

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017
УДК 578.823.91:578.5].083.2:577.21.08

Морозова О.В.^{1,2}, Сашина Т.А.¹, Новикова Н.А.^{1,2}

ОБНАРУЖЕНИЕ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАССОРТАНТНЫХ DS-1-ПОДОБНЫХ G1P[8]-ШТАММОВ РОТАВИРУСА ГРУППЫ А

¹ФБУН «Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, 603950, г. Нижний Новгород;

²ФГБОУ «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», 603950, г. Нижний Новгород

В работе дана молекулярная характеристика впервые обнаруженных на территории России реассортантных DS-1-подобных G1P[8]-штаммов ротавируса группы А (РВА), которые ранее были обнаружены в Японии и Таиланде. РВА G1P[8]-генотипа с DS-1-подобным «коротким» профилем РНК-ПААГ были идентифицированы у детей, госпитализированных с гастроэнтеритом в сезон 2013–2014 гг., когда их доля составила 2,6%. Филогенетический анализ был проведен на основе установленных нуклеотидных последовательностей 4 генов (VP7, VP8* (VP4), VP6 и NSP4). Нижегородские штаммы несли аллели G1-I и G1-II гена VP7, P[8]-3 гена VP4. По гену VP6 2 нижегородских образца кластеризовались с реассортантными штаммами, изолированными на территории Японии, Таиланда и Австралии, и 2 образца, филогенетически близкие к типичным G2P[4] DS-1-подобным штаммам. По гену NSP4 реассортантные G1P[8]-штаммы кластеризовались отдельно от G3P[8] DS-1-подобных штаммов РВА, изолированных в Австралии и Таиланде. Все исследованные штаммы по анализируемому гену кластеризовались отдельно от вакцинных штаммов Rotarix и RotaTeq. На основе проведенного филогенетического анализа сделан вывод о полифилетическом происхождении реассортантных штаммов. Скорость мутаций, оцененная на основе байесовского подхода в кластерах, включающих реассортантные штаммы, составила 1.004E-3 (VP7), 1.227E-3 (VP4), 3.909E-4 (VP6), 4.014E-4 (NSP4). Анализ tMRCA показал относительную современность аллелей реассортантов: VP7 – 1998 (G1-I) и 1981 (G1-II), VP4 – 1998, VP6 – 1994, NSP4 – 1979.

Ключевые слова: ротавирус; реассортант; филогенетический анализ; байесовский анализ.

Для цитирования: Морозова О.В., Сашина Т.А., Новикова Н.А. Обнаружение и молекулярная характеристика реассортантных DS-1-подобных G1P[8] штаммов ротавируса группы А. *Вопросы вирусологии*. 2017; 62 (2): 91-96.

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-2-91-96>

Morozova O.V.^{1,2}, Sashina T.A.¹, Novikova N.A.^{1,2}

DETECTION AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF REASSORTANT DS-1-LIKE G1P [8] STRAINS OF ROTAVIRUS A

¹I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, 603950, Russian Federation;

²Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, 603950, Russian Federation

Group A rotaviruses (RVA) are the main cause of viral gastroenteritis in children worldwide. In this study we provide the molecular characteristics of reassortant DS-1-like G1P[8] RVA strains detected in Russia for the first time. Previously, such reassortant strains were detected in Japan and Thailand. The G1P[8] RVAs with DS-1-like short electropherotype RNA-PAGE were isolated from children hospitalised with an acute gastroenteritis during the 2013-2014 period. The DS-1-like G1P[8] strains accounted for 2.6% of all RVA strains detected continuously throughout the season. A phylogenetic analysis was made on the basis of the established nucleotide sequences of genes VP7, VP8* (VP4), VP6 and NSP4. The Nizhny Novgorod strains belong to G1-I and G1-II alleles of VP7 gene and to P[8]-3 allele of VP4. According to their VP6 sequences, two Russian samples clustered with the reassortant strains isolated in Japan, Thailand and Australia and two other strains were phylogenetically close to the typical G2P[4] DS-1-like RVA. Nucleotide sequences of G1P[8] strains that belong to NSP4 gene form a separate cluster from G3P[8] DS-1-like rotaviruses detected in Thailand and Australia. The RVA alleles included in Rotarix and RotaTeq vaccine strains were clustered separately from the studied reassortant RVAs. On the grounds of phylogenetic analysis we assume a polyphyletic origin of reassortants between Wa- and DS-1-like strains. Mutation rates evaluated by Bayesian inference in clusters with reassortant RVA strains were 1.004E-3 (VP7), 1.227E-3 (VP4), 3.909E-4 (VP6), and 4.014E-4 (NSP4). Analysis of tMRCA showed relatively contemporary origin of alleles DS-1-like G1P[8] rotaviruses: VP7 – 1998 (G1-I) and 1981 (G1-II), VP4 – 1998, VP6 – 1994, NSP4 – 1979.

