



ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-279>

© ЛЕНШИН С.В., ВИШНЕВСКАЯ Т.В., РОМАШИН А.В., БУЛЫЧЕВА Ю.И., ВЫШЕМИРСКИЙ О.И., СОЛОВЬЕВА С.А., ГИТЕЛЬМАН А.К., ПАЗИЛИН А.С., ЛЬВОВ Д.К., ХУ Б., ШИ Ч., АЛЬХОВСКИЙ С.В., 2024

Идентификация нового альфакоронавируса (Coronaviridae: *Alphacoronavirus*), ассоциированного с большим подковоносом (*Rhinolophus ferrumequinum*), на юге европейской части России

Леншин С.В.¹, Вишневская Т.В.², Ромашин А.В.³, Булычева Ю.И.², Вышемирский О.И.⁴, Соловьева С.А.², Гительман А.К.², Пазилин А.С.², Львов Д.К.², Ху Б.⁵, Ши Ч.^{5,6}, Альховский С.В.^{2✉}

¹Сочинское отделение ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, 354000, г. Сочи, Россия;

²Институт вирусологии имени Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, Россия;

³ФГБУ «Сочинский национальный парк» Минприроды России, 354002, г. Сочи, Россия;

⁴Курчатовский комплекс медицинской приматологии НИЦ «Курчатовский институт», 354376, г. Сочи, с. Веселое, Россия;

⁵Ключевая лаборатория вирусологии и биобезопасности, Уханьский институт вирусологии Китайской академии наук, 430071, г. Ухань, Китайская Народная Республика;

⁶Национальная лаборатория Гуанчжоу, Международный Био-остров Гуанчжоу, Гуанчжоу 51005, Китайская Народная Республика

Резюме

Введение. Летучие мыши рассматриваются как основной природный резервуар для альфа- и бетакоронавирусов. В результате преодоления межвидового барьера коронавирусы летучих мышей передаются другим видам млекопитающих, включая сельскохозяйственных животных и человека, что часто приводит к возникновению эпидемических или эпизоотических вспышек и пандемий.

Цель работы. Идентифицировать зоонозные коронавирусы, циркулирующие в популяции подковоносовых летучих мышей (*Rhinolophus* spp.) в южных регионах европейской части России. Определить их генетические и экологические характеристики.

Материалы и методы. Материал для исследования (фекалии летучих мышей) был собран в пещерах на Южном макросклоне большого Кавказа (район Сочи-Адлер) в 2020, 2021 и 2024 гг. Использованы методы метагеномного анализа на основе NGS и ОТ-ПЦР.

Результаты. Идентифицирован новый альфакоронавирус (вирус Кудеп, GenBank № PQ649435), ассоциированный с большим подковоносом (*R. ferrumequinum*). Вирус Кудеп предположительно представляет новый вид подрода *Decacovirus* рода *Alphacoronavirus*. Максимальное генетическое сходство вирус Кудеп имеет с коронавирусом летучих мышей (от ложного вампира *Cardioderma cor*) из Кении (72% идентичных н.о.) и с группой вирусов YN2012, найденных у подковоносовых летучих мышей в Китае (до 67% н.о.). Результаты ОТ-ПЦР-скрининга показывают, что вирус Кудеп и ранее описанный нами SARS-подобный бетакоронавирус Хоста-1 активно циркулируют на обследованной территории. Зараженность этими вирусами в одной из колоний большого подковоноса осенью 2021 г. достигала 59,2 и 70,5% соответственно. Выявлены частые случаи коинфекции отдельных особей одновременно двумя коронавирусами.

Заключение. Полученные данные расширяют представления о распространении альфакоронавирусов летучих мышей и их генетическом разнообразии. Показано наличие стойкого природного очага потенциально зоонозных коронавирусов (Хоста-1 и Кудеп), связанных с *R. ferrumequinum*, на юге европейской части России.

Ключевые слова: летучие мыши; коронавирусы летучих мышей; вирус Кудеп; вирус Хоста-1; новые и возвращающиеся инфекции; альфакоронавирусы; SARS-CoV-2; подковоносы

Для цитирования: Леншин С.В., Вишневская Т.В., Ромашин А.В., Булычева Ю.И., Вышемирский О.И., Соловьева С.А., Гительман А.К., Пазилин А.С., Львов Д.К., Ху Б., Ши Ч., Альховский С.В. Идентификация нового альфакоронавируса (Coronaviridae: *Alphacoronavirus*), ассоциированного с большим подковоносом (*Rhinolophus ferrumequinum*), на юге европейской части России. *Вопросы вирусологии*. 2024; 69(6): 546–556. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-279> EDN: <https://elibrary.ru/yiclrv>

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (РНФ), проект № 24-44-00079, и Государственного фонда естественных наук Китая, проект № 32361133556.

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

Этическое утверждение. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с "Consensus author guidelines for animal use" (IAVES 23 July 2010). Протокол исследования одобрен комитетом по этике Сочинского национального парка (Протокол № 5 от 27 декабря 2023 г.).

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-279>

Identification of a new alphacoronavirus (Coronaviridae: *Alphacoronavirus*) associated with the greater horseshoe bat (*Rhinolophus ferrumequinum*) in the south of European part of Russia

Sergey V. Lenshin¹, Tatyana V. Vishnevskaya², Alexey V. Romashin³, Yulia I. Bulycheva², Oleg I. Vyshemirsky⁴, Sophya A. Solovyeva², Asya K. Gitelman², Alexey S. Pazilin², Dmitry K. Lvov², Ben Hu⁵, Zheng-Li Shi^{5,6}, Sergey V. Alkhovsky^{2✉}

¹Stavropol Plague Control Research Institute of Rospotrebnadzor (Sochi department), 354000, Sochi, Russia;

²D.I. Ivanovsky institute of virology of N.F. Gamaleya national research center on epidemiology and microbiology of Ministry of health of Russian Federation, 123098, Moscow, Russia;

³Sochi National Park, 354002, Sochi, Russia;

⁴Kurchatov Complex of Medical Primatology, National Research Center «Kurchatov Institute», 354376, Veseloe village, Sochi, Russia;

⁵Key Laboratory of Virology and Biosafety, Wuhan Institute of Virology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan, 430207, China;

⁶Guangzhou National Laboratory, Guangzhou International Bio-Island, Guangzhou 51005, Guangdong, China

Abstract

Introduction. Bats are recognized as primary natural reservoirs for alpha- and betacoronaviruses. The interspecies transmission of bat coronaviruses to other mammalian hosts, including livestock and humans, can lead to epidemics, epizootics, and global pandemics.

Objective. This study aims to describe coronaviruses associated with horseshoe bats (*Rhinolophus* spp.) in the southern regions of the European part of Russia.

Materials and methods. Fecal samples were collected from bats inhabiting caves on the southern macroslope of the Greater Caucasus (Sochi-Adler region) during 2020, 2021, and 2024. Viral genomes were detected and analyzed using high-throughput sequencing (NGS) and RT-PCR.

Results. A novel alphacoronavirus, designated Kudep virus (GenBank acc. # PQ649435), was identified in *R. ferrumequinum*. Presumably the Kudep virus represents a novel species within the subgenus *Decacovirus* of the genus *Alphacoronavirus*. The virus showed 72% nucleotide identity to a *Cardioderma* bat coronavirus from Kenya and up to 67% nucleotide identity to the YN2012 virus group found in horseshoe bats in China. RT-PCR screening revealed active circulation of both Kudep virus and the previously described SARS-like betacoronavirus Khosta-1 in the study area. Infection rates in a single *R. ferrumequinum* colony during autumn 2021 reached 59.2% and 70.5% for Kudep and Khosta-1, respectively. Frequent co-infections with both viruses were observed in individual bats.

Conclusion. Our findings expand the understanding of the distribution of bat alphacoronaviruses and their genetic diversity. We demonstrate the presence of a persistent natural foci of two potentially zoonotic bat coronaviruses, ecologically associated with *R. ferrumequinum* in the southern European part of Russia.

Keywords: bats; bat coronaviruses; Kudep virus; Khosta-1 virus; emerging and re-emerging infections; alphacoronaviruses; SARS-CoV-2; horseshoe bats

For citation: Lenshin S.V., Vishnevskaya T.V., Romashin A.V., Bulycheva Yu.I., Vyshemirsky O.I., Solovyeva S.A., Gitelman A.K., Pazilin A.S., Lvov D.K., Hu B., Shi Z.L., Alkhovsky S.V. Identification of a new alphacoronavirus (Coronaviridae: *Alphacoronavirus*) associated with the greater horseshoe bat (*Rhinolophus ferrumequinum*) in the south of European part of Russia. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2024; 69(6): 546–556. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-279> EDN: <https://elibrary.ru/yiclr>

Funding. The study was supported by the Russian Science Foundation (project No. 24-44-00079) and by the National Natural Science Foundation of China (project No. 3231101837).

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

Ethics approval. Authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with “Consensus author guidelines for animal use” (IAVES 23 July 2010). The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Sochi National Park (Protocol No. 5 dated 27 December 2023).

