МРНТИ: 34.25.29; 34.25.39

А.И. КЫДЫРМАНОВ[1], К.О. КАРАМЕНДИН[1], Е.Т. КАСЫМБЕКОВ[1],
С.А. СУЛЕЙМЕНОВА[1*], С. ГУДМАН[2]
[1] Научно производственный центр микробиологии и вирусологии, Алматы, Казахстан;
[2]Институт общей и сравнительной биологии, Университет Лидса, Лидс, Великобритания
* suleymenova.87@inbox.ru

ГЕРПЕСВИРУСЫ КАСПИЙСКИХ ТЮЛЕНЕЙ (PUSA CASPICA)

doi: 10.53729/MV-AS.2022.02.04

Аннотация

В статье приводятся сведения о вирусологическом и серологическом скрининге герпесвирусов в популяции каспийских тюленей. Показана устойчивая циркуляция герпесвирусов тюленей первого типа (PhHV-1) среди каспийских тюленей. Отмечено, что PhHV-1 является эндемичным для каспийских тюленей и, возможно, вызывает постоянную вирусную нагрузку на здоровье тюленей, которая усугубляется провоцирующими факторами.

Ключевые слова: герпесвирусы тюленей, каспийский тюлень, полимеразная цепная реакция, серология, *α*-герпесвирус.

В последние годы, благодаря широкомасштабным исследованиям с использованием современных методов молекулярной диагностики, был идентифицирован ряд вирусов, инфицирующих морских млекопитающих.

В настоящее временя от тюленей изолированы семь видов герпесвирусов (PhHV-1 – PhHV-7), относящихся к родам альфа- и гамма-герпесвирусов [1, 2, 3, 4, 5, 6]. В инфекционной патологии этих животных наиболее актуальным является герпесвирус тюленей 1 [Phocid Herpesvirus type 1] (PhHV-1) из рода *α*-герпесвирусов. Инфекция, вызванная этим вирусов у обыкновенных (*Phoca vitulina*) и серых *(Halichoerus grypus)* тюленей, характеризуется респираторными проявлениями с интерстициальной пневмонией и коагулятивным некрозом тканей надпочечников и печени [1, 7]. Остальные шесть герпесвирусов (PhHV-2 – PhHV-7) относятся к роду γ- герпесвирусы, из них PhHV-4 и PhHV-7 имеют диагностическую значимость при воспалениях и язвенных поражениях мягких тканей ротовой полости тюленей. Герпесвирус PhHV-6 у тюленей ассоциирует с заболеванием глаз [5]. Роль вирусов PhHV-2, PhHV-3 и PhHV-5 в инфекционной патологии тюленей остается неизвестной.

С целью установления круга вирусных патогенов, поражающих каспийских тюленей, нами проведен вирусологический скрининг биоматериалов на наличия герпесвирусов.

Материалы и методы

Исследование 188 образцов от 47 особей каспийских тюленей, собранных в казахстанской части Каспийского моря в 2016–2017 гг., проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Биологические образцы собраны весной и осенью на участках лежбищ в северо-восточной части моря от животных, отловленных для спутниковой телеметрии.

С праймерами к gD и UL52 генам герпесвирусов проведен ПЦР скрининг материалов на присутствие ДНК α- и γ-герпесвирусов тюленей (PhHV-1 и PhHV-2, соответственно). В качестве положительного контроля использовали штамм PhHV-1, полученный из Европейского архива вирусных антигенов – EVAg.

Образцы сывороток, собранных с 2007 по 2017 гг., исследовали в ИФА с помощью набора CHV (Canine Herpes Virus) IgG Ab ELISA Cat.# DE2481, DEMEDITECH (Германия), согласно приложенному протоколу.

Результаты и обсуждения

Ожидаемые продукты ПЦР к PhHV-1 в 290 пар оснований обнаружены в трех образцах, собранных в октябре 2016 г. Положительные образцы, дополнительно исследованные в ПЦР в реальном времени с праймерами к gB гену PhHV-1, также дали положительные результаты. BLAST анализ секвенированных нуклеотидных последовательностей фрагмента gD гена вируса PhHV-1 каспийских тюленей показал их схожесть с таковыми изолята PB84 от европейского обыкновенного тюленя (*Phoca vitulina*) (рисунок 1). Анализы на PhHV-2 оказались отрицательными.

Впервые герпесвирус PhHV-1 изолирован от новорожденных обыкновенных тюленей с клиническими признаками острой пневмонии и гепатита в центре реабилитации в Нидерландах в 1985 г. [1]. У тихоокеанского обыкновенного тюленя (*Phoca vitulina richardsii*) этот вирус ассоциируется с очаговым каогулятивным некрозом коры надпочечников и печени. В филогенетических исследованиях гена ДНК-полимеразы (gB) PhHV-1 установлено их родство с герпесвирусами собак и кошек.

