



Анализ аэриобиологических исследований с ортопоксвирусами, проводимых Министерством обороны США

Онищенко Г.Г.^{1,2}, Кириллов И.А.³, Борисевич С.В.^{2,4}, Сизикова Т.Е.⁴, Кротков В.Т.⁴

¹Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва, Россия;

²Российская академия наук, Москва, Россия;

³Управление начальника войск радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации, Москва, Россия;

⁴48 Центральный научно-исследовательский институт, Сергиев Посад-6, Россия

Аннотация

Прекращение вакцинации после завершения «Программы глобальной ликвидации натуральной оспы» привело к резкому снижению уровня коллективного иммунитета не только к натуральной оспе, но и к другим ортопоксвирусным (ОПВ) инфекциям. За последние 10–15 лет в мире произошло увеличение частоты заболеваний, вызванных вирусами оспы коров, оспы буйволов, оспы верблюдов. В 2022–2023 гг. произошла вспышка трох (заболевание, вызываемое вирусом оспы обезьян). Анализ данных литературы об организации генома ОПВ позволяет предположить, что возбудитель натуральной оспы мог в прошлом возникнуть в результате эволюционных изменений зоонозного вируса-прародителя. В связи с этим существует угроза возникновения нового особо опасного антропоозноза, возбудитель которого может возникнуть как естественным, так и искусственным путём.

Целью обзора является анализ опубликованных в открытых научных источниках данных об аэриобиологических исследованиях с ОПВ, проводимых Министерством обороны США в 1994–2013 гг. — в период ограничения научных исследований и хранения образцов вирусов оспы. Публикации результатов аэриобиологических исследований с ортопоксвирусами, проводимых Минобороны США после 2013 г., в открытых научных источниках авторами не найдены.

Результаты аэриобиологических исследований с ОПВ свидетельствуют о заинтересованности военного ведомства США в проведении экспериментальных работ двойного назначения, включают мониторинг за свойствами ОПВ и возможное изменение их патогенности для человека, выбор оптимальных лабораторных моделей для изучения свойств ОПВ и возможности моделирования свойств вируса натуральной оспы при использовании других ОПВ (вирусы оспы коров, оспы кроликов, оспы обезьян), моделирование основных характеристик заболевания, вызываемого вирусом натуральной оспы, у человека и оценка эффективности имеющихся и вновь разрабатываемых вакцин против натуральной оспы, сравнительное изучение эффективности противовирусных лекарственных средств для профилактики или экстренной профилактики натуральной оспы и оспы обезьян.

Ключевые слова: ортопоксвирусы, вирус натуральной оспы, вирус оспы кроликов, вирус оспы обезьян, вирус оспы коров, лабораторная модель, моделирование свойств вируса, средства медицинской защиты

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Онищенко Г.Г., Кириллов И.А., Борисевич С.В., Сизикова Т.Е., Кротков В.Т. Анализ аэриобиологических исследований с ортопоксвирусами, проводимых Министерством обороны США. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024;101(3):399–411.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-522>

EDN: <https://www.elibrary.ru/ivmkmf>

Review

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-522>

Analysis of aerobiological studies with orthopoxviruses by U.S. Department of Defense

Gennadiy G. Onishchenko^{1,2}, Igor A. Kirillov³, Sergey V. Borisevich^{2,4✉},
Tatiana E. Sizikova⁴, Victor T. Krotkov⁴

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;

²Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia;

³Management of the Chief of the Nuclear, Biological and Chemical Protection Troops of the Armed Forces of the Russian Federation, Moscow, Russia;

⁴48 Central Scientific Research Institute, Sergiev Posad-6, Russia

Abstract

Discontinuation of vaccination after the completion of Smallpox global eradication program led to a sharp decrease in the level of collective immunity not only to smallpox but also to other orthopoxvirus infections. Over the past 10–15 years, the world has seen an increase in the frequency of diseases caused by smallpox viruses of cows, buffaloes, camels. The outbreak of mpox (a disease caused by the monkey pox virus) occurred in 2022–2023. Analysis of the literature data on the organization of the orthopoxvirus genome suggest that smallpox could have occurred in the past as a result of evolutionary changes in the zoonotic progenitor virus. In this regard, there is a threat of a new particularly dangerous anthroozoonosis, the pathogen of which can occur both naturally and artificially.

The aim of the review is to analyze open science published data on aerobiological research with OPVs conducted by the U.S. Department of Defense from 1994–2013, which was a period of restricted research and storage of smallpox virus samples. The authors did not find any publications of the results of aerobiological research with orthopoxviruses conducted by the US Department of Defense after 2013 in open scientific sources.

The review presents a data analysis in Russian and English-speaking scientist publication as well as those posted on the Internet.

The presented results of aerobiological studies with orthopoxviruses indicate the interest of the US military department in carrying out experimental work of dual use, including monitoring of the properties of orthopoxviruses and a possible change in their pathogenicity for humans, selection of optimal laboratory models for studying the properties of orthopoxviruses, and the possibility of modeling the properties of the smallpox virus when using other orthopoxviruses (cowpox virus, rabbit pox virus, monkey pox virus), modeling of the main characteristics of the disease caused by the smallpox virus in humans and evaluation of the effectiveness of existing and newly developed vaccines against smallpox, comparative study of effectiveness of antiviral drugs for regular or post-exposure prophylaxis of naturally occurring smallpox and monkey smallpox.

Keywords: *orthopoxviruses, smallpox virus, rabbitpox virus, monkeypox virus, cowpox virus, laboratory model, modeling of virus properties, medical protection products*

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Onishchenko G.G., Kirillov I.A., Borisevich S.V., Sizikova T.E., Krotkov V.T. Analysis of aerobiological studies with orthopoxviruses by U.S. Department of Defense. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2024;101(3):399–411.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-522>

EDN: <https://www.elibrary.ru/ivmkmf>

Введение

Прекращение вакцинации после завершения «Программы глобальной ликвидации натуральной оспы» привело к опасной ситуации, т. к. значительная часть населения земного шара стала восприимчивой как к натуральной оспе, так и к другим патогенным для человека ортопоксвирусам (ОПВ) в результате утраты популяционного имму-

нитета [1, 2]. Последнее может привести к чрезвычайной эпидемической ситуации мирового масштаба [2, 3].

Наглядным примером этого служит развитие вспышки оспы обезьян в 2022–2023 гг. (с 28.11.2023 заболевание переименовано Таксономическим комитетом и носит название «мпокс») [4], увеличение за последние 10–15 лет частоты возникновения в

мире заболеваний, вызванных вирусами оспы коров, оспы буйволов, оспы верблюдов [5].

В природе практически на всех континентах циркулируют представители различных зооантропонозных ОПВ, которые периодически вызывают заболевания среди животных и людей. Так, в Бразилии и других частях Южной Америки зарегистрированы отдельные случаи поксвирусных инфекций [6, 7]. В выделенных от людей и скота изолятах была установлена высокая степень их близости к вирусу вакцины [8, 9]. При исследовании возможной роли приматов в качестве носителей вакциноподобных вирусов был обнаружен высокий процент серопозитивных результатов [10].

Анализ данных литературы об организации генома ОПВ позволяет предположить, что возбудитель натуральной оспы мог в прошлом возникать в результате эволюционных изменений зоонозного вируса-прародителя. В связи с этим существует угроза возникновения нового особо опасного антропоноза [11–13].

Целью обзора является анализ опубликованных в открытых научных источниках данных об аэриобиологических исследованиях с ОПВ, проводимых Министерством обороны США в 1994–2013 гг. В этот период Всемирной организацией здравоохранения были введены ограничения на научные исследования и хранение образцов вирусов оспы для всех учреждений мира, за исключением двух международных репозитариев: Центра по контролю и профилактике заболеваний (США) и Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора (Россия)¹.

