

К.О. Карамендин*, А.И. Кыдырманов, Е.Я. Хан, А.Б. Сейдалина, Е.Т. Касымбеков

ТОО «НПЦ микробиологии и вирусологии», Алматы, Казахстан

*Автор для корреспонденции: kobey.karamendin@gmail.com

Поиск зоонозных инфекций верблюдов, представляющих потенциальную опасность здоровью человека в Казахстане

Приводимые в мире исследования показывают важность контроля за распространением зоонозных инфекций. В последние годы выявлены новые, в том числе потенциальные пандемические штаммы коронавируса у верблюдов, что обуславливает необходимость регулярного мониторинга за состоянием вирусных популяций у этого животного. Цель исследования заключается в выявлении спектра вирусных и бактериальных популяций, циркулирующих среди верблюдов в Казахстане и представляющих опасность для здоровья человека и животных. В статье использованы вирусологические и молекулярно-генетические методы: взятие биологических образцов от верблюдов, выделение из них нуклеиновых кислот, получение библиотек для секвенирования нового поколения, биоинформационный анализ полученных данных и серологические тесты. В результате массового параллельного секвенирования обнаружены контиги вирусов, классифицированные на 3 больших рода: *Pestivirus*, *Circovirus* и *Hepevirus*. Особый интерес вызывает обнаружение коротких последовательностей, сходных с таковыми вируса гепатита E, что требует дальнейших, более глубоких исследований в этом направлении. Серологические исследования верблюдов Мангистауской области не выявили антитела на вирус Ближневосточного респираторного синдрома (БВРС, MERS-CoV), что говорит об отсутствии его циркуляции у верблюдов в Западном Казахстане либо о происшествии длительного времени после его возможного присутствия. Таким образом, исследование вирусных метагеномов верблюдов в регионе, близком к Ближнему Востоку, является важной задачей научного поиска. Метагеномное исследование позволит выявить не только штаммы коронавируса, но и произвести анализ других неизвестных вирусных инфекций, важных как для сельского хозяйства, так и для здоровья человеческой популяции.

Ключевые слова: верблюд, медицина, гепатит, вирус, сельское здравоохранение, секвенирование, мониторинг.

Введение

С проникновением высоких технологий в медицину, молекулярную биологию и смежные отрасли открываются новые горизонты для изучения, казалось бы, хорошо известных живых объектов. Одним из них является домашний верблюд, заслуживающий пристального внимания. Семейство *Camelidae*, к которому принадлежат верблюды, относится к числу наименее изученных среди домашних животных в качестве источника зоонозных инфекций.

До недавнего времени верблюд считался обычным сельскохозяйственным животным с характерными только для него вирусными инфекциями. Обнаружение в 2013 г. коронавируса БВРС, вызвавшего пандемию и после него другой новый верблюжий коронавирус UAE-НКU23, стало причиной повышенного интереса к поиску новых патогенов у этих животных, представляющих угрозу общественному здравоохранению [1, 2].

Верблюды относятся к роду *Camelus* (Linnaeus, 1758), состоящему из двух видов: *C. dromedarius*, дромедар, или одногорбый верблюд, и второй вид — *C. bactrianus* (Linnaeus), бактриан, или двугорбый верблюд. В Казахстане распространены оба вида. Сравнительно недавно у верблюдов были описаны вирусы семейств *Herpesviridae*, *Picornaviridae*, *Poxviridae*, *Flaviviridae* и *Rhabdoviridae* [3–7]. У них же были открыты новые вирусы гепатита E (HEV), которые являются опасными для здоровья людей [8]. Указанные выше данные о появлении среди верблюдов новых патогенов и слабая изученность данного вопроса в Казахстане побудили авторов определить современное состояние по вирусным возбудителям в местной популяции верблюдов.

Цель исследования заключалась в выявлении спектра вирусных популяций, циркулирующих среди верблюдов в Казахстане и представляющих опасность для здоровья человека и животных, их молекулярно-генетических исследованиях.

Материалы и методы исследования

Материалы собраны во время регулярных выездов в регионы, где в значительном количестве содержат верблюдов. В данной статье приведены результаты исследований проб от верблюдов из Мангистауской области.

Носовые и ректальные смывы, а также сыворотки крови получены от верблюдов в соответствии с протоколами МЭБ. Смывы брали с помощью стерильных ватных тампонов и помещали в реагент DNA Shield (Zymo Research, США). Собраны всего 90 проб от верблюдов. Сыворотки крови собраны с использованием систем Vacutainer, которые в целях сохранности хранили в жидком азоте (-196°C).