Рисунок 1 – Результаты BLAST-анализа нуклеотидных последовательностей герпесвирусов в GenBank

Серологические исследования показали широкое распространение инфекции PhHV-1 или других близкородственных α-герпесвирусов в популяциях тюленей, обитающих в Северном море, а также в водах Антарктики и северной части Тихого океана [8, 9, 10].

С целью получения косвенных доказательств об устойчивой циркуляции PhHV-1 в популяции каспийских тюленей нами проведены серологические исследования для обнаружения антител к этому вирусу. В результате исследования в сыворотках крови каспийских тюленей антитела к PhHV-1 обнаружены в 68 из 72 образцов (94,7%).

Эти результаты аналогичны по серопозитивности к PhHV-1 у обыкновенных тюленей в Шпицбергене (Норвегия), где частота обнаружения антител варьировала от 72 до 100% в каждый год исследования [11]. На этом основании сделан вывод о том, что годовая вариация серопревалентности у обыкновенных тюленей отражает различную частоту реактивации латентного вируса под воздействием стресс-факторов, влияющих на иммунокомпетентность животных [11].

Таким образом, результаты вирусологического скрининга, молекулярно-генетических и серологических исследований показывают, что PhHV-1, вероятно, является эндемичным для каспийских тюленей, а также, возможно, вызывает постоянную вирусную нагрузку на здоровье тюленей, которая усугубляется провоцирующими факторами.

Финансирование

Исследование финансируется Комитетом науки Министерства образования и науки Республики Казахстан (грант № AP08856073 «Исследование вирусной метапопуляций каспийского тюленя для раннего обнаружения возбудителей новых и возвращающихся инфекций»).

Литература:

1 Osterhaus, A. D. M. E., Yang, H., Spijkers, H. E. M., Groen, J., Teppema, J. S. & van Steenis, G. (1985). The isolation and partial characterization of a highly pathogenic herpesvirus from the harbour seal (Phoca vitulina). Archives of Virology 86, 239–251.

2 Harder, T. C., Harder, M., Vos, H. W., Kulonen, K., Kennedy-Stoskopf, S., Liess, B., Appel, M. J. G. & Osterhaus, A. D. M. E. (1996). Characterization of phocid herpesvirus-1 and -2 as putative alpha- and gammaherpesviruses of North American and European pinnipeds. Journal of General Virology 77, 27–35.

3 Goldstein, T., Gulland, F.M.D., Braun, R.C., Antonelis, G.A., Kashinsky, L., Rowles, T.K., Mazet, J.A.K., Dalton, L.M., Aldridge, B.M., and Stott, J.L. (2006). Molecular identification of a novel gamma herpesvirus in the endangered Hawaiian monk seal (Monachus schauinslandi). Marine Mammal Science 22(2): 465–471.

4 Maness, H. T. D., H. H. Nollens, E. D. Jensen, T. Goldstein, S. LaMere, A. Childress, J. Sykes, J. St. Leger, G. Lacave, F. E. Latson, and J. F. X. Wellehan (2011). Phylogenetic analysis of marine mammal herpesviruses. Veterinary Microbiology 149:23–29.

5 Wright EP, Waugh LF, Goldstein T, Freeman KS, Kelly TR, Wheeler EA, Smith BR, Gulland FM. Evaluation of viruses and their association with ocular lesions in pinnipeds in rehabilitation. (2015). Veterinary Ophthalmology. Jan;18 Suppl 1:148-59. doi: 10.1111/vop.12235. Epub 2014 Nov 17.

6 Bodewes R., Contreras G. J., Garcia A. R., Hapsari R., van de Bildt, M.W., Kuiken T., Osterhaus AD. (2015). Identification of DNA sequences that imply a novel gammaherpesvirus in seals. Journal of General Virology. 96, 1109–14.

7 Gulland, F. M. D., Lowenstine, L. J., Lapointe, J. M., Spraker, T., & King, D. P. (1997). Herpesvirus infection in stranded Pacific harbor seals of coastal California. Journal of Wildlife Diseases, 33(3), 450–458.

8 Have, P., Nielsen, J. & Botner, A. (1991). The seal death in Danish waters 1988. II. Virological studies. Acta veterinaria Scandinavica 32, 211–219.

9 Harder, T. C., Plötz, P., Liess, B. (1991). Detection of antibodies against European seal herpesviruses in sera of Antarctic seals. Polar Biology 34, 43–47.

10 Zarnke, R. L., Harder, T. C., Vos, H. W., Ver Hoef, J. M. & Osterhaus, A. D. (1997). Serologic survey for phocid herpesvirus-1 and -2 in marine mammals from Alaska and Russia. Journal of Wildlife Diseases 33, 459–465.