Публикации результатов аэриобиологических исследований с ортопоксвирусами, проводимых Минобороны США после 2013 г., в открытых научных источниках авторами не найдены.

Для изучения многочисленных аспектов инфекции специалисты научно-исследовательских учреждений Министерства обороны США активно используют различных лабораторных животных и патогенных для них ОПВ. Это белые мыши, низшие приматы (главным образом, яванские макаки, макаки резус) и кролики. Для инфицирования мышей использовали вирусы экстремелии, оспы коров и оспы вакцины, кроликов — вирусы оспы кроликов и оспы вакцины, обезьян и вирус натуральной оспы [14–16]. По мнению американских исследователей, оптимальная модель должна сочетать в себе возможность использования для инфицирования животных низкой заражающей дозы и передачу вируса от больного животного здоровому. Особенности

распространения натуральной оспы в наибольшей степени моделируются с помощью экспериментальных работ с оспой кроликов и обезьян.

Значение вируса оспы кроликов как модельного агента для изучения ОПВ-инфекций, было продемонстрировано еще в начале 1960-х гг., когда было показано, что гипериммунные сыворотки обеспечивают защиту аэрогенно инфицированных кроликов при немедленном введении после инфицирования в дозе 175 БОЕ на особь или даже спустя 3 сут после инфицирования. В данном опыте была использована сухая биологическая рецептура со средним размером частиц около 1 мкм [17].

Поскольку частицы аэрозоля размером более 10 мкм задерживаются в верхних отделах дыхательных путей, практически во всех экспериментах по аэрогенному инфицированию, проведенных сотрудниками Института инфекционных заболеваний армии США (USAMRIID), медианный диаметр генерируемых частиц, проникающих в нижние отделы дыхательных путей, составляет 1 мкм [18]. Ряд показателей, характеризующих течение оспы кроликов у аэрогенно инфицированных животных, позволяет моделировать заболевание натуральной оспой человека (**табл. 1**).

Так, при низких заражающих дозах (< 200 БОЕ) инкубационный период составлял 4–6 сут. Первым клиническим признаком заболевания являлась лихорадка, затем отмечались анорексия, слабость, быстрая потеря массы тела, депрессия, вялость, падение температуры тела до субнормальных значений и гибель на 8–14-е сутки после инфицирования.

При высоких заражающих дозах (более 200 БОЕ) вирус оспы кроликов вызывал быстро прогрессирующую летальную инфекцию, напоминающую геморрагическую форму натуральной оспы. Инкубационный период заболевания в этом случае составлял 2–3 сут. Заболевание заканчивалось гибелью на 6-е сутки.

По данным специалистов Центра аэриобиологических исследований USAMRIID, величина ЛД₅₀ при аэрогенном инфицировании кроликов вирусом оспы кроликов составляет 15 БОЕ [19]. Этот результат совпадает с данными, полученными H.S. Bedson и соавт. в 1963 г. при использовании сухого препарата вируса оспы кроликов [20].

При аэрогенном инфицировании кроликов мелкодисперсным аэрозолям и изучении процесса распространения заболевания от одного животного к другому моделируются указанные показатели при натуральной оспе. Следовательно, вирус оспы кроликов может быть использован для тестирования защитных препаратов против натуральной оспы [19]. Вирус оспы кроликов может быть использован для моделирования таких характеристик вируса натуральной оспы, как способность вызывать аэрогенное инфицирование в условиях низкой заражающей

¹ World Health Organization. Report of the meeting of the Ad hoc Committee on orthopoxvirus infections (Geneva, 09.09.1994). URL: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/59062/WHO_CDS_BVI_94.3.pdf?sequence=1

Таблица 1. Сходство и различия между натуральной оспой и оспой кроликов (при аэрозольном способе заражения) [19]
Table 1. Similarities and differences between smallpox and rabbit pox (by aerosol route of infection) [19]

| Показатель Parameter | Нозологическая форма Nosological form | | |
|--|--|--|--|
| | натуральная оспа (обычный тип) Smallpox (common type) | оспа кроликов (заражающая доза < 200 БОЕ) rabbitpox (infectious dose < 200 PFU) | оспа кроликов (заражающая доза > 200 БОЕ) rabbitpox (infectious dose > 200 PFU) |
| Способ передачи Transmission method | Аэрозольный Aerosol | | |
| Инкубационный период, сут Incubation period, days | 7–17 | 4–6 | 2–3 |
| Продромальная фаза, сут Prodromal phase, days | 2–4 | | 0–2 |
| Клинические признаки заболевания Clinical signs of the disease | Лихорадка, фарингит, повреждения на коже Fever, pharyngitis, skin lesions | Лихорадка, фарингит, повреждения на коже, эрозии в носоглотке Fever, pharyngitis, skin lesions, erosions in the nasopharynx | Лихорадка, фарингит, повреждения на коже, эрозии в носоглотке Fever, pharyngitis, skin lesions, erosions in the nasopharynx |
| Характеристика повреждений кожи Characterization of skin lesions | Макулы — папулы — везикулы — пустулы — корки — оспины Macules — papules — vesicles — pustules — crusts — pospinas | Макулы — папулы — везикулы — пустулы Macules — papules — vesicles — pustules | Макулы — папулы — везикулы Macules — papules — vesicles |
| Осложнения Complications | Пневмония, слепота, энцефалит Pneumonia, blindness, encephalitis | Пневмония, множественные некрозы Pneumonia, multiple necroses | |
| Летальность заболевания, % Lethality of the disease, % | ≈ 30 | ≈ 100 | 100 |
| Время гибели, сутки с начала заболевания Time of death, day from the beginning of the disease | 22–28 | 8–14 | 5–7 |

дозы и способность передачи инфекции от больных здоровым [19]. М. Nicas и соавт. проведена оценка математической модели, определяющей инфекционную дозу вируса натуральной оспы для условий аэрогенного инфицирования [21]. Авторы сделали вывод о том, что для инфицирования человека достаточно одного полноценного вириона.

С. J. Roy и соавт. провели сравнительное изучение эффективности неспецифических средств защиты в отношении натуральной оспы [22]. При использовании в качестве модельного агента вируса оспы кроликов испытаны противовирусные препараты тиосемикарбазон, цидофовир и ST-246. Для сравнения проведены опыты с введением животным специфического защитного средства — очищенной гипериммунной сыворотки кролика. Данные об эффективности указанных противовирусных препаратов при аэрогенном инфицировании животных вирусом оспы кроликов (табл. 2) свидетельствуют о том, что полная защита животных выявлена при использовании цидофовира в дозе 10 мг/кг массы животного в течение 3 сут при первом введении либо немедленно, либо спустя 24 ч после инфицирования, и ST-246 при введении в дозе 40 мг/кг массы

животного в течение 14 сут (при первом введении немедленно после инфицирования). Тиосемикарбазон обеспечивал лишь частичную защиту.

А. Nalca и соавт. [19] и N.L. Garsa и соавт. [23] провели проверку эффективности противооспенной вакцины третьего поколения (NVA-BN) при аэрогенном инфицировании кроликов вирусом оспы кроликов. При однократной иммунизации низкой дозой вакцины у части кроликов наблюдали отдельные признаки заболевания, но все животные выжили (табл. 3). При двукратной иммунизации с интервалом 14 сут или при однократной иммунизации высокой дозой вакцины признаки заболевания у животных отсутствовали.

На основании проведённых исследований специалисты отделов патологии, токсикологии и аэриологии USAMRIID рассматривают вирус оспы кроликов как перспективный агентный имитатор в отношении вируса натуральной оспы [24, 25].

