными лишь на 38,8% и 23,6% соответственно. Также проводилось обследование других животных зоологического сада иммуногистохимическими методами, в результате которого подтвердили циркуляцию вируса в зоосаду. При патологоанатомическом вскрытии у погибших приматов отмечали: мультифокальный миокардит, острую правожелудочковую недостаточность и отек легких, гидроторакс, гидроторакс и асцит [4].

Инфицирование вирусом энцефаломиокардита (ЭМКВ) зачастую может протекать без выраженных клинически симптомов, однако, в некоторых случаях, заражение характеризуется вспышками внезапной смерти среди животных, в особенности, нечеловекообразных обезьян зоопарков и питомников. Таким образом, при постмортальном выявлении миокардита при гибели животных, в особенности массовой, следует задуматься о включении ЭМКВ-инфекции в дифференциальную диагностику.

К кардиовирусам чувствительны мыши, хомяки, крысы, свиньи, слоны, приматы и многие другие виды животных. У морских свинок возникает лихорадка и паралич. У свиней он вызывает внутриутробную мумификацию плода и самопроизвольные аборты. У зеленых африканских мартышек и других приматов развиваются нарушения со стороны миокарда и центральной нервной системы, приводящие к смерти в течение 1 – 7 суток [15].

Также опубликованы статьи о выявлении специфических антител к ЭМКВ в сыворотках крови лихорадящих больных с признаками менингизма – головные боли, тошнота, ригидность затылочных мышц, слабость, гипертермия [3, 17, 19].

В литературе описана чувствительность миокарда человека к вирусу ЭМКВ-30 свиней. Учитывая перспективы использования свиных сердечных трансплантатов, в частности сердечных клапанов, на фоне проводимой реципиентам иммуносупрессивной терапии, существуют риски инфицирования человека [18].

В одной из вольер НИИ МП РАМН в городе Сочи произошла массовая гибель павианов-гамадрилов. В результате вспышки с октября 2006 года по май 2007 года в вольере № 56 погибло 37 из 46 обезьян. Заболевание протекало молниеносно, зачастую гибель животного наступала менее чем за сутки: если вечером примат был активен, бодр, с хорошим аппетитом, то на утро обезьяна обнаруживалась погибшей. Согласно документации, всего за обозначенный выше период времени сохранилось 16 заключений патологоанатомических вскрытий павианов гамадрилов вольеры № 56. У всех определялись признаки очагового миокардита, энцефалита, поражение тканей желудка, толстого и тонкого кишечника, поджелудочной железы, отек легких, гидроторакс, гидроперикард, с диагнозом – миокардит\энцефаломиокардит.

При изучении клинической и патологоанатомической картины вспышки был заподозрен в качестве этиологического фактора вирус рода *Cardiovirus*.

Из-за отсутствия диагностикумов к кардиовирусам возник вопрос о разработке диагностических наборов по выявлению РНК вируса и специфических антител к нему. Также в круг задач включили исследование его свойств и изучение циркуляции в Адлерском питомнике обезьян и среди жителей города Сочи.

**Цель и задачи исследования.** Целью настоящей работы являлось: выделение вируса, ответственного за вспышку внезапных смертей среди обезьян Адлерского питомника; секвенирование и филогенетический анализ выделенного вируса; разработка методов исследования циркуляции вируса среди животных и человека; проведение сероэпидемиологической разведки

среди приматов Адлерского питомника обезьян, а также жителей города Сочи. В соответствии с этим были определены следующие задачи:

1. Выделение штамма вируса из тканей погибших в результате вспышки приматов Адлерского питомника обезьян.
2. Определение биологических свойств выделенного штамма.
3. Полногеномное секвенирование штамма.
4. Разработка ОТ ПЦР реального времени для качественного и количественного определения кардиовирусов группы А в тканях и жидкостях пораженных.
5. Разработка ИФА диагностической тест-системы для выявления IgG в сыворотке крови человека и обезьян.
6. Сбор сывороток крови обезьян Адлерского питомника, жителей города Сочи, ткани мозга грызунов, отловленных на территории Адлерского питомника обезьян, для проведения сероэпидемиологической разведки методом ИФА, ОТ ПЦР РВ.

#### **Методы исследования и основные этапы исследования.**

**Выделение ЭМКВ в культуре клеток.** У одной из погибших в результате вспышки ЭМКВ 2006 - 2007 годах самок павиана в асептических условиях для вирусологических исследований были изъяты кусочки миокарда и перикардальная жидкость. Суспензию миокарда и нативную перикардальную жидкостью с добавлением антибиотиков вводили в мозг по 10 мкл 1-2 дневным белым мышам-сосункам и заразили монослой культур клеток Vero и СПЭВ. Состояние животных и культуры клеток контролировали два раза в день в течение двух недель. Изолировать штамм вируса удалось только на мышах-сосунках из суспензии ткани миокарда.