Введение

Коронавирусы летучих мышей, принадлежащие родам *Alphacoronavirus* и *Betacoronavirus* (Coronaviridae: *Orthocoronavirinae*), обладают значительным

зоонозным потенциалом [1–4]. Результаты многочисленных исследований показывают, что большинство известных коронавирусов человека, включая

сезонные альфакоронавирусы (α -CoV) HCoV-229E, HCoV-NL63 и бетакоронавирусы (β -CoV) SARS-CoV, SARS-CoV-2, MERS-CoV происходят от коронавирусов, ассоциированных с разными видами летучих мышей [5–7]. Коронавирусы, эволюционно связанные с вирусами летучих мышей, найдены в последнее время у разных видов диких и домашних животных [8, 9]. Это позволяет рассматривать летучих мышей как один из основных природных резервуаров и источников зоонозных коронавирусов, который играет ключевую роль в распространении коронавирусов или их отдельных генов между разными видами млекопитающих.

Летучие мыши относятся к отряду рукокрылых (*Chiroptera*), который включает более 1400 видов, объединенных в 21 семейство и 234 рода. По числу видов рукокрылые занимают второе место после грызунов среди всех млекопитающих. На территории России зарегистрированы не менее 45 видов летучих мышей, включая 3 вида подковоносов (*Rhinolophidae*: *Rhinolophus*): большой (*R. ferrumequinum* (Schreber, 1774), малый (*R. hipposideros* (Bechstein, 1800) и южный (*R. euryale* (Blasius, 1853) [10]. Подковоносы рассматриваются как природный резервуар SARS-подобных коронавирусов, два из которых (SARS-CoV и SARS-CoV-2) вызвали эпидемическую вспышку тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС) в 2002–2004 гг. и пандемию COVID-19 в 2019 г. соответственно. В Китае и странах Юго-Восточной Азии у различных видов подковоносов были обнаружены несколько групп дивергентных альфакоронавирусов, такие как *Rhinolophus bat coronavirus* HKU32 или группа HKU2 (подрод *Rhinacovirus*), к которой принадлежит возбудитель синдрома острой диареи свиной (SADS-CoV), вызвавший крупную эпизоотию в Китае в 2016–2019 гг. [9, 11–13]. Особый интерес представляет *R. ferrumequinum*, чей ареал практически непрерывно тянется от Северной Африки, Южной и Западной Европы через Среднюю Азию до Гималаев, Кореи и Японии, обеспечивая возможность распространения ассоциированных с ним вирусов в отдаленные регионы. В России ареал подковоносов ограничен территориями, лежащими южнее 44° северной широты, включая Северный Кавказ и северное побережье Черного моря. Исследования коронавирусов в российских популяциях летучих мышей носят фрагментарный характер [14–17]. Ранее при обследовании подковоносов в районе Большого Сочи (Краснодарский край) мы описали два новых SARS-подобных бетакоронавируса летучих мышей (вирусы Хоста-1 и Хоста-2), эволюционно связанных с вирусами SARS-CoV и SARS-CoV-2, а также с сарбековирусами летучих мышей из Европы, Африки и Азиатского региона [14]. Распространение близкородственных Хоста-1 вирусов отмечено и в других районах Большого Кавказа – в колониях большого подковоноса в Дагестане [17] и у южного подковоноса в Грузии [18]. В этих работах также был обнаружен альфакоронавирус летучих мышей, предварительно отнесенный авторами к подроду *Decacovirus* на осно-

ве консервативного домена RdRp (397 нуклеотидных остатков (н.о.)) [17]. В настоящей работе мы идентифицировали и полногеномно описали новый альфакоронавирус летучих мышей (названный вирусом «Кудеп», от названия реки Кудепста), ассоциированный с *R. ferrumequinum*. Результаты ПЦР-скрининга показали, что альфа- и бетакоронавирусы совместно коциркулируют в популяции большого подковоноса в данном регионе.

Материалы и методы

Материал для исследования. Сбор материала проводили в пещерах южного макросклона Большого Кавказа на северном побережье Черного моря (район Сочи-Адлер, Краснодарский край) в 2020–2024 гг. (таблица). Сбор осуществляли или поздней осенью, когда колония летучих мышей слетается на зимовку (2020, 2021 гг.), или ранней весной во время первых вылетов после спячки (2024 г.). Животных отлавливали руками со сводов пещер. Вид определяли на основе морфологических признаков опытный зоолог. Дополнительно видовая принадлежность *R. hipposideros* и *R. ferrumequinum* была подтверждена путем секвенирования митохондриального гена цитохрома b для нескольких выбранных проб. Для сбора фекалий летучих мышей каждую отдельную особь помещали в чистый хлопковый мешочек на 10–15 мин, после чего животное выпускали, а фекалии со стенки мешочка помещали в криобирку. Материал доставляли в лабораторию на льду и хранили при температуре –70 °С. Ни одно животное при сборе не было забито или повреждено. Сбор материала был одобрен Научным советом и комитетом по этике Сочинского национального парка (Протокол № 5 от 27 декабря 2023 г.).

Выделение РНК и полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Образцы суспендировали в 0,2 мл фосфатно-солевого буфера (PBS). Суммарная РНК была выделена из 0,1 мл полученной суспензии с использованием набора РНК-Экстран (НПК «Синтол», Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Тестирование проб на наличие РНК вирусов Хоста-1 и Хоста-2 проводили, как было указано ранее [14], с использованием специфических праймеров и зондов (Kh1_pr FAM-ACCTGTGCCTGTGAGTCCATT-BQ1, Kh1_F CACTGTTGGTGTAGGT-TAC, и Kh1_R CTGGAATGACTGAAATCTCTTA для Хоста-1; Kh2_pr HEX-AAGCACCAACGACAC-CAGCATCTC-BQ2, Kh2_F CGCCAAGCACTATTA-AAGACAG, и Kh2_R CGAAGTCGTACCAGTTTCCA для вируса Хоста-2) и реагента TaqPath 1-Step Multiplex Master Mix (ThermoFisher Scientific, США). Кратко: 5 мкл РНК добавляли к 15 мкл реакционной смеси, содержащей 1× TaqPath 1-Step Multiplex Master Mix, по 400 нМ прямого и обратного праймера и 200 нМ соответствующего зонда. Температурный режим реакции: инкубация 30 мин при 50 °С для реакции обратной транскрипции, инкубация 30 с при температуре 95 °С для активации Taq-полимеразы. Далее 45 циклов ПЦР: 10 с при 95 °С для денатурации и 30 с при 55 °С для элонгации и регистрации сигнала. Выявление

Таблица. Результаты ОТ-ПЦР-скрининга подковоносых летучих мышей (*Rhinolophus* spp.) на наличие коронавирусов Хоста-1, Хоста-2 (*Betacoronavirus*) и Кудеп (*Alphacoronavirus*) в 2020, 2021 (осень) и 2024 (весна) гг., северное побережье Черного моря

Table. Results of RT-PCR screening of horseshoe bats (*Rhinolophus* spp.) on coronaviruses Khosta-1, Khosta-2 (*Betacoronavirus*), and Kudep (*Alphacoronavirus*), collected in 2020, 2021 (autumn), and 2024 (spring), Northern coast of the Black Sea

Локация Location	Вид Bat species	2020 (осень) 2020 (autumn)			2021 (осень) 2021 (autumn)			2024 (весна) 2024 (spring)		
		Хоста-1 Khosta-1 (β-CoV)	Хоста-2 Khosta-2 (β-CoV)	Кудеп Kudep (α-CoV)	Хоста-1 Khosta-1 (β-CoV)	Хоста-2 Khosta-2 (β-CoV)	Кудеп Kudep (α-CoV)	Хоста-1 Khosta-1 (β-CoV)	Хоста-2 Khosta-2 (β-CoV)	Кудеп Kudep (α-CoV)
Подвал НИИ мед. приматологии Institute of Medical Primates (43°26'06.3" N 39°59'26.4" E)	<i>R. hipposideros</i>	0/24	2/24 (8,3%)	0/24	0/13	1/13 (7,7%)	0/13	–	–	–
	<i>R. euryale</i>	0/1	0/1	0/1	–	–	–	–	–	–
Пещера Музейная (Хостинская 2) Museinaya cave (Khosta 2 cave) (43°33'34.3" N 39°53'46.2" E)	<i>R. ferrumequinum</i>	0/2	0/2	0/2	–	–	–	–	–	–
	<i>R. hipposideros</i>	0/2	0/2	0/2	–	–	–	–	–	–
Пещера Хостинская 1 Khosta 1 cave (43°33'49.5" N 39°53'57.2" E)	<i>R. ferrumequinum</i>	1/13 (7,7%)	0/13	2/13 (15,3%)	1/2	0/2	1/2	–	–	–
Пещера Колокольная Kolokolnaya cave (43°33'08.3" N, 39°56'02.4" E)	<i>R. ferrumequinum</i>	15/24 (62,5%) 1*	0/24	2/24 (8,3%) 1*	36/51 (70,5%) 21*	0/51	27/51 (52,9%) 21*	3/22 (13,6%)	0/22	3/22 (13,6%)
	<i>R. euryale</i>	0/2	0/2	0/2	–	–	–	–	–	–
	<i>R. hipposideros</i>	–	–	–	–	–	–	0/2	0/2	0/2
Пещера Партизанская Partizanskaya cave (43°37'38.86" N, 39°54'46.06" E)	<i>R. ferrumequinum</i>	0/1	0/1	0/1	–	–	–	–	–	–
	<i>R. hipposideros</i>	1/3 (33%)	0/3	0/3	–	–	–	–	–	–
Всего Total		17/70 (14,9%)	2/70 (1,75%)	4/70 (3,5%)	37/66 (56,0%)	1/66 (1,5%)	28/66 (42,4%)	3/24 (12,5%)	0/24	3/24 (12,5%)

Примечание. Указано число положительных проб/общее число обследованных проб для каждого вида и локации. Указанное значение долей (%) является индикативным и не подтверждено статистическими методами. * – число проб, одновременно положительных по вирусу Хоста-1 и вирусу Кудеп.

