



Моделирование смешанной инфекции вирусами Зика и Западного Нила (*Flaviviridae: Orthoflavivirus: Orthoflavivirus zikaense, Orthoflavivirus nilense*) *in vitro* и *in vivo*

Святченко В.А., Протопопова Е.В., Легостаев С.С., Микрюкова Т.П.,
Агафонов А.П., Локтев В.Б.✉

ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор), 630559, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия

Резюме

Введение. Заболевания человека, вызываемые вирусами Западного Нила (ВЗН) и Зика и передающиеся через укус комара, широко распространены на разных континентах и обуславливают крупные вспышки. Ареалы этих вирусов перекрываются, что создает возможность возникновения микст-инфекций. Знания о подобных микст-инфекциях ограничены.

Цель исследования. Провести изучение особенностей протекания микст-инфекции ВЗН и вируса Зика *in vitro* и *in vivo* с целью оценки их возможной интерференции и/или усиления инфекции.

Материалы и методы. В работе использовали штаммы Влг27924 и MR766 ВЗН и вируса Зика соответственно. Инфекционную активность вирусов при моно- и коинфицировании определяли на культуре клеток Vero E6 с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией, а также на мышах линии BALB/c.

Результаты. При исследовании коинфицирования ВЗН и вирусом Зика *in vitro* показано, что совместное инфицирование приводит к интерференции, при этом степень конкурентного ингибирования репликации более выражена в отношении вируса Зика (в 1000 раз и более) при сравнении с моноинфекцией. При одновременном инфицировании мышей вирус Зика не влияет на развитие летальной инфекции, вызванной ВЗН. Однако предварительное (за 4 и 20 сут) инфицирование сублетальной дозой вируса Зика достоверно защищает животных от последующего введения 10 и 100 ЛД₅₀ ВЗН. У предварительно инфицированных вирусом Зика коинфицированных животных зарегистрировано появление специфичных к ВЗН вируснейтрализующих антител в более высоком титре, чем у моноинфицированных ВЗН особей.

Заключение. Показано наличие интерференции *in vitro* между исследованными ортофлавивирусами, наиболее выраженной в отношении вируса Зика. При одновременном инфицировании мышей вирус Зика не влияет на течение и исход инфекционного процесса, вызванного ВЗН. Предварительное инфицирование мышей вирусом Зика обеспечивает защиту животных от летальной инфекции ВЗН, праймируя индукцию более высокого уровня вируснейтрализующих антител.

Ключевые слова: вирус Зика; вирус Западного Нила; коинфекция; интерференция

Для цитирования: Святченко В.А., Протопопова Е.В., Легостаев С.С., Микрюкова Т.П., Агафонов А.П., Локтев В.Б. Моделирование смешанной инфекции вирусами Зика и Западного Нила (*Flaviviridae: Orthoflavivirus: Orthoflavivirus zikaense, Orthoflavivirus nilense*) *in vitro* и *in vivo*. *Вопросы вирусологии*. 2025; 70(4): 340–348. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-324> EDN: <https://elibrary.ru/gkebwv>

Финансирование. Исследование было выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2025-526.

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, 23.07.2010). Протокол исследования одобрен Биоэтическим комитетом ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» (Протокол № 2 от 03.04.2023).

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-324>

Modeling of mixed infection with Zika and West Nile viruses (*Flaviviridae: Orthoflavivirus: Orthoflavivirus zikaense, Orthoflavivirus nilense*) *in vitro* and *in vivo*

Victor A. Svyatchenko, Elena V. Protopopova, Stanislav S. Legostaev, Tamara P. Mikryukova, Alexander P. Agafonov, Valery B. Loktev✉

State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», 630559, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russia

Abstract

Introduction. Mosquito-borne human diseases caused by Zika virus and West Nile virus (WNV) are widespread across multiple continents and cause major outbreaks. Their ranges overlap and the possibility of mixed infections is obvious. The information of such mixed infections is limited.

The aim of the study is to investigate the features of mixed infection of WNV and Zika virus *in vitro* and *in vivo* in order to assess their possible interference and/or enhancement of viral infection.

Materials and methods. The study used West Nile virus and Zika virus strains Vlg27924 and MR766, respectively. The infectious activity of viruses during mono- and co-infection was determined on Vero E6 cell culture using RT-PCR, as well as on BALB/c mice using various administration schemes.

Results. *In vitro* studies of co-infection with WNV and Zika virus showed that co-infection leads to interference, with the degree of competitive inhibition of replication being more pronounced for Zika virus, reaching 1000 times or more when compared to mono-infection. During simultaneous infection in mice, Zika virus does not affect the development of lethal infection caused by WNV. However, preliminary (4 and 20 days) infection with a sublethal dose of Zika virus reliably protects animals from subsequent administration of 10 and 100 LD₅₀ WNV, respectively. In pre-infected and co-infected animals with Zika virus, the development of WNV-specific viral neutralizing antibodies was recorded in higher titers than in WNV monoinfected animals.

Conclusion. The presence of *in vitro* interference between the studied orthoflaviviruses was shown, most pronounced in relation to the Zika virus. No significant effect was observed with simultaneous co-infection *in vivo*. However, pre-infection of mice with Zika virus provides protection to animals from lethal WNV infection due to the induction of high levels of antibodies that specifically neutralize its infectious activity.

Keywords: Zika virus; West Nile virus; co-infection; viral interference

For citation: Svyatchenko V.A., Protopopova E.V., Legostaev S.S., Mikryukova T.P., Agafonov A.P., Loktev V.B. Modeling of mixed infection with Zika and West Nile viruses (*Flaviviridae: Orthoflavivirus: Orthoflavivirus zikaense, Orthoflavivirus nilense*) *in vitro* and *in vivo*. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2025; 70(4): 340–348. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-324> EDN: <https://elibrary.ru/gkebwv>

Funding. The study was carried out with the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, agreement No. 075-15-2025-526

Conflict of interest. The authors declare no apparent and 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 study protocol was approved by the Bioethics Committee of the State Scientific Center of Virology and Biotechnology «Vector» of Rosпотребнадзор (Protocol No. 02 of April 03, 2023)