РНК вирусов выделены с помощью QIAampViral RNA Mini Kit (Qiagen GmbH, Hilden Германия) по протоколу производителя. Набор NEB Next Ultra Directional RNA Library Prep Kit for Illumina (NEB, США) применялся при конструировании библиотек согласно инструкции производителя. Секвенирование осуществлено с использованием прибора Illumina MiSeq (США).

Биоинформационный анализ для сборки ридов в контиги с последующей аннотацией проведен на высокопроизводительном сервере с установленной программой Geneious Prime (Biomatters, Новая Зеландия).

Серологические исследования на возможную циркуляцию антител к MERS коронавирусу проведены в иммуноферментном анализе (ИФА) с использованием набора Camelanti-MERS — S1 IgGELISA Kit (Alpha Diagnostics) [9] согласно инструкции производителя.

Результаты исследования

Сбор биопроб от верблюдов

Для исследований собраны пробы от верблюдов Мангистауской области с помощью стерильных ватных тампонов, которые были помещены во флаконы со специальной средой DNA Shield (Zymo Research, США), позволяющей сохранять нуклеиновые кислоты вирусов при комнатной температуре. Всего от 45 верблюдов из этой области собраны носоглоточные, ректальные смывы, а также сыворотка крови. В дальнейшем, пробы из смывов были объединены в пулы по возрасту для последующего секвенирования. Для исследования сыворотки крови образцы были разведены специальными реагентами в составе ИФА наборов.

Подготовка собранных материалов для метагеномного секвенирования вирусов

Набор NEB Next Ultra RNA Library Prep Kit for Illumina (NEB, США) использован для секвенирования виroma респираторного и желудочно-кишечного трактов верблюдов: в качестве матрицы использовали РНК, очищенную с помощью нуклеаз от рибосомальных РНК (Ambion, США), измеряли ее первоначальную концентрацию. Из полученной РНК синтезировали комплементарную двухцепочечную ДНК. Фрагментацию ДНК до размеров около 450–500 п.о. проводили с применением ферментативного метода, используя набор Fragmentase (NEB, США). К данным фрагментам к ДНК затем прикрепляли молекулу аденина и в последующем лигировали адаптеры. Продукты очищали и амплифицировали в ПЦР для создания библиотеки и далее определяли концентрации на приборе Qubit 2.0. Длины библиотек исследовали на приборе Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, Германия), и они составили 400–600 нуклеотидов, что соответствовало требованиям для загрузки в проточную ячейку MiSeq Reagent Kit v.3.

Биоинформационный анализ результатов массового параллельного секвенирования с помощью специализированного программного обеспечения

Полученные сиквенсы были обработаны в специализированной компьютерной программе GeneiousPrime 2021. Был проведен BLAST-поиск гомологичных последовательностей в Международной базе данных «Генбанк». Данные были выравнены в режиме онлайн с нерезервированными и вирусными справочными базами данных GenBank с использованием BLASTx и BLASTn. Совпадения BLAST были определены как значимые, если значение E составляло $10e^{-5}$. Контиги бактерий и эукариот были исключены из поиска, а вирусоподобные последовательности были подвергнуты дальнейшему анализу.

Как показано в таблице, контиги вирусов позвоночных составляют наибольшую популяцию вирусов в виrome из всех исследованных проб и могут быть классифицированы на 3 больших рода: *Pestivirus*, *Circovirus* и *Hepevirus*.

BLAST-поиск нуклеотидных последовательностей контигов от чаек и крачек в Генбанке

Вид верблюда	Совпадение в Генбанке	Количество контигов	Длина	% идентичности с контигом	Покрывание запроса	Bit-Score	E-Value	Степень сходства
Дромадер	Bovine_viral_diarrhea_virus	>200	142	89.4 %	47.18 %	180.245	3.81e-43	68.3 %
Дромадер	Circovirus-like NI/2007-3	>10	127	94.5 %	42.19 %	196.865	3.78e-48	68.3 %
Дромадер	Hepatitis_E_virus	3	119	80.3 %	39.67 %	159.932	4.94e-37	65.2 %

Как видно из данных таблицы, в результате исследования вирома верблюдов Туркестанской области обнаружены нуклеотидные последовательности геномов вирусов разных семейств, характерных не только для верблюда, но и для человека. Особенно актуально обнаружение вируса, на 65 % сходного с вирусом гепатита E человека. Определено, что в составе вирома со средним процентом вероятности присутствуют герпесвирусы в виде вируса диареи коров, а также цирковирусы.