Note. The number of positive samples/number of samples is shown for each species and location. The percentage value (%) is indicative and is not confirmed by statistical methods. * – number of samples simultaneously positive for Khosta-1 virus and Kudep virus.

ние РНК нового альфа коронавируса Кудеп проводили с использованием подобранных праймеров и зондов (Alph_pr ROX-TGCCACAAGTTGCCACCGTCA-BQ2, Alph_F GCTTGCTGCTGAAGATCC, Alph_R CCACATCATTAACAGTGCGAATA) по такой же методике.

Высокопроизводительное секвенирование (NGS) и анализ данных. Секвенирование проб проводили, как описано ранее [14]. Часть проб были пулированы по видам и локациям (10–12 проб в пуле). Положительные в ПЦР пробы секвенировали индивидуально. Для удаления рибосомальной РНК использовали набор NEBNext rRNA Depletion kit (NEB, США). Для получения кДНК библиотек использовали набор NEBNext Ultra II RNA library kit for Illumina (NEB, США) в соответствии с инструкцией производителя. Измерение молярности полученных библиотек проводили методом ПЦР в реальном времени согласно рекомендациям, изложенным в руководстве Sequencing Library qPCR Quantification Guide

(Illumina, США). Секвенирование кДНК-библиотек осуществляли в формате 2 × 100 на приборе NovaSeq 6000 (Illumina, США) на базе центра Genetico (Москва). В среднем получали 80–110 млн парных ридов для пулированных проб и 25–40 млн парных ридов для индивидуальных проб. Полученные риды были отфильтрованы по качеству и после удаления адаптеров собраны *de novo* с использованием программного обеспечения CLC Genomics Workbench 7.0 (Qiagen, Германия). Полученные контиги анализировали по алгоритму blastx с использованием программы DIAMOND против базы данных протеинов вирусов семейства Coronaviridae, загруженных из базы GenBank с использованием собственного Python скрипта (модуль BioPython).

Генетический и филогенетический анализ. Нуклеотидные и аминокислотные последовательности альфа коронавируса были выровнены по алгоритму ClustalW, имплементированного в программное обеспечение MEGAX (<https://www.megasoftware>).

net/). Всего 50 доступных в GenBank геномов альфакооронавирусов, принадлежащих 9 (из 16) под родам были использованы для анализа. Аминокислотные выравнивания для отдельных белков (ORF1a, ORF1b, S, ORF3, E, M, и N) были использованы для расчета значения идентичности (identity, %) между разными вирусами. Для филогенетического анализа подбирали лучшую модель замен с помощью «model selection module» в программе MEGAX. Филогенетические деревья были построены на основе аминокислотных последовательностей RdRp, поверхностного спайкового белка S и белка нуклеокапсида N с использованием выбранной модели (LG + G + I + F для RdRp, LG + G + F для белков S и N соответственно) и бутстреп тестированием (1000×) в программе MEGAX. Для таксономического анализа использовали критерии, принятые Международным комитетом по таксономии вирусов (ICTV, <https://ictv.global/report/chapter/coronaviridae/coronaviridae>) [19]. Для этого аминокислотные последовательности консервативных доменов гена *ORF1ab* (nsp5(3CL^{pro}), NiRAN, nsp12(RdRp), ZBD, nsp13(Hel1)) для каждого из анализируемых вирусов были объединены в одну последовательность (конкатенация), выровнены по алгоритму ClustalW и использованы для расчета процентов различающихся аминокислот. Вирусы, принадлежащие разным видам, должны иметь не более 92% идентичных а.о. в данных последовательностях консервативных доменов.

Результаты

Идентификация и генетическая характеристика нового альфакооронавируса летучих мышей. После сборки *de novo* геном нового альфакооронавируса Кудеп был идентифицирован в виде протяженного контига длиной 28 142 н.о. (включая поли(A)-хвост) в пробе F2, содержащей материал от *R. ferrumequinum*, собранный в п. Колокольная в 2020 г. После подбора специфических праймеров и зонда и ПЦР-скрининга (см. ниже) было проведено секвенирование индивидуальных положительных проб, содержащих РНК вируса Кудеп в высоком титре (значение Ct < 25 в ОТ-ПЦР в реальном времени). В результате получены практически полные геномные последовательности для 7 штаммов вируса Кудеп, включая один штамм 2020 г. (Kudep/F2/2020) и 6 штаммов 2021 г. (штаммы Kudep/2021/59, Kudep/2021/71, Kudep/2021/80, Kudep/2021/86, Kudep/2021/100 и Kudep/2021/107). Все секвенированные штаммы были получены от *R. ferrumequinum* из п. Колокольная в 2020 и 2021 гг. соответственно.

Анализ полученных данных показал, что геномы штаммов 59, 71 и 86 (все 2021 г.) на 100% идентичны и не содержат нуклеотидных замен при попарном сравнении геномов. Также 100% идентичность между собой имеют штаммы 80 и 107 (оба 2021 г.). Между этими двумя группами идентичных штаммов наблюдается 27 н.о. замен при полногеномном сравнении. Шестой штамм 2021 г. (под номером 100) отличается от группы 59/71/86 на 7 нуклеотидных замен и на 34 н.о.

от группы 80/107. Прототипный штамм вируса Кудеп F3/2020 отличается от штаммов 2021 г. на 8 н.о. (штаммы 80, 107), 19 н.о. (штаммы 59, 71, 86) и 32 н.о. (штамм 100). Отличительной особенностью штаммов F3, 80, и 107 является инсерция 9 н.о. в гене нуклеопротеина, приводящая к вставке 164QNN166 белке N, отсутствующая у штаммов 59, 71 и 86.

Геном нового альфакооронавируса Кудеп имеет характерную для альфакооронавирусов структуру. Две трети генома с 5'-конца занимает ген *ORF1ab*, который транслируется в виде протяженного полипротеина и нарезается на два основных белка – ORF1a и ORF1b. Дальнейший процессинг приводит к образованию 16 неструктурных белков репликативного комплекса (nsp1–nsp11 из ORF1a, nsp12–nsp16 из ORF1b). РНК-зависимая РНК-полимераза RdRp (nsp12), которая является наиболее консервативным белком, кодируется регионом 1–927 аминокислотных остатков (а.о.) полипротеина ORF1b. Остальная часть генома занята генами четырех структурных белков (S, E, M, и N) и генами нескольких неструктурных белков, число и структура которых может варьировать у разных кооронавирусов. Всего в геноме вируса Кудеп обнаруживается 8 открытых рамок считывания (ORF), кодирующих характерные для кооронавирусов белки: ORF1ab-S-ORF3a-ORF3b-E-M-N-ORFx. Отличительной особенностью генома вируса Кудеп является наличие дополнительной рамки считывания между генами S и E, в результате чего ORF3 разделена на два гена. Первый из них, *ORF3a*, кодирует белок длиной 120 а.о., который не обнаруживает гомологов среди известных вирусных белков при анализе в сервисе BLASTp (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Следующая рамка считывания, *ORF3b*, кодирует неструктурный белок, имеющий сходство 55–78% в а.о. с соответствующими белками других альфакооронавирусов летучих мышей. В геноме вируса Кудеп отсутствуют гены вспомогательных белков ORF4, ORF7, ORF8 и ORF9, часто встречающиеся у вирусов летучих мышей, но обнаруживается ген предполагаемого белка ORFx (107 а.о.) с неизвестной функцией.