11 Roth SJ, Tischer BK, Kovacs KM, Lydersen C, Osterrieder N, Tryland M. Phocine herpesvirus 1 (PhHV-1) in harbor seals from Svalbard, Norway. Veterinary Microbiology. 2013;164(3-4):286-292. doi: 10.1016/j.vetmic.2013.03.008

А.И. ҚЫДЫРМАНОВ[1], Қ.О. КАРАМЕНДИН[1], Е.Т. ҚАСЫМБЕКОВ[1], С.А. СҮЛЕЙМЕНОВА[1]*, С.ГУДМАН[2]
1 Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы, Алматы, Қазақстан;
2 Жалпы және салыстырмалы биология институты, Лидс университеті, Лидс, Ұлыбритания;
* suleymenova.87@inbox.ru

КАСПИЙ ИТБАЛЫҚТАРЫНЫҢ ГЕРПЕС ВИРУСТАРЫ (PUSA CASPICA)

Түйін

Мақалада Каспий итбалығы популяциясындағы герпесвирустардың вирусологиялық және серологиялық скринингі туралы ақпарат берілген. Каспий итбалықтарының арасында герпесвирустардың бірінші типі (PhHV-1) тұрақты айналымы көрсетілген. PhHV-1 Каспий итбалықтары үшін эндемиялық болып табылады және итбалықтардың денсаулығына тұрақты вирустық ауыртпалық тудыруы мүмкін, бұл провокациялық факторлармен күшейтіледі.

Кілтті сөздер: итбалық герпесвирустары, Каспий итбалығы, полимеразды тізбекті реакция, серология, α-герпесвирус.

IRSTI: 34.25.29; 34.25.39

A.I. KYDYRMANOV[1], K.O. KARAMENDIN[1], E.T. KASYMBEKOV[1], S.A. SULEYMENOVA[1*], S. GOODMAN[2]
1 Research and Production Center for Microbiology and Virology, Almaty, Kazakhstan;
2 Institute of General and Comparative Biology, University of Leeds, Leeds, UK
*suleymenova.87@inbox.ru

HERPESVIRUSES OF THE CASPIAN SEALS (PUSA CASPICA)

doi: 10.53729/MV-AS.2022.02.04

Summary

The article provides information on virological and serological screening of herpesviruses in the Caspian seal population. The consistent circulation of seal herpesviruses type 1 (PhHV-1) among the Caspian seals is shown. It is noted that PhHV-1 is endemic to Caspian seals and possibly causes a constant viral load on the health of seals, which is exacerbated by provoking factors.

Keywords: seal herpesviruses, Caspian seal, polymerase chain reaction, serology, α-herpesvirus.

In recent years, thanks to large-scale studies using more advanced methods of molecular

diagnostics, several viruses have been identified that infect marine mammals.

At present, seven herpesviruses (PhHV-1 – PhHV-7), belonging to the genera alpha and gamma herpesviruses [1, 2, 3, 4, 5, 6], have been isolated from seals. In the infectious pathology of these animals, herpesvirus seals 1 [Phocid Herpesvirus type 1] (PhHV-1) from the genus α-herpesviruses are the most relevant pathogen. Infection caused by these viruses in the common (*Phoca vitulina*) and gray seals (*Halichoerus grypus*) is characterised by respiratory manifestations with interstitial pneumonia and coagulative necrosis of the adrenal tissue and liver [1, 7].

To establish the range of viral pathogens affecting the Caspian seals, we carried out virological screening of biomaterials for the presence of herpesviruses.

Materials and methods

A study of 188 live samples from 47 individuals of Caspian seals collected in the Kazakhstan part of the sea in 2016-2017 was conducted by polymerase chain reaction (PCR). Samples were collected in spring and autumn at haul-out sites in the northeastern part of the sea from animals caught for satellite telemetry.

The presence of phocine α- and γ-herpesviruses (PhHV-1 and PhHV-2) was defined using primers targeting their gD and UL52 genes, respectively. The strain PhHV-1, obtained from the European Virus Archive, was used as a positive control.

For detection of antibodies to the PhHV-1 virus, serum samples collected from 2007 to 2017 were tested in ELISA using the CHV kit (Canine Herpes Virus) IgG Ab ELISA Cat. # DE2481, DEMEDITECH (Germany).

Results and discussion

Expected 290 base pairs PCR products to PhHV-1 were detected in three samples collected in October 2016. Samples were additionally tested in real-time - PCR with primers to the gB gene of PhHV-1, and positive results were also obtained. BLAST analysis of nucleotide sequence of the gD gene fragment of PhHV-1 virus from Caspian seals demonstrated their resemblance to European isolate PB84 from Common seal (*Phoca vitulina*). Tests for PhHV-2 were negative.