Введение

Многие РНК-содержащие ортофлавиовирусы, относящиеся к семейству *Flaviviridae* (*Riboviria; Orthornavirae; Kitrinoviricota; Flasuviricetes; Amarillovirale; Flaviviridae; Orthoflavivirus*), вызывают тяжелые заболевания человека [1]. В настоящее время ортофлавиовирусы распространены практически повсеместно, формируют природные очаги инфекций, захватывающие подчас целые регионы и континенты, и вызывают глобальные вспышки заболеваний человека [2, 3]. Принято выделять так называемые большие флавиовирусные инфекции, которые вызывают вирусы денге, японского энцефалита, Западного Нила (ВЗН), желтой лихорадки и Зика и с которыми ассоциируется десят-

ки миллионов случаев инфицирования человека [4]. Начало глобальной вспышки лихорадки Западного Нила, ассоциированной с генотипом 1a ВЗН, связывают со вспышками заболевания в 1999 г. в США и России [5]. В течение последующих нескольких лет эта инфекция распространилась практически на всех континентах [6–8]. Быстрое распространение инфекции было связано с различными видами диких птиц и комарами рода *Culex* (Linnaeus, 1758). В РФ постоянно циркулируют ВЗН 1-го и 2-го генотипов в центральной и южной европейской части России, на юге Западной Сибири и в Дальневосточном регионе [6, 7]. Комары *Culex pipiens*, так же как *C. tarsalis* и *C. Quinquefasciatus*, считаются основными векторами для распространения ВЗН в разных регионах мира.

Первоначально вирус Зика был выделен в Уганде в 1947 г. и был ассоциирован с комарами рода *Aedes* [9]. Позднее его циркуляция была описана в странах бассейна Индийского океана, и в 1966 г. был выделен азиатский генотип вируса Зика [10]. Фактически повсеместное распространение лихорадки Зика началось в 2007 г., и в 2015–2016 гг. заболевание стали регистрировать в странах Центральной и Южной Америки. К концу 2023 г. эта инфекция была зарегистрирована более чем в 92 странах, не считая стран, включая Россию, в которых были выявлены завозные случаи заболевания. Принципиальным вектором для распространения лихорадки Зика считаются комары *Aedes aegypti* и *Ae. albopictus*, однако и другие комары рода *Aedes* могут вовлекаться в распространение вируса Зика [10].

Ортофлавиовирусы, как и другие возбудители арбовирусных инфекций, передаются через укусы комаров, которые могут быть заражены сразу несколькими видами патогенов [11]. Так, комары *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus* были одновременно экспериментально инфицированы вирусами Зика, денге и чикунгунья [12]. Известны случаи микст-инфекций Зика/чикунгунья, Зика/денге, денге/чикунгунья, Зика/денге/чикунгунья у человека, ассоциированных с комарами [13–17]. Клиническая картина микст-инфекций, вызываемых ортофлавиовирусами, может отличаться от моноинфекций, что затрудняет их диагностику и лечение. Важно отметить, что для ряда микст-инфекций характерно модулирование вирулентности вирусов, что может приводить к усилению (ослаблению) тяжести заболевания [18, 19]. Так, последовательное инфицирование различными субтипами вируса денге может вызывать резкое усиление тяжести заболевания человека, вплоть до летальных случаев [20]. Этот феномен обычно связывают с действием предсуществующих антител к другому субтипу вируса денге, что вызывает усиление тяжести повторного заболевания лихорадкой денге у человека.

Важность проблемы микст-инфекций обусловлена сложностью профилактики, диагностики и лечения подобных случаев. При этом информации о возникновении, особенностях протекания микст-инфекций и их последствиях в разных регионах мира недостаточно [21].

Целью настоящей работы является экспериментальное исследование особенностей протекания микст-инфекции ВЗН и вируса Зика *in vitro* и *in vivo*.

Материалы и методы

В экспериментах использовали ВЗН (штамм Влг27924) и вирус Зика (штамм MR766), полученные из Государственной коллекции возбудителей вирусных инфекций и риккетсиозов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». Вирусы культивировали на монослойных клеточных культурах Vero E6 и СПЭВ (культура клеток почечной ткани эмбриона свиньи), выращенных до образования 80–90% конфлюэнтности в среде DMEM F12 (Gibco, США), содержащей 10% фетальной бычьей сыворотки (Gibco, США), пенициллина 100 МЕ/мл и стрептомицина 100 мкг/мл (Gibco, США), в атмос-

фере с 5% CO₂ при температуре 37 °С. Инфекционную активность вирусных препаратов определяли титрованием микрометодом на 96-луночных культуральных планшетах (Greiner, Австрия) с субконфлюэнтным монослоем клеток, как описано ранее [22, 23]. Учет результатов проводили с помощью микроскопии через 6 сут по развитию ЦПД (цитопатогенного действия) и/или с использованием МТТ-теста. Расчет инфекционных титров вирусов осуществляли по методу Спирмена–Кербера и выражали через lg ТЦД₅₀ (50% тканевая цитопатогенная доза). Вирусные препараты хранили при температуре –80 °С.

Исследование эффектов коинфицирования *in vitro* проводили с использованием клеток Vero E6 при одновременном и последовательном (с различной очередностью) инфицировании клеточных культур ВЗН и вирусом Зика. Инфицированные клеточные культуры (по три повтора на экспериментальную точку) в 24-луночных культуральных планшетах (Greiner, Австрия) инкубировали при 37 °С в CO₂-инкубаторе; через разный период времени отбирали пробы для определения вирусной нагрузки с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), как описано нами ранее [24]. В качестве контролей использовали моноинфицированные клеточные культуры. РНК из образцов извлекали с использованием набора РНК Рибо-ПРЕП (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва). Для определения вирусных РНК применяли наборы реагентов для выявления РНК ВЗН и вируса Зика (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Кольцово, Новосибирская обл.) методом ОТ-ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени, используя праймеры, специфичные к 3'-UTR и гену NS5 соответственно. Контроль специфичности осуществляли с использованием вирусных суспензий содержащих 10⁶ ТЦД₅₀/мл ВЗН либо вируса Зика. Отсутствие значимого влияния одного вируса на количественность детекции другого в смеси подтверждено модельным экспериментом (**рис. S1**, дополнительные материалы). Регистрацию результатов проводили с помощью прибора CFX 96 (Bio-Rad, США). Стандартные кривые были получены с помощью 10-кратного серийного разбавления образцов внутреннего положительного контроля (IPCS), поставляемых с соответствующим набором для ПЦР (от 10⁶ до 0,1 копий/реакция). Значения Ct образцов были получены по двум флуоресцентным каналам, для вирусной кДНК и для ИПС. Значения Ct вирусной кДНК были масштабированы относительно значений Ct ИПС [25].

