

Альховский С.В., Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Щетинин А.М., Дерябин П.Г., Гительман А.К., Ботиков А.Г., Самохвалов Е.И.

Генетическая характеристика вируса Кызылагач (KYZV – *Kyzylagach virus*) (*Togaviridae*, *Alphavirus*, серогруппа Синдбис), изолированного от комаров *Culex modestus* Ficalbi, 1889 (*Culicinae*), собранных в колонии цаплевых птиц (*Ardeidae* Leach, 1820) в Азербайджане

ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России, 123098, г. Москва

Проведено полногеномное секвенирование вируса Кызылагач (KYZV – *Kyzylagach virus*) (штамм LEIV-65A), который был изолирован из пула комаров *Culex modestus* Ficalbi, 1889 (*Culicinae*), собранных в колонии цаплевых птиц (*Ardeidae* Leach, 1820) на побережье залива Кызыл-Агач Каспийского моря в южной части Азербайджана. KYZV обладает высокой гомологией (около 99%) с китайским изолятом вируса Синдбис (SINV – *Sindbis virus*) XJ-160, изолированным от комаров *Anopheles spp.* в Синьцзян-Уйгурском регионе на Северо-востоке Китая. Гомология KYZV и XJ-160 с европейскими изолятами SINV составляет 82 и 93% по нуклеотидным и белковым последовательностям соответственно (GenBank ID:KF981618). С австралийским изолятом SINV/SW6562 дивергенция KYZV по нуклеотидным последовательностям составляет 19%, а по аминокислотным это значение достигает 12%. Поскольку изолят XJ-160 обладает такой высокой гомологией с KYZV, его можно рассматривать как штамм KYZV. География выделения KYZV и XJ-160 и их генетическая обособленность от европейских вирусов позволяют предположить, что KYZV является топотипным вариантом SINV (генотип IV), характерным для Закавказья и Средней Азии.

Ключевые слова: *Togaviridae*; *Alphavirus*; вирус Кызылагач (KYZV); вирус Синдбис (SINV); *Culicinae*; *Culex modestus*; цаплевые; *Ardeidae*; Азербайджан; полногеномное секвенирование.

Complete genome characterization of the *Kyzylagach virus* (KYZV) (*Togaviridae*, *Alphavirus*, *Sindbis serogroup*) isolated from mosquitoes *Culex modestus* Ficalbi, 1889 (*Culicinae*) collected in a colony of herons (*Ardeidae* Leach, 1820) in Azerbaijan

Alkhovsky S. V., Lvov D. K., Shchelkanov M. Yu., Shchetinin A. M., Deryabin P. G., Gitelman A. K., Botikov A. G., Samokhvalov E. I.

D.I. Ivanovsky Institute of Virology, Ministry of Health of the Russian Federation, 123098, Moscow, Russia

Complete genome sequencing of the *Kyzylagach virus* (KYZV) LEIV-65A strain isolated from the *Culex modestus* Ficalbi, 1889 (*Culicinae*), which was collected in the colony of the *Ardeidae* Leach, 1820 birds on the coast of Caspian sea, Kyzyl-Agach bay, in the southern part of Azerbaijan, was carried out. KYZV has high homology (about 99%) with the Chinese XJ-160 strain of the *Sindbis virus* (SINV) isolated from *Anopheles sp.* in Xinjiang Uyghur autonomic region (north-eastern China). Homologies of KYZV and XJ-160 with European SINV strains are 82% and 93% for the nucleotide and amino acid sequences, respectively (GenBank ID:KF981618). The difference between the nucleotide sequences of KYZV and Australian SINV/SW6562 strain is 19%; amino acid sequences, 12%. Since XJ-160 strain is extremely similar to KYZV, the first could be considered as the KYZV strain. The geography of the KYZV and XJ-160 isolation points and their genetic distance from the European viruses allow the KYZV to be suggested as a SINV (genotype IV) topotypic variant typical of Transcaucasia and Central Asia.

Key words: *Togaviridae*; *Alphavirus*; *Kyzylagach virus* (KYZV); *Sindbis virus* (SINV); *Culicinae*; *Culex modestus*; herons; *Ardeidae*; Azerbaijan; complete genome sequencing.