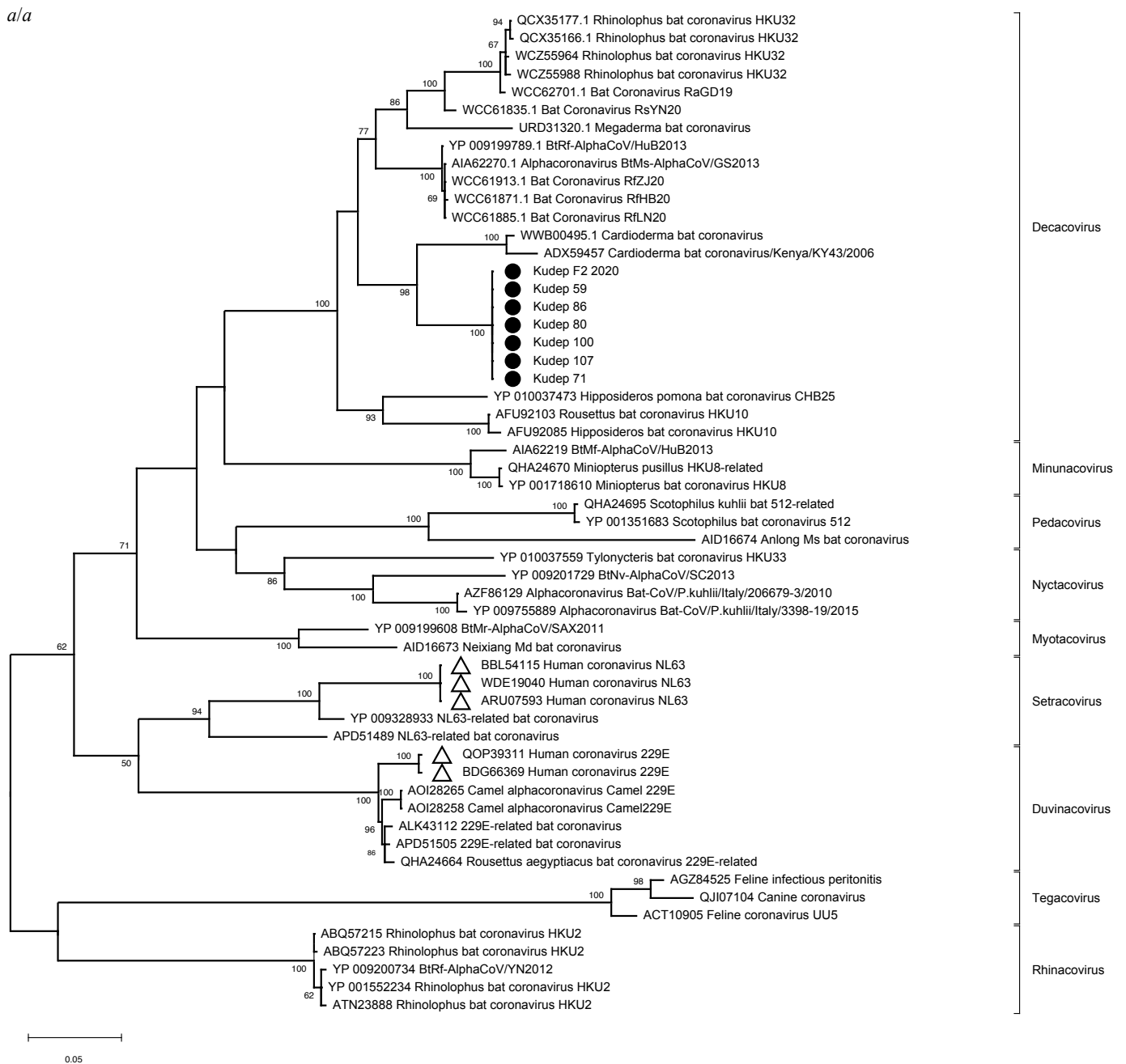
Структура генома вируса Кудеп наиболее схожа с вирусом *Cardioderma bat coronavirus/Kenya/KY43/2006* (штамм VtKY43), изолированным от Африканского ложного вампира (*Cardioderma cor*) в Кении в 2006 г. [20]. При полногеномном сравнении вирус Кудеп имеет максимальное значение идентичности (72% н.о.) с VtKY43 и его штаммами, и 67% н.о. идентичности с группой вирусов подковоносов из Китая (YN2012). Уровень идентичности RdRp (ORF1b) вируса Кудеп составляет 92% а.о. с вирусом VtKY43. С вирусами из Китая и Юго-Восточной Азии это значение составляет 87–90% а.о. Большинство структурных белков вируса Кудеп также имеют максимальную схожесть с VtKY43, включая поверхностный белок E (85% а.о. идентичности), мембранный протеин M (90–92% а.о.), и нуклеокапсидный белок N (81% а.о.). При сравнении с вирусами из Азиатского региона наибольшие значения идентичности состав-

ляют 83% а.о. для протеина E (штамм NuB2013, *R. ferrumequinum*, 2013 г., Китай), 90% для протеина M (штамм PH20, *R. shameli*, 2010 г., Камбоджа) и 69,7% для протеина N (штамм RfLN20, *R. ferrumequinum*, 2020 г., Китай) соответственно.

Последовательность поверхностного белка S вируса Кудеп имеет 58–73% а.о. идентичности с известными альфакоронавирусами, причем наиболее близкими из них (73% а.о. идентичности) являются вирусы BtCoV/Rh/YN2012_Rs4125 и BtCoV/Rh/YN2012_Rs4259, изолированные от подковоносов в Китае в 2012–2013 гг. Тогда как схожесть S-белка вируса Кудеп с вирусом BtKY43, который наиболее близок ему по RdRp, составляет только 62% а.о.

Два неструктурных вспомогательных белка, ORF3b и предполагаемый ORFX, имеют 77 и 55% а.о. идентичности с BtKY43 соответственно.

Филогенетический анализ. На рисунке представлена филогения отдельных представителей рода *Alphacoronavirus* на основе консервативного протеина RdRp (рис. а), спайкового протеина S (рис. б) и нуклеопротеина N (рис. в). На всех филогенетических деревьях новый альфакоронавирус Кудеп формирует отдельную ветвь внутри подрода *Decacovirus*. На дендрограммах, построенных на основе RdRp и белка нуклеокапсида N, вирус Кудеп является сестринской кладой для африканского BtKY43. На дендрограмме для белка S ближайшая к вирусу Кудеп генетиче-



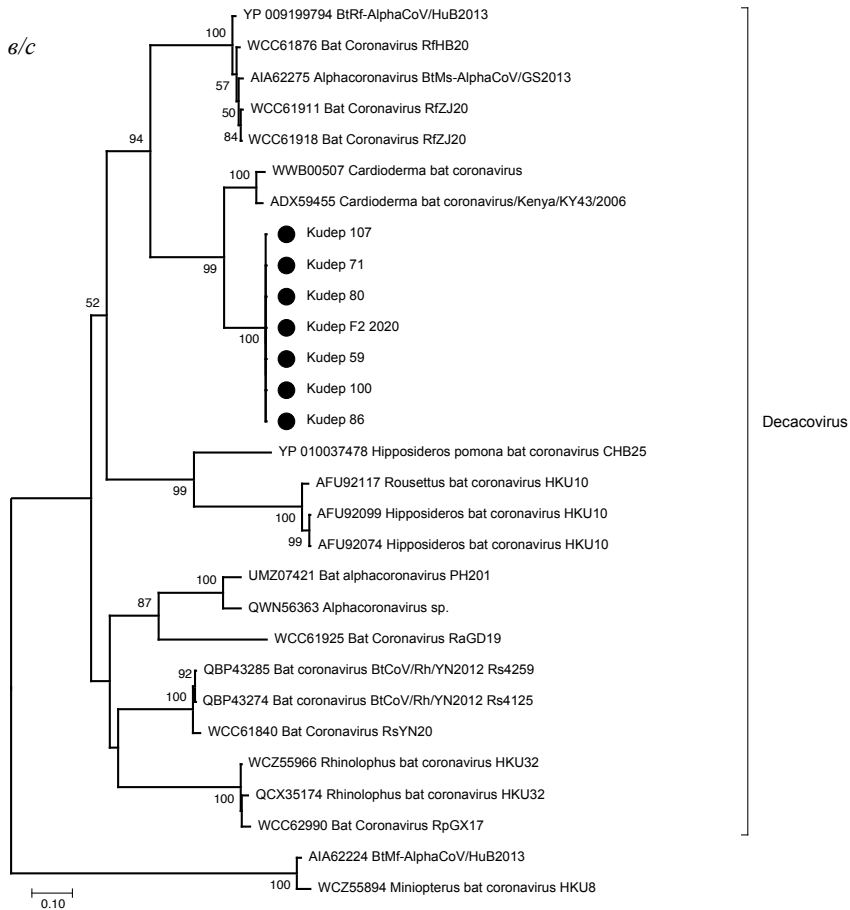
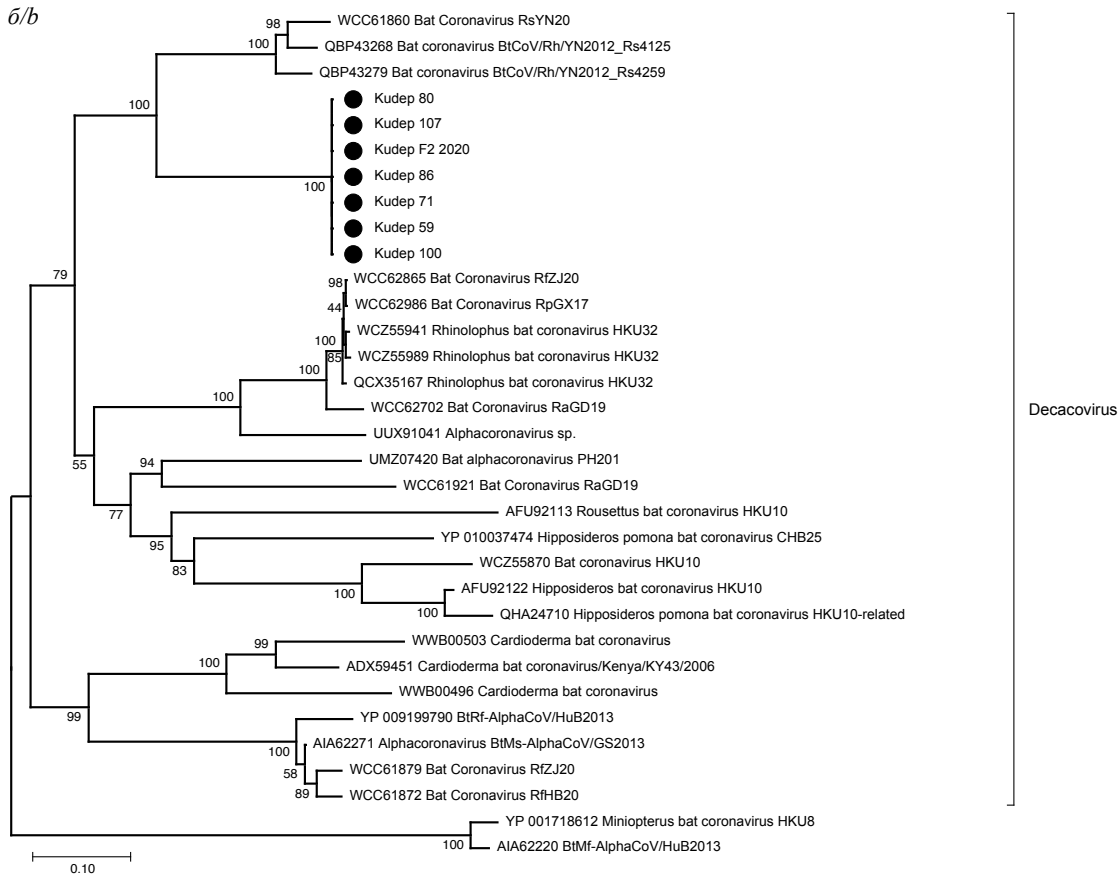