Key words: rotavirus; reassortant; phylogenetic analysis; Bayesian analysis.

For citation: Morozova O.V., Sashina T.A., Novikova N.A. Detection and molecular characterization of reassortant DS-1-like G1P [8] strains of rotavirus A. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2017; 62(2): 91-96. (In Russ.).

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-2-91-96>

For correspondence: Olga V. Morozova, Research assistant, Laboratory of molecular epidemiology of viral infections, I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, 603950, Russian Federation.

E-mail: olga.morozova.bsc@gmail.com

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

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

Received 19 September 2016

Accepted 11 October 2016

Для корреспонденции: Морозова Ольга Владимировна, мл. науч. сотр. лаб. молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, 603950, г. Нижний Новгород. E-mail: olga.morozova.bsc@gmail.com

Введение

Ротавирусы группы/разновидности А (РВА), входящие в семейство Reoviridae, подсемейство Sedoreovirinae, род *Rotavirus*, являются основной причиной тяжелого гастроэнтерита у молодняка животных и детей первых лет жизни во всем мире [1]. РВА имеют геном, состоящий из 11 сегментов двунитевой РНК (днРНК), характеристики которых являются основой для современной классификации ротавирусов и слежения за эволюцией штаммов [2].

Наиболее часто встречающиеся РВА человека являются представителями Wa-подобной («длинный» электрофоретип РНК) и DS-1-подобной («короткий» электрофоретип РНК) геногрупп. Для прототипных штаммов этих геногрупп определены генотипы всех 11 сегментов днРНК: GX-P[X]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1 для Wa-подобных штаммов и G2-P[4]-I2-R2-CS-1-подобных T2-E2-H2 для DS-1-подобных штаммов [3].

Межгрупповые реассортанты РВА обнаруживаются сравнительно редко; считается, что такие варианты менее конкурентоспособны [4]. Однако в 2011–2013 гг. реассортанты Wa- и DS-1-подобных штаммов были обнаружены в Японии, Таиланде и Австралии [5–8]. В Японии была показана циркуляция G1P[8] DS-1-подобных РВА. В Австралии были обнаружены G3P[8] РВА в сочетании с остальными генами, относящимися ко второй геногруппе. В Таиланде циркулировали как G1P[8]-, так и G3P[8]-реассортанты.

В настоящее время на рынке доступны две аттенуированные вакцины: реассортантная пентавалентная вакцина RotaTeq («Merck») на базе бычьего ротавируса и моновалентная вакцина Rotarix («Glaxo Smith Kline») на базе штамма РВА человека [9, 10]. В настоящее время вакцинация против ротавирусной инфекции (РВИ) введена в национальный календарь прививок в 81 стране по всему миру [11]. В России зарегистрирована вакцина RotaTeq, применение которой регламентировано по эпидемическим показаниям¹. Чтобы оценить возможное воздействие широко проводимой во всем мире вакцинации против РВИ, необходим тщательный мониторинг циркулирующих штаммов как в довакцинальный, так и в поствакцинальный периоды.

В настоящем исследовании дана молекулярная характеристика DS-1-подобных штаммов РВА G1P[8]-генотипа, изолированных на территории Нижнего Новгорода в сезон 2013–2014 гг. На основе нуклеотидных последовательностей генов *VP7*, *VP8** (*VP4*), *VP6* и *NSP4* проведен филогенетический анализ, рассчитан уровень мутаций реассортантных штаммов и определено время ближайшего общего предка (tMRCA) аллелей изучаемых образцов.

Материал и методы

Исследовали образцы фекалий 1295 детей, госпитализированных в инфекционный стационар Нижнего Новгорода с диагнозом острого гастроэнтерита в сезон 2013–2014 гг.

Детекцию и электрофоретипирование РНК ротавирусов проводили методом РНК-ПААГ (в полиакриламидном геле) [12]. Для проведения ОТ-ПЦР РНК

ротавирусов экстрагировали из фекалий стандартным методом с использованием набора для экстракции нуклеиновых кислот «РИБО-сорб», кДНК синтезировали с помощью комплекта реагентов «Реверта» («АмплиСенс», ЦНИИЭ, Москва) согласно рекомендациям производителя. G[P]-типирование выполняли методом мультитиплексной ПЦР с набором типоспецифических праймеров для генотипов G1–G4, G9, P[4], P[6], P[9]².