**Компьютерные программы и базы данных для подбора праймеров ОТ-ПЦР реального времени.** Сравнительный анализ, выравнивание нуклеотидных последовательностей, поиск консервативных регионов в консенсусной последовательности были проведены с использованием пакета программы: BioEdit Sequence Alignment Editor (version 7.0.5.2 Copy-right

©1997-2005) находящейся по адресу <http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit> в свободном доступе.

Подбор олигонуклеотидов-праймеров и зондов проводился интерактивно по адресу <http://primer3.ut.ee/> с помощью программы Premier3web (version 4.0.0).

**ПЦР ОТ реального времени.** Экстракцию РНК из биоматериалов (культуральная жидкость, перикардальная жидкость, и т.д.) проводили модифицированным гуанидинтиоционатным методом с использованием положительно заряженных частиц сорбента для электростатического связывания нуклеиновых кислот (НК). Был применен следующий протокол: 100 мкл биоматериала, из которого выделяли РНК, переносили в пробирку, содержащую 300 мкл 5М GuSCN, 1% тритон X100, 20 мМ ЭДТА, 50 мМ трис-НСl (рН 6,4), добавляли 10 мкл 50% взвеси SiO<sub>2</sub>, инкубировали 30 мин, периодически встряхивая на вортексе. После инкубации пробирки центрифугировали 30 сек. при 12000 об/мин затем отмывали осадок трехкратно 500 мкл промывочного раствора, содержащего 10 мМ Трис- НСl (рН 7.3), 50 мМ NaCl, 50% этанола. Далее осадок высушивали при 60 гр С в течение 5 мин. Затем к осадку добавляли 50 мкл буфера для элюации РНК (рН 8,3), содержащего 0,1 М Трис- ЕДТА (TE), пробирки встряхивали на вортексе и центрифугировали 15 сек. для осаждения сорбента. Для ОТ-ПЦР амплификации использовали 5 мкл надосадочной жидкости, содержащей РНК, остаток хранили при -70 гр С.

Качество экстракции НК из биоматериалов анализировали электрофоретически в 2% агарозном геле с 0.5 мкг/мл этидиум бромида. Электрофорез проводили 25 мин., при 50 мА и напряженности поля 10 В/см. НК визуализировали на трансиллюминаторе при длине волны УФ 330 нм. Количество НК анализировали по наличию четкой тонкой полосы, расположенной в 2-х мм справа от лунки.

ОТ-ПЦР реального времени проводили на аппарате RotorGeneQ имеющем 6 каналов детекции. Версия программного обеспечения Rotor-Gene

1.8.17.5. Для ОТ-ПЦР использовали стрипованные оптически прозрачные пластиковые пробирки объемом 0.1 мл с плотно закрывающимися крышками. Объем смеси составлял 25 мкл. Состав ОТ-ПЦР смеси: 5 мкл образца экстрагированной РНК, 0,1 мкл 100 пкМоль/мкл прямого праймера, 0,1 мкл 100 пкМоль/мкл обратного праймера, 0,03 мкл 100 пкМоль/мкл Probe (ПЦР-зонда), 0,5 мкл TaqF полимеразы (активность 5 ЕД/мл), 2,5 мкл 10x буфера (состав 25 mM MgCl<sub>2</sub>), 0,2 мкл смеси в равных долях 100 mM dATP, 100 mM dTTP, 100 mM dCTP, 100 mM dGTP, 5 мкл смеси для обратной транскрипции (Reverta L). Синтез праймеров и зонда был произведен в ООО «Синтол», Москва. Зонд с 5' стороны метили красителем FAM, с 3' стороны - гасителем флюоресценции RTQ1. В качестве положительного контроля использовали РНК, выделенную из культуральной жидкости линии клеток почки эмбриона свиньи (СПЭВ), зараженных лабораторным штаммом вируса энцефалита мышей (ВЭМ). Отрицательным контролем служила дистиллированная вода.

**Полногеномное секвенирование и филогенетический анализ ЭМКВ.** Полногеномное секвенирование РНК вируса выделенного из перикардальной жидкости проводили на приборе MiSeq, Illumina, США.

В настоящем исследовании использовали современный подход к изучению РНК-содержащих вирусов, основанный на сочетании технологии секвенирования нового поколения (next-generation sequencing, NGS). Технология секвенирования нового поколения (использовали прибор MiSeq, Illumina) позволяет полногеномное секвенирование вирусных геномов без использования специфических праймеров. Этот метод является наиболее эффективным для изучения новых или дивергентных вирусов, геном которых сложно определить и секвенировать традиционными генетическими методами.

**Получение иммунной асцитной жидкости (ИАЖ) мышей к штамму вируса ИМП 3761.** Проводили пятикратное внутрибрюшинное введение 10% мозговой суспензии инфицированных мышей-сосунков в количестве 0,1 мл.



При 1 и 2 иммунизации вводился материал, инактивированный 0,2% раствором формалина при 37 гр С в течение 3 суток. По сути, первые два введения проводились формолвакциной. После 1 и 2 иммунизации выдерживали интервал 2 недели. 3,4 и 5 введения проводились 10% суспензией тканей мозга инфицированных мышей-сосунков, без инактивации формалином - живым вирусом – в соединении с 0,1 мл Freund's Complete Adjuvant производства Thermo Sceintific, USA. На вторые сутки после пятой иммунизации всем мышам внутрибрюшинно вводилась культура клеток саркомы мышей TG-180.