For the first time, the herpesvirus PhHV-1 was isolated from newborn harbor seals with clinical signs of acute pneumonia and hepatitis at a rehabilitation centre in the Netherlands in 1985 [1]. In the Pacific common seal *(Phoca vitulina richardsii*), this virus is associated with focal caogulative necrosis of the adrenal cortex and liver. In phylogenetic studies of the DNA polymerase (gB) gene of PhHV-1, their relationship with canine and feline herpesviruses has been established.

Serological studies have shown widespread infection of PhHV-1 or other closely related α-herpes viruses in seal populations of the North Sea, as well as in the Antarctic and the Northern Pacific waters [8, 9, 10].

In order to obtain additional evidence on the persistent circulation of PhHV-1 in the population of Caspian seals, we carried out serological screening to detect antibodies to this virus. Specific antibodies to PhHV-1 were detected in 68 out of 72 serum samples (94.7%) of Caspian seals.

Figure 1 - BLAST analysis results of herpesviruses nucleotide sequences in GenBank

These results are similar in terms of PhHV-1 seropositivity in harbor seals in Svalbard, Norway, where antibody detection rates varied from 72 to 100% in each year of the study [11]. On this basis, it was concluded that the annual variation in seroprevalence in harbor seals reflects the different frequency of reactivation of the latent virus under the influence of stress factors affecting the immunocompetence of animals [11].

Thus, the results of virological and serological screening show that PhHV-1 is likely endemic to the Caspian seal and possibly causes a persistent viral burden on the health of seals, which is exacerbated by provoking factors.

Funding

This research has been/was/is funded by the Science Committee of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan (Grant No. AP08856073).

References:

1 Osterhaus, A. D. M. E., Yang, H., Spijkers, H. E. M., Groen, J., Teppema, J. S. & van Steenis, G. (1985). The isolation and partial characterization of a highly pathogenic herpesvirus from the harbour seal (Phoca vitulina). Archives of Virology 86, 239–251.

2 Harder, T. C., Harder, M., Vos, H. W., Kulonen, K., Kennedy-Stoskopf, S., Liess, B., Appel, M. J. G. & Osterhaus, A. D. M. E. (1996). Characterization of phocid herpesvirus-1 and -2 as putative alpha- and gammaherpesviruses of North American and European pinnipeds. Journal of General Virology 77, 27–35.

3 Goldstein, T., Gulland, F.M.D., Braun, R.C., Antonelis, G.A., Kashinsky, L., Rowles, T.K., Mazet, J.A.K., Dalton, L.M., Aldridge, B.M., and Stott, J.L. (2006). Molecular identification of a novel gamma herpesvirus in the endangered Hawaiian monk seal (Monachus schauinslandi). Marine Mammal Science 22(2): 465-471.

4 Maness, H. T. D., H. H. Nollens, E. D. Jensen, T. Goldstein, S. LaMere, A. Childress, J. Sykes, J. St. Leger, G. Lacave, F. E. Latson, and J. F. X. Wellehan (2011). Phylogenetic analysis of marine mammal herpesviruses. Veterinary Microbiology 149:23–29.

5 Wright EP, Waugh LF, Goldstein T, Freeman KS, Kelly TR, Wheeler EA, Smith BR, Gulland FM. Evaluation of viruses and their association with ocular lesions in pinnipeds in rehabilitation. (2015). Veterinary Ophthalmology. Jan;18 Suppl 1:148-59. doi: 10.1111/vop.12235. Epub 2014 Nov 17.

6 Bodewes R., Contreras G. J., Garcia A. R., Hapsari R., van de Bildt, M.W., Kuiken T., Osterhaus AD. (2015). Identification of DNA sequences that imply a novel gammaherpesvirus in seals. Journal of General Virology. 96, 1109-14.

7 Gulland, F. M. D., Lowenstine, L. J., Lapointe, J. M., Spraker, T., & King, D. P. (1997). Herpesvirus infection in stranded Pacific harbor seals of coastal California. Journal of Wildlife Diseases, 33(3), 450-458.

8 Have, P., Nielsen, J. & Botner, A. (1991). The seal death in Danish waters 1988. II. Virological studies. Acta veterinaria Scandinavica 32, 211–219.

9 Harder, T. C., Plötz, P., Liess, B. (1991). Detection of antibodies against European seal herpesviruses in sera of Antarctic seals. Polar Biology 34, 43–47.

10 Zarnke, R. L., Harder, T. C., Vos, H. W., Ver Hoef, J. M. & Osterhaus, A. D. (1997). Serologic survey for phocid herpesvirus-1 and -2 in marine mammals from Alaska and Russia. Journal of Wildlife Diseases 33, 459–465.

11 Roth SJ, Tischer BK, Kovacs KM, Lydersen C, Osterrieder N, Tryland M. Phocine herpesvirus 1 (PhHV-1) in harbor seals from Svalbard, Norway. Veterinary Microbiology. 2013;164(3-4):286-292. doi: 10.1016/j.vetmic.2013.03.008