Инфицирование мышей BALB/c массой 10–12 г осуществляли посредством интраперитонеального введения 200 мкл вирусосодержащей суспензии, контрольным животным вводили аналогичный объем физиологического раствора. При исследовании смешанного инфицирования использовали следующие экспериментальные схемы: моноинфицирование животных вирусом Зика и ВЗН; одновременное введение вируса Зика и ВЗН; последовательное введение (вирус Зика и через 4 сут ВЗН; вирус Зика и че-

рез 20 сут ВЗН). В качестве групп сравнения использовали моноинфицированных ВЗН или вирусом Зика животных. В течение эксперимента состояние животных оценивали ежедневно. Животные содержались однополовыми группами в индивидуально вентилируемых клетках (Animal Care Systems) в контролируемых условиях, при температуре 22–26 °С и относительной влажности 30–60%. Гранулированный корм и вода животным предоставлялись *ad libitum*.

Реакцию нейтрализации (РН) ВЗН или вируса Зика проводили микрометодом на клетках Vero E6 с использованием двукратных серийных разведений (начиная с 1 : 10) индивидуальных мышинных сывороток, прогретых при 56 °С в течение 30 мин [26]. За титры вируснейтрализующих антител принимали обратные величины разведения сывороток, полностью нейтрализующие инфекционную активность ВЗН или вируса Зика в дозе 50 ТЦД₅₀.

Статистический анализ, включая расчет среднего значения, стандартного отклонения и коэффициента вариации среднего значения St, выполняли с помощью программы Excel (Microsoft Corp., США). Также статистическую обработку данных осуществляли с помощью статистической программы Statistica 12 (StatSoft Inc., США). Статистическую оценку различий между группами проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента; значение *p* < 0,05 считали значимым.

Эксперименты с инфекционным материалом проводили в соответствии с требованиями правил биобезопасности, регламентированных в СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» от 28.01.2021. Инфицирование мышей ВЗН и вирусом Зика и все манипуляции с ними проводили в инфекционном виварии ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора в условиях BSL-3.

Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с Consensus Author Guidelines for Animal Use (IAVES, 23.07.2010). Эксперименты с животными проводили с соблюдением принципов гуманности в соответствии с протоколом, утвержденным Биоэтическим комитетом ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» (Протокол № 2 от 03.04.2023).

Результаты

Микст-инфекция *in vitro*. Репликационную активность вирусов *in vitro* при микст-инфицировании в сравнении с моноинфицированием оценивали посредством определения вирусной нагрузки с помощью количественного ПЦР-анализа (табл. 1). Одновременное инфицирование приводило к выраженному ингибированию репликации вируса Зика, при отсутствии выраженного влияния коинфекции на накопление инфекционного ВЗН в инфицированных клетках (табл. 1 а). Последовательное инфицирование приводило к конкурентному ингибированию инфекционной активности вирусов, при этом степень конкурентного ингибирования существенно была более

выражена для вируса Зика (табл. 1 б). Так, вирусная нагрузка вирусом Зика в клетках, предварительно инфицированных ВЗН и через 24 ч вирусом Зика, была более чем на 3 порядка ниже, чем в соответствующих моноинфицированных вирусом Зика клетках. В обратных экспериментах отличия в вирусной нагрузке ВЗН в микст-инфицированных и моноинфицированных ВЗН клетках не превышали 1,5 lg.

Микст-инфекция *in vivo*. Коинфекцию ВЗН и вирусом Зика моделировали при одновременном и последовательном инфицировании мышей разными дозами вирусов (вирус Зика и через 4 сут ВЗН; вирус Зика и через 20 сут ВЗН). Как видно из результатов, представленных на рис. 1, инфицирование вирусом Зика (10⁴ ТЦД₅₀/мышь) не вызывало развитие летальной инфекции, а при наблюдении за животными не отмечалось видимых клинических проявлений вирусной инфекции. Напротив, инфицирование мышей ВЗН в дозе 10³ ТЦД₅₀ приводило к гибели 90% мышей с развитием клинических проявлений нейроинфекции. При смешанном одновременном инфицировании двумя вирусами вирус Зика не влиял значимым образом на течение и исход инфекционного процесса, вызванного ВЗН. В то же время при предварительном инфицировании животных вирусом Зика (за 4 сут до инфицирования ВЗН) отмечалось выживание 80% мышей, инфицированных 10 ЛД₅₀ ВЗН.

На рис. 2 приведены результаты инфицирования мышей BALB/c через 20 сут после предварительного инфицирования вирусом Зика в дозе 10⁴ ТЦД₅₀/мышь. Обнаружена 100 и 90% защита предварительно инфицированных вирусом Зика животных от последующего заражения дозами 10 и 100 ЛД₅₀ ВЗН соответственно. Эти данные свидетельствуют о том, что предварительное инфицирование вирусом Зика обеспечивает выраженную защиту животных от последующего инфицирования летальными дозами ВЗН.

Индукция вируснейтрализующих антител у мышей BALB/c. Индивидуальные сыворотки крови экспериментальных животных были тестированы на наличие вируснейтрализующих антител (табл. 2). Сыворотки мышей, инфицированные вирусом Зика либо ВЗН, нейтрализовали только гомологичные вирусы. Однако после заражения ВЗН сыворотки животных, предварительно инфицированных вирусом Зика, были способны нейтрализовать как вирус Зика, так и ВЗН. При этом титры вируснейтрализующих антител в сыворотках, предварительно инфицированных вирусом Зика и затем инфицированных 100 ЛД₅₀ ВЗН, были существенно выше, чем у животных, инфицированных только ВЗН. Для подтверждения специфичности вируснейтрализующих антител и отсутствия их перекрестной реактивности в реакции нейтрализации была проведена оценка их нейтрализующей активности против гетерологичного вируса. Так, сыворотки выживших мышей после инфицирования ВЗН дозой 10 ЛД₅₀ через 21 сут после заражения имели высокий титр нейтрализующих антител против ВЗН (750 ± 107), но при этом они были не способны нейтрализовать вирус Зика на культуре клеток.