Через 12-14 дней в асептических условиях из брюшной полости мышей извлекалась асцитическая жидкость в объеме 10 – 12 мл. Асцитическая жидкость центрифугировалась при 2 тыс об\мин в течение 30 минут. Надосадочная жидкость и является ИАЖ, которую использовали как положительный контроль в разработке ИФА.

**ИФА сывороток крови.** Очищенный и концентрированный антиген вируса 3761 ИМП разводили в 0,05 М карбонатно-бикарбонатном буфере 1:100 и вносили по 0,1 мл во все лунки 96-луночных планшетов. Планшеты накрывали крышкой и ставили на +37 гр С на 2-3 часа для сенсibilизации. В качестве отмывочного раствора использовали 0,9% раствор хлористого натрия с добавлением 0,1% Твин-20. В качестве рабочего раствора применяли стандартный фосфатно-солевой буферный раствор рН 7,2-7.4 с 0,1% Твин-20 и 10% сыворотки крови плодов коровы, пригодной для постановки ИФА. Следующим этапом ИФА было внесение в лунки разведенных 1:100 образцов сывороток крови людей или приматов. Контакт при +37С 1 час. После удаления сывороток в лунки планшета вносили разведения пероксидазного конъюгата против IgG обезьяны мыши (Sigma, USA) в разведении 1:2000. Контакт при +37 С 1 час. В качестве индикаторного раствора использовали универсальный раствор хромогена ТМБ с перекисью водорода производства ЗАО «Биоком». Останавливали реакцию стоп-реагентом производства ЗАО «Биоком». Учет результатов

производили при длине волны 450 нм. Отрицательными считали сыворотки с величиной оптической плотности (ОП) в лунке менее 0,2; с ОП от 0,2 до 0,4 были сомнительными сыворотками и положительными – с ОП выше 0,4. Реакция учитывалась, если ОП отрицательного контроля была не более 0,2, а положительного – выше 0,6. Все положительные и сомнительные сыворотки переставлялись в другой серии тест-системы. После чего результат считали окончательным.

**РНИФ (реакция непрямо́й иммунофлюоресценции).** Культуру клеток СПЭВ вырастили на покровных стеклах в пенициллиновых флаконах. Заражение культуры клеток проводилось штаммом ИМП 3761 в концентрации 3-4 lg ТЦД 50\мл. Фиксация клеток на покровных стеклах через 24-48 часов после заражения в охлажденном 96% растворе спирта в течение 20 минут. Препараты инфицированных клеток хранились до исследования при -20 гр С.

На клетки наносились исследуемые сыворотки людей в разведении 1:20 и выдерживались во влажной камере при 37 гр С на 30 минут. Затем несколько раз отмывались со сменой физиологического раствора в течение 15 минут. Вносился фитц-конъюгат против IgG человека на покровные стекла с инфицированными клетками и выдерживался во влажной камере при 37 гр С в течение 30 минут. Отмывали в течение 15 минут с трехкратной сменой физиологического раствора. Исследование препаратов проводилось на люминисцентном микроскопе Axio Scope A1, прямой исследовательский, Zeiss.

### **Основные результаты исследования.**

Выделить штамм удалось только на мышцах-сосунках из суспензии ткани миокарда. Результаты выделения представлены в таблице 1.

Таблица 1. Выделение штамма 3761 ИМП.

Материал выделения (погибший павиан гамадрил)	Объект выделения штамма			
	Мыши-сосунки (заражение в мозг)	Взрослые мыши (внутрибрюшинное заражение)	Культура клеток Vero (заражение монослоя)	Культура клеток СПЭВ (заражение монослоя)
Перикардальная жидкость	-	-	-	-
Ткань миокарда	Выделение	-	-	-

Выделенный штамм получил наименование «3761 ИМП». 3761 — номер обезьяны по списку питомника, а ИМП — сокращение от «Институт медицинской приматологии».

Результаты изучения биологических свойств штамма 3761 ИМП представлены в таблице 2.

Таблица 2. Биологические свойства штамма 3761 ИМП.

Объект:	Беспородные белые мыши (внутрибрюшин. введение)	Мыши-сосунки 1-2 дневные (введение в мозг)	Культура клеток Vero (заражение монослоя)	Культура клеток СПЭВ (заражение монослоя)
Признаки:	Парезы, параличи лапок, гибель на 10-12 день	Парезы, параличи, гибель в течение 24-26 часов; > 9 lg LD 50/0,01 ml	8,2 lg ТЦД 50% в 1 мл	9,0 lg ТЦД 50% в 1 мл

После определения полного генома штамма 3761 ИМП, множественное сравнение полногеномных последовательностей выделенного штамма и 34 штаммов ЭМКВ (данные получены из базы GenBank) позволили определить

штамм 3761 ИМП, как Менго-подобный вирус. Геном штамма 3761 на 80% совпадает с геном штамма ЭМКВ (1086 С) и на 83,7% совпадает с геномом штаммов Менго (М, Rz-pmwt). Рисунок 1.