Введение

Прототипный штамм LEIV-65A вируса Кызылагач (KYZV – *Kyzylagach virus*) изолирован из пула комаров *Culex modestus* Ficalbi, 1889 (*Culicinae*), собранных летом 1969 г. в колонии цаплевых птиц (*Ardeidae* Leach, 1820) на территории Кызылагачского заповедника (39°10' с.ш., 48°58' в.д.) [1, 2], который расположен на побережье залива Кызыл-Агач Каспийского моря в южной части Азербайджана (Ленкоранский район) [3]. По данным электронной микроскопии KYZV отнесен к сем. *Togaviridae*, а по результатам серологического исследования – к серогруппе Синдбис (SINV – *Sindbis virus*) рода *Alphavirus* [1, 2, 4].

На основании современной классификации KYZV рассматривается как один из региональных вариантов

SINV наряду с вирусами Бабанки (BNKV – *Babanki virus*), Окельбо (OCKV – *Ockelbo virus*) и карельской лихорадки (KAFV – *Karelian fever virus*) [5–7]. SINV и его варианты широко распространены в Европе, на Ближнем Востоке, в Африке, Юго-Восточной Азии, Австралии, на Филиппинах. Известны изоляции этого вируса в Азербайджане и Таджикистане, а в Российской Федерации – в Астраханской области, Западной Сибири (в среднем течении реки Оби). SINV вызывает у людей заболевание с острым началом, лихорадкой, сыпью, но с благоприятным исходом [6–11].

Альфовирусы в основном являются арбовирусами и связаны с комарами и птицами, что обеспечивает возможность их трансконтинентального переноса. К альфовирусам принадлежат опасные патогенны человека или

животных, такие как вирусы SINV, вирусы восточного энцефалита лошадей (WEE – Western equine encephalitis), Чикунгунья (CHIKV – Chikungunya virus), Гета (GETV – Getah virus), Уна (UTAV – Uta virus) [5].

Геном альфавирусов представлен одноцепочечной РНК позитивной полярности длиной около 11,5 тыс. н.о. Вирусная РНК экпирована на 5'-конце и полиаденилирована на 3'-конце. Большая часть генома альфавирусов (около 2/3 со стороны 5'-конца) кодирует неструктурные белки, формирующие вирусный репликативный комплекс (белки nsP1, nsP2, nsP3 и nsP4). Структурные белки (сое, E3, E2, 6K и E1) транслируются с субгеномной РНК (26S РНК), которая образуется в процессе репликации вируса и соответствует 3'-концевой (около 4 тыс. н.о.) части генома [5].

В настоящей работе мы впервые определили полную последовательность генома KYZV, используя метод полногеномного секвенирования. На основании проведенного анализа показано, что KYZV является топотипным для Закавказья и Средней Азии вариантом SINV (генотип IV).

Материалы и методы

Прототипный штамм KYZV/LEIV-65A получен из Государственной коллекции вирусов РФ ФГБУ НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского Минздрава России в виде лиофилизированной мозговой суспензии. Восстановленной суспензией (0,2 мл) проводили интрацеребральное заражение новорожденных беспородных белых мышей. После развития симптомов поражения ЦНС (2–4-е сутки) мышей забивали в соответствии с правилами этического содержания и использования лабораторных животных.

Выделение РНК. Фрагменты мозга (около 30 мг) помещали в 700 мкл лизирующего буфера RLT (QIAGEN, Германия) и гомогенизировали в гомогенизаторе TissueLyser LT (QIAGEN, Германия). Далее РНК выделяли набором «RNeasy mini kit» (QIAGEN, Германия) на автоматической станции QIAcube (QIAGEN, Германия) из 350 мкл буфера в соответствии с инструкцией. Концентрацию РНК измеряли с помощью флуориметра Qubit (Invitrogen, США).

Подготовка библиотек и секвенирование. Для деплеции рибосомальной РНК использовали набор GenRead rRNA depletion Kit (QIAGEN, Германия) в соответствии с инструкцией. Для получения кДНК 50 нг деплецированной РНК фрагментировали в 15 мкл реакционной смеси для обратной транскриптазы с гексапраймером при 85°C в течение 5 мин, после чего помещали в лед. К фрагментированной РНК добавляли 200 ед. фермента RevertAid Premium (Thermo Scientific, США) и 20 ед. ингибитора RNаз RNasin (Promega, США). Инкубировали при 25°C в течение 10 мин, далее при 42°C в течение 60 мин. Реакцию останавливали прогреванием при 70°C в течение 10 мин. Синтез второй цепи кДНК проводили с помощью набора «NEBNext® mRNA Second Strand Synthesis Module» (NEB, США) в соответствии с инструкцией. Полученную дцДНК очищали, используя набор «MinElute PCR Purification Kit» (QIAGEN, Германия) на автоматической станции QIAcube.