Фрагмент *VP8** гена *VP4* размером 877 пар нуклеотидов (п. н.) получали с парой праймеров *con2* и *con3mod*, предложенных ранее [13]. Участок гена *VP7* размером 1062 п.н. амплифицировали с праймерами *Beg9* и *End9* [14]. Полноразмерные фрагменты генов *VP6* и *NSP4* были получены с парами праймеров *GEN_VP6F/GEN_VP6R* и *GEN_NSP4F/GEN_NSP4R* соответственно [15].

Нуклеотидные последовательности фрагментов генов *VP7*, *VP4*, *VP6* и *NSP4* устанавливали в автоматическом режиме с использованием генетического анализатора Beckman Coulter CEQ8000 и набора реагентов DTCS Quick Start Kit («Beckman Coulter», США) согласно рекомендациям производителя. Полученные в данной работе последовательности нижегородских штаммов РВА представлены в базе данных GenBank под номерами KX758591–KX758606.

Обработку и выравнивание нуклеотидных последовательностей осуществляли с применением программного обеспечения MEGA 5 [16]. Выборка штаммов для филогенетического анализа была составлена из реассортантных штаммов РВА, изолированных на территории Нижнего Новгорода, Австралии, Японии и Таиланда, а также вакцинных штаммов (Rotarix и RotaTeq). Полученные наборы данных были проанализированы в BEAST [17]. В частности, процесс замещения нуклеотидов оценивали с помощью модели Хасегава–Кишино–Яно (HKY, Hasegawa–Kishino–Yano). Скорость эволюции измеряли на базе нестрогих (свободных) логнормальных молекулярных часов. Для описания демографических процессов была использована гибкая непараметрическая модель ковалесценции SkyGrid. Для достижения значений эффективного размера выборки (ESS) >>200 длина цепи Маркова (MCMC, Markov chain Monte Carlo) составила 100 млн шагов.

Результаты

Типирование РВА методом РНК-ПААГ и ОТ-ПЦР. В сезон 2013–2014 гг. при обследовании 1295 госпитализированных с острым гастроэнтеритом детей РВА были обнаружены в 24,4% случаев. Пейзаж G[P]-типов включал генотипы G1P[8], G2P[4], G3P[8], G3P[9], G3P[6], G4P[8], G9P[8], G4P[9]. На фоне доминирования вариантов G4P[8] (68,7%) в 48 (15,5%) образцах были идентифицированы РВА генотипа G1P[8]. Следует отметить, что РВА генотипа G1P[8] являются типичными Wa-подобными штаммами с «длинным» электрофоретипом РНК. Среди выявленных РВА генотипа G1P[8] в 40 случаях наблюдался «длинный» Wa-подобный профиль РНК, у 8 изолятов – «короткий», характерный для DS-1-подобных штаммов. На

¹Приказ Минздрава России от 21.03.14 № 125н "Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям"

²G[P]-генотипирование ротавирусов с использованием полимеразной цепной реакции. Методические рекомендации. Н. Новгород: ФГУН "ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной" Роспотребнадзора; 2007. 16 с.

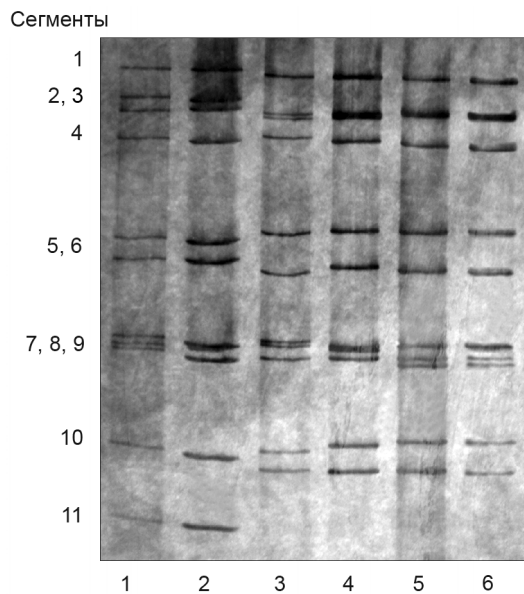


Рис. 1. Профили миграции геномных сегментов днРНК штаммов ротавирусов, изолированных на территории Нижнего Новгорода в сезон 2013–2014 гг.

Образцы 1 и 2 – типичные Wa-подобные штаммы G4P[8]- и G1P[8]-генотипа соответственно. Образцы 3 и 4 – типичные G2P[4] DS-1-подобные штаммы. Под номерами 5 и 6 представлены G1P[8] DS-1-подобные реассортантные штаммы, проанализированные в данной работе.

