

А.С.Замедянская, Ал.А.Сергеев, К.А.Титова, А.С.Кабанов, Л.Е.Булычев, Ар.А.Сергеев, А.Е.Нестеров, О.В.Носарева, Д.О.Галахова, Л.Н.Шишкина, А.П.Агафонов, А.Н.Сергеев

## ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЖИВОТНЫХ К ОСОБО ОПАСНЫМ ОРТОПОКСВИРУСАМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПЕРВИЧНЫХ КУЛЬТУР КЛЕТОК ЛЕГКИХ

ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», п. Кольцово, Российская Федерация

**Целью** работы явилось изучение чувствительности животных к высокопатогенным ортопоксвирусам с помощью метода, основанного на использовании первичных культур клеток легких, и оценка возможности дальнейшего применения этого метода. **Материалы и методы.** В работе использовали культуральные и вирусологические методы исследований. **Результаты и выводы.** Проведено изучение чувствительности аутбредной мыши, сурка и цыпленка к вирусам натуральной оспы и оспы обезьян, используя суспензии клеток легких этих животных. При заражении таких клеточных культур этими вирусами в дозе 0,00001 БОЕ/клетку (бляшкообразующие единицы/клетку) продемонстрирован факт их размножения во всех случаях с максимальными значениями концентраций (1,4–2,0 lg БОЕ/мл) в основном через 3 сут после заражения. Чувствительность к вирусу натуральной оспы мышей, сурков и цыплят ( $ID_{50}$  – 50 % инфицирующая доза) по данным, полученным на суспензиях их клеток легких, соответствовала следующим величинам: (0,0 ± 0,4) lg БОЕ для цыплят; (1,3 ± 0,5) lg БОЕ для мышей; (2,3 ± 0,5) lg БОЕ для сурков. При этих условиях величины данного показателя для вируса оспы обезьян были следующими: (1,7 ± 0,3) lg БОЕ для мышей и (0,5 ± 0,3) lg БОЕ для сурков. Значения  $ID_{50}$ , полученные для вируса натуральной оспы на суспензии клеток легких мышей и для вируса оспы обезьян на тех же клетках мышей и сурков, соответствовали таковым, оцененным в прямых экспериментах по интраназальному заражению этих животных данными вирусами с учетом 10 % их аппликации в легких при использовании этого метода заражения. Данное обстоятельство свидетельствует о возможности дальнейшего применения метода оценки чувствительности животных к высокопатогенным ортопоксвирусам по данным экспериментов *in vitro*.

**Ключевые слова:** вирус натуральной оспы, вирус оспы обезьян, мышь, сурок, цыпленок, первичные клетки легких, 50 % инфицирующая доза, вирусная продукция.

Корреспондирующий автор: Замедянская Елена Сергеевна, e-mail: zamedyanskaya\_as@vector.nsc.ru

A.S.Zamedyanskaya, Al.A.Sergeev, K.A.Titova, A.S.Kabanov, L.E.Bulychev, Ar.A.Sergeev, A.E.Nesterov, O.V.Nosareva, D.O.Galakhova, L.N.Shishkina, A.P.Agaonov, A.N.Sergeev

## Assessment of Animal Sensitivity to Particularly Dangerous Orthopoxviruses, Using Primary Cultures of Lung Cells

State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector", Kol'tsovo, Russian Federation

**Objective** of the study is to investigate the sensitivity of different animals to highly pathogenic Orthopoxviruses applying techniques, based on utilization of primary cultures of lung cells, and to assess the possibility of further deployment of this approach. **Materials and methods.** Cultural and virological research methods are used. **Results and conclusions.** Performed is the assessment of sensitivity of outbred mice, marmots and chickens to variola virus (VV) and monkeypox virus (MPV), using suspended primary cultures of lung cells (SPCLC) of these animals. Through inoculation of the mentioned above cell cultures with VV and MPV in a dose of 0.00001 PFU per a cell (plaque forming unit /cell) demonstrated has been virus replication with maximum concentration values in all cases (1,4 – 2,0 lg PFU/ml), mainly 3 days after infection. According to the data on SPCLC, sensitivity to VV in mice, marmots and chickens ( $ID_{50}$  – 50 % infective dose) amounts to (1,3 ± 0,5) lg PFU; (2,3 ± 0,5) lg PFU; and (0,0 ± 0,4) lg PFU respectively, taking into account unhindered interaction of the virus with permissive lung cells in the organism of the animals. As for MPV values for this indicator, they are: (1,7 ± 0,3) lg PFU for mice, and (0,5 ± 0,3) lg PFU – for marmots. Obtained  $ID_{50}$  values for VV using mice SPCLC and for MPV using mice and marmots SPCLC coincide with the ones, studied in direct experiments on intranasal infection with the viruses, with regard to 10 % of the viral application in lungs when deploying the latter method of infection. The fact testifies to the possibility of further deployment of this method for the assessment of animal sensitivity to highly pathogenic Orthopoxviruses based on the results of *in vitro* experiments.