Рисунок. Филогения вируса Кудеп, построенная на основе анализа аминокислотной последовательности RdRp (a), спайкового белка S (б), белка нуклеокапсида N (в) отдельных представителей рода *Alphacoronavirus*.

Вирус Кудеп отмечен черным кружком; вирусы человека – прозрачным треугольником.

Figure. Phylogeny of Kudep virus based on analysis of RdRp (a), spike protein S (b), and nucleocapsid protein N (c) of certain representatives of the genus *Alphacoronavirus*.

The Kudep virus is marked with a black circle. Human coronaviruses are marked with a transparent triangle.

ская линия представлена штаммами от подковоносов из Китая.

Таксономический анализ. При попарном сравнении консервативных доменов гена *ORF1ab* (nsp5(3CL^{pro}), NiRAN, nsp12(RdRp), ZBD, nsp13(Hel1)) вируса Кудеп с другими альфакоронавирусами, максимальное сходство (91% идентичных а.о.) получено для BtKY43. С ближайшими штаммами от подковоносов из Китая это значение составило 88%.

Результаты ОТ-ПЦР-обследования. В таблице представлены результаты ОТ-ПЦР-обследования подковоносов на наличие сарбековирозов Хоста-1, Хоста-2 (*Betacoronavirus*) и нового альфакоронавируса Кудеп. Вирус Хоста-1 преимущественно ассоциирован с *R. ferrumequinum*, только одна положительная проба (из 3 протестированных из п. Партизанская) принадлежала *R. hipposideros*. Наибольшее число положительных проб было получено из колонии большого подковоноса в п. Колокольная. Общая зараженность вирусом Хоста-1 *R. ferrumequinum* в колонии в п. Колокольная в осенний период составила 62,5–70% (2020–2021 гг.). В осенний период 2024 г. зараженность колонии определена в 13%. Общая зараженность подковоносов в регионе вирусом Хоста-1 составила от 12,5% (2024 г.) до 56% (2021 г.). Вирус Хоста-2 был выявлен только у *R. hipposideros* и только в одной локации за все время наблюдения.

Новый альфакоронавирус Кудеп был обнаружен только у *R. ferrumequinum* в двух достаточно близко расположенных локациях – в п. Хостинская-1 и в п. Колокольная. Так же, как и в случае с вирусом Хоста-1, зараженность *R. ferrumequinum* новым альфакоронавирусом Кудеп достигала высоких значений в осенний период (до 52,9% в 2021 г.). Весной 2024 г. этот показатель составил 13,6%. Общая зараженность подковоносов новым альфакоронавирусом Кудеп составила от 3,5% (2020 г.) до 42,4% (2021 г.). При этом 21 проба из п. Колокольная в 2021 г. была одновременно положительной на вирус Хоста-1 и новый альфакоронавирус Кудеп. В материале из этой пещеры в 2020 г. обнаружена только одна такая проба (из 2 положительных по вирусу Кудеп). В п. Хостинская-1, второй локации, где обнаружен новый альфакоронавирус Кудеп, коинфекция с вирусом Хоста-1 выявлена в одной пробе в 2020 г. (из 2 положительных) и в одной пробе в 2021 г.

Обсуждение

Летучие мыши рассматриваются как основной природный резервуар для альфа- и бетакоронавирусов. В результате преодоления межвидового барьера коронавируса летучих мышей передаются другим видам млекопитающих, включая сельскохозяйственных животных и человека, что часто приводит к возникновению эпидемических или эпизоотических вспышек и пандемий. Результаты многочисленных исследований показывают, что коронавирусы летучих мышей распространены повсеместно внутри их ареала, включая Европу, Африку, Китай и Юго-Восточную Азию и регионы Нового Света [21–24]. В настоящей работе мы идентифицировали но-

вый альфакоронавирус Кудеп, циркулирующий в популяции *R. ferrumequinum* на юге России (субтропический регион Краснодарского края, Сочи-Адлер). Всего нами полногеномно охарактеризованы 7 штаммов вируса Кудеп, обнаруженных в 2020 г. (1 штамм) и 2021 г. (6 штаммов). Хотя все секвенированные штаммы вируса Кудеп получены из одной локации с интервалом в 1 год, между ними наблюдаются определенные различия как в виде отдельных нуклеотидных замен, так и в виде делеций/инсерций в структурном белке нуклеокапсида, что является отражением идущего эволюционного процесса. Дальнейшие наблюдения позволят нам точно определить скорость накопления мутаций для данной вирусной популяции.

Геном вируса Кудеп имеет характерные для альфакоронавирусов размер и структуру. Наибольшее сходство геном вируса Кудеп имеет с альфакоронавирусом *Cardioderma bat coronavirus* (штаммы BtKY43, 2A/Kenya/BAT2621/2015 и 2B/Kenya/BAT2618/2015), который был обнаружен у Африканского ложного вампира (*Cardioderma cor*) в Кении [20]. Оба вируса характеризуются отсутствием генов вспомогательных неструктурных белков ORF4, ORF7, ORF8 и ORF9, которые в том или ином виде, как правило, присутствуют у альфакоронавирусов летучих мышей из Азиатского региона [25]. При сравнении полных геномов вирус Кудеп имеет приблизительно одинаковый уровень идентичности (67–72% н.о.) с BtKY43 и с рядом вирусов, найденных у *Rhinolophus* spp. в Китае. При анализе аминокислотных последовательностей структурных и неструктурных белков вирус Кудеп также оказывается равноудален и от африканских, и от азиатских вирусов (87–92% идентичности по RdRp).

Филогенетический анализ относит вирус Кудеп в подрод *Decacovirus*. Подрод включает в себя несколько линий вирусов, связанных с разными видами подковоносов (*Rhinolophus bat coronavirus* HKU32, YN2012, и др.), а также вирусы HKU10, найденные у подковогубых летучих мышей (*Hipposideros bat coronavirus* HKU10) и крыланов (*Rousettus bat coronavirus* HKU10) в Китае. К этому же подроду относятся два вируса от ложных вампиров (Megadermatidae) – ранее упомянутый BtKY43 из Кении и *Megaderma bat coronavirus* из Бангладеш. Таким образом, альфакоронавирусы данного подрода обладают значительной экологической пластичностью, что позволяет им совершать межвидовую трансмиссию между различными семействами летучих мышей и даже между представителями разных подотрядов отряда рукокрылых [26]. Положение вируса Кудеп внутри подрода *Decacovirus* практически совпадает на деревьях, построенных на основе RdRp и на основе структурного белка нуклеокапсида N, где вирус Кудеп формирует отдельную генетическую линию и кластеризуется рядом с линией BtKY43. Филогения на основе S-белка помещает линию вируса Кудеп рядом с одной из линий вирусов подковоносов (YN2012) из Китая [11].

Для определения таксономического положения вируса Кудеп мы проанализировали схожесть его консервативных доменов гена *ORF1ab* (nsp5(3CL^{pro}),

NiRAN, nsp12(RdRp), ZBD, nsp13(Hel1)) с другими известными альфакоронавирусами. Полученные максимальные значения схожести составили 91% идентичных а.о. (с VtKY43), что соответствует демаркационным критериям ICTV (92% идентичных а.о.) при определении отдельного вида коронавируса (<https://ictv.global/report/chapter/coronaviridae/coronaviridae>) [19]. Таким образом, мы предполагаем, что найденный нами вирус Кудеп представляет новый вид в составе подрода *Decacovirus* рода *Alphacoronavirus*.