рис. 1 представлен ПААГ, отображающий профили миграции сегментов РНК анализируемых штаммов ротавирусов.

Четыре клинических изолята РВА G1P[8] с «коротким» электрофоретическим РНК были секвенированы по 4 генам (*VP7*, *VP8** (*VP4*), *VP6* и *NSP4*). Анализ показал их принадлежность к генотипу G1-P[8]-I2-E2. Наличие в составе генома последовательностей двух геногрупп РВА свидетельствует о реассортантном происхождении обнаруженных штаммов – данные штаммы являются двойными межгеногрупповыми реассортантами.

Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей. Для изучения эволюционной динамики реассортантных штаммов мы построили филогенетические деревья для 4 сегментов генома с использованием байесовского филогенетического анализа, реализованного в пакете BEAST.

По гену *VP7* 3 из проанализированных образцов с генотипом G1-P[8]-I2-E2 несли аллель G1-I, и один принадлежал к линии G1-II. DS-1-подобные ротавирусы генотипа G1P[8], изолированные на территории Японии, принадлежат к линии G1-I, тогда как РВА, изолированные на территории Таиланда, несут аллель G1-II. Вакцинный штамм Rotarix несет в своем составе ген *VP7* генотипа G1-II, но кластеризуется отдельно от исследованных образцов. Вакцинный штамм пентавалентной вакцины RotaTeq G1P[8]-генотипа относится к линии G1-III (рис. 2, а).

Все реассортантные G1P[8]-штаммы РВА, изолированные на территории Нижнего Новгорода, по гену *VP4* принадлежат к линии P[8]-3 аналогично реассортантным штаммам, изолированным в Японии, Таиланде и Австралии. Вак-

цинные штаммы Rotarix и RotaTeq несут аллели P[8]-1 и P[8]-2 соответственно (рис. 2, б).

Нуклеотидные последовательности гена *VP6* двух нижегородских образцов (435/2014 и 439/2014) кластеризовались в группу с реассортантными РВА, изолированными в других странах, однако другие 2 образца (1034/2014 и 1091/2014) филогенетически ближе к типичным G2P[4] DS-1-подобным штаммам, выделенным в Таиланде. Нуклеотидные последовательности I2-генотипа, принадлежащие к штаммам в составе вакцины RotaTeq, кластеризовались отдельно (рис. 2, в).

Российские, тайландские и японские штаммы РВА с генотипом G1P[8] по гену *NSP4* кластеризовались отдельно от G3P[8] DS-1-подобных ротавирусов, которые были обнаружены в Австралии и Таиланде. Вакцинные штаммы RotaTeq E2-генотипа также составили отдельную группу (рис. 2, з).

Уровень мутаций и tMRCA реассортантных штаммов. В настоящем исследовании мы измерили уровни мутаций для 4 секвенированных генов. Наибольший уровень мутаций наблюдался у генов *VP7* и *VP4*, тогда как у генов *VP6* и *NSP4* скорость мутаций была ниже. Средние уровни мутаций в кластерах, содержащих РВА, выделенные от больных, не отличались от уровня мутаций всей выборки в целом по каждому гену (см. таблицу).

Используя описанные выше наборы данных для генов *VP7*, *VP4*, *VP6*, *NSP4*, вычисляли время ближайшего общего предка (tMRCA) для кластеров, в которые входили нуклеотидные последовательности реассортантных штаммов РВА, изолированных в Нижнем Новгороде (см. таблицу). Для линий G1-I и G1-II значения tMRCA составили 1998 (95% байесовский доверительный интервал (HPD, high posterior density) 1990–2004) и 1991 (95% HPD 1974–1986) соответственно. Реассортантные штаммы, несущие аллель P[8]-3, делили общего предка в 1998 г. (95% HPD 1985–2005). Для *VP6* и *NSP4* общие предковые штаммы циркулировали в 1994 г. (95% HPD 1973–2005) и 1979 г. (95% HPD 1922–2002) соответственно.

Обсуждение

Представленные результаты являются первым сообщением о появлении на территории России нового реассортантного между Wa- и DS-1-подобными штаммами варианта РВА человека. Случаи реассортации между штаммами разных геногрупп мало распространены, поскольку такие реассортанты менее устойчивы, чем штаммы, несущие сегменты одной геногруппы [18].