В 1999 г. вирус оспы обезьян включён Специальной группой государств — участников Конвенции о запрещении разработки, производства и накопления запасов бактериологического (биологического) и токсинного оружия и об их уничтожении

ОБЗОРЫ

Таблица 2. Результаты оценки эффективности специфических и неспецифических средств защиты в отношении ОПВ (при использовании в качестве модельного агента вируса оспы кроликов, штамм Утрехт, при аэрогенном инфицировании) [22]

Table 2. Results of evaluation of the effectiveness of specific and nonspecific means of protection against OPV (using rabbit pox virus, Utrecht strain, as a model agent in case of aerogenic infection) [22]

| Инфицирующая доза БОЕ, Ме, Д PFU infectious dose, Me, D | Препарат Preparation | Схема введения, обеспечивающая: Administration process that provides: | |
|--|---|--|---|
| | | полную защиту total protection | частичную защиту partial protection |
| 175 (146–175) | Очищенная гипериммунная сыворотка Purified hyperimmune serum | 10 мл разведения 1 : 100 при введении спустя 1 сут после инфицирования или 10 мл цельного препарата при введении на 3-и сутки после инфицирования 10 ml of 1 : 100 dilution when administered 1 day after infection or 10 ml of whole drug when administered on the 3 rd day after infection | 10 мл разведения 1 : 10 при введении на 3-и сутки после инфицирования 10 ml of 1 : 10 dilution when administered on the 3 rd day after infection |
| > 1000 | Тиосемикарбазон Thiosemicarbazone | Нет None | 100–200 мг/кг массы животного ежедневно в течение 4 сут 100–200 mg/kg of animal weight daily for 4 days |
| 2860 (1140–5000) | ST-246 | 40 мг/кг массы животного в течение 14 сут при 1-м введении немедленно после инфицирования 40 mg/kg of animal weight for 14 days at the first injection immediately after infection | 40 мг/кг массы животного в течение 14 сут при 1-м введении, спустя 24, 48 или 72 ч после инфицирования 40 mg/kg animal weight for 14 days at first injection, 24, 48 or 72 h after infection |
| 296 (96–468) | Цидофовир Cidofovir | 10 мг/кг массы животного в течение 3 сут при первом введении либо немедленно, либо спустя 24 ч после инфицирования 10 mg/kg animal weight for 3 days at first injection, either immediately or 24 h after infection | 1 мг/кг массы животного в течение 3 сут при первом введении либо немедленно, либо спустя 24 ч после инфицирования 1 mg/kg animal weight for 3 days at the first injection either immediately or 24 h after infection |

Примечание. Ме — медиана инфицирующей дозы; Д — диапазон варьирования инфицирующей дозы при проведении эксперимента.
Note. Me — median infectious dose; D — range of variation of infectious dose during the experiment.

Таблица 3. Результаты оценки эффективности оспенной вакцины третьего поколения (MVA-BN) при аэрогенном инфицировании кроликов вирусом оспы кроликов [19]

Table 3. Results of the evaluation of the efficacy of the third-generation smallpox vaccine (MVA-BN) in aerogenic infection of rabbits with rabbit pox virus [19]

| Группа животных Animal group | Доля животных с признаками заболевания, % Percentage of animals with signs of disease, % | Доля выживших животных, % Percentage of surviving animals, % |
|--|---|---|
| Однократно иммунизированные низкой дозой вакцины с последующим инфицированием Once immunized with a low dose of vaccine followed by infection | 30 | 100 |
| Двукратно иммунизированные низкой дозой вакцины с последующим инфицированием Twice immunized with a low dose of vaccine followed by infection | 0 | 100 |
| Однократно иммунизированные высокой дозой вакцины Once immunized with a high dose of vaccine | 0 | 100 |
| Контрольная группа (инфицированные животные без иммунизации) Control group (infected animals without immunization) | 100 | 0 |
| Контрольная группа (однократно иммунизированные высокой дозой вакцины без инфицирования) Control group (once immunized with a high dose of vaccine without infection) | 0 | 100 |

Примечание. При разрешении иммунитета использовали инфицирующую дозу вируса оспы кроликов 200 БОЕ/особь. Низкая доза вакцины — 1×10^3 БОЕ/особь, высокая доза вакцины — 1×10^5 БОЕ/особь.

Note. An infectious dose of rabbit pox virus 200 CFU/animal was used in challenge experiments. The low vaccine dose was 1×10^3 PFU/specimen, and the high vaccine dose was 1×10^5 PFU/specimen.

в Перечень биологических агентов — патогенов человека, который был признан значимым в ракурсе разработки перечня биологически поражающих агентов для конкретных мер по укреплению «Конвенции...» [26]. Следует отметить, что согласно общественному мнению, сформированному до середины 1998 г., оспа обезьян рассматривалась как зоонозная инфекция, не имеющая существенного значения для патологии человека.

При анализе изложенных исследований (в том числе аэриобиологических), проводимых с вирусом оспы обезьян в ведущем специализированном зарубежном военно-медицинском центре — Институте инфекционных заболеваний армии США, можно выделить два значимых направления: моделирование основных характеристик заболевания, вызываемого вирусом натуральной оспы у человека, и оценка эффективности имеющихся и вновь разрабатываемых вакцин против натуральной оспы.

По мнению N. Nahon, сотрудника химического корпуса армии США, вирус оспы обезьян позволяет моделировать некоторые основные характеристики заболевания, вызываемого вирусом натуральной оспы у человека. Так, по данным литературы, к аэрогенному инфицированию вирусом натуральной оспы чувствительны 4 вида низших приматов (*Macaca cynomolgus*, *M. irus*, *M. rhesus* и *Saimiri*) [14].

Проведено изучение экспериментальной инфекции у яванских макак при аэрогенном инфицировании вирусом оспы обезьян [27]. В работе использован вирус оспы обезьян, штамм Заир-79, выделенный в 1979 г. в ходе заболевания человека, завершившегося летальным исходом. Посевной материал для формирования аэрозоля представлял собой надосадочную жидкость инфицированных клеток Vero. Средний массовый диаметр частиц

аэрозоля составлял 1,2 мкм, расчётная заражающая доза составляла от $1,0 \times 10^4$ до $1,4 \times 10^5$ БОЕ. В эксперименте были использованы яванские макаки обоего пола массой 1,6–4,7 кг. Инфицирующая доза была определена для каждой обезьяны во время всего срока экспозиции (10 мин). Отбор проб аэрозоля проводили в среду DMEM с пеногасителем. Определение концентрации вируса в пробах аэрозоля проводили путём последующего титрования полученных проб по методу негативных колоний на монослой клеток Vero.

Все инфицированные обезьяны погибли с 10-х по 17-е сутки после заражения (средний срок жизни до гибели животных составил 11,2 сут). Летальный исход связан с развитием бронхопневмонии. Корреляция между сроком гибели и инфицирующей дозой отсутствовала.

В последующем было проведено дополнительное изучение экспериментальной инфекции при аэрогенном инфицировании яванских макак вирусом оспы обезьян [28]. Инфицирование осуществляли с помощью автоматизированной системы экспозиции биологических аэрозолей, позволяющей обеспечивать точное введение инфицирующей дозы каждому животному в зависимости от его индивидуальных дыхательных характеристик. В опытах по аэрогенному инфицированию использовали штамм Заир V79. Как следует из данных, представленных в табл. 4, исход заболевания, видимо, определяется индивидуальными особенностями инфицированных животных, во всяком случае корреляция между вводимой дозой и долей погибших животных не прослеживалась. В то же время, по мнению зарубежных военных специалистов, клинические особенности заболевания яванских макак напоминают течение натуральной оспы у человека [29].