Серологические исследования

Собранные от верблюдов сыворотки были проверены на наличие антител к вирусу БВРС, вызываемого коронавирусом, по ним получены отрицательные результаты.

Обсуждение результатов

Как было указано ранее, изучение верблюдов, как одного из важных инструментов в цепи передачи вирусов дикого происхождения к человеку, началось сравнительно недавно с открытием коронавируса БВРС, вызвавшего значительную смертность среди людей [1].

В Мангистауской области Казахстана, граничащей с Туркменистаном, имеющим выход на страны Ближнего Востока и Аравийского полуострова, имеется поголовье верблюдов, составляющее 47 000 голов, что может содержать определенную опасность проникновения вируса на территорию нашей республики. Эпизоотическое состояние по коронавирусу БВРС в местной популяции дромедаров неизвестно. В Алматинской области содержится поголовье верблюдов около 7800 голов, часть которых завезена из-за рубежа, что создает риски распространения возбудителя. В Казахстане преобладают бактрианы — вид, который мало изучен в отношении вируса БВРС, особенности течения болезни у этого вида также неизвестны. Сероэпидемиологические исследования верблюдов в Египте выявили высокую распространенность антител к MERS коронавирусу с использованием методов микронейтрализации и нейтрализации [10]. Ранее в 2015 г. в Казахстане были проведены серологические исследования верблюдов на коронавирус MERS-CoV, и антитела к данному заболеванию не были обнаружены [11]. К сожалению, в указанном исследовании не были охвачены прикаспийские Атырауская и Мангистауская области, где сосредоточено поголовье верблюдов, потенциально имеющее отношение к Ближнему Востоку через Туркменистан.

В рамках данной статьи проведены серологические исследования в ранее не исследованных прикаспийских областях Казахстана. Во всех исследованных сыворотках антитела к MERS коронавирусу не обнаружены, что свидетельствует об отсутствии его в местной популяции или о происшествии значительного промежутка времени, в случае циркуляции вируса ранее.

В ходе мониторинговых исследований в мире был открыт новый вид коронавирусов, названный верблюжьим коронавирусом DcCoV UAE-HKU23, найденный у дромедаров Ближнего Востока [Ошибка! Залка не определена.], что указывает на возможность циркуляции новых ранее неизвестных коронавирусов, в том числе и среди казахстанских верблюдов. В настоящем исследовании новые штаммы верблюжьих коронавирусов нами не обнаружены.

Продолжающиеся исследования вирома верблюдов на Ближнем Востоке обнаружили значительное количество и широкое разнообразие контигов семейств *Circoviridae* и *Picobirnaviridae* [12]. Было определено, что последовательности некоторых контигов были сходны с бокавирусом человека, что свидетельствует о необходимости дальнейших, более глубоких исследований для выявления связи между бокавирусами человека и животных. В настоящей статье описан случай выявления цирковируса у верблюдов Мангистауской области, что определяет необходимость более детального анализа генома

и вирусологических свойств, в целях определения потенциала возбудителя для человека в виду его неизученности.

Особого внимания заслуживает вирус гепатита E, который ранее не выявлялся у верблюдов [13]. Гепатит E, приобретенный человеком от животных, является важной причиной хронического гепатита у пациентов с ослабленным иммунитетом. Заболевание хоть и относится к самоограничивающимся инфекциям, но среди инфицированных беременных наблюдаются высокие показатели смертности. HEV7 и HEV8 были недавно идентифицированы у дромедаров и бактрианов, соответственно. HEV7 является представителем нового генотипа, который имеет важное значение для здоровья населения. В рамках данного исследования выявлены нуклеотидные последовательности, сходные с высоким процентом идентичности с таковыми вируса гепатита E. Результаты указывают на важность дальнейших мониторинговых исследований за циркуляцией этого вируса, с целью оценки его эпидемического риска для населения региона.