В нашем исследовании в популяции ротавирусов показано наличие реассортантных вариантов G1P[8] с DS-

Уровень мутаций и время ближайшего общего предка, рассчитанные на основе байесовской филогенетической реконструкции

Ген (генотип)	Средний уровень мутаций всей выборки, замены на сайт в год	Уровень мутаций в кластере реассортантных штаммов, замены на сайт в год	tMRCA кластера с реассортантными штаммами (95% HPD)
VP7 (G1)	1.004E-3	1.004E-3	1998 (G1-I) (1990--2004) 1981 (G1-II) (1974--1986)
VP4 (P[8])	1.402E-3	1.227E-3	1998 (1985--2005)
VP6 (I2)	4.022E-4	3.909E-4	1994 (1973--2005)
NSP4 (E2)	4.768E-4	4.014E-4	1979 (1922--2002)

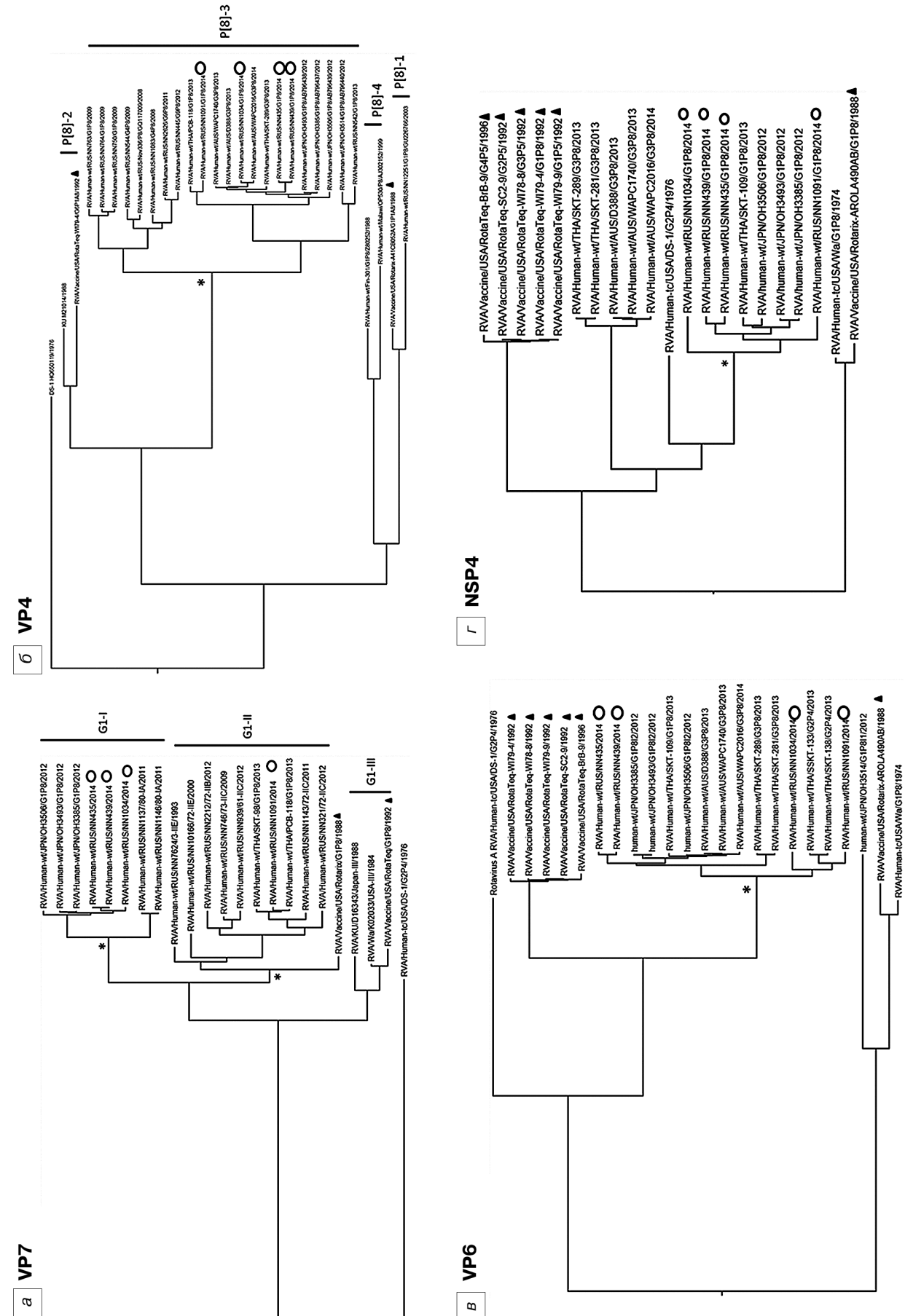


Рис. 2. Филогенетические деревья МСС (maximum clade credibility), сконструированные с использованием МСМС-подхода на основе нуклеотидных последовательностей гена VP7 (а), фрагмента гена VP4 (VP8*) (б), генов VP6 (в) и NSP4 (г).
 Нижгородские штаммы отмечены знаком о, вакцинные штаммы – ▲. Знаком * отмечены кластеры, для которых были рассчитаны скорости мутаций и tMRCa.