Для получения ДНК-библиотек из дцДНК использовали набор «TruSeq DNA Sample Prep Kits v2» (Illumina, США) в соответствии с инструкцией. Полученные библиотеки визуализировали на станции автоматического электрофореза «QIAxcel Advanced System» (QIAGEN, Германия). Молярность полученных библиотек измеряли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (2x SsoFast EvaGreen Supermix (Bio-Rad, США; прибор Bio-Rad CFX1000) согласно рекомендациям, изложенным в руководстве «Sequencing Library qPCR Quantification Guide» (Illumina, США).

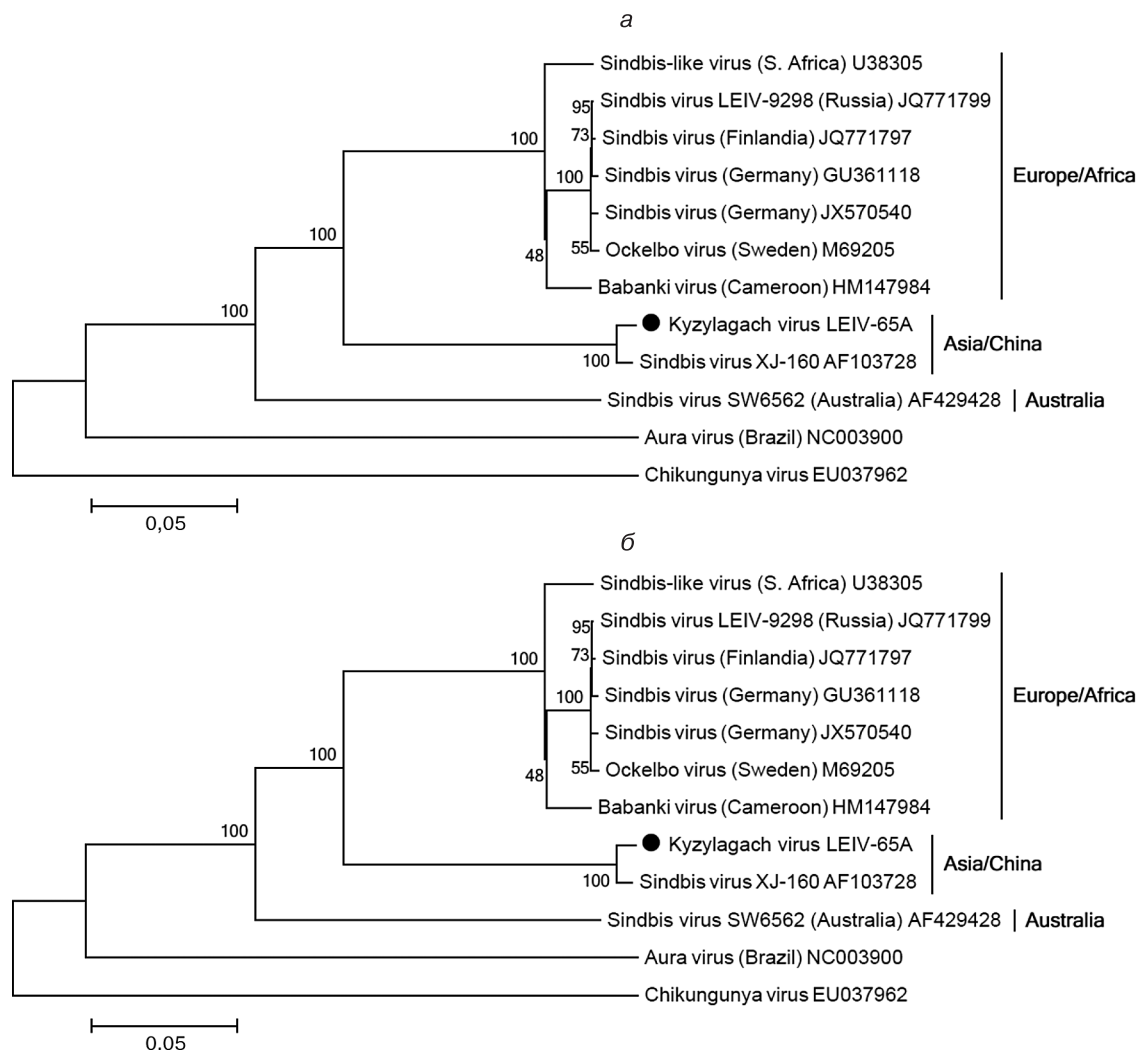
Секвенирование ДНК-библиотек осуществляли на приборе MiSeq (Illumina, США) с использованием набора «MiSeq Reagent Kits v2 (300PE)» в соответствии с инструкцией производителя.