Исследования и статистика ВОЗ показали, что вирус гепатита E у человека явился причиной возникновения 3,3 миллионов случаев с симптомами острого гепатита во всем мире, а в некоторых регионах мира по заболеваемости превзошел более распространенный гепатит A [14]. Следует отметить, что роль гепатита E в инфекционной патологии среди беременных женщин в Казахстане совершенно не изучена. На основании приведенных данных можно предположить, что бактрианы, больше распространенные в Казахстане, также могут быть резервуарами HEV. Чтобы проверить эти предположения и улучшить наше понимание эпидемиологии HEV у верблюдов, необходимы дальнейшие молекулярно-эпидемиологические исследования.

Таким образом, исследования последних лет показывают, что верблюды имеют гораздо большее значение в эпидемиологии, чем считалось ранее, и важной задачей является выявить современное состояние вирусных популяций у верблюдов с использованием последних достижений молекулярной биологии и массового параллельного секвенирования. Поскольку эти животные тесно связаны с людьми, знание о разнообразии вирусов, циркулирующих среди них, важно для понимания их роли в появлении новых вызовов здравоохранению Казахстана и мира в целом.

В дальнейшем планируется изучить полные геномы выделенных вирусов, провести их детальные генетические исследования. Результаты продолжающихся серологических исследований позволят получить современные данные о наличии антител к коронавирусу БВРС и его возможной циркуляции в поголовье верблюдов в других регионах Казахстана.

Вирус БВРС все еще остается актуальным в мире и потенциально может считаться возвратной инфекцией. Изучение особенностей эволюции коронавирусов верблюдов, разработка методов контроля над заболеваемостью и анализ природных резервуаров возбудителя являются важнейшими направлениями исследований с использованием комплекса эпидемиологических, вирусологических и молекулярно-генетических методов.

Заключение

Основной научный вопрос — возможность циркуляции в популяциях верблюдов, вирусов, потенциально опасных для здоровья человека, как это произошло в 2012 г., когда был выявлен ближневосточный коронавирус у человека. Предыдущие исследования MERS обнаружили, что верблюды являются важным звеном в передаче коронавируса человеку. В связи с этим исследование вирусных метагеномов верблюдов в регионе, близкому к Ближнему Востоку, является важной задачей научного поиска. Метагеномное исследование позволит выявить не только коронавирусы, но и произвести анализ других и неизвестных вирусных инфекций, важных как для сельского хозяйства, так и для здоровья человеческой популяции. Основная применяемая стратегия — массовое параллельное секвенирование, которое позволяет выявить в образцах нуклеиновые кислоты всех организмов, чьи РНК/ДНК присутствуют в исследуемой пробе, включая вирусы и бактерии. Главное преимущество метода — в выявлении некультивируемых и неизвестных организмов, которые невозможно выявить традиционными методами.

Работа выполнена в рамках гранта № AP08855617 «Метагеномный мониторинг возбудителей вирусных и бактериальных инфекций верблюдов Казахстана» Министерства образования и науки Республики Казахстан.