**Keywords:** variola virus, monkeypox virus, mouse, marmot, chicken, primary lung cells, 50 % infective dose, viral production.

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

**Funding:** The study was financially supported by Ministry of Education and Science of the Russian Federation, under the State Contract No 14.518.11.7035.

Corresponding author: Alena S. Zamedyanskaya, e-mail: zamedyanskaya\_as@vector.nsc.ru

Citation: Zamedyanskaya A.S., Sergeev Al.A., Titova K.A., Kabanov A.S., Bulychev L.E., Sergeev Ar.A., Nesterov A.E., Nosareva O.V., Galakhova D.O., Shishkina L.N., Agaonov A.P., Sergeev A.N. Assessment of Animal Sensitivity to Particularly Dangerous Orthopoxviruses, Using Primary Cultures of Lung Cells. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 1:75–78. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-75-78

При осуществлении вирусологических исследований многие ученые проводят оценку чувствительности различных видов животных к тому или иному

вирусному патогену с определением 50 % инфицирующих доз ( $ID_{50}$ ) или 50 % летальных доз ( $LD_{50}$ ) в прямых экспериментах по заражению животных

способом, который, как правило, воспроизводит соответствующий основной механизм инфицирования людей во время реальных эпидемических вспышек болезни. Для такой оценки с учетом возможности проведения статистической обработки необходимо использовать не менее 16–20 животных одного вида. В то же время существует другой подход, который позволяет проводить определение этого показателя, используя результаты, полученные с вирусом на первичных культурах клеток животных, приготовленных из первичных органов мишеней [2]. Для таких исследований требуется, как правило, не более одного–трех животных.

Целью настоящих исследований явилось изучение чувствительности животных к высокопатогенным ортопоксвирусам с помощью метода, основанного на использовании первичных культур клеток легких, и оценка возможности дальнейшего применения этого метода.

### Материалы и методы

Все эксперименты с вирусом натуральной оспы (ВНО) и вирусом оспы обезьян (ВОО) были проведены на базе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» (Россия) в лаборатории с максимальным (первым по классификации РФ) уровнем биологической защиты (BSL-4 по зарубежной классификации) с использованием изолирующих пневмокостюмов.

В экспериментах использовали штаммы Ind-3a ВНО и V79-1-005 ВОО из Государственной коллекции вирусов и риккетсий ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», приготовленные при их культивировании на клетках Vero и имеющие биоконцентрации 6,7 и 7,1 lg БОЕ/мл (бляшкообразующие единицы в мл) соответственно.

В исследованиях использовали следующих животных: аутбредных разнополых 8–10-суточных мышей популяции ICR (массой 8–10 г), полученных из питомника ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»; 1–2-летних сурков породы Байбак (*Marmota bobak*) обоего пола (массой 3–4 кг), полученных из ФГУП «Русский соболь» Пушкинского питомника Московской обл.; 5–7-дневных разнополых цыплят генетической линии Родайленд и кросса Хайсекс вайт, полученных из филиала ЗАО «Ново-Барышевская птицефабрика» Новосибирской обл.

Все манипуляции на животных осуществляли с одобрения комитета по биоэтике ГНЦ ВБ Вектор № ГНЦ ВБ Вектор 1-01.2014 от 28 января 2014 года.