### Sequence Identity Matrix

Seq->	3761 IMP
<b>3761 IMP</b>	<b>ID</b>
EMC strain BD2 KF709977	0,794
EMC isolate BD2 KC762214	0,794
EMC isolate K3 EU780148	0,794
EMC isolate K11 EU780149	0,794
EMC polyprotein M81861 ident. NC_001479	0,793
EMC strain BEL-2887A91 AF356822	0,795
EMC strain BJC3 DQ464062	0,795
EMC strain FJ13 KF293299	0,793
EMC strain GX0601 polyprotein mRNA FJ604852	0,795
EMC strain GX0602 polyprotein mRNA FJ604853	0,795
EMC strain GXLC FJ897755	0,794
EMC strain HB1 DQ464063	0,794
EMC isolate HB10 JQ864080	0,796
EMC strain JX polyprotein gene KF598863	0,793
EMC strain pEC9 DQ288856	0,795
EMC X74312	0,794
EMC strain XX1 polyprotein gene KF598860	0,794
EMC strain XX2 polyprotein gene KF598861	0,794
EMC strain XX3 polyprotein gene KF598862	0,795
EMC strain ZM polyprotein gene KF598864	0,793
Porcine EMC strain EMCV-CBNU polyprotein DQ517424	0,796
Porcine EMC strain NJ08 polyprotein gene HM641897	0,794
EMC viral RNA polyprotein X00463	0,792
EMC strain 1086C polyprotein gene DQ835185	0,804
EMC isolate Sing-M105-02 KC310737	0,758
EMC isolate Sing-M105-02 KC310738	0,758
EMC X87335	0,795
EMC B variant M22457	0,794
EMC D variant M22458	0,794
EMC diabetogenic D variant M37588	0,795
Mengo virus isolate M	<b>0,837</b>
Mengo virus isolate Rz-pMwt DQ294633	<b>0,837</b>
EMC V-30 polyprotein gene AY296731	0,793
Porcine EMC type 2 isolate RD 1338 JX257003	0,711

Рисунок 1. Сходства антигенной структуры ИМП 3761 с другими вирусами.

Было построено филогенетическое древо с использованием программы Bioedit с встроенным модулем protdist метод построения neighbor joining. Рисунок 2.