Таблица 4. Результаты изучения показателей экспериментальной инфекции при аэрогенном инфицировании яванских макак вирусом оспы обезьян [28]

Table 4. Results of the study of experimental infection indices during aerogenic infection of Javan macaques with monkeypox virus [28]

| Показатель Indicator | Инфицирующая доза, БОЕ Infectious dose, PFU | | | |
|--|---|-------------------|-------------------|-------------------|
| | $4,3 \times 10^4$ | $1,4 \times 10^5$ | $4,4 \times 10^5$ | $1,1 \times 10^4$ |
| Лихорадка Fever | | | | |
| начало, сутки после инфицирования onset, day after infection | 4,7 | 3,8 | 2,8 | 4,3 |
| продолжительность, ч duration, h | 215,3 | 244,7 | 266,7 | 278,1 |
| Температура, °C Temperature, °C | | | | |
| максимальное повышение от нормы maximum increase from normal | 2,5 | 3,3 | 3,4 | 3,5 |
| среднее повышение от нормы average increase from normal | 1,9 | 1,9 | 2,1 | 2,3 |
| Продолжительность жизни до гибели, сут Life expectancy before death, days | 10,0 | 9,0 | 9,6 | 8,5 |
| Доля погибших животных Percentage of dead animals | 2/3 | 4/6 | 5/6 | 2/3 |

Таблица 5. Расчётная концентрация вируса в крови обезьян, аэрогенно инфицированных вирусом оспы обезьян, БОЕ/см³ [31]

Table 5. Estimated virus concentration in the blood of monkeys aerogenically infected with monkeypox virus, PFU/cm³ [31]

| Инфицирующая доза, БОЕ/см ³ Infectious dose, PFU/cm ³ | Срок после инфицирования, сут Time after infection, days | | | | | | | | |
|--|--|-------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 14 | 18 | 21 |
| 4,2 × 10 ⁴ | < 200 | < 200 | 5,1 × 10 ³ | 7,0 × 10 ⁴ | 1,5 × 10 ⁵ | 4,0 × 10 ⁵ | 3,1 × 10 ⁵ | 1,2 × 10 ³ | < 200 |
| 2,5 × 10 ⁴ | < 200 | < 200 | < 200 | 7,4 × 10 ⁴ | 3,0 × 10 ⁵ | 2,6 × 10 ⁵ | 4,1 × 10 ⁴ | < 200 | < 200 |
| 1,2 × 10 ⁵ | < 200 | < 200 | 7,8 × 10 ³ | 1,8 × 10 ⁵ | 2,7 × 10 ⁵ | ** | – | – | – |
| 2,8 × 10 ⁵ | < 200 | < 200 | < 200 | 9,1 × 10 ⁴ | 3,6 × 10 ⁵ | ** | – | – | – |
| 3,9 × 10 ⁵ | < 200 | < 200 | 9,3 × 10 ³ | 4,8 × 10 ⁵ | * | – | – | – | – |
| 9,3 × 10 ⁵ | < 200 | < 200 | 2,5 × 10 ⁴ | 6,9 × 10 ⁵ | 4,5 × 10 ⁶ | 4,8 × 10 ⁶ | *** | – | – |

Примечание. Здесь и в табл. 6: < 200 — концентрация возбудителя в крови ниже величины чувствительности метода ПЦР-ОТ (200 БОЕ/см³). *Животное погибло на 7-е сутки; **животное погибло на 9-е сутки; ***животное погибло на 12-е сутки после аэрогенно-инфицирования.

Note. Here and in Table 6: < 200 — concentration of the pathogen in blood is lower than the limit of detection of RT-PCR assay (200 PFU/cm³). *The animal died on the 7th day; **the animal died on the 9th day; ***the animal died on the 12th day after aerogenic infection.

Таблица 6. Расчётная концентрация вируса в носоглоточных смывах обезьян, аэрогенно инфицированных вирусом оспы обезьян, БОЕ/см³ [31]

Table 6. Estimated virus concentration in nasopharyngeal washings of monkeys aerogenically infected with monkeypox virus, PFU/cm³ [31]

| Инфицирующая доза, БОЕ/м ³ Infectious dose, PFU/cm ³ | Срок после инфицирования, сут Time after infection, days | | | | | | | | |
|---|--|-------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 14 | 18 | 21 |
| 4,2 × 10 ⁴ | < 200 | < 200 | < 200 | 2,5 × 10 ³ | 1,1 × 10 ⁵ | 2,5 × 10 ⁵ | 3,1 × 10 ⁵ | 6,3 × 10 ³ | < 200 |
| 2,5 × 10 ⁴ | < 200 | < 200 | < 200 | < 200 | 1,4 × 10 ⁵ | 4,1 × 10 ⁵ | 4,1 × 10 ⁴ | 3,5 × 10 ³ | < 200 |
| 1,2 × 10 ⁵ | < 200 | < 200 | < 200 | < 200 | 3,0 × 10 ⁴ | ** | – | – | – |
| 2,8 × 10 ⁵ | < 200 | < 200 | < 200 | 8,4 × 10 ² | 2,1 × 10 ⁵ | ** | – | – | – |
| 3,9 × 10 ⁵ | < 200 | < 200 | 3,2 × 10 ² | 9,0 × 10 ⁵ | * | – | – | – | – |
| 9,3 × 10 ⁵ | < 200 | < 200 | 5,3 × 10 ³ | 5,8 × 10 ⁴ | 1,9 × 10 ⁶ | 4,6 × 10 ⁶ | *** | – | – |

В дальнейшем была проведена оценка возможности использования полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ПЦР-ОТ) для количественного определения вируса оспы обезьян в биопробах, полученных от аэрогенно инфицированных яванских макаков [30]. Установлено, что чувствительность метода составляла 200 БОЕ/см³. Заражающая доза составила от 2,5 × 10⁴ до 9,3 × 10⁵ БОЕ. Средний медианный размер частиц аэрозоля составлял 1,07 мкм и варьировал для каждого отдельного эксперимента в пределах 1,06–1,09 мкм. ЛД₅₀ для обезьян при данном способе инфицирования составила приблизительно 7,8 × 10⁴ БОЕ, время жизни до гибели — 7–10 сут после инфицирования. Проведено определение вирусемии и концентрации вируса в носоглоточных смывах у инфицированных животных с помощью экстраполяции результатов количественной ПЦР-ОТ.

Как следует из данных, представленных в табл. 5 и табл. 6, вирус оспы обезьян выявляется в крови и носоглоточных смывах на 4–18-е сутки после аэрогенного инфицирования. Начало выявления возбудителя коррелирует с заражающей дозой.

С учётом того, что течение оспы обезьян у яванских макаков может моделировать заболевание натуральной оспы человека, можно сделать вывод о том, что вероятность передачи вируса от больного здоровому достигает максимума на 8–10-е сутки (концентрация вируса в носоглоточных смывах имеет наивысшие значения и примерно соответствует концентрации вируса в крови).