Суспензионную первичную культуру клеток легких (СПККЛ) получали из легочной ткани аутбредных мышей, сурков и цыплят. Перед этим используемые животные были исследованы с помощью реакции нейтрализации [7] на отсутствие противоспецифических антител. После проведения процедуры эвтаназии мышей и цыплят методом цервикальной дислокации, а сурков путем внутримышечного введения летальной дозы (200 мкг/гол.) ветеринарного раствора для анестезии, состоящего из смеси действующих веществ в соотношении 1:1 тилетамина гидрохлорида и золазепам гидрохлорида, осуществляли забор

у них легких, или их кусочков, которые отмывали от крови в среде RPMI-1640. Легочную ткань измельчали на мелкие кусочки размером 1 мм<sup>3</sup> и помещали в раствор трипсина с ДНК-азой для последующей инкубации при температуре 36 °С в течение 35 мин с периодическим встряхиванием через каждые 5 мин. После чего суспензию измельченной легочной ткани с раствором трипсина фильтровали последовательно через нейлоновые фильтры сначала с диаметром пор 100 мкм, затем – 40 мкм. Прошедшую через фильтры клеточную суспензию центрифугировали 40 мин в бакет-роторе с ускорением 200 g (1500–1800 об./мин) при температуре 20 °С на градиенте плотности фиколл-верографина 1,077 г/мл. При этом клетки легкого собирали сверху над границей градиента, отмывали средой RPMI-1640 путем 2-кратного центрифугирования в том же режиме и содержали до заражения в пластиковых пробирках Эппендорф (по 0,9 мл) при 4 °С в поддерживающей питательной среде: среда RPMI-1640 с добавлением гентамицина (80 мкг/мл) и эмбриональной бычьей сыворотки (2 % по объему). При этом в каждой пробирке находилось в среднем  $(5,0 \pm 1,0) \cdot 10^5$  клеток. По данным световой микроскопии, такая клеточная суспензия содержала различные типы живых клеток легких подопытных животных независимо от их вида: реснитчатые клетки (2–5 %), альвеолоциты 1-го типа (9–12 %), альвеолоциты 2-го типа (1–2 %), макрофаги (8–10 %) и другие, кроме нейтрофилов. Жизнеспособность СПККЛ мышей, сурков и цыплят в процессе инкубирования при 34,5 и 37,0 °С через 1 сут составила ~62 %, через 2 сут – ~26 % и через 3 сут – ~12 %.

В качестве отрицательного контроля, который должен показывать отсутствие накопления вирусов, использовали суспензию клеточного дебриса, приготовленного путем 3-кратного замораживания-оттаивания смеси, сделанной в равных пропорциях (по количеству клеток) из СПККЛ мыши, сурка и цыпленка или из СПККЛ мыши и сурка, с последующей проверкой на отсутствие жизнеспособных клеток с помощью световой микроскопии и путем посева на культуральный планшет.

В пробирки с СПККЛ вносили по 0,1 мл разведенного ВНО или ВОО. При изучении динамики накопления вирусов в СПККЛ их заражение осуществляли одной дозой ВНО или ВОО (0,00001 БОЕ/клетку). В каждой временной точке через 1, 48 и 72 ч после заражения (п.з.) делали объединенную пробу содержимого 4 пробирок после 3-кратной заморозки-оттайки для определения биологической концентрации вирусов. При оценке чувствительности этих клеток и урожайности вирусов в них инфицирование проводили дозами от 0,02 до 2000 БОЕ/млн клеток с 10-кратным шагом, используя для каждой дозы по 6 лунок. Параметры урожайности ВНО и ВОО оценивали в пересчете на 1 млн клеток, учитывая среднюю концентрацию клеток по 4 пробиркам и среднюю концентрацию вирусов по 6 пробиркам (после 3-кратной заморозки-оттайки), соответствующим минимальной дозе вирусов, вызывающей их накопление во всех 6 пробирках.

Таблица 1

Динамика накопления штамма Ind-3a вируса натуральной оспы (ВНО) в суспензионных первичных культурах клеток легких (СПККЛ) мыши популяции ICR, сурка и цыпленка линии Родайленд (доза инфицирования – 0,00001 БОЕ/клетку)

Вид клеточного материала	Концентрация ВНО (lg БОЕ/мл, M ± I <sub>95</sub> , n=4) в клеточных материалах через разные часы после заражения (п.з.)		
	1	48	72
СПККЛ мыши	0,7 ± 0,2	1,4 ± 0,3*	1,4 ± 0,1*
СПККЛ сурка	<0,7	1,9 ± 0,2*	2,0 ± 0,3*
СПККЛ цыпленка	0,7 ± 0,2	1,2 ± 0,2*	1,4 ± 0,1*
Дебрис СПККЛ мыши, сурка и цыпленка (контроль)	0,7 ± 0,2	<0,7	<0,7

Примечание: M – среднее значение; I<sub>95</sub> – 95 % доверительный интервал; n – число повторов определения объединенных проб содержимого 4 лунок; <0,7 – величина ниже порога чувствительности (0,7 lg БОЕ/мл) использованного метода титрования; \* – величина выше таковой через 1 ч п.з. клеточной культуры соответствующего животного, p<0,05.