1-подобным профилем РНК-ПААГ на фоне снижения циркуляции типичных G1P[8] РВА [19]. Доля реассортантов между Wa- и DS-1-подобными штаммами на территории Нижнего Новгорода в 2013–2014 гг. составила 2,6%. В Таиланде «короткие» G1P[8]-штаммы также встречались в единичных вариантах. Однако на территории Японии подобные варианты широко распространились и преобладали в сезон 2012–2013 гг. в популяции РВА (46,7%), а также являлись доминирующими при вспышечной заболеваемости ротавирусным гастроэнтеритом в ряде регионов [5]. В Австралии в 2013 г. реассортантный штамм G3P[8]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2 стал доминирующим среди детей с тяжелым течением РВИ [8]. Эти исследования подтверждают динамичный характер ротавирусной популяции и иллюстрируют потенциал для возникновения новых генотипов РВА, способных к быстрому распространению.

Нижегородские штаммы РВА G1P[8]-генотипа с «коротким» профилем РНК-ПААГ несут аллели G1-I и G1-II гена VP7. При филогенетическом анализе с образцами под номерами 435/2014, 439/2014 и 1034/2014, относящимися к линии G1-I, кластеризовались японские штаммы. С образцом 1091/2014, принадлежащим к линии G1-II, кластеризовались штаммы, изолированные на территории Таиланда. Это свидетельствует о генетической разнородности штаммов с генотипом G1, циркулирующих на территории Нижнего Новгорода и мира.

Ранее в ходе многолетних наблюдений нами была показана постепенная смена аллеля внутри P[8]-генотипа с P[8]-1 на P[8]-3 [20]. Аллель P[8]-3 продолжает доминировать повсеместно. В данном исследовании все штаммы принадлежали к линии P[8]-3. Однако стоит отметить, что DS-1-подобные G1P[8]-штаммы образовали отдельный кластер от типичных Wa-подобных РВА P[8]-генотипа (см. рис. 2, б).

Филогенетический анализ на основе генов VP6 и NSP4 DS-1-подобных G1P[8]- и G3P[8]-штаммов РВА, изолированных на территории России и мира, показал неоднородность как среди нижегородской популяции ротавирусов, так и среди австралийских, японских и тайландских штаммов. По гену VP6 2 нижегородских изолята кластеризовались с реассортантными штаммами Австралии, Японии и Таиланда, а 2 – с типичными G2P[4] DS-1-подобными ротавирусами. По гену NSP4 ротавирусы G1- и G3-генотипа кластеризовались отдельно.

Таким образом, проведенный нами филогенетический анализ на основе нуклеотидных последовательностей генов VP7, VP4, VP6 и NSP4 указывает на полифилетическое происхождение реассортантов между Wa- и DS-1-подобными РВА, изолированными на территории России, Японии, Таиланда и Австралии. Причины столь широкого распространения межгрупповых реассортантов неизвестны. Возможно, это связано с широким и повсеместным проведением вакцинации против РВИ. В данном исследовании мы показали, что нуклеотидные последовательности вакцинных штаммов RotaTeq и Rotarix по большей части кластеризовались отдельно (за исключением гена VP7 вакцины Rotarix, который принадлежит к линии G1-II) и очевидно не принимали участия в эпизодах реассортации. Выводы относительно эффективности данных вакцин против инфекции, вызванной реассортантными штаммами, могут быть спекулятивными, поскольку ряд исследований показывает формирование гетеротипического иммунного ответа

[20]. Однако смена генотипа генов, кодирующих белки внутреннего капсида и неструктурные протеины, потенциально может препятствовать иммунному ответу.

Исследования, проведенные М. Zeller и соавт. [22], показали, что уровень мутаций типичных G1P[8] Wa-подобных штаммов РВА для гена VP7 (G1-генотипа) составляет $8E-4$ замены на сайт в год, для гена VP4 (P[8]-генотипа) – $7.5E-4$ [22]. Для генов VP6 и NSP4, относящихся ко второй геногруппе, такие исследования не проводились. Наш анализ на основе байесовского подхода показал сходный уровень мутаций генов VP7 и VP4, который превышал уровень мутаций VP6 и NSP4. По всей видимости, это связано с иммунологическим прессингом на белки наружного капсида, несущие на своей поверхности сайты антигенной нейтрализации [23, 24]. Стоит отметить, что средний уровень мутаций по всей выборке очень близок к уровню мутаций в кластерах, к которым относились реассортантные штаммы. Это свидетельствует об отсутствии высокой мутационной изменчивости рассматриваемых штаммов. Время наиболее близкого общего предка варьирует от 1979 г. для гена NSP4 до 1998 г. для генов VP7 (линии G1-I) и VP4, что демонстрирует относительную современность аллелей, которые несут штаммы.