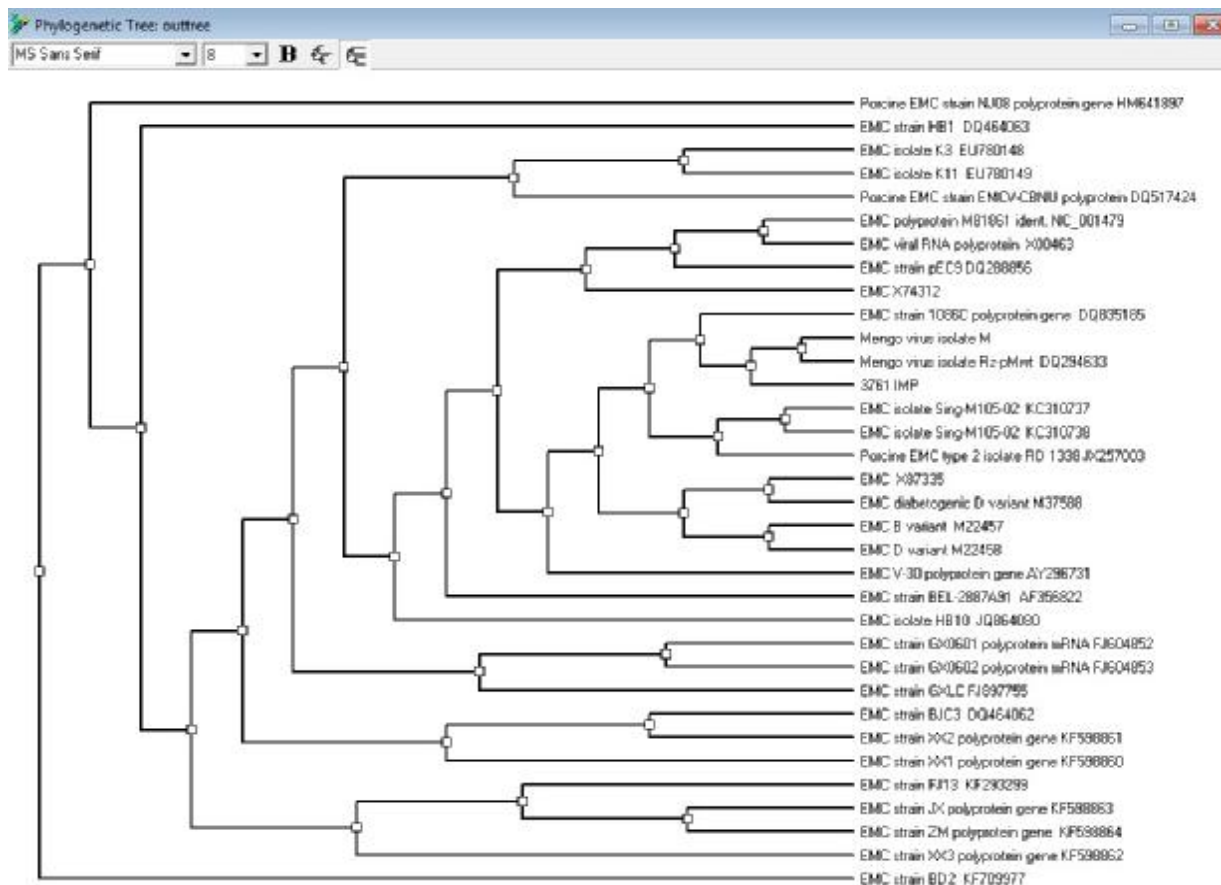
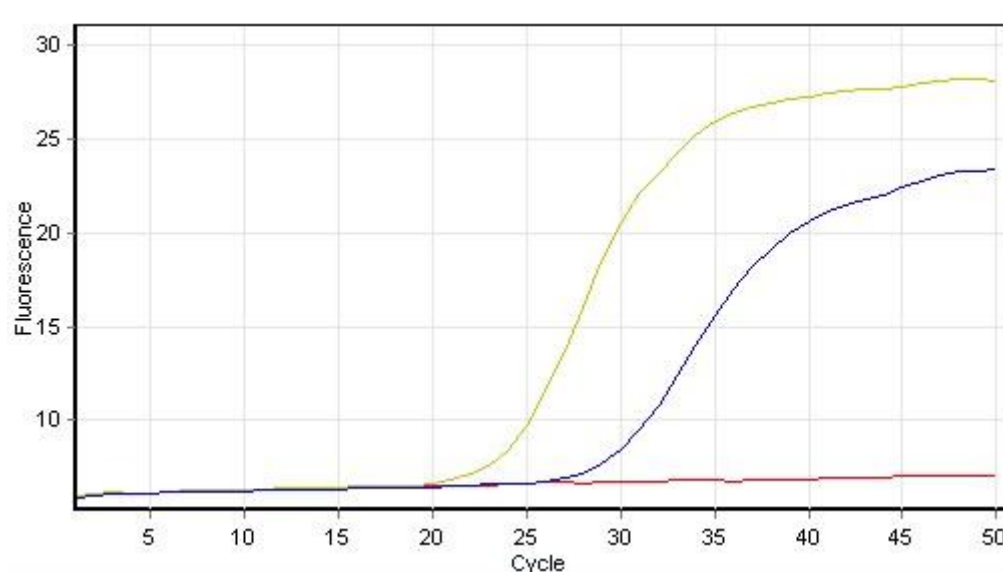


Рисунок 2. Филогенетическое древо.

Для разработки собственной тест системы был применен классический распространенный подход. Было проведено сравнительное выравнивание всех полногеномных штаммов, которое показало гомологию между штаммами на уровне 75-99%. В результате поиска консервативных регионов по всей длине консенсусной последовательности, была найдена нуклеотидная последовательность, содержащая гомологичный более чем на 95% со всеми сиквенсами участок. К этому участку консенсусной нуклеотидной последовательности и были разработаны праймеры и зонд для детекции в ПЦР реального времени.

Праймеры и зонд синтезировали в фирме ЗАО «СИНТОЛ» г. МОСКВА, зонд мечен красителем FAM на 5' конце, гаситель RTQ-1.

В качестве положительного контроля в реакции ПЦР реального времени для проверки работоспособности разработанной тест-системы была использована РНК, выделенная из культуральной жидкости содержащей вирус ВЭМ, предоставленный НИЦ Эпидемиологии и микробиологии им. М.Ф. Гамалеи. Отрицательным контролем служила дистиллированная вода. Протокол программы амплификации: 95 гр С – 5 мин, 50 циклов: 95 гр С – 10 сек, 60 гр С – 30 сек. детекция сигнала. Рисунок 3.



No.	Colour	Name	Type	Ct
1	■	к-	Unknown	NEG (NTC)
2	■	ВЭМ	Unknown	21.88
3	■	3761 п.г.	Unknown	28.05

**Legend:**

NEG (NTC) - Sample cancelled due to NTC Threshold.  
 NEG (R. Eff) - Sample cancelled as efficiency less than reaction efficiency threshold.

Рисунок 3. Результаты ОТ-ПЦР реального времени для определения кардиовирусов группы А.

В рамках изучения циркуляции ЭМКВ на территории Адлерского Питомника обезьян были собраны образцы внутренних органов 152 понтийских мышей *Sylvaemus ponticus*, 22 белозубок (род *Crocidura*), 13

полевых мышей *Apodemus agrarius*, 13 кустарниковых полевок *Microtus majori* и 14 мышей-малюток *Microtus minutus*, отловленных на территории питомника обезьян. Все образцы были пулизированы и обследованы методом real-time PCR с обратной транскрипции на наличие РНК вирусов рода *Cardiovirus* с отрицательным результатом.