Результаты ОТ-ПЦР-скрининга показывают, что ранее описанный нами SARS-подобный бетакоронавирус Хоста-1 и новый альфакоронавирус Кудеп активно циркулируют на обследованной территории. Зараженность этими вирусами в колонии *R. ferrumequinum* в п. Колокольная осенью 2021 г. достигала 70,5 и 59,2% соответственно. Многочисленные исследования демонстрируют, что зараженность летучих мышей коронавирусами может варьировать в широких пределах – от 0 до 60–70%, в зависимости от локации и времени года [27–30]. В весеннем сборе 2024 г. зараженность большого подковоноса оказалась значительно ниже (13%), но выявление вирусов Хоста-1 и Кудеп ранней весной может свидетельствовать об активной персистирующей инфекции.

В обеих колониях большого подковоноса (п. Хостинская-1 и п. Колокольная), где обнаружены вирусы Хоста-1 и новый альфакоронавирус Кудеп, выявлены случаи коинфекции отдельных особей двумя вирусами. В 2021 г. такие пробы составили более 1/2 от всех положительных проб. Обнаружение коронавируса и в осенний, и в весенний периоды на протяжении 4 лет наблюдения (2020–2024 гг.) позволяет сделать вывод о наличии здесь стойкого природного очага двух коронавирусов – бетакоронавируса Хоста-1 и нового альфакоронавируса Кудеп, экологически связанных с *R. ferrumequinum*.

Необходимо отметить, что в обследованных пещерах, населенных подковоносами, отмечены следы посещения пещер спелеологами, стадом домашних коз (летом в поиске прохлады), шакалами и дикими лесными котами. Это создает возможность экспозиции и передачи выявленных коронавирусов летучих мышей человеку или животным. Выявление вирусного разнообразия в природных биотопах и изучение эволюционных процессов, приводящих к появлению новых вирусных инфекций, является актуальной задачей современной вирусологии. Эти исследования имеют серьезное прикладное значение в контроле появления новых и возвращающихся инфекций. Эпидемиологические ситуации будут возникать и в будущем, что требует объединения усилий на международном уровне, направленных на проведение постоянного мониторинга популяционного генофонда потенциально зоонозных вирусов [31, 32].

ЛИТЕРАТУРА

1. Львов Д.К. ред. Экология вирусов. В кн.: *Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных*. М.: МИА; 2013.
2. Letko M., Seifert S.N., Olival K.J., Plowright R.K., Munster V.J. Bat-borne virus diversity, spillover and emergence. *Nat. Rev. Microbiol.* 2020; 18(8): 461–71. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0394-z>
3. Grange Z.L., Goldstein T., Johnson C.K., Anthony S., Gilardi K., Daszak P., et al. Ranking the risk of animal-to-human spillover for newly discovered viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2021; 118(15): e2002324118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2002324118>
4. Forni D., Cagliani R., Clerici M., Sironi M. Molecular Evolution of Human Coronavirus Genomes. *Trends Microbiol.* 2016; 25(1): 35–48. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.09.001>
5. Li W., Shi Z., Yu M., Ren W., Smith C., Epstein J.H., et al. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science.* 2005; 310(5748): 676–9. <https://doi.org/10.1126/science.1118391>
6. Львов Д.К., Альховский С.В. Истоки пандемии COVID-19: экология и генетика коронавируса (Betacoronavirus: Coronaviridae) SARS-CoV, SARS-CoV-2 (подрод Sarbecovirus), MERS-CoV (подрод Merbecovirus). *Вопросы Вирусологии.* 2020; 65(2): 62–70. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-2-62-70> <https://elibrary.ru/hnouwn>
7. Woo P.C., Lau S.K., Lam C.S., Lau C.C., Tsang A.K., Lau J.H., et al. Discovery of seven novel Mammalian and avian coronaviruses in the genus deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavi. *J. Virol.* 2012; 86(7): 3995–4008. <https://doi.org/10.1128/jvi.06540-11>
8. Zhou P., Fan H., Lan T., Yang X.L., Shi W.F., Zhang W., et al. Fatal swine acute diarrhoea syndrome caused by an HKU2-related coronavirus of bat origin. *Nature.* 2018; 556(7700): 255–8. <https://doi.org/10.1038/S41586-018-0010-9>
9. Леншин С.В., Ромашин А.В., Вышемирский О.И., Львов Д.К., Альховский С.В. Летучие мыши субтропической зоны Краснодарского края России как возможный резервуар зоонозных вирусных инфекций. *Вопросы вирусологии.* 2021; 66(2): 112–22. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-41> <https://elibrary.ru/bimauw>
10. Wang N., Luo C., Liu H., Yang X., Hu B., Zhang W., et al. Characterization of a new member of alphacoronavirus with unique genomic features in Rhinolophus bats. *Viruses.* 2019; 11(4): 379. <https://doi.org/10.3390/v11040379>
11. Wu Z., Yang L., Ren X., He G., Zhang J., Yang J., et al. Deciphering the bat virome catalog to better understand the ecological diversity of bat viruses and the bat origin of emerging infectious diseases. *ISME J.* 2016; 10(3): 609–20. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.138>
12. Lau S.K.P., Wong A.C.P., Zhang L., Luk H.K.H., Kwok J.S.L., Ahmed S.S., et al. Novel bat alphacoronaviruses in southern China support Chinese horseshoe bats as an important reservoir for potential novel coronaviruses. *Viruses.* 2019; 11(5): 423. <https://doi.org/10.3390/v11050423>
13. Alkhovsky S., Lenchin S., Romashin A., Vishnevskaya T., Vyshemirsky O., Bulycheva Y., et al. SARS-like Coronaviruses in Horseshoe Bats (*Rhinolophus* spp.) in Russia, 2020. *Viruses.* 2022; 14(1): 113. <https://doi.org/10.3390/v14010113>
14. Yashina L.N., Zhigalin A.V., Abramov S.A., Luchnikova E.M., Smetannikova N.A., Dupal T.A., et al. Coronaviruses (Coronaviridae) of bats in the northern Caucasus and south of western Siberia. *Vopr. Virusol.* 2024; 69(3): 255–65. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-233>
15. Urushadze L., Babuadze G., Shi M., Escobar L.E., Mauldin M.R., Natradeze I., et al. A cross sectional sampling reveals novel coronaviruses in bat populations of Georgia. *Viruses.* 2021; 14(1): 72. <https://doi.org/10.3390/v14010072>
16. Tao Y., Tang K., Shi M., Conrardy C., Li K.S., Lau S.K., et al. Genomic characterization of seven distinct bat coronaviruses in Kenya. *Virus Res.* 2012; 167(1): 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.04.007>
17. Liu D.X., Fung T.S., Chong K.K., Shukla A., Hilgenfeld R. Accessory proteins of SARS-CoV and other coronaviruses. *Antiviral Res.* 2014; 109: 97–109. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.06.013>
18. Lau S.K., Li K.S., Tsang A.K., Shek C.T., Wang M., Choi G.K., et al. Recent transmission of a novel alphacoronavirus, bat coronavirus HKU10, from Leschenault's rousettes to pomona leaf-nosed bats: first evidence of interspecies transmission of coronavirus between bats of different suborders. *J. Virol.* 2012; 86(21): 11906–18. <https://doi.org/10.1128/jvi.01305-12>
19. Drexler J.F., Corman V.M., Drosten C. Ecology, evolution and classification of bat coronaviruses in the aftermath of SARS. *Antiviral Res.* 2014; 101: 45–56. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.10.013>