Биоинформационный анализ. Обработку данных полногеномного секвенирования, сборку контигов и картирование ридов проводили с помощью программы «CLC Genomics Workbench 5.5» (CLC bio, США). Предварительный поиск гомологичных последовательностей проводили, используя сервис BLASTX (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Для подбора праймеров, множественного

Генетическая дистанция (p-distance) между различными изолятами вируса Синдбис (SINV) по полноразмерной нуклеотидной последовательности, кодирующей области геномной РНК (неструктурные белки)

Вирусы SINV		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Kyzylagach virus / LEIV-65A	1		0,01	0,19	0,19	0,19	0,19	0,18	0,19	0,25	0,37	0,42
Sindbis virus / XJ-160; AF103728	2	0,01		0,19	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,25	0,37	0,42
Sindbis virus / LEIV-9298 (Россия); JQ771799	3	0,07	0,07		0,01	0,01	0,01	0,03	0,03	0,23	0,36	0,41
Sindbis virus (Германия); JX570540	4	0,07	0,07	0,01		0,01	0,01	0,03	0,03	0,23	0,36	0,41
Ockelbo virus (Швеция); M69205	5	0,07	0,07	0,01	0,01		0,01	0,03	0,03	0,23	0,36	0,41
Sindbis virus (Финляндия); JQ771797	6	0,07	0,07	0,01	0,01	0,01		0,03	0,03	0,23	0,36	0,41
Babanki virus (Камерун); HM147984	7	0,07	0,07	0,01	0,01	0,01	0,01		0,03	0,23	0,37	0,41
Sindbis-like virus (Южная Африка); U38305	8	0,07	0,07	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01		0,23	0,36	0,41
Sindbis virus / SW6562 (Австралия); AF429428	9	0,12	0,13	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11		0,36	0,42
Aura virus (Бразилия); NC003900	10	0,32	0,32	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31		0,43
Chikungunya virus; EU037962	11	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,41	0,41	

Примечание. Правая верхняя часть – нуклеотидные последовательности, левая нижняя – аминокислотные; вирусы Аура (AURAV) и Чикунгунья (CHIKV) представлены как внешняя группа.



Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей генома вируса Синдбис (SINV).

a – дендрограмма, построенная методом ближайшего соседа, для полных нуклеотидных последовательностей кодирующей части S26-субгеномной РНК (структурные белки); *б* – дендрограмма для полных нуклеотидных последовательностей кодирующей части геномной РНК SINV (неструктурные белки); вирусы Аура (AURAV) и Чикунгунья (CHIKV) представлены как внешняя группа.

выравнивания, анализа нуклеотидных и аминокислотных последовательностей использовали пакет программ «Lasergene Core Suite» (DNASTar, США). Последовательности выравнивали по алгоритму ClustalW [12]. Генетическую дистанцию определяли по модели *p*-distance с попарным удалением гэпов. Филогенетический анализ и построение дендрограмм проводили с использованием программы Mega5 по методу ближайшего соседа (модель *p*-distance) с бутстреп-тестированием 1000 [13].

Результаты и обсуждение

В результате проведенного секвенирования определили практически полную последовательность генома KYZV, включая открытые рамки считывания (ОРС) для структурных и неструктурных белков. Поскольку у альфавирусов структурные и неструктурные белки кодируют разные ОРС, молекулярно генетический и филогенетический анализ генома KYZV провели для каждой из них отдельно. Ранее для KYZV были частично определены последовательности структурных генов, на основании чего установлены его филогенетические связи с другими изолятами SINV [14]. В настоящей работе мы определили полную последовательность генома KYZV, что дало возможность про-

вести анализ также и на основе неструктурной части генома KYZV.