Список литературы

- 1 de Groot R.J. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV): announcement of the Coronavirus Study Group / R.J. de Groot, S.C. Baker, R.S. Baric, C.S. Brown, C. Drosten, L. Enjuanes, R.A. Fouchier, M. Galiano, A.E. Gorbalenya, Z.A. Memish, S. Perlman, L.L. Poon, E.J. Snijder, G.M. Stephens, P.C. Woo, A.M. Zaki, M. Zambon, J. Ziebuhr // *Journal of virology*. — 2013. — Vol. 87, No. 14. — P. 7790–7792. <https://doi.org/10.1128/JVI.01244-13>
- 2 Woo P.C. Isolation and Characterization of Dromedary Camel Coronavirus UAE-HKU23 from Dromedaries of the Middle East: Minimal Serological Cross-Reactivity between MERS Coronavirus and Dromedary Camel Coronavirus UAE-HKU23 / P.C. Woo, S.K. Lau, R.Y. Fan, C.C. Lau, E.Y. Wong, S. Joseph, A.K. Tsang, R. Wernery, C.C. Yip, C.C. Tsang, U. Wernery, K.Y. Yuen // *International journal of molecular sciences*. — 2016. — Vol. 17, No. 5. — P. 691. <https://doi.org/10.3390/ijms17050691>
- 3 Intisar K.S. Natural exposure of Dromedary camels in Sudan to infectious bovine rhinotracheitis virus (bovine herpes virus-1) / K.S. Intisar, Y.H. Ali, A.I. Khalafalla, E.A. Mahasin, A.S. Amin // *Acta tropica*. — 2009. — Vol. 111 (3). — P. 243–246. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.05.001>
- 4 Wernery U. Abortions in dromedaries (*Camelus dromedarius*) caused by equine rhinitis A virus / U. Wernery, N.J. Knowles, C. Hamblin, R. Wernery, S. Joseph, J. Kinne, P. Nagy // *The Journal of general virology*. — 2008. — Vol. 89 (Pt 3). — P. 660–666. <https://doi.org/10.1099/vir.0.82215-0>
- 5 Wernery U. Experimental camelpox infection in vaccinated and unvaccinated dromedaries / U. Wernery, R. Zachariah // *Journal of veterinary medicine. Series B*. — 1999. — Vol. 46, No. 2. — P. 131–135. <https://doi.org/10.1111/j.0931-1793.1999.00250.x>
- 6 Yousif A.A. Cytopathic genotype 2 bovine viral diarrhoea virus in dromedary camels / A.A. Yousif, L.J. Braun, M.S. Saber, T. Aboelleil, C.C.L. Chase // *Arab J. Biotech.* — 2004. — Vol. 7, No. 1. — P. 123–140.
- 7 Kumar A. Rabies in a camel — a case report / A. Kumar, N. Jindal // *Tropical animal health and production*. — 1997. — Vol. 29, № 1. — P. 34. <https://doi.org/10.1007/BF02632346>
- 8 Woo P.C. New hepatitis E virus genotype in camels, the Middle East / P.C. Woo, S.K. Lau, J.L. Teng, A.K. Tsang, M. Joseph, E.Y. Wong, Y. Tang, S. Sivakumar, J. Xie, R. Bai, R. Wernery, U. Wernery, K.Y. Yuen // *Emerging infectious diseases*. — 2014. — Vol. 20, No. 6. — P. 1044–1048. <https://doi.org/10.3201/eid2006.140140>
- 9 Экспертный комитет ВОЗ по биологической стандартизации. Документ № WHO/BS/2020.2398. Establishment of 1st WHO International Standard for anti-MERS-CoV antibody. [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://www.who.int/publications/m/item/WHOBS2020.2398>
- 10 Perera R.A. Seroepidemiology for MERS coronavirus using microneutralisation and pseudoparticle virus neutralisation assays reveal a high prevalence of antibody in dromedary camels in Egypt, June 2013. *Euro surveillance* / R.A. Perera, P. Wang, M.R. Goma, R. El-Shesheny, A. Kandeil, O. Bagato, L.Y. Siu, M.M. Shehata, A.S. Kayed, Y. Moatasim, M. Li, L.L. Poon, Y. Guan, R.J. Webby, M.A. Ali, J.S. Peiris, G. Kayali // *European communicable disease bulletin*. — 2013. — Vol. 18, No. 36. — P. 20574. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2013.18.36.20574>
- 11 Miguel E. Absence of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus in Camelids, Kazakhstan, 2015 / E. Miguel, R.A. Perera, A. Baubekova, V. Chevalier, B. Faye, N. Akhmetadykov, C.Y. Ng, F. Roger, M. Peiris // *Emerging infectious diseases*. — 2016. — Vol. 22, No. 3. — P. 555–557. <https://doi.org/10.3201/eid2203.151284>
- 12 Woo P.C. Metagenomic analysis of viromes of dromedary camel fecal samples reveals large number and high diversity of circoviruses and picobirnaviruses / P.C. Woo, S.K. Lau, J.L. Teng, A.K. Tsang, M. Joseph, E.Y. Wong, Y. Tang, S. Sivakumar, R. Bai, R. Wernery, U. Wernery, K.Y. Yuen // *Virology*. — 2014. — Vol. 471–473. — P. 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2014.09.020>
- 13 Sridhar S. Hepatitis E Virus Genotypes and Evolution: Emergence of Camel Hepatitis E Variants / S. Sridhar, J. Teng, T.H. Chiu, S. Lau, P. Woo // *International journal of molecular sciences*. — 2017. — Vol. 18, № 4. — P. 869. <https://doi.org/10.3390/ijms18040869>
- 14 Ren X. Changing Epidemiology of Hepatitis A and Hepatitis E Viruses in China, 1990–2014 / X. Ren, P. Wu, L. Wang, M. Geng, L. Zeng, J. Zhang, N. Xia, S. Lai, H.R. Dalton, B.J. Cowling, H. Yu // *Emerging infectious diseases*. — 2017. — Vol. 23, No. 2. — P. 276–279. <https://doi.org/10.3201/2302.161095>