Таблица 1. Одновременное и последовательное инфицирование культуры клеток Vero E6 вирусом Западного Нила (ВЗН) и вирусом Зика (МОИ 0,5 TCID₅₀)**Table 1.** Simultaneous and sequential infection of Vero E6 cell culture with West Nile virus (WNV) and Zika virus (MOI 0.5 TCID₅₀)

Одновременное инфицирование (а) Simultaneous infection (a)			
Время после инфицирования Time post-infection	ВЗН (lg копий РНК/мл) WNV (log10 RNA copies/mL)	Вирус Зика (lg копий РНК/мл) Zika virus (log10 RNA copies/mL)	ВЗН/вирус Зика (lg копий РНК/мл) WNV/Zika virus (log10 RNA copies/mL)
24 ч / h	< 3,0	< 3,0	< 3,0 / < 3,0
48 ч / h	4,3 ± 0,3	3,8 ± 0,2	4,0 ± 0,3 / 3,2 ± 0,2
72 ч / h	6,5 ± 0,4	5,7 ± 0,3	6,3 ± 0,4 / 3,5 ± 0,2
96 ч / h	8,1 ± 0,4	7,8 ± 0,3	7,7 ± 0,3 / 3,9 ± 0,3
Последовательное инфицирование (б) Sequential infection (b)			
Время после инфицирования вирусом Зика Time post-infection with Zika virus	ВЗН–24 ч–вирус Зика WNV–24 hours–Zika virus		PBS–24 ч –вирус Зика PBS–24 hours–Zika virus
	ВЗН/вирус Зика (lg копий РНК/мл) WNV/ Zika virus (log10 RNA copies/mL)		Вирус Зика (lg копий РНК/мл) Zika virus (log10 RNA copies/mL)
24 ч / h	4,5 ± 0,3 / < 3,0		< 3,0
48 ч / h	6,2 ± 0,4 / 3,2 ± 0,3		4,2 ± 0,2
72 ч / h	7,4 ± 0,3 / 3,4 ± 0,3		6,9 ± 0,3
Время после инфицирования ВЗН Time post-infection with WNV	Вирус Зика–24 ч–ВЗН Zika virus–24 hours–WNV		PBS–24 ч–ВЗН PBS–24 hours–WNV
	Вирус Зика/ВЗН (lg копий/мл) Zika virus/WNV (log10 RNA copies/mL)		ВЗН (lg копий РНК/мл) WNV (log10 RNA copies/mL)
24 ч / h	3,5 ± 0,3 / < 3,0		< 3,0
48 ч / h	5,1 ± 0,4 / 3,3 ± 0,3		4,2 ± 0,2
72 ч / h	6,5 ± 0,4 / 5,0 ± 0,3		6,4 ± 0,2

Примечание. Значения представляют собой $M \pm SD$ трех независимых экспериментов. Для сравнения двух групп использовался *t*-критерий Стьюдента.

Note. Values represent $M \pm SD$ of three independent experiments. Student's *t*-test was used to compare two groups.

Обсуждение

Феномен интерференции между различными вирусами в чувствительной клетке известен достаточно давно и в классическом виде предполагает подавление репликации одного вируса другим [27]. Возможные механизмы этого явления связывают с различными ключевыми моментами репликации вирусов в клетке, индукцией систем противовирусной защиты в клетке, включая системы интерферонов, конкуренцией за ресурсы клетки для синтеза вирусных молекул и вирусных частиц, разными скоростями репликации вирусов и рядом других факторов. Проникновение вирусной частицы в клетку может драматическим образом изменять работу клеточного генома, включая или ингибируя различные гены [28]. В эти изменения могут вовлекаться десятки и сотни клеточных генов. Сложность проведения этих исследований предопределяет недостаточность наших знаний о феномене интерференции между различными вирусами, а развитие исследований по генетическому многообразию вирионов показало острую необходимость ускоренного развития исследований в этой области [29]. Особенность ортофлавивирусов состоит в том, что в природных очагах они распространяются, как правило, с помощью векторов [11]. В этом качестве наиболее

часто выступают иксодовые клещи и различные виды комаров. В случае совпадения природных очагов возможны случаи микст-инфицирования как беспозвоночных, так и их теплокровных хозяев. Вирус Зика и ВЗН относятся к так называемым «комариным» флавивирусам и циркулируют подчас в одних и тех же регионах, поэтому случаи возникновения коинфицирования вполне вероятны среди чувствительных видов хозяев, включая человека.

В наших экспериментах были использованы вирус Зика и ВЗН, которые широко распространены в современном мире и недавно вызвали практически глобальные вспышки заболеваний в странах с теплым климатом. Результаты, полученные с использованием этих вирусов, показывают наличие интерференции *in vitro* между этими двумя ортофлавивирусами. Одновременное инфицирование приводит к выраженному ингибированию репликации вируса Зика, при отсутствии столь же выраженного эффекта на репликацию ВЗН в клетках млекопитающих. Последовательное (с различной очередностью) инфицирование также приводит к конкурентному взаимному ингибированию репликации этих вирусов, при этом степень конкурентного ингибирования остается более выражена в отношении вируса Зика. Недавно было показано,