Определение концентрации жизнеспособных вирусов в биоматериалах проводили традиционным методом титрования в монослое клеток Vero [7].

Статистическую обработку результатов проводили стандартными методами [1] с помощью пакета компьютерных программ «Statistica 6.0» (StatSoft Inc. 1984-2001) с оценкой достоверности отличий (p≤0,05) для 95 % доверительного уровня (I<sub>95</sub>). ИД<sub>50</sub> рассчитывали по формуле Спирмена-Кербера.

### Результаты и обсуждение

На начальном этапе при изучении динамики накопления ВНО и ВОО в первичных культурах клеток, полученных из легких мыши, сурка и цыпленка, необходимо было оценить возможность размножения этих вирусов в СПККЛ. Результаты исследований представлены в табл. 1 и 2.

Данные, приведенные в этих таблицах, убедительно свидетельствовали о размножении ВНО и ВОО в СПККЛ всех подопытных животных, при этом наблюдали значимый прирост биологической концентрации этих вирусов уже через 2 и 3 сут п.з. Максимального уровня накопления в клеточных культурах, чаще всего, вирусы достигали через 3 сут п.з.

В дальнейшем с учетом полученных данных по динамике накопления ВНО и ВОО в СПККЛ были проведены эксперименты по изучению чувствительности этих клеток к вирусам, а также уровня вирусной продукции ими, рассчитанные с учетом фиксации данных через 3 сут п.з. о наличии в них вирусов или величины их концентрации. Результаты этих исследований представлены в табл. 3.

Из данных табл. 3 видно, что чувствительность к ВНО СПККЛ цыпленка была самой высокой по срав-

нению с таковой мыши и тем более сурка. Причем если чувствительность первичных культур клеток легких сурка была существенно выше (на 1,8 lg) к ВОО, чем к ВНО, то величины этого показателя для СПККЛ мыши достоверно не различались у данных вирусов. При этом не обнаружено достоверных отличий для обоих вирусов по продуктивной активности в СПККЛ всех трех видов животных.

Необходимость применения первичной культуры клеток легких животных для наших исследований была обусловлена тем, что основными первичными клетками-мишенями к ВНО и ВОО у человека, судя по данным, полученным с этими вирусами на различных видах модельных животных [5, 6, 8], являются макрофаги и эпителиоциты респираторного тракта, с которых и берет свое начало соответствующий инфекционный процесс. Причем используемая нами клеточная культура, по данным световой микроскопии, имела в своем составе в жизнеспособном состоянии все основные типы клеток, из которых построен этот орган, включая легочные макрофаги и эпителиоциты.

Ранее в исследованиях *in vivo* по интраназальному заражению животных возбудителями особо опасных ортопоксвирусных инфекций были оценены величины ИД<sub>50</sub>, полученные с учетом существующей аппликации вирусов в легких животных при использованном методе введения вирусосодержащего материала: (1,7 ± 0,4) lg БОЕ для мышей к ВНО [5]; (1,4 ± 0,6) lg БОЕ для мышей к ВОО; (1,2 ± 1,2) lg БОЕ для сурков к ВОО [3, 4]. Наши результаты, выполненные в этом направлении, но в экспериментах *in vitro* с использованием первичных культур клеток легких этих животных, достоверно не отличались от таковых, полученных *in vivo*, что свидетельствует об адекватности использованного

Таблица 2

Динамика накопления штамма V79-1-005 вируса оспы обезьян (ВОО) в суспензионных первичных культурах клеток легких (СПККЛ) мыши популяции ICR и сурка (доза инфицирования – 0,00001 БОЕ/клетку)

Вид клеточного материала	Концентрация ВОО (lg БОЕ/мл, M ± I <sub>95</sub> , n=4) в клеточных материалах через разные часы после заражения (п.з.):		
	1	48	72
СПККЛ сурка	<0,7	1,2 ± 0,2*	1,4 ± 0,3*
СПККЛ мыши	0,7 ± 0,2	1,4 ± 0,1*	1,7 ± 0,2*
Дебрис СПККЛ сурка и мыши	0,7 ± 0,1	<0,7	<0,7

Примечания: M – среднее значение; I<sub>95</sub> – 95 % доверительный интервал; n – число повторов определения объединенных проб содержимого 4 лунок; <0,7 – величина ниже порога чувствительности (0,7 lg БОЕ/мл) использованного метода титрования; \* – величина выше таковой через 1 ч п.з. клеточной культуры соответствующего животного, p<0,05.