На основе сравнения частичной последовательности поверхностного белка E2, несущего основные нейтрализующие детерминанты, SINV были разделены на пять генотипов [15]. Филогенетическое разделение SINV на генотипы в целом соответствует их географическому распространению и связано с основными направлениями миграции птиц, которые являются основными позвоночными хозяевами SINV. Генотип I включает SINV из Европы и Африки. К генотипу II отнесены изоляты из Австралии и Океании, а к генотипу III – из Индии и Филиппин. Генотип V представлен единственным изолятом SINV M78 из Новой Зеландии. KYZV вместе с китайским штаммом SINV XJ-160 были отнесены к генотипу IV. В структуре генотипа I можно выделить два субкластера, один из которых включает SINV из Северной Европы и субсахаральной Африки, а другой – вирусы средиземноморского региона (Южная Европа, Северная Африка, Ближний Восток) [15]. Генетическая дистанция между вирусами разных генотипов SINV (например, между европейскими и австралийскими изолятами) составляет не более 23% по нуклеотидной последовательности генома (см. таблицу). В то же время SINV,

изолированные в одном географическом регионе, характеризуются очень высокой степенью гомологии. Так, штаммы SINV, выделенные в России, Германии, Швеции (ОСКВ), Финляндии, обладают гомологией около 99% и по нуклеотидным и аминокислотным последовательностям неструктурной части генома (см. таблицу) [16–19]. BNKV из Камеруна, который также принадлежит генотипу I, имеет около 98% гомологии с европейскими вирусами SINV. Несмотря на высокий уровень гомологии, можно полагать, что существуют связанные с генотипом генетические детерминанты патогенности SINV, поскольку заболеваемость людей лихорадкой Синдбис (карельская лихорадка, болезнь Окейбо, болезнь Погоста, болезнь Бабанки) связана только с вирусами I генотипа европейско-южноафриканского субкластера. В то же время заболеваемость лихорадкой Синдбис на эндемичных территориях может быть обусловлена экологическими особенностями [11, 17].

В Новом свете антигенно-ближайшим к SINV вирусом можно считать вирус Аура (AURAV – Aura virus), с которым SINV имеет около 70% гомологии по белковым последовательностям (см. таблицу) [20]. AURAV был изолирован только из комаров, и сведения о его позвоночных хозяевах отсутствуют. В настоящей работе AURAV вместе с СНКВ был использован в филогенетическом анализе в качестве внешней группы (см. рисунок).

KYZV обладает высокой гомологией (около 99%) с китайским изолятом SINV XJ-160, изолированным от комаров *Anopheles spp.* в Синьцзян-Уйгурском регионе на Северо-востоке Китая [21]. Дивергенция KYZV и XJ-160 от европейских изолятов SINV составляет 18 и 7% по нуклеотидным и аминокислотным последовательностям соответственно (см. таблицу). С австралийским изолятом SINV SW6562 дивергенция KYZV по нуклеотидным последовательностям составляет 19%, а по аминокислотным это значение достигает 12%. Поскольку изолят XJ-160 обладает такой высокой гомологией с KYZV, его можно рассматривать как штамм KYZV. География выделения KYZV и XJ-160 и их генетическая обособленность от европейских вирусов позволяют предположить, что KYZV является топотипным вариантом SINV, характерным для Закавказья и Средней Азии.

Результаты филогенетического анализа, проведенного на основе полноразмерных OPC SINV, доступных в базе данных GenBank, представлены на рисунке. Топология расположения на дендрограмме филогенетической ветви KYZV отдельно от SINV других географических регионов подтверждает его обособленный топотипный статус. При этом видно, что эволюционное разделение KYZV и европейских вариантов SINV произошло позже отделения от них австралийской группы.

Экология SINV тесно связана с орнитофильными комарами: в Египте – *Culex univittatus* Theobald, 1901, *Cx. antennatus* Becker, 1903, *Anopheles pharoensis* Giles, 1899; Уганде – *Coq. fuscopennata* Theobald, 1901; Малайзии – *Cx. bitaeniorhynchus* Giles, 1901; Австралии – *Cx. annulirostris* Skuse, 1889, *Aedes normanensis* Taylor, 1915, *Ae. vigilax* Scuse, 1889. В дельте Волги SINV изолирован от *Culex pipiens* Linnaeus, 1758 в антропогенных и *Anopheles hircanus* Pallas, 1771 и *Coquillettia richiardii* Ficalbi, 1889 – в природных биоценозах [8, 9]. Основное значение как хозяев SINV среди позвоночных принадлежит птицам водного и околоводного комплексов: веслоногим (*Pelecaniformes* Sharpe, 1891), голенастым (*Ciconiiformes* Bonaparte, 1854) и пластинчатоклювым (*Anseriformes* Wagler, 1831). Показана хроническая инфекция у птиц, что обеспечивает трансконтинентальный перенос вируса [10].