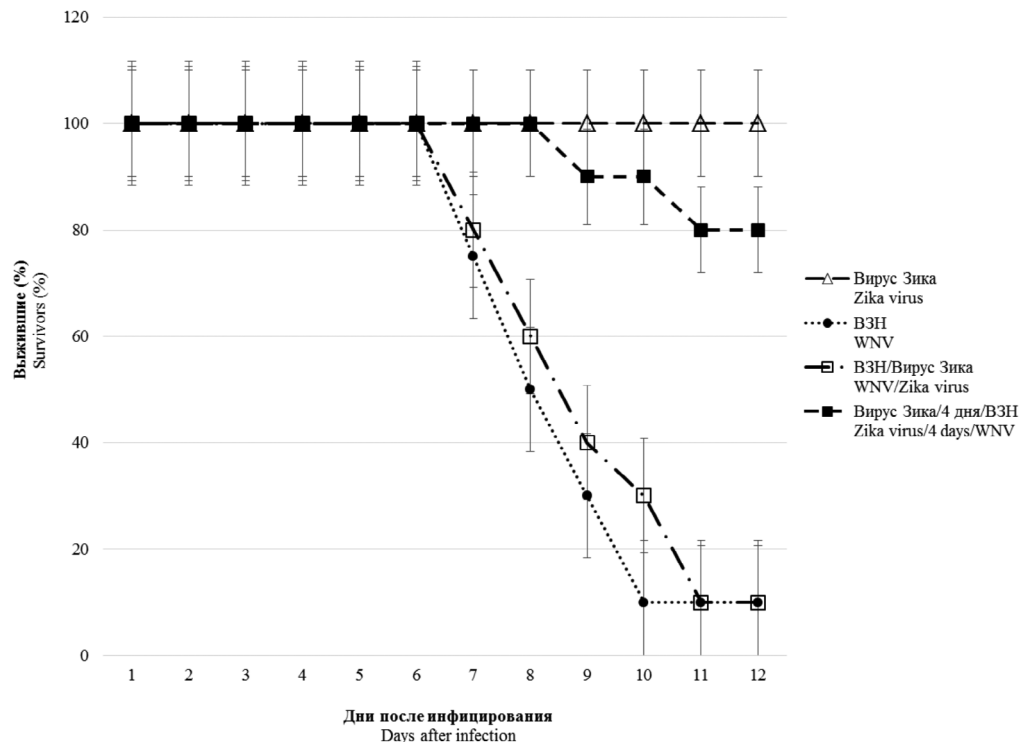


Рис. 1. Выживаемость мышей BALB/c, инфицированных вирусами Западного Нила (ВЗН) и Зика, при разных схемах введения вирусных препаратов.

△ – результаты, полученные при внутрибрюшинном инфицировании вирусом Зика дозой 10^4 ТЦД₅₀; ● – при внутрибрюшинном инфицировании ВЗН дозой 10^3 ТЦД₅₀ (10 ЛД₅₀); □ – при одновременном внутрибрюшинном инфицировании вирусом Зика (10^4 ТЦД₅₀) и ВЗН (10 ЛД₅₀); ■ – при внутрибрюшинном инфицировании вирусом Зика (10^4 ТЦД₅₀) и через 4 сут внутрибрюшинном инфицировании ВЗН (10 ЛД₅₀) ($n = 10$; $p < 0,05$).

Fig. 1. Survival of BALB/c mice infected with West Nile virus (WNV) and Zika virus under different schemes of virus administration.

△ – experimental results obtained by intraperitoneal Zika virus infection with a dose of 10^4 TCID₅₀; ● – experimental results obtained by intraperitoneal infection of WNV with a dose of 10^3 TCID₅₀ (10 LD₅₀); □ – experimental results obtained by simultaneous intraperitoneal infection with Zika virus (10^4 TCID₅₀) and WNV (10 LD₅₀); ■ – experimental results obtained by intraperitoneal infection with Zika virus (10^4 TCID₅₀) and after 4 days intraperitoneal infection with 10 LD₅₀ of WNV ($n = 10$; $p < 0.05$).

что коинфекция клеток Vero ВЗН и вирусом энцефалита Сент-Луис (St. Louis encephalitis virus, SLEV) сопровождается ингибированием репликации SLEV при минимальном влиянии на репликационную активность ВЗН. В то же время коинфицирование комариных клеток СТ (*Cx. tarsalis*) не оказывало влияния на репликацию любого из вирусов [30].

Моделирование микст-инфекции на лабораторных животных (*in vivo*) частично подтвердило результаты, полученные на культуре клеток. Так, при одновременном инфицировании мышей BALB/c вирусом Зика не влиял значимым образом на течение заболевания и летальный исход инфекционного процесса, вызванного ВЗН. Однако при предварительном инфицировании животных вирусом Зика (за 4 сут до инфицирования ВЗН) отмечалось достоверное снижение инфекционной активности ВЗН для лабораторных животных. Эти результаты свидетельствуют о возможности интерференции *in vivo* между этими двумя флавивирусами. Оценить обратный эффект нам не удалось вследствие того, что выбранная модель инфекции на животных не обеспечивала развитие клинически выраженной и/или летальной инфекции после введения вируса Зика. При моделировании ко-

инфекции с заражением животных ВЗН через 20 сут после инфицирования вирусом Зика было обнаружено, что предварительное инфицирование вирусом Зика практически полностью защищает животных от последующего инфицирования 10 и 100 ЛД₅₀ ВЗН.

В нашей работе продемонстрировано, что, в отличие от ранее опубликованных данных о смешанной инфекции вирусами Зика и денге [30, 31], инфекция ВЗН у мышей, предварительно инфицированных вирусом Зика, не сопровождалась усилением проявлений инфекции. Более того, при предварительном инфицировании вирусом Зика мы наблюдали формирование выраженной защиты животных от последующего инфицирования ВЗН. Ранее была показана ключевая роль нейтрализующих антител в защите от флавивирусных инфекций [32–34]. Оценка способности сывороток крови нейтрализовать вирус Зика и ВЗН была протестирована в реакции вирусной нейтрализации на культуре клеток Vero Е6. Индукция вируснейтрализующих антител была обнаружена только против гомологичного вируса (табл. 2), перекрестная реактивность вируснейтрализующих антител отсутствовала. Важно подчеркнуть, что предварительная инфекция вирусом Зика приводила к более быстрому

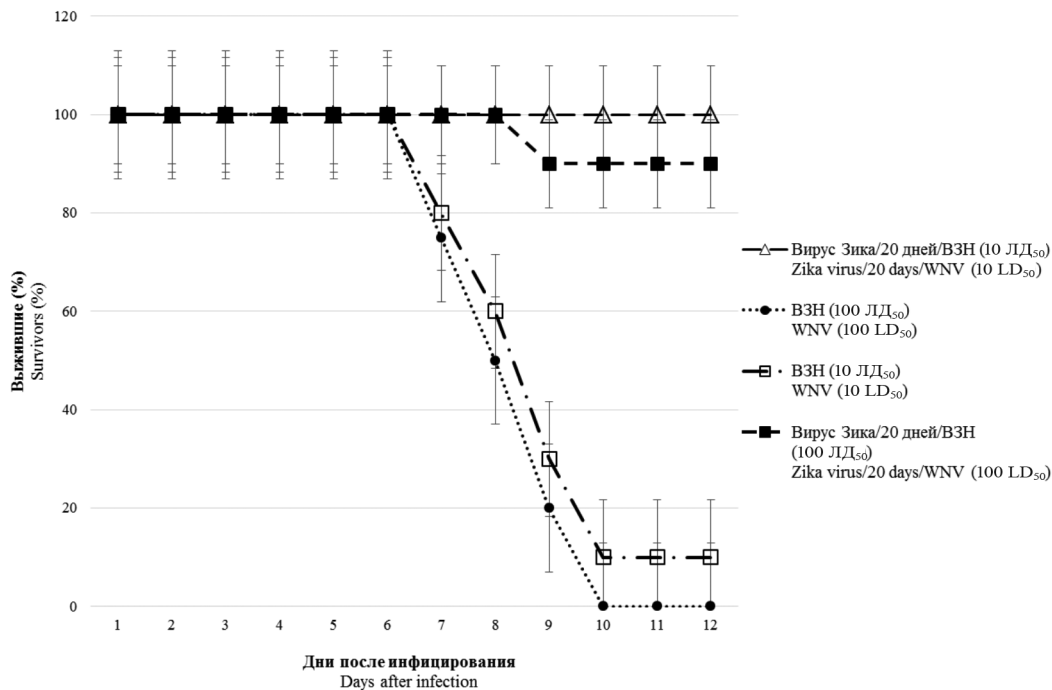


Рис. 2. Выживаемость предварительно инфицированных вирусом Зика мышей BALB/c при последующем инфицировании летальными дозами вируса Западного Нила (ВЗН).