**Чувствительность к штамму Ind-3a вируса натуральной оспы (ВНО) и штамму V79-1-005 вируса оспы обезьян (ВОО) и их продуктивность для суспензионных первичных культур клеток легких (СПККЛ) мыши популяции ICR, сурка и цыпленка линии Родайлэнд**

Наименование показателя	Значение показателей инфекционности ВНО и ВОО для СПККЛ различных животных:		
	мышь	сурок	цыпленок
ИД <sub>50</sub> ВНО (lg БОЕ, М ± I <sub>95</sub> )	1,3 ± 0,5	2,3 ± 0,5*	0,0 ± 0,4 <sup>#</sup>
Урожайность ВНО (lg БОЕ/млн кл., М ± I <sub>95</sub> , n=6)	2,2 ± 0,4	1,8 ± 0,7	2,1 ± 0,2
ИД <sub>50</sub> ВОО (lg БОЕ, М ± I <sub>95</sub> )	1,7 ± 0,3 <sup>@</sup>	0,5 ± 0,3	Н.о.
Урожайность ВОО (lg БОЕ/млн кл., М ± I <sub>95</sub> , n=6)	1,7 ± 0,2	1,4 ± 0,3	Н.о.

Примечания: М – среднее значение; I<sub>95</sub> – 95 % доверительный интервал; ИД<sub>50</sub> – 50 % инфицирующая доза; n – число проб; \* – величина достоверно выше, чем таковая у мыши и цыпленка, p<0,05; <sup>#</sup> – величина достоверно ниже, чем таковая у мыши и сурка, p<0,05; <sup>@</sup> – величина достоверно выше, чем таковая у сурка, p<0,05; н.о. – величину не определяли.

нами метода оценки чувствительности животных и возможности его применения для возбудителей особо опасных ортопоксвирусных инфекций.

Таким образом, исследования, проведенные на СПККЛ аутбредной мыши, сурка и цыпленка с ВНО и ВОО в дозе 0,00001 БОЕ/клетку, продемонстрировали факт размножения вируса в первичных клетках легких всех этих животных с максимальными значениями концентраций (1,4–2,0 lg БОЕ/мл), в основном через 3 сут п.з. С использованием СПККЛ определены значения чувствительности мышей, сурков и цыплят к ВНО, а также мышей и сурков к ВОО. Причем значения ИД<sub>50</sub>, полученные для ВНО на СПККЛ мышей и для ВОО на тех же клетках мышей и сурков, соответствовали таковым, оцененным в прямых экспериментах по интраназальному заражению этих животных данными вирусами, что говорит об адекватности использованного нами метода оценки чувствительности животных и возможности его дальнейшего применения. Не обнаружено достоверных отличий по вирус-продуктивной активности СПККЛ всех трех видов животных.

**Финансирование.** Данная научная работа проведена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках Государственного контракта № 14.518.11.7035.

**Конфликт интересов.** Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Закс Л. Статистическое оценивание. М.: Statistics; 1976. 598 с.  
 2. Жуков В.А., Шишкина Л.Н., Сафатов А.С., Сергеев А.А., Пьянков О.В., Петрищенко В.А., Зайцев Б.Н., Топорков В.С., Сергеев А.Н., Несвижский Ю.В., Воробьев А.А. Валидация модифицированного алгоритма прогнозирования восприимчивости хозяина к вирусам с учетом параметров восприимчивости первичных культур клеток-мишеней и факторов врожденного иммунитета. *Вестник РАМН*. 2010; 5:24–9.  
 3. Сергеев А.А., Кабанов А.С., Булычев Л.Е., Пьянков О.В., Сергеев А.А., Таранов О.С., Боднев С.А., Туманов Ю.В., Шишкина Л.Н., Агафонов А.П., Сергеев А.Н. Использование мыши в качестве модельного животного для оценки эффективности лечебно-профилактического действия препаратов против оспы обезьян. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 2:60–5.  
 4. Сергеев А.А., Булычев Л.Е., Пьянков О.В., Сергеев А.А., Боднев С.А., Кабанов А.С., Туманов Ю.В., Юрганова И.А., Шишкина Л.Н., Агафонов А.П., Сергеев А.Н. Чувствительность различных видов животных к вирусу оспы обезьян. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 1:88–92.  
 5. Goff A.J., Chapman J., Foster C., Wlazlowski C., Shamblin J., Lin K., Kreiselmeier N., Mucker E., Paragas J., Lawler J., Hensley

L. A novel respiratory model of infection with monkeypox virus in cynomolgus macaques. *J. Virol.* 2011; 85(10):4898–909. DOI: 10.1128/JVI.02525-10.