Зондирование территории Закавказья проводили в рамках Программы по биобезопасности и изучения био-

разнообразия в различных экосистемах Северной Евразии и пополнения базы данных Государственной коллекции вирусов [4, 6, 7, 10, 11].

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект № 13-04-01749а.

ЛИТЕРАТУРА

1. Львов Д.К., Громашевский В.Л., Скворцова Т.М., Березина Л.К., Захарян В.А., Кондрашина Н.Г. и др. Вирус Кызыл-Агач (семейство Тогавириде, род Альфавирусов) – новый арбовирус, изолированный из комаров *Culex modestus*, отловленных в Азербайджанской ССР. *Вопросы вирусологии*. 1979; 5: 519–23.
2. Kuzylagach virus. In: Karabatsos N., ed. *International catalogue of arboviruses and some others viruses of vertebrates*. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 595–6.
3. *Кызылагачский государственный заповедник им. С.М. Кирова: к 50-летию заповедника*. Баку: Азербайджанское гос. изд-во; 1979.
4. Lvov D.K. Arboviral zoonoses of Northern Eurasia (Eastern Europe and the Commonwealth of Independent States). In: *Beran G.W., ed. Handbook of zoonoses. Section B: Viral*. Boca Raton, London, Tokyo: CRC Press; 1994: 237–60.
5. Powers A., Huang H., Roehrig J., Strauss E., Weaver S. Family *Togaviridae*. In: *King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J., eds. Virus taxonomy: 9th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. London, San Diego: Elsevier Science; 2011: 1103–10.
6. Львов Д.К., Дерябин П.Г., Аристова В.А., Бутенко А.М., Галкина И.В., Громашевский В.Л. и др. *Атлас распространения возбудителей природно-очаговых вирусных инфекций на территории Российской Федерации*. М.: МЗ РФ; 2001.
7. Щелканов М.Ю., Громашевский В.Л., Львов Д.К. Роль эколого-вирусологического районирования в прогнозировании влияния климатических изменений на ареалы арбовирусов. *Вестник РАМН*. 2006; 2: 22–5.
8. Львов Д.К. Экология вирусов. В кн.: Львов Д.К., ред. *Вирусы и вирусные инфекции*. М.: МИА; 2013: 66–86.
9. Колобухина Л.В., Львов Д.Н. Лихорадка Синдбис. В кн.: Львов Д.К., ред. *Вирусы и вирусные инфекции*. М.: МИА; 2013: 290–4.
10. Львов Д.К. Природные очаги связанных с птицами арбовирусов СССР. В кн.: Львов Д.К., Ильичев В.Д., ред. *Миграции птиц и перенос возбудителей инфекции*. М.: Наука; 1979: 37–101.
11. Львов Д.К., ред. *Организация эколого-эпидемиологического мониторинга территории Российской Федерации с целью противоэпидемической защиты населения и войск. Методические рекомендации*. М.: МЗ РФ, Федеральное Управление медико-биологических и экстремальных проблем, НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН; 1993.
12. Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res*. 1994; 22 (22): 4673–80.
13. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. Mega5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol*. 2011; 28 (10): 2731–9.
14. Weaver S.C., Kang W., Shirako Y., Rumenapf T., Strauss E.G., Strauss J.H. Recombinational history and molecular evolution of western equine encephalomyelitis complex alphaviruses. *J. Virol*. 1997; 71 (1): 613–23.
15. Lundstrom J.O., Pfeffer M. Phylogeographic structure and evolutionary history of Sindbis virus. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2010; 10 (9): 889–907.
16. Sane J., Kurkela S., Putkuri N., Huhtamo E., Vaheri A., Vapalahti O. Complete coding sequence and molecular epidemiological analysis of Sindbis virus isolates from mosquitoes and humans, Finland. *J. Gen. Virol*. 2012; 93 (Pt 9): 1984–90.
17. Hubalek Z. Mosquito-borne viruses in Europe. *Parasitol. Res*. 2008; 103 (Suppl. 1): S29–43.
18. Jost H., Bialonski A., Storch V., Gunther S., Becker N., Schmidt-Chanasit J. Isolation and phylogenetic analysis of Sindbis viruses from mosquitoes in Germany. *J. Clin. Microbiol*. 2010; 48 (5): 1900–3.
19. Shirako Y., Niklasson B., Dalrymple J.M., Strauss E.G., Strauss J.H. Structure of the Ockelbo virus genome and its relationship to other Sindbis viruses. *Virology*. 1991; 182 (2): 753–64.
20. Rumenapf T., Strauss E.G., Strauss J.H. Aura virus is a New World representative of Sindbis-like viruses. *Virology*. 1995; 208 (2): 621–33.
21. Liang G.D., Li L., Zhou G.L., Fu S.H., Li Q.P., Li F.S. et al. Isolation and complete nucleotide sequence of a Chinese Sindbis-like virus. *J. Gen. Virol*. 2000; 81 (Pt 5): 1347–51.