△ – результаты, полученные при внутрибрюшинном инфицировании вирусом Зика (10^4 ТЦД₅₀) и через 20 сут при внутрибрюшинном инфицировании ВЗН (10 ЛД₅₀); ● – при внутрибрюшинном инфицировании ВЗН (100 ЛД₅₀); □ – при внутрибрюшинном инфицировании ВЗН (10 ЛД₅₀); ■ – при внутрибрюшинном инфицировании вирусом Зика (10^4 ТЦД₅₀) и через 20 сут при внутрибрюшинном инфицировании ВЗН (100 ЛД₅₀) ($n = 10$; $p < 0,05$).

Fig. 2. Survival of Zika virus pre-infected BALB/c mice upon subsequent infection with lethal doses of West Nile virus (WNV).

△ – experimental results obtained by intraperitoneal infection with Zika virus (10^4 TCID₅₀) and after 20 days intraperitoneal infection with WNV (10 LD₅₀); ● – experimental results obtained by intraperitoneal infection with WNV (100 LD₅₀); □ – experimental results obtained with intraperitoneal infection of WNV (10 LD₅₀); ■ – experimental results obtained by intraperitoneal infection with Zika virus (10^4 TCID₅₀) and after 20 days intraperitoneal infection with WNV (100 LD₅₀) ($n = 10$; $p < 0.05$).

Таблица 2. Индукция вируснейтрализующих антител у мышей BALB/c, инфицированных вирусом Зика и через 20 сут зараженных вирусом Западного Нила (ВЗН) (8 сут после заражения ВЗН)

Table 2. Induction of virus-neutralizing antibodies in BALB/c mice pre-infected with Zika virus and after 20 days infected with West Nile virus (WNV) (8 days after WNV infection)

Сыворотки мышей Mouse serum	Титры вируснейтрализующих антител (M ± SEM) Virus neutralizing antibody titers (M ± SEM)	
	Вирус Зика Zika virus	ВЗН WNV
Моноинфекция Mono infection		
Вирус Зика (20 сут) Zika virus (20 days)	82,3 ± 15,4	< 10
ВЗН (8 сут)* WNV (8 days)*	< 10	112,6 ± 27,2
Коинфекция Co-infection		
Вирус Зика/20 сут/ВЗН (8 сут) Zika virus/20 days/WNV (8 days)	74,5 ± 17,7	525,7 ± 73,5
Контроль Control	< 10	< 10

Примечание. * – гибель 100% животных к 10-м суткам после инфицирования 100 ЛД₅₀ ВЗН. За титр принимали соответствующее разведение индивидуальной сыворотки животного нейтрализующей 50 ТЦД₅₀ вируса Зика или ВЗН в реакции нейтрализации. Представлены среднегеометрические титры вируснейтрализующих антител ($n = 5$; $p < 0,05$).

Note. * – death of 100% of animals to tenth day after infection with 100 LD₅₀ of WNV. The corresponding dilution of an individual animal serum neutralizing 50 TCID₅₀ of Zika virus or WNV in the neutralization test was taken as a titer. Geometric mean titers of virus neutralizing antibodies are presented ($n = 5$; $p < 0.05$).

ответу на инфицирование ВЗН, усиливая последующую выработку нейтрализующих антител против ВЗН. Причем уровень антител был достаточен для защиты животных от летальной инфекции. При моноинфекции ВЗН вируснейтрализующие антитела также были зарегистрированы на 8-е сутки инфек-

ции, но при этом животные погибали к 10-м суткам после инфицирования. Неоднозначность потенциальных исходов смешанного инфицирования ВЗН и вирусом Зика иллюстрируется в работе [35] в, которой показано, что образцы сывороток от серопозитивных по ВЗН лиц эффективно нейтрализуют ВЗН, но усиливают инфекционную активность вируса Зика.

Биологическая значимость предварительной нелетальной инфекции вирусом Зика, обеспечивающей защиту от ВЗН, может ограничивать циркуляцию этих ортофлавивирусов в природных очагах этих инфекций. Эти результаты могут быть полезны для дальнейшего изучения микст-инфекций, вызываемых вирусом Зика и ВЗН, а также для будущей разработки иммунопрофилактических средств широкого спектра действия против флавивирусных инфекций.