К.Ө. Қарамендин, А.И. Қыдырманов, Е.Я. Хан, Ә.Б. Сейдалина, Е.Т. Қасымбеков

Адам денсаулығына қауіпті болуы мүмкін Қазақстан түйелерінің зооноздық инфекцияларын іздеу

Әлемдік зерттеулер зооноздық инфекциялардың таралуын бақылаудың маңыздылығын көрсетеді. Соңғы жылдары түйеде жаңа, оның ішінде ықтимал пандемиялық коронавирустың штамдары анықталды, бұл осы жануардың вирустық популяциясының жағдайын бақылауды қажет етеді. Зерттеудің мақсаты — Қазақстанда түйелер арасында айналымдағы және адам мен жануарлардың денсаулығына қауіп төндіретін вирустық және бактериялық популяциялардың спектрін анықтау, олардың молекулалық-генетикалық зерттеулері. Вирусологиялық және молекулалық-генетикалық әдістер қолданылған: түйеден сынама алуды, олардан нуклеин қышқылдарын бөліп алу, жаппай параллельді секвендеу үшін кітапханалар дайындау, алынған мәліметтерге биоинформатикалық талдау және серологиялық тесттер.

Жаппай параллельді секвендеу нәтижесінде 3 үлкен туыстыққа жататын вирустық бөліктер анықталды: пестивирус, цирковирус және гепевирус. Е гепатитінің вирусына ұқсас қысқа тізбектердің табылуы ерекше қызығушылық тудырады, бұл осы бағытта одан әрі терең зерттеулерді қажет етеді. Маңғыстау облысының түйелеріне жүргізілген серологиялық зерттеулерде Таяу Шығыс респираторлық синдромы вирусына (MERS-CoV) антиденелер анықталмады. Бұл нәтиже MERS-CoV вирусының Батыс Қазақстан түйелерінің айналымында жоқ екенін немесе айналымда болса көп уақыт өткенін көрсетеді. Таяу Шығысқа жақын аймақтағы түйелердің вирустық метагеномдарын зерттеу ғылыми зерттеулердің маңызды міндеті болып табылады. Метагеномикалық зерттеу тек коронавирусты ғана емес, сонымен қатар ауыл шаруашылығы үшін де, халықтың денсаулығы үшін де маңызды басқа және белгісіз вирустық инфекцияларды анықтайды.

Кілт сөздер: түйе, медицина, гепатит, микробиотаның вирустық компоненті, ауылдық денсаулық сақтау, секвенирлеу, мониторинг.

К.О. Karamendin, A.I. Kydyrmanov, E.Ya. Khan, A.B. Seidalina, Y.T. Kasymbekov

Search for zoonotic camel infections posing a potential human health threat in Kazakhstan

Worldwide studies have shown the importance of controlling the spread of zoonotic infections. In recent years, new pandemic strains of coronaviruses in camels have been identified, which necessitates regular monitoring of the state of viral populations of this animal. The research scope is to identify the spectrum of viral and bacterial populations circulating in camels in Kazakhstan posing threat to human and animal health, their molecular genetic studies. Virological and molecular-genetic methods were used: taking biological samples from camels, extracting nucleic acids from them, obtaining libraries for massive parallel sequencing, bioinformatic analysis of the data obtained and serological tests. Massive parallel sequencing revealed the viral contigs classified into 3 large genera: *Pestivirus*, *Circovirus*, and *Hepevirus*. Of particular interest is the discovery of short sequences similar to those of the hepatitis E virus, which requires further deeper studies in this direction. Serological studies of camels from the Mangystau region did not reveal antibodies to the Middle East respiratory syndrome virus (MERS-CoV), which shows their absence in active circulation or much time has been passed since their possible presence in camels. The study of viral metagenomes of camels in the region close to the Middle East is an important task of scientific research. A metagenomic study will allow to detect not only coronaviruses, but also to analyze other and unknown viral infections that are important both for agriculture and for the health of the human population.

Keywords: camel, medicine, hepatitis, virome, rural healthcare, sequencing, monitoring.