20. Tao Y., Tang K., Shi M., Conrardy C., Li K.S., Lau S.K., et al. Genomic characterization of seven distinct bat coronaviruses in Kenya. *Virus Res.* 2012; 167(1): 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.04.007>
21. Anthony S.J., Johnson C.K., Greig D.J., Kramer S., Che X., Wells H., et al. Global patterns in coronavirus diversity. *Virus Evol.* 2017; 3(1): vex012. <https://doi.org/10.1093/ve/vex012>
22. Cohen L.E., Fagre A.C., Chen B., Carlson C.J., Becker D.J. Coronavirus sampling and surveillance in bats from 1996–2019: a systematic review and meta-analysis. *Nat. Microbiol.* 2023; 8(6): 1176–86. <https://doi.org/10.1038/s41564-023-01375-1>
23. Bueno L.M., Rizotto L.S., Viana A.O., Silva L.M.N., de Moraes M.V.D.S., Benassi J.C., et al. High genetic diversity of alphacoronaviruses in bat species (Mammalia: Chiroptera) from the Atlantic Forest in Brazil. *Transbound. Emerg. Dis.* 2022; 69(5): e2863–75. <https://doi.org/10.1111/tbed.14636>
24. Caraballo D.A., Sabio M.S., Colombo V.C., Piccirilli M.G., Vico L., Hirmas Riade S.M., et al. The role of Molossidae and Vespertilionidae in shaping the diversity of alphacoronaviruses in the Americas. *Microbiol. Spectr.* 2022; 10(6): e0314322. <https://doi.org/10.1128/spectrum.03143-22>
25. Liu D.X., Fung T.S., Chong K.K., Shukla A., Hilgenfeld R. Accessory proteins of SARS-CoV and other coronaviruses. *Antiviral Res.* 2014; 109: 97–109. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.06.013>
26. Lau S.K., Li K.S., Tsang A.K., Shek C.T., Wang M., Choi G.K., et al. Recent transmission of a novel alphacoronavirus, bat coronavirus HKU10, from Leschenault's rousettes to pomona leaf-nosed bats: first evidence of interspecies transmission of coronavirus between bats of different suborders. *J. Virol.* 2012; 86(21): 11906–18. <https://doi.org/10.1128/jvi.01305-12>
27. Fan Y., Zhao K., Shi Z.L., Zhou P. Bat Coronaviruses in China. *Viruses.* 2019; 11(3): 210. <https://doi.org/10.3390/v11030210>
28. Balboni A., Palladini A., Bogliani G., Battilani M. Detection of a virus related to betacoronaviruses in Italian greater horseshoe bats. *Epidemiol. Infect.* 2011; 139(2): 216–9. <https://doi.org/10.1017/s0950268810001147>
29. Wang L.F., Shi Z., Zhang S., Field H., Daszak P., Eaton B.T. Review of bats and SARS. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(12): 1834–40. <https://doi.org/10.3201/eid1212.060401>
30. Drexler J.F., Corman V.M., Drosten C. Ecology, evolution and classification of bat coronaviruses in the aftermath of SARS. *Antiviral Res.* 2014; 101: 45–56. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.10.013>
31. Lvov D.K., Shchelkanov M.Y., Alkhovskiy S.V., Deryabin P.G. *Zoonotic viruses of Northern Eurasia: Taxonomy and ecology*. London: Academic Press, Elsevier; 2015.
32. Львов Д.К., Борисевич С.В., Альховский С.В., Бурцева Е.И. Современные подходы анализа вирусных геномов в интересах биобезопасности. *Инфекционные болезни: Новости, Мнения, Обучение*. 2019; 8(2): 96–101. <https://doi.org/10.24411/2305-3496-2019-12012> <https://elibrary.ru/xbkmp1>
- 65(2): 62–70. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-2-62-70> <https://elibrary.ru/hnourn> (in Russian)
7. Woo P.C., Lau S.K., Lam C.S., Lau C.C., Tsang A.K., Lau J.H., et al. Discovery of seven novel Mammalian and avian coronaviruses in the genus deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavi. *J. Virol.* 2012; 86(7): 3995–4008. <https://doi.org/10.1128/jvi.06540-11>
8. Zhou P., Fan H., Lan T., Yang X.L., Shi W.F., Zhang W., et al. Fatal swine acute diarrhoea syndrome caused by an HKU2-related coronavirus of bat origin. *Nature*. 2018; 556(7700): 255–8. <https://doi.org/10.1038/S41586-018-0010-9>
9. Leshin S.V., Romashin A.V., Vyshemirsky O.I., Lvov D.K., Alkhovskiy S.V. Bats of the subtropical climate zone of the Krasnodar territory of Russia as a possible reservoir of zoonotic viral infections. *Voprosy virusologii*. 2021; 66(2): 112–22. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-41> <https://elibrary.ru/bimauw> (in Russian)
10. Wang N., Luo C., Liu H., Yang X., Hu B., Zhang W., et al. Characterization of a new member of alphacoronavirus with unique genomic features in Rhinolophus bats. *Viruses*. 2019; 11(4): 379. <https://doi.org/10.3390/v11040379>
11. Wu Z., Yang L., Ren X., He G., Zhang J., Yang J., et al. Deciphering the bat virome catalog to better understand the ecological diversity of bat viruses and the bat origin of emerging infectious diseases. *ISME J.* 2016; 10(3): 609–20. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.138>
12. Lau S.K.P., Wong A.C.P., Zhang L., Luk H.K.H., Kwok J.S.L., Ahmed S.S., et al. Novel bat alphacoronaviruses in southern China support Chinese horseshoe bats as an important reservoir for potential novel coronaviruses. *Viruses*. 2019; 11(5): 423. <https://doi.org/10.3390/v11050423>
13. Alkhovskiy S., Leshin S., Romashin A., Vishnevskaya T., Vyshemirsky O., Bulycheva Y., et al. SARS-like Coronaviruses in Horseshoe Bats (*Rhinolophus* spp.) in Russia, 2020. *Viruses*. 2022; 14(1): 113. <https://doi.org/10.3390/v14010113>
14. Yashina L.N., Zhigalin A.V., Abramov S.A., Luchnikova E.M., Smetannikova N.A., Dupal T.A., et al. Coronaviruses (Coronaviridae) of bats in the northern Caucasus and south of western Siberia. *Vopr. Virusol.* 2024; 69(3): 255–65. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-233>
15. Urushadze L., Babuadze G., Shi M., Escobar L.E., Mauldin M.R., Natradze I., et al. A cross sectional sampling reveals novel coronaviruses in bat populations of Georgia. *Viruses*. 2021; 14(1): 72. <https://doi.org/10.3390/v14010072>
16. Tao Y., Tang K., Shi M., Conrardy C., Li K.S., Lau S.K., et al. Genomic characterization of seven distinct bat coronaviruses in Kenya. *Virus Res.* 2012; 167(1): 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.04.007>
17. Liu D.X., Fung T.S., Chong K.K., Shukla A., Hilgenfeld R. Accessory proteins of SARS-CoV and other coronaviruses. *Antiviral Res.* 2014; 109: 97–109. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.06.013>
18. Lau S.K., Li K.S., Tsang A.K., Shek C.T., Wang M., Choi G.K., et al. Recent transmission of a novel alphacoronavirus, bat coronavirus HKU10, from Leschenault's rousettes to pomona leaf-nosed bats: first evidence of interspecies transmission of coronavirus between bats of different suborders. *J. Virol.* 2012; 86(21): 11906–18. <https://doi.org/10.1128/jvi.01305-12>
19. Drexler J.F., Corman V.M., Drosten C. Ecology, evolution and classification of bat coronaviruses in the aftermath of SARS. *Antiviral Res.* 2014; 101: 45–56. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.10.013>
20. Tao Y., Tang K., Shi M., Conrardy C., Li K.S., Lau S.K., et al. Genomic characterization of seven distinct bat coronaviruses in Kenya. *Virus Res.* 2012; 167(1): 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.04.007>
21. Anthony S.J., Johnson C.K., Greig D.J., Kramer S., Che X., Wells H., et al. Global patterns in coronavirus diversity. *Virus Evol.* 2017; 3(1): vex012. <https://doi.org/10.1093/ve/vex012>
22. Cohen L.E., Fagre A.C., Chen B., Carlson C.J., Becker D.J. Coronavirus sampling and surveillance in bats from 1996–2019: a systematic review and meta-analysis. *Nat. Microbiol.* 2023; 8(6): 1176–86. <https://doi.org/10.1038/s41564-023-01375-1>
23. Bueno L.M., Rizotto L.S., Viana A.O., Silva L.M.N., de Moraes M.V.D.S., Benassi J.C., et al. High genetic diversity of alphacoronaviruses in bat species (Mammalia: Chiroptera) from the Atlantic Forest in Brazil. *Transbound. Emerg. Dis.* 2022; 69(5): e2863–75. <https://doi.org/10.1111/tbed.14636>

REFERENCES

1. Lvov D.K., ed. Ecology of viruses. In: *Handbook of Virology. Viruses and Viral Infections of Humans and Animals [Rukovodstvo po virusologii. Virusy i virusnye infektsii cheloveka i zhivotnykh]*. Moscow: MIA; 2013. (in Russian)
2. Letko M., Seifert S.N., Olival K.J., Plowright R.K., Munster V.J. Bat-borne virus diversity, spillover and emergence. *Nat. Rev. Microbiol.* 2020; 18(8): 461–71. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0394-z>
3. Grange Z.L., Goldstein T., Johnson C.K., Anthony S., Gilardi K., Daszak P., et al. Ranking the risk of animal-to-human spillover for newly discovered viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2021; 118(15): e2002324118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2002324118>
4. Forni D., Cagliani R., Clerici M., Sironi M. Molecular Evolution of Human Coronavirus Genomes. *Trends Microbiol.* 2016; 25(1): 35–48. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.09.001>
5. Li W., Shi Z., Yu M., Ren W., Smith C., Epstein J.H., et al. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science*. 2005; 310(5748): 676–9. <https://doi.org/10.1126/science.1118391>
6. Lvov D.K., Alkhovskiy S.V. Source of the COVID-19 pandemic: ecology and genetics of coronaviruses (Betacoronavirus: Coronaviridae) SARS-CoV, SARS-CoV-2 (Subgenus Sarbecovirus), and MERS-CoV (Subgenus Merbecovirus). *Voprosy Virusologii*. 2020;