Поступила 26.10.13

REFERENCES

1. Lvov D.K., Gromashevskii V.L., Skvortsova T.M., Berezina L.K., Zakaryan V.A., Kondrashina N.G. et al. Kyzylagach virus (*Togaviridae*, *Alphavirus*) – a new arbovirus isolated from mosquitoes *Culex modestus*, collected in Azerbaydzhanskaya SSR. *Voprosy virusologii*. 1979; (5): 519–23. (in Russian)
2. Kyzylagach virus. In: Karabatsos N., ed. *International Catalogue of arboviruses and some others viruses of vertebrates*. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 595–6.
3. *Kyzylagach State Reserve im. S.M. Kirova: to 50 years of reserve*. Baku: Azerbaydzhan state publishing house; 1979. (in Russian)
4. Lvov D.K. Arboviral zoonoses of Northern Eurasia (Eastern Europe and the Commonwealth of Independent States). In: *Beran G.W., ed. Handbook of zoonoses. Section B: Viral*. Boca Raton, London, Tokyo: CRC Press; 1994: 237–60.
5. Powers A., Huang H., Roehrig J., Strauss E., Weaver S. Family *Togaviridae*. In: King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J., eds. *Virus taxonomy. 9th Report of the International Committee on taxonomy of viruses*. London, San Diego: Elsevier Science; 2011: 1103–10.
6. Lvov D.K., Deryabin P.G., Aristova V.A., Butenko A.M., Galkina I.V., Gromashevskiy V.L. et al. *Atlas of distribution of natural-focal viruses infection on the territory of Russian Federation*. Moscow: Minzdrav RF; 2001. (in Russian)
7. Shchelkanov M.Yu., Gromashevskiy V.L., Lvov D.K. The role of ecovirological zoning in prediction of the influence of climatic changes on arbovirus habitats. *Vestnik RAMN*. 2006; 2: 22–5. (in Russian)
8. Lvov D.K. Ecology of viruses. In: Lvov D.K., ed. *Handbook of virology. Viruses and viral infections of human and animals [Virusy i virusnye infektsii]*. Moscow: MIA; 2013: 66–86. (in Russian)
9. Kolobukhina L.V., Lvov D.N. Sindbis fever. In: Lvov D.K., ed. *Viruses and viral infections*. Moscow: MIA; 2013: 290–4. (in Russian)
10. Lvov D.K. Natural foci of arboviruses, related with the birds in USSR. In: Lvov D.K., Ilyichev V.D., eds. *Migration of the birds and transduction of contagium (Migratsii ptits i perenos vozбудiteley infektsii)*. Moscow: Nauka; 1979: 37–101.
11. Lvov D.K., ed. *Organization of ecological-epidemiological monitoring in Russian Federation for anti-epidemic defense of the civilians and army*. Moscow: Minzdrav RF, The Federal Office of Biomedical and Extreme Problems, The D.I. Ivanovsky Institute of Virology; 1993. (in Russian)
12. Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res*. 1994; 22 (22): 4673–80.
13. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. Mega5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol*. 2011; 28 (10): 2731–9.
14. Weaver S.C., Kang W., Shirako Y., Rumenapf T., Strauss E.G., Strauss J.H. Recombinational history and molecular evolution of western equine encephalomyelitis complex alphaviruses. *J. Virol*. 1997; 71 (1): 613–23.
15. Lundstrom J.O., Pfeffer M. Phylogeographic structure and evolutionary history of Sindbis virus. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2010; 10 (9): 889–907.
16. Sane J., Kurkela S., Putkuri N., Huhtamo E., Vaheri A., Vapalahti O. Complete coding sequence and molecular epidemiological analysis of Sindbis virus isolates from mosquitoes and humans, Finland. *J. Gen. Virol*. 2012; 93 (Pt 9): 1984–90.
17. Hubalek Z. Mosquito-borne viruses in Europe. *Parasitol. Res*. 2008; 103 (Suppl. 1): S29–43.
18. Jost H., Bialonski A., Storch V., Gunther S., Becker N., Schmidt-Chanasit J. Isolation and phylogenetic analysis of Sindbis viruses from mosquitoes in Germany. *J. Clin. Microbiol*. 2010; 48 (5): 1900–3.
19. Shirako Y., Niklasson B., Dalrymple J.M., Strauss E.G., Strauss J.H. Structure of the Ockelbo virus genome and its relationship to other Sindbis viruses. *Virology*. 1991; 182 (2): 753–64.
20. Rumenapf T., Strauss E.G., Strauss J.H. Aura virus is a New World representative of Sindbis-like viruses. *Virology*. 1995; 208 (2): 621–33.
21. Liang G.D., Li L., Zhou G.L., Fu S.H., Li Q. P., Li F.S. et al. Isolation and complete nucleotide sequence of a Chinese Sindbis-like virus. *J. Gen. Virol*. 2000; 81 (Pt 5): 1347–51.