Специалисты Министерства обороны США совместно с Центром по контролю и профилактике заболеваний США оценивали защитную эффективность вакцин второго поколения (Acam 2000) и третьего поколения (Imvamune). В опытах по аэрогенному инфицированию яванских макаков был использован вирус оспы обезьян, штамм Заир 79, инфицирующая доза составляла (2,1–3,1) × 10⁵ БОЕ на животное. Результаты, представленные в табл. 7, свидетельствуют о том, что, несмотря на достоверно не различающийся уровень вируснейтрализующих антител для животных групп 2 и 4, признаки заболевания в группе 4 были выражены в несколько большей степени. Сделан вывод о том, что использование аэрогенного инфицирования яванских макаков обеспечивает оценку эффективности различных

Таблица 7. Результаты оценки защитной эффективности оспенных вакцин 2-го и 3-го поколения (в отношении вируса оспы обезьян при аэрогенном инфицировании яванских макак) [32]**Table 7.** Results of evaluating the protective efficacy of 2nd and 3rd generation smallpox vaccines (against monkeypox virus during aerogenic infection of Javan macaques) [32]

| Группа Group | Схема иммунизации Immunization process | Характеристика течения заболевания Characterization of the course of the disease | | | | |
|-----------------|--|---|---|---|--|---|
| | | клини- ческие признаки clinical signs | время появления папул, сут time of papule appearance, days | среднее количество папул average number of papules | продолжитель- ность исчезно- вания папул, сут duration of papule disappearance, days | доля выживших животных, % survival rate, % |
| 1 | Введение буферированного физиологического раствора за 28 сут перед инфицированием (контроль) Administration of buffered saline 28 days before infection (control) | +++ | 6 | 51 | Не исчезали Didn't disappear | 0* |
| 2 | Введение Acam2000 однократно в дозе (2,5–12,5) × 10 ⁵ БОЕ за 28 сут перед инфицированием с помощью скарификации кожи Injection of Acam2000 once at a dose of (2.5–12.5) × 10 ⁵ PFU 28 days before infection by skin scarification | + | 9 | 3 | 5 | 100 |
| 3 | Подкожное введение Imvamune однократно в дозе 2,0 × 10 ⁸ ТЦПД ₅₀ за 28 сут перед инфицированием Subcutaneous injection of Imvamune once at a dose of 2.0 × 10 ⁸ TCPD ₅₀ 28 days before infection | ++ | 9 | 10 | 5 | 67** |
| 4 | Подкожное введение Imvamune двукратно в дозе 2,0 × 10 ⁸ ТЦПД ₅₀ за 28 сут перед инфицированием Subcutaneous injection of Imvamune twice at a dose of 2.0 × 10 ⁸ TCPD ₅₀ 28 days before infection | + | 6 | 7 | 5 | 100 |

Примечание. ТЦПД₅₀ — 50% тканевая цитопатическая доза. + — лёгкие; ++ — умеренные; +++ — выраженные признаки заболевания. *Животные погибли на 7–11-е сутки; **животные погибли на 7-е и 9-е сутки после аэрогенного инфицирования.

Note. TCPD₅₀ — 50% tissue cytopathic dose. + — mild; ++ — moderate; +++ — expressed signs of disease.

*Animals died on the 7th–11th day; **Animals died on the 7th and 9th day after aerogenic infection.

вакцин, предназначенных для иммунизации людей в тех условиях, когда проведение клинических испытаний не представляется возможным [32]. При этом было установлено, что динамика антителообразования у вакцинированных яванских макак сходна с таковой у вакцинированных людей [33, 34].

Несмотря на то что вирус оспы коров не относят к потенциальным биологически поражающим агентам, в ведущих зарубежных военно-медицинских центрах, в том числе в Институте инфекционных заболеваний армии США, проводятся исследования с указанным возбудителем. Анализ опубликованных в открытой печати данных указывает на то, что в исследованиях по оценке эффективности имеющихся и вновь разрабатываемых средств неспецифической профилактики в отношении натуральной оспы также используют вирус оспы коров.

Результаты оценки чувствительности белых мышей линии BALB/c к аэрогенному инфицированию вирусом оспы коров (табл. 8) свидетельствуют о том, что аэрогенное инфицирование белых мышей линии BALB/c массой 12 г вирусом оспы коров, штамм Brighton, в дозе 5 × 10⁶ БОЕ вызывает 100% гибель животных.

Данные о чувствительности инбредных белых мышей к интраназальному и аэрозольному инфицированию различными ОПВ (табл. 9) свидетельствуют о том, что все испытанные вирусы вызывали поражение дыхательных путей. При аэрозольном инфицировании вирусом оспы коров регистрировались также симптомы менингита и экзантемы.

Исследование морфологических изменений в тканях белых мышей линии BALB/c при интраназальном или аэрозольном инфицировании вирусом оспы коров, штамм Brighton (табл. 10) свидетельствует о том, что этот возбудитель является перспективным модельным агентом для проведения скрининговых испытаний средств неспецифической профилактики в отношении натуральной оспы. Это обусловлено тем, что вызываемое им заболевание при аэрозольном способе заражения белых мышей характеризуется разнообразной симптоматикой, а также тем, что данный возбудитель патогенен для человека, что упрощает возможность экстраполяции полученных данных относительно противовирусной эффективности исследуемых лечебных и профилактических препаратов.

Так, проведено изучение противовирусного действия цидофовира (1-[(S)-3 гидроксид-2]-[фос-

фонометокси)-пропил цитозин) на модели белых мышей линии BALB/c, аэрогенно инфицированных вирусом оспы коров, штамм Brighton [35]. Данный штамм вызывает бронхопневмонию у мышей BALB/c при аэрогенном инфицировании мелко-дисперсным аэрозолем (размер частиц 1 мкм) с последующей гибелью. Подкожное введение цидофовира в дозе 100 мг/кг (однократно) обеспечивало 90–100% защиту аэрогенно инфицированных животных при введении не позднее 4 сут после инфицирования. При введении цидофовира в день инфицирования титр вируса в лёгких уменьшался в 10–100 раз, снижалась выраженность вирусной пневмонии и предотвращались лёгочные кровотечения.

Введение цидофовира не вызывало увеличения концентрации мочевины, креатина, аспаргатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы в сыворотках крови инфицированных и интактных животных. Установлено, что заболевание не развивалось при ежедневном подкожном введении цидо-

фовира в дозах 20,5 и даже 1 мг/кг. При этом важное значение имеет время первого введения препарата. Доза 5 мг/кг защищала практически 100% мышей при введении препарата в день инфицирования. Однако если начало введения препарата было отложено хотя бы на 1 сут, то для защиты животных требовалось ежедневное введение более высоких доз. Значительно более эффективным оказалось аэрозольное применение цидофовира [36, 37]. Результаты определения массы тела, концентрации вируса в лёгких, патологических изменений в лёгких и выживания инфицированных животных установили, что доза цидофовира в диапазоне 0,5–5,0 мг/кг всегда была более эффективной, чем доза 25 мг/кг, и иногда даже более эффективной, чем доза 100 мг/кг, при подкожном введении. Следовательно, противовирусная эффективность цидофовира во многом обусловлена задержкой препарата в респираторном тракте животных. В последующем была определена зависимость противовирусной эффективности цидофовира от схемы его введения в организм белых

Таблица 8. Результаты оценки чувствительности белых мышей линии BALB/c к аэрогенному инфицированию вирусом оспы коров [35]

Table 8. Results of evaluation of susceptibility of BALB/c white mice to aerogenic infection with cowpox virus [35]

| Средняя масса животных, г Average weight of animals, g | Инфицирующая доза, БОЕ Infectious dose, PFU | Признаки заболевания Disease symptoms | Среднее время жизни до гибели, сут Average survival time to death, days | Доля погибших животных, % Percentage of dead animals, % |
|---|--|---|--|--|
| 12 | 5 × 10 ⁶ | Снижение массы тела, взъерошенная шерсть, значительное снижение функциональной активности Reduced body weight, ruffled coat, significant decrease in functional activity | 12 | 100 |
| | 5 × 10 ⁴ | Снижение массы тела, незначительное снижение функциональной активности Decrease in body weight, slight decrease in functional activity | – | 0 |
| | 5 × 10 ² | Отсутствовали None | – | 0 |
| 17 | 5 × 10 ⁶ | Снижение массы тела и функциональной активности Decrease in body weight and functional activity | 12 | 65 |