References

- 1 de Groot, R.J., Baker, S.C., Baric, R.S., Brown, C.S., Drosten, C., & Enjuanes, L., et al. (2013). Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV): announcement of the coronavirus study group. *Journal of Virology*, 87 (14); 7790–7792. <https://doi.org/10.1128/JVI.01244-13>
- 2 Woo, P.C., Lau, S.K., Fan, R.Y., Lau, C.C., Wong, E.Y., & Joseph, S., et al. (2016). Isolation and Characterization of Dromedary Camel Coronavirus UAE-HKU23 from Dromedaries of the Middle East: Minimal Serological Cross-Reactivity between MERS Coronavirus and Dromedary Camel Coronavirus UAE-HKU23. *International Journal of Molecular Sciences*, 17 (5); 691. <https://doi.org/10.3390/ijms17050691>
- 3 Intisar, K.S., Ali, Y.H., Khalafalla, A.I., Mahasin, E.A., & Amin, A.S. (2009). Natural exposure of Dromedary camels in Sudan to infectious bovine rhinotracheitis virus (bovine herpes virus-1). *Acta Tropica*, 111 (3); 243–246. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.05.001>
- 4 Wernery, U., Knowles, N.J., Hamblin, C., Wernery, R., Joseph, S., Kinne, J., & Nagy, P. (2008). Abortions in dromedaries (*Camelus dromedarius*) caused by equine rhinitis A virus. *Journal of General Virology*, 89 (Pt 3); 660–666. <https://doi.org/10.1099/vir.0.82215-0>
- 5 Wernery, U., & Zachariah, R. (1999). Experimental camelpox infection in vaccinated and unvaccinated dromedaries. *Journal of Veterinary Medicine, Series D*, 46 (2); 131–135. <https://doi.org/10.1111/j.0931-1793.1999.00250.x>
- 6 Yousif, A.A., Braun, L.J., Saber, M.S., Aboelleil, T., & Chase, C.C.L. (2004). Cytopathic genotype 2 bovine viral diarrhea virus in dromedary camels. *Arab. J. Biotech.*, 7 (1); 123–140.
- 7 Kumar, A., & Jindal, N. (1997). Rabies in a camel — A case report. *Tropical Animal Health and Production*, 29 (1); P. 34. <https://doi.org/10.1007/BF02632346>
- 8 Woo, P.C., Lau, S.K., Teng, J.L., Tsang, A.K., Joseph, M., & Wong, E.Y., et al. (2014). New hepatitis E virus genotype in camels, the Middle East. *Emerging Infectious Diseases*, 20 (6); 1044–1048. <https://doi.org/10.3201/eid2006.140140>

9 Экспертный комитет ВОЗ по биологической стандартизации. Документ № WHO/BS/2020.2398 [Expert Committee On Biological Standardization. Document No. WHO/BS/2020.2398]. Establishment of 1st WHO International Standard for anti-MERS-CoV antibody. *www.who.int* Retrieved from <https://www.who.int/publications/m/item/WHOBS2020.2398> [in Russian].

10 Perera, R.A., Wang, P., Gomaa, M.R., El-Shesheny, R., Kandeil, A., & Bagato, O., et al. (2013). Seroepidemiology for MERS coronavirus using microneutralisation and pseudoparticle virus neutralisation assays reveal a high prevalence of antibody in dromedary camels in Egypt, June 2013. *Euro Surveillance*, 18 (36); 20574. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2013.18.36.20574>

11 Miguel, E., Perera, R.A., Baubekova, A., Chevalier, V., Faye, B., & Akhmetsadykov, N., et al. (2016). Absence of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus in Camelids, Kazakhstan, 2015. *Emerging infectious diseases*, 22 (3); 555–557. <https://doi.org/10.3201/eid2203.151284>

12 Woo, P.C., Lau, S.K., Teng, J.L., Tsang, A.K., Joseph, M., & Wong, E.Y., et al. (2014). Metagenomic analysis of viromes of dromedary camel fecal samples reveals large number and high diversity of circoviruses and picobirnaviruses. *Virology*, 471–473; 117–25. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2014.09.020>

13 Sridhar, S., Teng, J.L.L., Chiu, T.H., Lau, S., & Woo, P. (2017). Hepatitis E Virus Genotypes and Evolution: Emergence of Camel Hepatitis E Variants. *International Journal of Molecular Sciences*, 18 (4); 869. <https://doi.org/10.3390/ijms18040869>

14 Ren, X., Wu, P., Wang, L., Geng, M., Zeng, L., & Zhang, J., et al. (2017). Changing epidemiology of hepatitis A and hepatitis E viruses in China, 1990–2014. *Emerging Infectious Diseases*, 23 (2); 276–279. <https://doi.org/10.3201/2302.161095>

Букетов University