Заключение

Таким образом, исследование микст-инфекции двух ортофлавивирусов на модели *in vitro* показало наличие выраженной интерференции вирусов на культуре клеток Vero E6. Так, ВЗН при одновременном и последовательном инфицировании ингибировал репликацию вируса Зика в клеточной культуре более чем в 1000 раз, обратный эффект не превышал 30 (1,5 lg). Моделирование микст-инфекции *in vivo* показало более сложную картину развития инфекционного процесса у мышей BALB/c. При одновременном микст-инфицировании мышей вирус Зика не влиял значимым образом на развитие летальной инфекции, вызванной ВЗН. При этом предварительное инфицирование мышей нелетальными дозами вируса Зика за 4 и 20 сут до введения ВЗН обеспечивало эффективную защиту животных от летальной инфекции ВЗН и появление высокого уровня вируснейтрализующих антител против этого вируса.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Postler T.S., Beer M., Blitvich B.J., Bukh J., de Lamballerie X., Drexler J.F., et al. Renaming of the genus Flavivirus to Orthoflavivirus and extension of binomial species names within the family Flaviviridae. *Arch. Virol.* 2023; 168(9): 224. <https://doi.org/10.1007/s00705-023-05835-1>
- Baker R.E., Mahmud A.S., Miller I.F., Rajeev M., Rasambainarivo F., Rice B.L., et al. Infectious disease in an era of global change. *Nat. Rev. Microbiol.* 2022; 20(4): 193–05. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00639-z>
- Petersen L.R., Brault A.C., Nasci R.S. West Nile virus: review of the literature. *JAMA.* 2013; 310(3): 308–15. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.8042>
- van Leur S.W., Heunis T., Munnur D., Sanyal S. Pathogenesis and virulence of flavivirus infections. *Virulence.* 2021; 12(1): 2814–38. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1996059>
- Brüssow H., Figuerola J. The spread of the mosquito-transmitted West Nile virus in North America and Europe. *Microb. Biotechnol.* 2025; 18(3): e70120. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.70120>
- Kariwa H., Murata R., Totani M., Yoshii K., Takashima I. Increased pathogenicity of West Nile virus (WNV) by glycosylation of envelope protein and seroprevalence of WNV in wild birds in Far Eastern Russia. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2013; 10(12): 7144–64. <https://doi.org/10.3390/ijerph10127144>
- Korobitsyn I.G., Moskvitina N.S., Tyutenkov O.Y., Gashkov S.I., Kononova Y.V., Moskvitin S.S., et al. Detection of tick-borne pathogens in wild birds and their ticks in Western Siberia and high level of their mismatch. *Folia Parasitol. (Praha).* 2021; 68: 2021.024. <https://doi.org/10.14411/fp.2021.024>
- Duggal N.K., Langwig K.E., Ebel G.D., Brault A.C. On the fly: interactions between birds, mosquitoes, and environment that have molded West Nile virus genomic structure over two decades. *J. Med. Entomol.* 2019; 56(6): 1467–74. <https://doi.org/10.1093/jme/tjz112>
- Dick G.W.A., Kitchen S.F., Haddow A.J., Zika virus (I). Isolations and serological specificity. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1952; 46: 509–20. [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(52\)90042-4](https://doi.org/10.1016/0035-9203(52)90042-4)
- Rabe I.B., Hills S.L., Haussig J.M., Walker A.T., Dos Santos T., San Martin J.L., et al. A review of the recent epidemiology of Zika virus infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2025; 112(5): 1026–35. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.24-0420>
- Pielnaa P., Al-Saadawe M., Saro A., Dama M.F., Zhou M., Huang Y., et al. Zika virus-spread, epidemiology, genome, transmission cycle, clinical manifestation, associated challenges, vaccine and antiviral drug development. *Virology.* 2020; 543: 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2020.01.015>
- Rückert C., Weger-Lucarelli J., Garcia-Luna S.M., Young M.C., Byas A.D., Murrieta R.A., et al. Impact of simultaneous exposure to arboviruses on infection and transmission by Aedes aegypti mosquitoes. *Nat. Commun.* 2017; 8: 15412. <https://doi.org/10.1038/ncomms15412>
- Laredo-Tiscareño S.V., Machain-Williams C., Rodríguez-Pérez M.A., Garza-Hernández J.A., Doria-Cobos G.L., Cetina-Trejo R.C., et al. Arbovirus surveillance near the Mexico–US border: Isolation and sequence analysis of chikungunya virus from patients with dengue-like symptoms in Reynosa, Tamaulipas. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2018; 99(1): 191–94. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0117>
- Cherabuddi K., Iovine N.M., Shah K., White S.K., Paisie T., Salemi M., et al. Zika and Chikungunya virus co-infection in a traveller returning from Colombia, 2016: virus isolation and genetic analysis. *JMM Case Rep.* 2016; 3(6): e005072. <https://doi.org/10.1099/jmmcr.0.005072>
- Iovine N.M., Lednický J., Cherabuddi K., Crooke H., White S.K., Loeb J.C., et al. Coinfection with Zika and Dengue-2 viruses in a traveler returning from Haiti, 2016: clinical presentation and genetic analysis. *Clin. Infect. Dis.* 2017; 64(1): 72–5. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw667>
- Laredo-Tiscareño S.V., Garza-Hernández J.A., Salazar M.I., De Luna-Santillana E.J., Tangudu C.S., Cetina-Trejo R.C., et al. Surveillance for flaviviruses near the Mexico–U.S. border: co-circulation of Dengue virus serotypes 1, 2, and 3 and West Nile virus in Tamaulipas, Northern Mexico, 2014–2016. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2018; 99(5): 1308–17. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0426>
- Slavov S.N., Gonzaga F.A.C., Pimentel B.M.S., Ramos D.D.A.R., de Araújo W.N., Covas D.T., et al. Zika virus RNA surveillance in blood donors in the Federal District of Brazil during the 2016 outbreak. *Hematol. Transfus. Cell Ther.* 2020; 42(4): 394–96. <https://doi.org/10.1016/j.htct.2019.08.006>
- Vasilakis N., Shell E.J., Fokam E.B., Mason P.W., Hanley K.A., Estes D.M., et al. Potential of ancestral sylvatic dengue-2 viruses to re-emerge. *Virology.* 2007; 358(2): 402–12. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2006.08.049>
- Aaskov J., Buzacott K., Thu H.M., Lowry K., Holmes E.C. Long-term transmission of defective RNA viruses in humans and Aedes mosquitoes. *Science.* 2006; 311(5758): 236–38. <https://doi.org/10.1126/science.1115030>
- Paz-Bailey G., Adams L.E., Deen J., Anderson K.B., Katzelnick L.C. Dengue. *Lancet.* 2024; 403(10427): 667–82. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)02576-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)02576-X)
- Rodríguez-Morales A.J., Villamil-Gómez W.E., Franco-Paredes C. The arboviral burden of disease caused by co-circulation and co-infection of dengue, chikungunya and Zika in the Americas. *Travel Med. Infect. Dis.* 2016; 14(3): 177–9. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2016.05.004>
- Svyatchenko V.A., Nikonov S.D., Mayorov A.P., Gelfond M.L., Loktev V.B. Antiviral photodynamic therapy: inactivation and inhibition of SARS-CoV-2 in vitro using methylene blue and Radachlorin. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* 2021; 33: 102112. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.102112>
- Toth K., Spencer J.F., Dhar D., Sagartz J.E., Buller R.M., Painter G.R., et al. Hexadecyloxypropyl-cidofovir, CMX001, prevents adenovirus induced mortality in a permissive, immunosuppressed animal model. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008; 105(20): 7293–97. <https://doi.org/10.1073/pnas.0800200105>
- Svyatchenko V.A., Ternovoi V.A., Lutkovskiy R.Y., Protopopova E.V., Gudymo A.S., Danilchenko N.V., et al. Human adenovirus and influenza A virus exacerbate SARS-CoV-2 infection in animal models. *Microorganisms.* 2023; 11(1): 180. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010180>