Таблица 9. Результаты изучения чувствительности белых мышей к аэрозольному инфицированию вирусами экстремелии, вакцины и оспы коров [16]

Table 9. Results of a study of the susceptibility of white mice to aerosolized infection with ectromelia, vaccinia and cowpox viruses [16]

| Вирус Virus | Штамм Strain | Линия белых мышей White mouse line | Способ инфицирования Infection method | Инфицирующая доза, БОЕ Infectious dose, PFU | Симптомы заболевания Disease symptoms |
|---------------------------|-----------------|--|--|--|--|
| Экстремелии Ectromelia | Hampstead | Аутобредные животные Autobred animals | Интраназально Intranasal | 1 × 10 ⁶ | Воспаление бронхов, альвеол, плевры Inflammation of the bronchi, alveoli, pleura |
| | | | Аэрозольно Aerosol | 1 × 10 ⁶ | Воспаление бронхов, альвеол, плевры Inflammation of the bronchi, alveoli, pleura |
| Вакцины Vaccines | WR | BALB/c | Интраназально Intranasal | 1 × 10 ⁶ | Бронхопневмония с проявлениями некроза Bronchopneumonia with manifestations of necrosis |
| Оспы коров Cowpox | Brighton | BALB/c | Аэрозольно Aerosol | 5 × 10 ⁶ | Бронхопневмония, ринит, синусит, менингит, экзантема Bronchopneumonia, rhinitis, sinusitis, meningitis, exanthema |

Таблица 10. Результаты изучения морфологических изменений в тканях белых мышей линии BALB/c при интраназальном или аэрогенном инфицировании вирусом оспы коров, штамм Brighton [24]**Table 10.** Results of morphologic changes in tissues of white BALB/c mice during intranasal or aerogenic infection with cowpox virus, Brighton strain [24]

| Ткани и органы Tissues and organs | Морфологические изменения Morphologic changes | Способ инфицирования Infection method | Наличие антигена вируса оспы коров в органах Presence of cowpox virus antigen in organs |
|---|---|---|--|
| Лёгкие, бронхи, бронхиолы, альвеолы Lungs, bronchi, bronchioles, alveoli | Воспаление, экзема, некроз, геморрагии, тельца включения Inflammation, eczema, necrosis, hemorrhages, inclusion bodies | Аэрозольно Aerosol | + |
| | | Интраназально Intranasal | + |
| Бронхиоларные сосуды Bronchiolar vessels | Воспаление, некроз, дегенерация, тельца включения Inflammation, necrosis, degeneration, inclusion bodies | Аэрозольно Aerosol | + |
| Плевра Pleura | Воспаление Inflammation | Аэрозольно Aerosol | – |
| Трахея Trachea | Воспаление, экзема, некроз, тельца Inflammation, eczema, necrosis, corpuscles | Аэрозольно Aerosol | + |
| Назальный тракт Nasal tract | Воспаление, экзема, некроз, геморрагии, тельца включения Inflammation, eczema, necrosis, hemorrhages, inclusion bodies | Аэрозольно Aerosol | + |
| | | Интраназально Intranasal | + |
| Гланды Glands | Воспаление, экзема, некроз, геморрагии, тельца включения Inflammation, eczema, necrosis, hemorrhages, inclusion bodies | Аэрозольно Aerosol | + |
| | | Интраназально Intranasal | + |
| Соединительные ткани Connective tissues | Воспаление, геморрагии Inflammation, hemorrhages | Аэрозольно Aerosol | + |
| | | Интраназально Intranasal | + |
| Протоки молочных желёз Mammary gland ducts | Воспаление, некроз, тельца включения Inflammation, necrosis, inclusion bodies | Аэрозольно Aerosol | – |
| | | | + |
| Назофарингеальные протоки Nasopharyngeal ducts | Воспаление, экзема, некроз, геморрагии, тельца включения Inflammation, eczema, necrosis, hemorrhages, inclusion bodies | Интраназально Intranasal | + |
| | | | |
| Евстахиева труба Eustachian pipe | Воспаление, тельца включения Inflammation, inclusion bodies | Интраназально Intranasal | + |
| Среднее ухо Middle ear | Воспаление, некроз, геморрагии, тельца включения Inflammation, necrosis, hemorrhages, inclusion bodies | Аэрозольно Aerosol | + |
| | | Интраназально Intranasal | – |
| Мышцы Muscles | Воспаление, некроз, тельца включения, регенерация тканей Inflammation, necrosis, inclusion bodies, tissue regeneration | Аэрозольно Aerosol | + |
| Костный мозг Bone marrow | Миелогенная гиперплазия Myelogenous hyperplasia | Аэрозольно Aerosol | – |
| | | Аэрозольно Aerosol | + |
| Хвост, кожный покров Tail, skin | Воспаление, некроз, тельца включения, эпидермальная пролиферация Inflammation, necrosis, inclusion bodies, epidermal proliferation | Аэрозольно Aerosol | – |
| | | Интраназально Intranasal | + |

Примечание. + — выявление меченого вирусного антигена иммуногистологическим методом; – — отсутствие выявления меченого вирусного антигена.

Note. + — detection of labeled viral antigen by immunohistological method; – — No detection of labeled viral antigen.

мышей, аэрогенно инфицированных вирусом оспы коров [37] (табл. 11). На основании полученных результатов авторы исследования сделали вывод о том, что цидофовир при аэрозольном применении может быть эффективным при профилактике или экс-

тренной профилактике натуральной оспы или оспы обезьян.

Анализ представленных данных свидетельствует о том, что специалисты Министерства обороны США используют вирус оспы коров в качестве

Таблица 11. Результаты изучения противовирусной эффективности цидофовира при аэрозольном или подкожном введении белым мышам линии BALB/c аэрогенно инфицированных вирусом оспы коров, штамм Brighton, в дозе 5×10^6 БОЕ [37]

Table 11. Results of antiviral efficacy of cidofovir when administered by aerosol or subcutaneous injection to BALB/c white mice aerogenically infected with cowpox virus, Brighton strain, at a dose of 5×10^6 PFU [37]

| Способ введения препарата Method of drug administration | Доза, мг/кг Dose, mg/kg | Срок введения препарата, сут Period of drug administration, day | Отношение выживших и инфицированных животных Ratio of surviving to infected animals | Доля выживших животных, % Percentage of surviving animals, % | <i>p</i> |
|--|----------------------------|--|--|---|---------------|
| Аэрозольно Aerosol | 0,5–5,0 | –2 | 8/10 | 80 | < 0,05 |
| | | –1 | 9/10 | 90 | < 0,05 |
| | | 0 | 10/10 | 100 | < 0,05 |
| | | +1 | 10/10 | 100 | < 0,05 |
| | | +2 | 9/10 | 90 | < 0,05 |
| | 0,06–0,50 | –2 | 0/10 | 0 | Н. д. N. d. |
| | | –1 | 7/10 | 70 | < 0,05 |
| | | 0 | 10/10 | 100 | < 0,05 |
| | | +1 | 9/10 | 90 | < 0,05 |
| | | +2 | 7/10 | 70 | < 0,05 |
| Подкожно Subcutaneously | 100 | –2 | 7/10 | 70 | < 0,05 |
| | | –1 | 7/10 | 70 | < 0,05 |
| | | 0 | 10/10 | 100 | < 0,05 |
| | | +1 | 10/10 | 100 | < 0,05 |
| | | +2 | 10/10 | 100 | < 0,05 |
| Плацебо Placebo | | 0 | 0/10 | 0 | – |

Примечание. –2 — введение цидофовира за 2 сут до инфицирования; 0 — введение цидофовира в день инфицирования; +2 — введение цидофовира через 2 сут после инфицирования. *p* — уровень надёжности различий по отношению к варианту опыта с введением плацебо. Н. д. — различия не достоверны.