Далее в лабораторной серии ИФА тест-системы было обследовано 237 сывороток крови обезьян, в том числе: 74 сыворотки крови зеленых мартышек, 47 – павианов гамадрилов, 30 – павианов анубисов, 86 – макак яванских. Положительными на наличие специфических IgG к вирусу 3761 ИМП оказались: 9 сывороток крови зеленых мартышек - 12%, 21 сывороток крови яванских макак – 24,4%. Рисунок 4. Положительных сывороток крови павианов анубисов и павианов гамадрилов не выявлено.

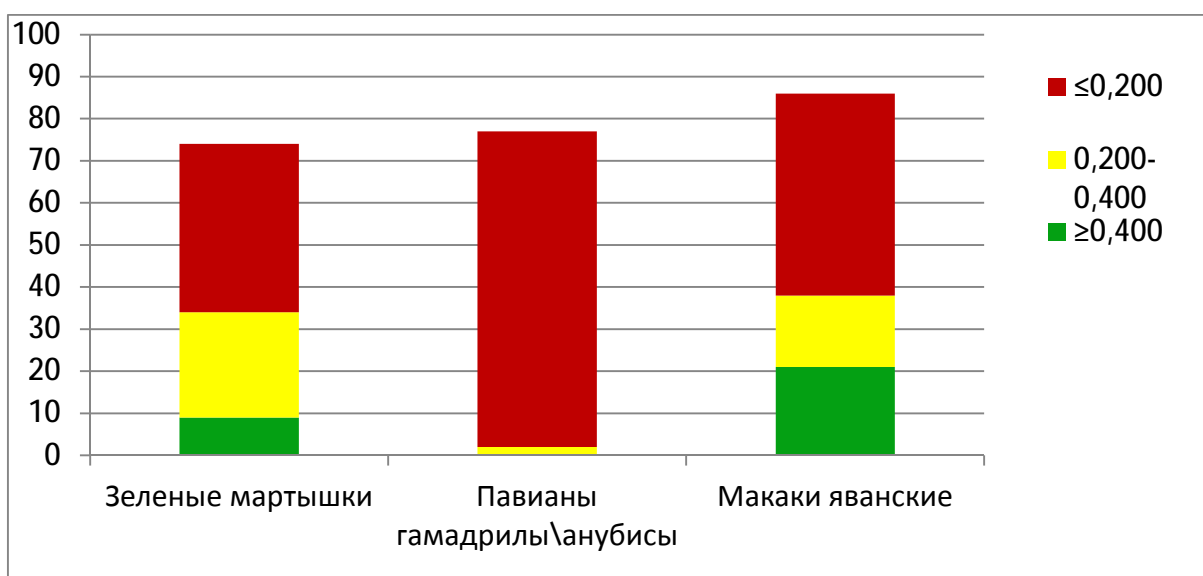


Рисунок 4. ИФА сывороток обезьян НИИ МП на IgG к ЭМКВ.

Также были обследованы 1071 сыворотки крови людей. Положительными на наличие специфических антител класса IgG к вирусу 3761 ИМП оказались 7 сывороток людей (0,65%). Рисунок 5.

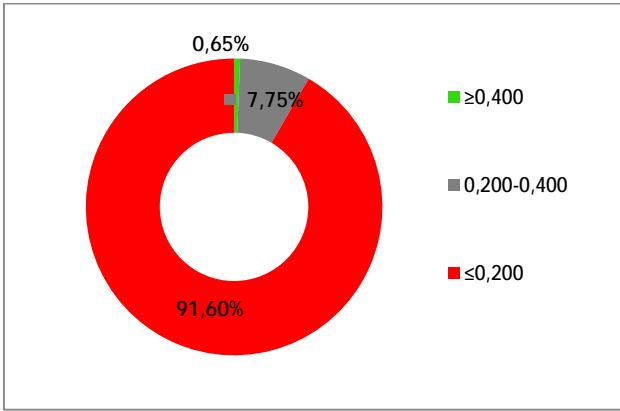


Рисунок 5. ИФА сывороток крови жителей Сочи на IgG к ЭМКВ.