Возможно, с помощью межгрупповой реассортации РВА пытаются преодолеть иммунологический прессинг и сохранить G1P[8]-генотип в популяции ротавируса, поскольку G1P[8]-штаммы, обладающие DS-1-подобными белками, могут иметь селективное преимущество. Вакцинация против РВИ не внесена в национальный календарь прививок в России, и уровень охвата прививками неизвестен, внедрение ротавирусных вакцин должно сопровождаться анализом разнообразия РВА с целью мониторинга реассортантов с вакцинными штаммами, а также оценки влияния вакцинации на эпидемический процесс.

Заключение

В этом исследовании мы дали молекулярную характеристику 4 реассортантных образцов с «коротким» профилем РНК-ПААГ, у которых гены 2 поверхностных белков (VP7 и VP4) относятся к Wa-подобным ротавирусам, тогда как гены VP6 и NSP4 принадлежат к DS-1-подобным штаммам РВА. Филогенетический анализ на основе полученных нуклеотидных последовательностей показал, что реассортантные штаммы РВА, обнаруженные на территории Нижнего Новгорода, близки к G1P[8]-штаммам, изолированным в Японии и Таиланде. Вероятно, реассортантные штаммы РВА, изолированные на территории разных стран, имеют полифилетическое происхождение. По анализируемым генам все исследованные штаммы кластеризовались отдельно от аллелей в составе вакцин Rotarix и RotaTeq. Скорость накопления мутаций по всем 4 генам в кластере, включающем реассортантные варианты ротавируса, достоверно не отличалась от скорости мутаций, рассчитанной для рассматриваемой выборки. Оцененное время до наиболее недавнего общего предка указывает на современное происхождение DS-1-подобных G1P[8]-штаммов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1–11, 13–18, 20–24
см. REFERENCES)