Received 26.10.13

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 615.281.8.03:616.98:578.832.1].076.9

Смирнов В.С.¹, Гаршинина А.В.², Штро А.А.², Аникин В.Б.², Галочкина А.В.², Беляевская С.В.², Зарубаев В.В.²

Протективная активность комбинации глутамил-триптофана и глицирризиновой кислоты при пероральном введении на модели экспериментальной летальной гриппозной инфекции у белых мышей, вызванной осельтамивирустойчивым штаммом вируса

¹ЗАО Медико-биологический научно-производственный комплекс «Цитомед», 191023, г. Санкт-Петербург, Россия; ²ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России, 197376, г. Санкт-Петербург, Россия

Вирус гриппа является ведущей причиной инфекционной респираторной патологии человека. Поиск и разработка новых противогриппозных препаратов широкого спектра активности – важная задача медицинской науки. Помимо собственно противовирусной активности соединений, большое значение имеет способ их использования. В настоящей работе изучена активность комбинации глутамил-триптофаном с глицирризиновой кислотой (препарат ГТГК) при пероральном применении в отношении осельтамивирустойчивого штамма вируса А/Владивосток/2/09 (H1N1) на модели летальной гриппозной инфекции у белых мышей. Показано, что пероральное применение ГТГК приводит к снижению специфической смертности животных (индекс защиты 43–50%), увеличению средней продолжительности жизни животных на 2,5–3,9 сут и снижению титров вируса в ткани легких на 1,5–1,9 lg EID₅₀/20 мг в зависимости от дозы вируса. Соответствующие показатели для препарата сравнения тамифлю составили 14–25%, 1,1–1,9 сут и 0,7 lg EID₅₀/20 мг. Применение ГТГК также приводило к достоверному повышению титров интерферона в крови инфицированных животных с 44,3 до 66,3 ед/мл. Результаты морфологического анализа показали, что курсовое пероральное введение ГТГК сопровождается нормализацией структуры ткани легких, ограничением признаков воспаления и цитодеструкции. Полученные данные позволяют рассматривать ГТГК как перспективное противогриппозное средство, активное в отношении лекарственно-устойчивых штаммов вируса и пригодное для перорального применения.

Ключевые слова: грипп; химиотерапия; глицирризиновая кислота; глутамил-триптофан; лекарственная устойчивость.

Для корреспонденции: Смирнов Вячеслав Сергеевич, д-р мед. наук, проф.; e-mail: vsmirnov@cytomed.ru
Correspondence to: Vyacheslav Smirnov, MD, PhD, DSc, prof., e-mail: vsmirnov@cytomed.ru