25. Sanders R., Mason D.J., Foy C.A., Huggett J.F. Evaluation of digital PCR for absolute RNA quantification. *PLoS One*. 2013; 8(9): e75296. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075296>
26. Petrović T., Blazquez A.B., Lupulović D., Lazić G., Escribano-Romero E., Fabijan D., et al. Monitoring West Nile virus (WNV) infection in wild birds in Serbia during 2012: first isolation and characterisation of WNV strains from Serbia. *Euro. Surveill.* 2013; 18(44): 20622. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2013.18.44.20622>
27. DaPalma T., Doonan B.P., Trager N.M., Kasman L.M. A systematic approach to virus-virus interactions. *Virus Res.* 2010; 149(1): 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2010.01.002>
28. Zhu Y., He Z., Qi Z. Virus-host Interactions in early Japanese encephalitis virus infection. *Virus Res.* 2023; 331: 199120. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2023.199120>
29. Du Y., Wang C., Zhang Y. Viral coinfections. *Viruses*. 2022; 14(12): 2645. <https://doi.org/10.3390/v14122645>
30. Gallichotte E.N., Fitzmeyer E.A., Williams L., Spangler M.C., Bosco-Lauth A.M., Ebel G.D. WNV and SLEV coinfection in avian and mosquito hosts: impact on viremia, antibody responses, and vector competence. *J. Virol.* 2025; 98(10): e0104124. <https://doi.org/10.1128/jvi.01041-24>
31. Dejnirattisai W., Supasa P., Wongwiwat W., Rouvinski A., Barba-Spaeth G., Duangchinda T., et al. Dengue virus sero-cross-reactivity drives antibody-dependent enhancement of infection with Zika virus. *Nat. Immunol.* 2016; 17(9): 1102–08. <https://doi.org/10.1038/ni.3515>
32. Stettler K., Beltramello M., Espinosa D.A., Graham V., Cassotta A., Bianchi S., et al. Specificity, cross-reactivity, and function of antibodies elicited by Zika virus infection. *Science*. 2016; 353(6301): 823–26. <https://doi.org/10.1126/science.aaf8505>
33. Lobigs M., Diamond M.S. Feasibility of cross-protective vaccination against flaviviruses of the Japanese encephalitis serocomplex. *Expert Rev. Vaccines*. 2012; 11(2): 177–87. <https://doi.org/10.1586/erv.11.180>
34. Sapparapu G., Fernandez E., Kose N., Bin C., Fox J.M., Bombardi R.G., et al. Neutralizing human antibodies prevent Zika virus replication and fetal disease in mice. *Nature*. 2016; 540(7633): 443–7. <https://doi.org/10.1038/nature20564>
35. Garg H., Yeh R., Watts D.M., Mehmetoglu-Gurbuz T., Resendes R., Parsons B., et al. Enhancement of Zika virus infection by antibodies from West Nile virus seropositive individuals with no history of clinical infection. *BMC Immunol.* 2021; 22(1): 5. <https://doi.org/10.1186/s12865-020-00389-2>

Информация об авторах:

Святченко Виктор Александрович – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия. E-mail: svyat@vector.nsc.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2729-0592>

Протопопова Елена Викторовна – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия. E-mail: protopopova_ev@vector.nsc.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2782-8364>

Легостаев Станислав Сергеевич – младший научный сотрудник отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия. E-mail: legostaev_ss@vector.nsc.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6202-445x>

Микрюкова Тамара Петровна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия. E-mail: mikryukova_tp@vector.nsc.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4350-4260>

Агафонов Александр Петрович – д-р биол. наук, генеральный директор ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия. E-mail: agafonov@vector.nsc.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2577-0434>

Локтев Валерий Борисович – д-р биол. наук, профессор, академик РАН, главный научный сотрудник отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия. E-mail: loktev@vector.nsc.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0229-321x>

Участие авторов: Святченко В.А. – концепция и дизайн исследования, проведение экспериментов, сбор, анализ и интерпретация данных, подготовка текста; Протопопова Е.В. – проведение экспериментов, анализ данных; Легостаев С.С. – проведение экспериментов; Микрюкова Т.П. – проведение экспериментов; Агафонов А.П. – менеджмент исследования; Локтев В.Б. – концепция и дизайн исследования, подготовка текста.

Поступила 23.06.2025
Принята в печать 20.08.2025
Опубликована 30.08.2025

Information about the authors:

Victor A. Svyatchenko – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher, Department of Molecular Virology of Flaviviruses and Viral Hepatitis, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Koltsovo, Novosibirsk region, Russia. E-mail: svyat@vector.nsc.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2729-0592>

Elena V. Protopopova – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher, Department of Molecular Virology of Flaviviruses and Viral Hepatitis, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Koltsovo, Novosibirsk region, Russia. E-mail: protopopova_ev@vector.nsc.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2782-8364>

Stanislav S. Legostaev – junior researcher of the department of molecular virology of flaviviruses and viral hepatitis, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Koltsovo, Novosibirsk region, Russia. E-mail: legostaev_ss@vector.nsc.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6202-445x>

Tamara P. Mikryukova – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Department of Molecular Virology of Flaviviruses and Viral Hepatitis, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Koltsovo, Novosibirsk region, Russia. E-mail: mikryukova_tp@vector.nsc.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4350-4260>

Alexander P. Agafonov – Doctor of Biological Sciences, Director General, Federal Biotechnology and Biotechnology, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Koltsovo, Novosibirsk region, Russia. E-mail: agafonov@vector.nsc.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2577-0434>

Valery B. Loktev – MD, PhD, DSc, Prof., academician RANS, Chief Researcher, Department of Molecular Virology of Flaviviruses and Viral Hepatitis, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Koltsovo, Novosibirsk region, Russia. E-mail: loktev@vector.nsc.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0229-321x>

Contribution: Svyatchenko V.A. – the study concept and design, conducting of the experiments, collection, analysis and interpretation of the data, preparing of the text; Protopopova E.V. – conducting of the experiments, analysis of the data; Legostaev S.S. – conducting of the experiments; Mikryukova T.P. – conducting of the experiments; Agafonov A.P. – management of the investigation; Loktev V.B. – the study concept and design, preparing of the text.

Received 23 June 2025
Accepted 20 August 2025
Published 30 August 2025