6. Guarner J., Johnson B.J., Paddock C.D., Shieh W.J., Goldsmith C.S., Reynolds M.G., Damon I.K., Regnery R.L., Zaki S.R. Monkeypox transmission and pathogenesis in prairie dogs. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(3):426–31. DOI: 10.3201/eid1003.030878.

7. Leparc-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. DOI: 10.1016/j.jcv.2004.07.005.

8. Wahl-Jensen V., Cann J.A., Rubins K.H., Huggins J.W., Fisher R.W., Johnson A.J., de Kok-Mercado F., Larsen T., Raymond J.L., Hensley L.E., Jahrling P.B. Progression of pathogenic events in cynomolgus macaques infected with variola virus. *PLoS One.* 2011; 6(10):e24832. DOI: 10.1371/journal.pone.0024832.

**References**

1. Zaks L. [Statistical Assessment]. М.: Statistics; 1976. 598 p.  
 2. Zhukov V.A., Shishkina L.N., Safatov A.S., Sergeev A.A., P'yankov O.V., Petrishchenko V.A., Zaitsev B.N., Toporkov V.S., Sergeev A.N., Nesvizhsky Yu.V., Vorob'ev A.A. [Validation of the modified algorithm for forecasting host-susceptibility to viruses with regard to sensitivity indexes for primary cultures of target-cells and innate immunity factors]. *RAMS Bulletin.* 2010; (5):24–9.  
 3. Sergeev A.I.A., Kabanov A.S., Bulychev L.E., P'yankov O.V., Sergeev Ar.A., Taranov O.S., Bodnev S.A., Tumanov Yu.V., Shishkina L.N., Agafonov A.P., Sergeev A.N. [Mice as animal model for evaluation of therapeutic efficacy of preparations against Monkeypox]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 2:60–5.  
 4. Sergeev A.I.A., Bulychev L.E., P'yankov O.V., Sergeev Ar.A., Bodnev S.A., Kabanov A.S., Tumanov Yu.V., Yurganova I.A., Shishkina L.N., Agafonov A.P., Sergeev A.N. [Sensitivity of different animal species to monkeypox virus]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 1:88–92.  
 5. Goff A.J., Chapman J., Foster C., Wlazlowski C., Shamblin J., Lin K., Kreiselmeier N., Mucker E., Paragas J., Lawler J., Hensley L. A novel respiratory model of infection with monkeypox virus in cynomolgus macaques. *J. Virol.* 2011; 85(10):4898–909. DOI: 10.1128/JVI.02525-10.  
 6. Guarner J., Johnson B.J., Paddock C.D., Shieh W.J., Goldsmith C.S., Reynolds M.G., Damon I.K., Regnery R.L., Zaki S.R. Monkeypox transmission and pathogenesis in prairie dogs. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(3):426–31. DOI: 10.3201/eid1003.030878.  
 7. Leparc-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. DOI: 10.1016/j.jcv.2004.07.005.  
 8. Wahl-Jensen V., Cann J.A., Rubins K.H., Huggins J.W., Fisher R.W., Johnson A.J., de Kok-Mercado F., Larsen T., Raymond J.L., Hensley L.E., Jahrling P.B. Progression of pathogenic events in cynomolgus macaques infected with variola virus. *PLoS One.* 2011; 6(10):e24832. DOI: 10.1371/journal.pone.0024832.

**Authors:**

Zamedyanskaya A.S., Sergeev A.I.A., Titova K.A., Kabanov A.S., Bulychev L.E., Sergeev Ar.A., Nesterov A.E., Nosareva O.V., Galakhova D.O., Shishkina L.N., Agafonov A.P., Sergeev A.N. State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru

**Об авторах:**

Замедянская А.С., Сергеев А.А., Титова К.А., Кабанов А.С., Булычев Л.Е., Сергеев Ар.А., Нестеров А.Е., Носарева О.В., Галахова Д.О., Шишкина Л.Н., Агафонов А.П., Сергеев А.Н. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Поступила 18.06.15.