12. Новикова Н.А., Анцупова А.С., Епифанова Н.В., Альтова Е.Е., Троицкая М.В. Электрофоретический анализ геномной РНК ротавируса человека. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 1989; (5): 45–9.
 19. Сашина Т.А., Морозова О.В., Новикова Н.А. Генетическая структура нижегородской популяции ротавируса в 2012–2015 гг. В кн.: *Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Современные технологии в эпидемиологическом надзоре за актуальными инфекциями»*. Нижний Новгород; 2016: 92–8.
- REFERENCES
1. Parashar U.D., Burton A., Lanata C., Boschi-Pinto C., Shibuya K., Steele D. et al. Global mortality associated with rotavirus disease among children in 2004. *J. Infect. Dis.* 2009; 200 (Suppl. 1): 9–15.
 2. Estes M.K., Kapikian A.Z. Rotaviruses and their replication. In: Fields B.N., Knipe D.M., eds. *Fields Virology*. 5th ed., Lippincott, Philadelphia: Williams and Wilkins; 2007: 1917–74.
 3. Matthijnssens J., Ciarlet M., McDonald S.M., Attoui H., Banyai K., Brister J.R. et al. Uniformity of rotavirus strain nomenclature proposed by the Rotavirus Classification Working Group (RCWG). *Arch. Virol.* 2011; 156 (8): 1397–413.
 4. McDonald S.M., Matthijnssens J., McAllen J.K., Hine E., Overton L., Wang S. et al. Evolutionary dynamics of human rotaviruses: balancing reassortment with preferred genome constellations. *PLoS Pathog.* 2009; 5 (10): e1000634.
 5. Yamamoto S.P., Kaida A., Kubo H., Iritani N. Gastroenteritis Outbreaks Caused by a DS-1-like G1P[8] Rotavirus Strain, Japan, 2012–2013. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20 (6): 1030–3.
 6. Kuzuya M., Fujii R., Hamano M., Kida K., Mizoguchi Y., Kanadani T. et al. Prevalence and molecular characterization of G1P[8] human rotaviruses possessing DS-1-like VP6, NSP4, and NSP5/6 in Japan. *J. Med. Virol.* 2014; 86 (6): 1056–64.
 7. Komoto S., Tacharoenmuang R., Guntapong R., Ide T., Haga K., Katayama K. et al. Emergence and Characterization of Unusual DS-1-Like G1P[8] Rotavirus Strains in Children with Diarrhea in Thailand. *PLoS One*. 2015; 10 (11): e0141739.
 8. Cowley D., Donato C.M., Roczo-Farkas S., Kirkwood C.D. Emergence of a novel equine-like G3P[8] inter-genogroup reassortant rotavirus strain associated with gastroenteritis in Australian children. *J. Gen. Virol.* 2016; 97 (2): 403–10.
 9. Ward R.L., Bernstein D.I. Rotarix: a rotavirus vaccine for the world. *Clin. Infect. Dis.* 2009; 48 (2): 222–8.
 10. Ciarlet M., Schodde F. Development of a rotavirus vaccine: clinical safety, immunogenicity, and efficacy of the pentavalent rotavirus vaccine, RotaTeq. *Vaccine*. 2009; 27 (Suppl. 6): 72–81.
 11. PATH (2011–2016). Available at: <http://sites.path.org/rotavirusvaccine/>
 12. Novikova N.A., Antsupova A.S., Epifanova N.V., Al'tova E.E., Troitskaya M.V. Electrophoretic analysis of the genomic RNA of rotaviruses. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya*. 1989; (5): 45–9. (in Russian)
 13. Maunula L., von Bonsdorff C.H. Short sequences define genetic lineages: phylogenetic analysis of group A rotaviruses based on partial sequences of genome segments 4 and 9. *J. Gen. Virol.* 1998; 79 (2): 321–32.
 14. Gouvea V., Glass R.I., Woods P., Taniguchi K., Clark H.F., Forrester B. et al. Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens. *J. Clin. Microbiol.* 1990; 28 (2): 276–82.
 15. Matthijnssens J., Ciarlet M., Heiman E., Arijs I., Delbeke T., McDonald S.M. et al. Full genome-based classification of rotaviruses reveals a common origin between human Wa-Like and porcine rotavirus strains and human DS-1-like and bovine rotavirus strains. *J. Virol.* 2008; 82 (7): 3204–19.
 16. 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.
 17. Drummond A.J., Suchard M.A., Xie D., Rambaut A. Bayesian phylogenetics with BEAUTi and the BEAST 1.7. *Mol. Biol. Evol.* 2012; 29 (8): 1969–73.
 18. Iturriza-Gomara M., Isherwood B., Desselberger U., Gray J. Reassortment in vivo: Driving force for diversity of human rotavirus strains isolated in the United Kingdom between 1995 and 1999. *J. Virol.* 2001; 75 (8): 3696–705.
 19. Sashina T.A., Morozova O.V., Novikova N.A. The genetic structure of rotavirus population in Nizhny Novgorod in 2012–2015. In: *Materials of All-Russian Scientific-Practical Conference “Modern Technology in Epidemiological Surveillance for the Current Infections” [Materiyy Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii “Sovremennyye tekhnologii v epidemiologicheskoy nadzore za aktual'nymi infektsiyami”]*. Nizhniy Novgorod; 2016: 92–8. (in Russian)
 20. Novikova N.A., Morozova O.V., Fedorova O.F., Epifanova N.V., Sashina T.A., Efimov E.I. Rotavirus infection in children of Nizhny Novgorod, Russia: the gradual change of the virus allele from P[8]-1 to P[8]-3 in the period 1984–2010. *Arch. Virol.* 2012; 157 (12): 2405–9.
 21. Jiang B., Wang Y., Glass R.I. Does a monovalent inactivated human rotavirus vaccine induce heterotypic immunity? Evidence from animal studies. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2013; 9 (8): 1634–7.
 22. Zeller M., Donato C., Trovao N.S., Cowley D., Heylen E., Donker N.C. et al. Genome-Wide Evolutionary Analyses of G1P[8] Strains Isolated Before and After Rotavirus Vaccine Introduction. *Genome Biol. Evol.* 2015; 7 (9): 2473–83.
 23. Aoki S.T., Settembre E.C., Trask S.D., Greenberg H.B., Harrison S.C., Dormitzer P.R. Structure of rotavirus outer-layer protein VP7 bound with a neutralizing Fab. *Science*. 2009; 324 (5933): 1444–7.
 24. Dormitzer P.R., Sun Z.Y., Wagner G., Harrison S.C. The rhesus rotavirus VP4 sialic acid binding domain has a galectin fold with a novel carbohydrate binding site. *EMBO J.* 2002; 21 (5): 885–7.

Поступила 19.09.16

Принята в печать 11.10.16