Note. –2 — administration of cidofovir 2 days before infection; 0 — administration of cidofovir on the day of infection; +2 — administration of cidofovir 2 days after infection. *p* — reliability level of differences in relation to the experiment variant with placebo administration. N. d. — differences are not reliable.

модельного агента для проведения скрининговых испытаний и способов применения неспецифических медицинских средств защиты в отношении натуральной оспы. При обобщении результатов представленных работ можно сделать заключение о двойной направленности проводимых исследований. Так, можно констатировать, что сотрудниками USAMRIID проведено обоснование выбора вирусов оспы кроликов и оспы обезьян в качестве агентных имитаторов вируса натуральной оспы.

При этом данные, полученные в начале 2000-х гг., сопоставляются американскими военными специалистами с результатами, полученными в начале 1960-х гг. с использованием сухого агентного имитатора на основе вируса оспы кроликов [20]. По их мнению, вирус оспы кроликов может моделировать такие характеристики вируса натуральной оспы, как уровень репродукции в различных системах, в том числе в культурах клеток при суспензионном культивировании, устойчивость при переводе в аэрозоль. Величина ЛД₅₀ для кроликов при аэроген-

ном инфицировании достаточно низка (в отличие от других лабораторных животных при аэрогенном инфицировании другими ОПВ) [19].

При проведении аэриобиологических исследований особое внимание уделялось фракционно-дисперсному составу агентного имитатора. Для декларируемых авторами целей проводимых исследований такая конкретизация является явно излишней. В качестве инфицирующего препарата для данных исследований в большинстве работ сотрудников USAMRIID использована непосредственно культура штаммов вирусов оспы обезьян и оспы кроликов. По ряду косвенных признаков (состав жидкостей для пробоотбора, наличие в них различных концентраций пеногасителя, различная концентрация фекальной телячьей сыворотки) можно сделать вывод о том, что реально при проведении ряда аэриобиологических испытаний в качестве инфицирующего препарата были использованы вирусосодержащие материалы, полученные при выращивании возбудителя в суспензионной культуре клеток.

Выводы

Результаты аэробиологических исследований с ОПВ свидетельствуют о заинтересованности военного ведомства США в проведении экспериментальных работ двойного назначения, включают мониторинг за свойствами ОПВ и возможное изменение их патогенности для человека, выбор оптимальных лабораторных моделей для изучения свойств ОПВ и возможности моделирования свойств вируса натуральной оспы при использовании других ОПВ (вирусы оспы коров, оспы кроликов, оспы обезьян), моделирование основных характеристик заболевания, вызываемого вирусом натуральной оспы, у человека и оценка эффективности имеющихся и вновь разрабатываемых вакцин против натуральной оспы, сравнительное изучение эффективности противовирусных лекарственных средств для профилактики или экстренной профилактики натуральной оспы и оспы обезьян.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Онищенко Г.Г., Сандахчиев Л.С., Нетесов С.В., Щелкунов С.Н. Биотерроризм как национальная и глобальная угроза. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2000;(6):83–5. Onishchenko G.G., Sandkhchiev S., Netesov S.V., Shchelkunov S.V. Bioterrorism: national and global threats. *Journal of Microbiology, Epidemiology, Immunobiology*. 2000;(6):83–5. EDN: <https://elibrary.ru/mpewxn>
2. Онищенко Г.Г., ред. *Противодействие биологическому терроризму: практическое руководство по противоэпидемическому обеспечению*. М.;2003. Onishchenko G.G., ed. *Countering Biological Terrorism: A Practical Guide to Anti-Epidemic Provision*. Moscow;2003.
3. Wallin A., Luksiene Z., Zagminas K., Surkiene G. Public health and bioterrorism: renewed threat of anthrax and smallpox. *Medicina (Kaunas)*. 2007;43(4):278–84.
4. Riccardo V., Pablo G.C. Neutralization determinants on Poxviruses. *Viruses*. 2023;15(12):2396. DOI: <https://doi.org/10.3390/v15122396>
5. Bruneau R.C., Tazi L., Rothenburg S. Cowpox viruses: a zoo full of viral diversity and lurking threats. *Biomolecules*. 2023;13(2):325. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom13020325>
6. Esposito J.J., Palmer E.L., Borden E.C., et al. Studies on the poxvirus Cotia. *J. Gen. Virol.* 1980;47(1):37–46. DOI: <https://doi.org/10.1099/0022-1317-47-1-37>
7. Ueda Y., Dumbell K.R., Tsuruhara T., Tagaya I. Studies on Cotia virus an unclassified poxvirus. *J. Gen. Virol.* 1978;40(2):263–76. DOI: <https://doi.org/10.1099/0022-1317-40-2-263>
8. Van Bresse M.F., Van Waerebeek K., Reyes J.C., et al. Evidence of poxvirus in dusky dolphin (*Lagenorhynchus obscurus*) and Burmeister's porpoise (*Phocoena spinipinnis*) from coastal Peru. *J. Wildl. Dis.* 1993;29(1):109–13. DOI: <https://doi.org/10.7589/0090-3558-29.1.109>
9. Campos R.K., Brum M.C., Nogueira C.E., et al. Assessing the variability of Brazilian vaccinia virus isolates from a horse exanthematic lesion: coinfection with distinct viruses. *Arch. Virol.* 2011;156(2):275–83. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00705-010-0857-z>
10. Abrahão J.S., Silva-Fernandes A.T., Lima L.S., et al. Vaccinia virus infection in monkeys, Brazilian Amazon. *Emerg. Infect. Dis.* 2010;16(6):976–9. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid1606.091187>
11. Щелкунов В.Н. Возможен ли возврат оспы? *Молекулярная медицина*. 2011;(4):36–41. Shchelkunov S.N. Whether re-emergence of smallpox could be? *Molecular Medicine*. 2011;(4):36–41. EDN: <https://elibrary.ru/ohfurl>
12. Пальцев М.А., Зверев В.В., Гинцбург А.Л. и др. Натуральная оспа – дремлющий вулкан. *Вопросы вирусологии*. 2008;53(4):1–9. Paltsev M.A., Zverev V.V., Gintsburg A.L. Smallpox is a dormant volcano. *Problems of Virology*. 2008;53(4):1–9. EDN: <https://elibrary.ru/jtftat>
13. Борисевич С.В., Маренникова С.С., Стомба Л.Ф. и др. Вакциноподобные вирусы: особенности циркуляции в Южной Америке. *Вопросы вирусологии*. 2014;59(2):10–4. Borisevich S.V., Marennikova S.S., Stovba L.F., et al. Vaccine-like viruses: peculiarities of circulation in the South America. *Problems of Virology*. 2014;59(2):10–4. EDN: <https://elibrary.ru/sbkmvh>
14. Hahn N. Smallpox and related poxvirus infection in the simian host. *Bacteriol. Rev.* 1961;25(4):459–76. DOI: <https://doi.org/10.1128/br.25.4.459-476.1961>
15. Smith D.F. Progress in the discovery of compounds inhibiting orthopoxviruses in animal model. *Antivir. Chem. Chemother.* 2008;19(3):115–24. DOI: <https://doi.org/10.1177/095632020801900302>
16. Chapman J.L., Nichols D.K., Martinez M.J., Raymond J.W. Animal models of orthopoxvirus infection. *Vet. Pathol.* 2010;47(5):852–70. DOI: <https://doi.org/10.1177/0300985810378649>
17. Boulter E.A., Westwood J.C., Maber H.B. Value of serotherapy in a virus disease (rabbit pox). *Lancet*. 1961;2(7210):1012–5. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(61\)90969-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(61)90969-2)
18. Hartings J.M., Roy C.J. The automated bioaerosol exposure system: preclinical platform development and a respiratory application with nonhuman primates. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*. 2004;49(1):39–55. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2003.07.001>
19. Nalca A., Nichols D.K. Rabbitpox: a model of airborne transmission of smallpox. *J. Gen. Virol.* 2011;92(Pt. 1):31–5. DOI: <https://doi.org/10.1099/vir.0.026237-0>
20. Bedson H.S., Duckworth M.J. Rabbitpox: an experimental study of the pathway of infection in rabbits. *J. Pathol. Bacteriol.* 1963;85:1–20.
21. Nicas M., Hubbard A.E., Jones R.M., Reingold A.L. The infection dose of Variola (Smallpox) virus. *Appl. Biosaf.* 2004; 9(3):118–27.
22. Roy C.J., Voss T.G. Use of the aerosol rabbitpox virus model for evaluation of anti-poxvirus agents. *Viruses*. 2010;2(9):2096–107. DOI: <https://doi.org/10.3390/v2092096>
23. Garsa N.L., Hatkin J.M., Livingston V., et al. Evaluation of efficacy of modified vaccinia Ankara (MVA) IMVAMUNE against aerosolized rabbitpox virus in a rabbit model. *Vaccine*. 2009;27(40):5496–504. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.06.105>
24. Martinez M.J., Bray M.P., Huggins J.W. A mouse model of aerosol-transmitted orthopoxviral disease. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2000;124(3):362–77. DOI: <https://doi.org/10.5858/2000-124-0362-ammoat>
25. Roy C.J. Rabbitpox: an aerosol model for study of aerosolized poxviruses. *J. Antivir. Res.* 2004;43:34–7.
26. *Процедурный доклад Специальной группы государств-участников Конвенции о запрещении разработки, производства и накопления запасов бактериологического (биологического) и токсического оружия и об их уничтожении*. Женева;1999. Procedural report of the Ad Hoc Group of States Parties to the Convention on the Prohibition of the Development, Production and Stockpiling of Bacteriological (Biological) and Toxic Weapons and on Their Destruction. Geneva;1999.
27. Zaucha G.M., Jahrling P.B., Geisbert T.W., et al. The pathology of experimental aerosolized monkeypox virus infection in cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). *Lab. Invest.* 2001;81(12):1581–600. DOI: <https://doi.org/10.1038/labinvest.3780373>