## ВЫВОДЫ.

1. В результате вспышки инфекционного миокардита и энцефаломиокардита с высокой летальностью среди павианов гамадрилов в одной из вольер Адлерского питомника был выделен вирус ЭМКВ, штамм ИМП 3761, род *Cardiovirus*, сем. *Picornaviridae*. Вирус был культивирован. Продемонстрировали его инфекционную активность на культурах клеток СПЭВ и Vero - 9 Ig ТЦД50\мл. Описаны и доказаны его биологические свойства в экспериментах на лабораторных животных (беспородные белые мыши при внутрибрюшинном заражении и мышисосунки при внутримозговом заражении). На основании чего было сделано заключение о том, что причиной описанной вспышки явился именно выделенный вирус.
2. Полный геном ИМП 3761 имеет длину 7712 нт, не считая содержащегося участка *poly(A)*. Филогенетический анализ генома вируса показал, что он ближе всего к вирусу Менго, сходство генома составило 83,7%, что является первым случаем обнаружения Менго-подобного вируса в Европе.
3. Разработано две ОТ-ПЦР РВ тест-системы, позволяющие выявлять большинство кардиовирусов группы А.
4. По результатам проведенных ОТ ПЦР РВ грызунов, отловленных на территории НИИ МП, активной циркуляции вируса среди обследованных особей не наблюдается. По результатам проведенных ИФА установлены иммунологические прослойки среди приматов: павианы (гамадрилы и анубисы) – 0%, макаки яванские – 24,4%, зеленые мартышки – 12%. Среди обследованных жителей города Сочи сероэпидемиологическая прослойка - 0,65%.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Carocci M., Bakkali-Kassimi L. The encephalomyocarditis virus. *Virulence*. 2012; 3 (4): 351-367. DOI: 10.4161/viru.20573
2. Helwig F.C., Schmidt C.H. A filter-passing agent producing interstitial myocarditis in anthropoid apes and small animals. *Science*. 1945; 102 (2637): 31-33. DOI: 10.1126/science.102.2637.31
3. Oberste M.S., Gotuzzo E., Blair P., Nix W.A., Ksiazek T.G., Comer J.A., Rollin P., Goldsmith C.S., Olson J., Koche T.J. Human febrile illness caused by encephalomyocarditis virus infection, Peru. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15 (4): 640-646. DOI: 10.3201/eid1504.081428
4. Dawn Su-Yin Yeo, Jing Er Lian, Charlene J Fernandez, Yueh-Nuo Lin, Jasper Chin-Wen Liaw, Moi-Lien Soh, Elizabeth Ai-Sim Lim, Kwai-Peng Chan, Mah-Lee Ng, Hwee-Cheng Tan, Serena Oh, Eng-Eong Ooi and Boon-Huan. A highly divergent Encephalomyocarditis virus isolated from nonhuman primates in Singapore. *Virology Journal* 201310:248.
5. Wells SK, Gutter AE, Soike KF, Baskin GB: Encephalomyocarditis virus: epizootic in a zoological collection. *J Zool Wild Med* 1989, 20:291-296.
6. 84. Simpson CF, Lewis AL, Gaskin JM: Encephalomyocarditis virus infection of captive elephants. *J Am Vet Med Assoc* 1977, 171:902-905.
7. 85. Reddacliff LA, Kirkland PD, Hartley WJ, Reece RL: Encephalomyocarditis virus infections in an Australian zoo. *J Zool Wild Med* 1997, 28:153-157.
8. 86. Grobler DG, Raath JP, Braack LE, Keet DF, Gerdes GH, Barnard BJ, Kriek NP, Jardine J, Swanepoel R: An outbreak of Encephalomyocarditis-virus infection in free-ranging African elephants in the Kruger National Park. *Onderstepoort J Vet Res* 1995, 62:97-108.
9. Canelli E, Luppi A, Lavazza A, Lelli D, Sozzi E, Martin AM, Gelmetti D, Pascotto E, Sandri C, Magnone W, Cordioli P: Encephalomyocarditis virus infection in an Italian zoo. *Virol J* 2010, 7:64.
10. Krylova RI, Dzhikidze EK: Encephalomyocarditis in monkeys. *Bull Exp Biol Med* 2005, 139:355-359.

11. Park NY, Ri CY, Chung CY, Kee HY, Bae SY: Pathological findings on Encephalomyocarditis virus infections of swine in Korea. *Korea J Vet Res* 1992, 32:99-109.
12. Hu DG, Chan CH, Shieh WY, Chang CS: Epidemiological studies of swine Encephalomyocarditis virus infection. 1993, 149-154.
13. Hubbard GB, Soike KF, Butler TM, Carey KD, Davis H, Butcher WI, Gauntt CJ: An Encephalomyocarditis virus epizootic in a baboon colony. *Lab Anim Sci* 1992, 42:233-239.
14. Jones P, Cordonnier N, Mahamba C, Burt FJ, Rakotovo F, Swanepoel R, André C, Dauger S, Bakkali Kassimi L: Encephalomyocarditis virus mortality in semi-wild bonobos (*Pan paniscus*). *J Med Primatol* 2011, 40:157-163.
15. Masek-Hammerman K, Miller AD, Lin KC, MacKey J, Weissenbock H, Gierbolini L, Burgos A, Perez H, Mansfield KG: Epizootic myocarditis associated with Encephalomyocarditis virus in a group of rhesus macaques (*macaca mulatta*). *Vet Path* 2012, 49:386-392.
16. Citino SB, Gaskin HJH, Wickham DJ: Fatal Encephalomyocarditis virus infection in Sumatran orangutan (*Pongo pygmaeus abelii*). *J Zoo Wildl Med* 1998, 19:214-218.
17. Gajdusek, C. 1955. Encephalomyocarditis infection in childhood. *Pediatrics* 16:819.
18. Murnane, T. G. 1981. Encephalomyocarditis, p. 137 –147. In G. W. Beran (ed.), *CRC handbook series in zoonoses, section B, vol. 2. Viral zoonoses*. CRC Press, Boca Raton, Fla.
19. Kirkland, P. D., A. B. Gleeson, R. A. Hawkes, H. M. Naim, and C. R. Broughton. 1989. Human infection with encephalomyocarditis virus in New South Wales. *Med. J. Aust.* 151: 176–177.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ НАУЧНО-КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЫ**