24. Caraballo D.A., Sabio M.S., Colombo V.C., Piccirilli M.G., Vico L., Hirmas Riade S.M., et al. The role of Molossidae and Vespertilionidae in shaping the diversity of alphacoronaviruses in the Americas. *Microbiol. Spectr.* 2022; 10(6): e0314322. <https://doi.org/10.1128/spectrum.03143-22>
25. Liu D.X., Fung T.S., Chong K.K., Shukla A., Hilgenfeld R. Accessory proteins of SARS-CoV and other coronaviruses. *Antiviral Res.* 2014; 109: 97–109. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.06.013>
26. Lau S.K., Li K.S., Tsang A.K., Shek C.T., Wang M., Choi G.K., et al. Recent transmission of a novel alphacoronavirus, bat coronavirus HKU10, from Leschenault's rousettes to pomona leaf-nosed bats: first evidence of interspecies transmission of coronavirus between bats of different suborders. *J. Virol.* 2012; 86(21): 11906–18. <https://doi.org/10.1128/jvi.01305-12>
27. Fan Y., Zhao K., Shi Z.L., Zhou P. Bat Coronaviruses in China. *Viruses.* 2019; 11(3): 210. <https://doi.org/10.3390/v11030210>
28. Balboni A., Palladini A., Bogliani G., Battilani M. Detection of a virus related to betacoronaviruses in Italian greater horseshoe bats. *Epidemiol. Infect.* 2011; 139(2): 216–9. <https://doi.org/10.1017/s0950268810001147>
29. Wang L.F., Shi Z., Zhang S., Field H., Daszak P., Eaton B.T. Review of bats and SARS. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(12): 1834–40. <https://doi.org/10.3201/eid1212.060401>
30. Drexler J.F., Corman V.M., Drosten C. Ecology, evolution and classification of bat coronaviruses in the aftermath of SARS. *Antiviral Res.* 2014; 101: 45–56. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.10.013>
31. Lvov D.K., Shchelkanov M.Y., Alkhovsky S.V., Deryabin P.G. *Zoonotic viruses of Northern Eurasia: Taxonomy and ecology*. London: Academic Press, Elsevier; 2015.
32. Lvov D.K., Borisevich S.V., Alkhovsky S.V., Burtseva E.I. Relevant approaches to analysis of viral genomes for biosafety. *Infektsionnye bolezni: Novosti, Mneniya, Obuchenie*. 2019; 8(2): 96–101. <https://doi.org/10.24411/2305-3496-2019-12012> <https://elibrary.ru/xbkmp1> (in Russian)

Информация об авторах:

Леншин Сергей Викторович – научный сотрудник бактериологической лаборатории Сочинского филиала ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, Краснодарский край, Сочи, Россия. E-mail: lenshin-s@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6815-2869>

Вишневская Татьяна Викторовна – научный сотрудник лаборатории биотехнологии Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: t_vish77@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6963-8681>

Ромашин Алексей Владимирович – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник ФГБУ «Сочинский национальный парк», Сочи, Россия. E-mail: romashin@sochi.com; <https://orcid.org/0000-0003-4751-1484>

Булычева Юлия Игоревна – научный сотрудник лаборатории биологии и индикации арбовирусов Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: boulychevayuli@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6798-7925>

Вышемирский Олег Иванович – канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории инфекционной вирусологии Курчатковского комплекса медицинской приматологии НИЦ «Курчатковский институт», Сочи, Россия. E-mail: olegvyshe@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5345-8926>

Соловьева Софья Алексеевна – младший научный сотрудник лаборатории биологии и индикации арбовирусов Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: sassony@ya.ru; <https://orcid.org/0009-0006-7021-7143>

Гительман Ася Калмановна – ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: gitelman_ak@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-8410-2332>

Пазилин Алексей Сергеевич – старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: pazilin@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0002-5665-409X>

Львов Дмитрий Константинович – академик РАН, профессор, д-р мед. наук, главный научный сотрудник Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: dk_lvov@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8176-6582>

Ху Бен – PhD, научный сотрудник Ключевой лаборатории вирусологии и биобезопасности Уханьского института вирусологии Китайской академии наук, Ухань, Китайская Народная Республика. E-mail: huben@wh.iov.cn; <https://orcid.org/0000-0001-9194-3474>

Ши Чженгли – PhD, руководитель Ключевой лаборатории вирусологии и биобезопасности Уханьского института вирусологии Китайской академии наук, Ухань, Китайская Народная Республика; старший научный сотрудник, Национальная лаборатория Гуанчжоу, Международный Био-остров Гуанчжоу, Гуанчжоу, Китайская Народная Республика. E-mail: zlishi@wh.iov.cn; <https://orcid.org/0000-0001-8089-163X>

Альховский Сергей Владимирович ✉ – член-корр. РАН, д-р биол. наук, руководитель лаборатории биотехнологии Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: salkh@ya.ru; s_alkhovsky@gamaleya.org; <https://orcid.org/0000-0001-6913-5841>

Участие авторов: Леншин С.В. – сбор материала, анализ данных литературы, ПЦР-скрининг проб за 2020 и 2021 гг.; Вишневская Т.В. – секвенирование, генетический анализ, ПЦР-анализ; Ромашин А.В. – обобщение данных по рукокрылым в регионе, сбор и определение видового состава летучих мышей; Булычева Ю.И. – NSG-секвенирование и анализ данных; Вышемирский О.И. – написание статьи, анализ данных; Соловьева С.А. – ПЦР-скрининг, анализ данных; Гительман А.К. – обработка первичного материала, выделение РНК; Пазилин А.С. – выделение РНК, анализ данных, генетический анализ; Львов Д.К. – критический анализ материала, обобщение вирусологических данных; Ху Бен – анализ данных, критический анализ статьи; Ши Чженгли – концептуализация исследования, получение финансирования; Альховский С.В. – концептуализация исследования, планирование и организация исследования, написание статьи, получение финансирования.

Поступила 04.11.2024
Принята в печать 19.12.2024
Опубликована 26.12.2024

Information about the authors:

Sergey V. Lenshin – researcher at the bacteriological laboratory, Stavropol Plague Control Research Institute of Rosпотребнадзор (Sochi department), Sochi, Russia. E-mail: lenshin-s@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6815-2869>

Tatyana V. Vishnevskaya – researcher at the biotechnology laboratory, D.I. Ivanovsky institute of virology of N.F. Gamaleya national research center on epidemiology and microbiology of Ministry of health of Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: t_vish77@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6963-8681>

Alexey V. Romashin – PhD (Biology), leading researcher, Sochi National Park, Sochi, Russia. E-mail: romashin@sochi.com; <https://orcid.org/0000-0003-4751-1484>

Yulia I. Bulycheva – researcher at the laboratory of biology and indication of arboviruses, D.I. Ivanovsky institute of virology of N.F Gamaleya national research center on epidemiology and microbiology of Ministry of health of Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: boulychevayuli@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6798-7925>

Oleg I. Vyshemirsky – PhD (Medicine), leading researcher at the laboratory of infectious virology, Kurchatov Complex of Medical Primatology, National Research Center «Kurchatov Institute», Veseloe village, Sochi, Russia. E-mail: olegvyshem@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5345-8926>

Sophya A. Solovyeva – junior researcher at the laboratory of biology and indication of arboviruses, D.I. Ivanovsky institute of virology of N.F Gamaleya national research center on epidemiology and microbiology of Ministry of health of Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: sassony@ya.ru; <https://orcid.org/0009-0006-7021-7143>

Asya K. Gitelman – leading researcher at the biotechnology laboratory, D.I. Ivanovsky institute of virology of N.F Gamaleya national research center on epidemiology and microbiology of Ministry of health of Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: gitelman_ak@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-8410-2332>

Alexey S. Pazilin – senior researcher at the biotechnology laboratory, D.I. Ivanovsky institute of virology of N.F Gamaleya national research center on epidemiology and microbiology of Ministry of health of Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: pazilin@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0002-5665-409X>

Dmitry K. Lvov – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Chief Researcher, D.I. Ivanovsky institute of virology of N.F Gamaleya national research center on epidemiology and microbiology of Ministry of health of Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: dk_lvov@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8176-6582>

Ben Hu – PhD, researcher at the Key Laboratory of Virology and Biosafety, Wuhan Institute of Virology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan, China. E-mail: huben@wh.iov.cn; <https://orcid.org/0000-0001-9194-3474>

Zheng-Li Shi – PhD, head of the Key Laboratory of Virology and Biosafety, Wuhan Institute of Virology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan, China. E-mail: zlshi@wh.iov.cn; <https://orcid.org/0000-0001-8089-163X>

Sergey V. Alkhovsky✉ – corresponding member of RAS, Dr. Sci. (Biology), head of the laboratory of biotechnology, D.I. Ivanovsky institute of virology of N.F Gamaleya national research center on epidemiology and microbiology of Ministry of health of Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: salkh@ya.ru and s_alkhovskiy@gamaleya.org; <https://orcid.org/0000-0001-6913-5841>

Contribution: Lenshin S.V. – sample collection, literature data analysis, PCR screening of samples from 2020 and 2021; Vishnevskaya T.V. – sequencing, genetic analysis, and PCR analysis; Romashin A.V. – sample collection, species identification of bats; Bulycheva Yu.I. – NGS sequencing and data analysis; Vyshemirskiy O.I. – sample collection, manuscript preparation and data analysis; Solovyeva S.A. – PCR screening and data analysis; Gitelman A.K. – primary sample processing and RNA extraction; Pazilin A.S. – RNA extraction, data analysis, and genetic analysis; Lvov D.K. – critical review of the material and synthesis of virological data; Ben Hu – data analysis and critical review of the manuscript; Zheng-Li Shi – conceptualization of the study and funding acquisition; Alkhovsky S.V. – conceptualization, study planning and organization, sample collection, manuscript preparation, and funding acquisition.

Received 04 November 2024

Accepted 19 December 2024

Published 26 December 2024