ОБЗОРЫ

28. Nalca A., Livingston V.A., Garza N.L., et al. Experimental infection of cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*) with aerosolized monkeypox virus. *PLoS One*. 2010;5(9):e12880. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012880>
29. Jahrling P.B., Hensley L.E., Martinez M.J., et al. Exploring the potential variola virus infection of *Cynomolgus macaques*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2004;101(42):15196–200. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0405954101>
30. Grant R.J., Baldwin C.D., Nalca A., et al. Application of the ibis T5000 panorthopoxvirus assay to quantitatively detect monkeypox viral loads in clinical specimens from macaques, experimentally infected with aerosolized monkeypox virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2010;82(2):318–23. DOI: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.09-0361>
31. Barnewall R.E., Fisher D.A., Robertson A.B., et al. Inhalation monkeypox virus infection in cynomolgus macaques. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2012;2:117. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00117>
32. Hatch G.J., Graham V.A., Bewley K.R., et al. Assessment of protective effect of Imvamune and Acam2000 vaccines against aerosolized monkeypox virus in cynomolgus macaques. *J. Virol.* 2013;87(14):7805–15. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.03481-12>
33. Keasey S., Pugh C., Tikhonov A., et al. Proteomic basis of the antibody response to monkeypox virus infection examined in *Cynomolgus macaques* and a comparison to human smallpox vaccination. *PLoS One*. 2010;5(12):e15547. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015547>
34. Stittelaar K.J., van Amerongen G., Kondova I., et al. Modified vaccinia virus Ankara protects macaques respiratory challenge with monkeypox. *J. Virol.* 2005;79(12):7845–51. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.79.12.7845-7851.2005>
35. Bray M., Martinez M., Smee D.F., et al. Cidofovir protects mice against lethal aerosol or intranasal cowpox virus challenge. *J. Infect. Dis.* 2000;181(1):10–9. DOI: <https://doi.org/10.1086/315190>
36. Bray M., Martinez M., Kefauver D., et al. Treatment of aerosolized cowpox virus infection in mice with aerosolized cidofovir. *Antiviral Res.* 2002;54(3):129–42. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0166-3542\(01\)00220-0](https://doi.org/10.1016/s0166-3542(01)00220-0)
37. Roy C.J., Baker R., Washburn K., Bray M. Aerosolized cidofovir is retained in the respiratory tract and protect mice against intranasal cowpox virus challenge. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2003;47(9):2933–7. DOI: <https://doi.org/10.1128/aac.47.9.2933-2937.2003>

Информация об авторах

Онищенко Геннадий Григорьевич — д.м.н., профессор, академик РАН, зав. каф. экологии человека и гигиены окружающей среды ПМГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0135-7258>

Кириллов Игорь Анатольевич, канд. воен. наук, начальник войск радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5001-3326>

Борисевич Сергей Владимирович[✉] — д.б.н., профессор, академик РАН, начальник 48 ЦНИИ Минобороны России, Сергиев Посад-6, Россия, 48cnii@mil.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

Сизикова Татьяна Евгеньевна — к.б.н., с.н.с. научно-исследовательского отдела 48 ЦНИИ Минобороны России, Сергиев Посад-6, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1817-0126>

Кротков Виктор Тимофеевич — к.м.н., с.н.с. научно-исследовательского отдела 48 ЦНИИ Минобороны России, Сергиев Посад-6, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7674-2321>

Участие авторов: Онищенко Г.Г., Кириллов И.А. — разработка концепции статьи, обобщение полученных данных; Борисевич С.В. — сбор и анализ данных, обобщение полученных данных, редактирование текста статьи, утверждение окончательного варианта статьи; Сизикова Т.Е. — сбор и анализ данных, формирование текста статьи; Кротков В.Т. — оценка полученных данных. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям Международного комитета редакторов медицинских журналов, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 11.04.2024;
принята к публикации 08.06.2024;
опубликована 29.06.2024

Information about the authors

Gennadiy G. Onishchenko — D. Sci. (Med.) Professor, RAS Full Member, Head, Department of human ecology and environmental hygiene, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0135-7258>

Igor A. Kirillov — Cand. Sci. (Military), Chief, Nuclear, Biological and Chemical Protection Troops of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5001-3326>

Sergey V. Borisevich[✉] — D. Sci. (Biol.), Professor, RAS Full Member, Head, 48 Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Posad-6, Russia, 48cnii@mil.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

Tatiana E. Sizikova — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, 48 Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Posad-6, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1817-0126>

Victor T. Krotkov — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, 48 Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Posad-6, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7674-2321>

Author contribution: Onishchenko G.G., Kirillov I.A. — development of the concept of the article, generalization of the data obtained; Borisevich S.V. — collection and analysis of data, summarizing the data obtained, editing the text of the article, approval of the final version of the article; Sizikova T.E. — collection and analysis of data, formation of the text of the article; Krotkov V.T. — evaluation of the data obtained. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a final approval of the version to be published.

The article was submitted 11.04.2024;
accepted for publication 08.06.2024;
published 29.06.2024