### **Статьи:**

1. Vyshemirskii O.I., Agumava A.A., Kalaydzyan A.A., Leontyuk A.V., Kuhn J.H., Shchetinin A.M., Vishnevskaya T.V., Eremyan A.A., Alkhovsky S.V. ISOLATION AND GENETIC CHARACTERIZATION OF ENCEPHALOMYOCARDITIS VIRUS 1 FROM A DECEASED CAPTIVE HAMADRYAS BABOON. *Virus Research*. 2018. Т. 244. С. 164-172.
2. Калайджян А . А ., Каде А . Х ., Поляков П. П., Гудманова А . И. Характеристика вируса энцефаломиокардита и его зоонозный потенциал (обзор литературы). Часть I. Современные представления о строении, структуре , жизненном цикле вируса. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2019; 26(2): 214–223. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2019-26-2-214-223>.

### **Принято к печати:**

3. Калайджян А . А ., Каде А . Х ., Поляков П. П., Гудманова А . И. Характеристика вируса энцефаломиокардита и его зоонозный потенциал (обзор литературы). Часть II. Патогенез. Круг восприимчивых организмов. Статья принята к публикации в Том 26, №3, 2019 года в журнал «Кубанский научный медицинский вестник».

### **Тезисы и материалы научных конференций:**

1. Калайджян А.А. Новый штамм вируса энцефаломиокардита в г. Сочи. // Материалы Межрегионального форума специалистов «Актуальные вопросы инфекционной патологии юга России» с заседанием профильной комиссии по специальности «Инфекционные болезни» Министерства здравоохранения РФ, Краснодар, 8-10 июня 2016г., с. 115-116.
2. Калайджян А.А., Агумава А.А., Альховский С.В., Щетинин А.М., Вишневская Т.В., Лапин Б.А., Вышемирский О.И. РАСШИФРОВКА ВСПЫШКИ ОСТРОГО ИНФЕКЦИОННОГО МИОКАРДИТА СРЕДИ ПАВИАНОВ ГАМАДРИЛОВ АДЛЕРСКОГО ПИТОМНИКА ОБЕЗЬЯН.

- Материалы Сочинской третьей международной научной конференции  
Фундаментальные и прикладные аспекты медицинской приматологии: 8 – 10  
августа 2016 г., Сочи-Адлер. – С.: Изд-во ООО «СТЕРХ ГРУП», стр. 243-251.
3. Калайджян А.А., Агумава А.А., Вышемирский О.И., Лапин Б.А.  
РАЗРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОТ-ПЦР ТЕСТ-СИСТЕМЫ  
РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ КАРИДИОВИРУСОВ ГРУППЫ  
А. В сборнике: МАТЕРИАЛЫ СУХУМСКОЙ МЕЖДУНАРОДНОЙ  
НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ: 90 лет НИИЭПит АНА.  
Сухум, Абхазия, 2017. С. 171-182.
  4. Вышемирский О.И. , Агумава А.А., Альховский С.В., Калайджян А.А.,  
Щетинин А.М., Вишневская Т.В., Лапин Б.А. / ПОЛНОГЕНОМНОЕ  
СЕКВЕНИРОВАНИЕ МЕНГО-ПОДОБНОГО ВИРУСА (СЕМ.  
PICORNAVIRIDAE, РОД CARDIOVIRUS), ИЗОЛИРОВАННОГО ВО  
ВРЕМЯ ВСПЫШКИ ОСТРОГО ИНФЕКЦИОННОГО МИОКАРДИТА  
СРЕДИ ПАВИАНОВ ГАМАДРИЛОВ АДЛЕРСКОГО ПИТОМНИКА  
ОБЕЗЬЯН.//АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ БОЛЕЗНЕЙ, ОБЩИХ ДЛЯ  
ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ. МАТЕРИАЛЫ II ВСЕРОССИЙСКОЙ  
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ (5 - 6 апреля 2017 г.)  
Ставрополь, 2017, стр.215-216.
  5. А.А.Калайджян, О.И.Вышемирский, Б.А.Лапин. Создание ИФА  
диагностической тест-системы для обнаружения IgG в сыворотке крови  
человека и приматов к вирусу энцефаломиокардита. The creation of an ELISA  
diagnostic test system for the detection of IgG in the serum of humans and  
primates against encephalomyocarditis virus. Международная научно-  
практическая конференция «Молодые ученые в медицине и биологии».  
г.Сочи, 18-19 апреля 2019 год.