

Галочкина А. В.<sup>1</sup>, Зарубаев В. В.<sup>1</sup>, Киселев О. И.<sup>1</sup>, Бабкин В. А.<sup>2</sup>, Остроухова Л. А.<sup>2</sup>

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОВИРУСНОЙ АКТИВНОСТИ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА В ПРОЦЕССЕ РЕПЛИКАЦИИ ВИРУСА КОКСАКИ В4 *IN VITRO*

<sup>1</sup>ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России, 197376, г. Санкт-Петербург; <sup>2</sup>Иркутский институт химии им. А. Е. Фаворского СО РАН, 664033, г. Иркутск

На сегодняшний день изучение противовирусной активности антиоксидантов в отношении вирусных инфекций является необходимым условием для создания комплексных противовирусных препаратов. Одним из наиболее активных природных антиоксидантов считается дигидрокверцетин (ДКВ), экстрагируемый из лиственницы Гмелина. В статье представлены результаты исследований противовирусных свойств ДКВ в отношении представителя семейства пикорнавирусов – вируса Коксаки В4 *in vitro*. В ходе экспериментов выявлено снижение вирусных титров в присутствии ДКВ в концентрации 100 мкг/мл по сравнению с контролем. Также на основе метода бляшек подтверждено уменьшение цитопатогенного действия вируса в присутствии препарата в концентрации 100 мкг/мл. В исследовании по определению стадии вирусного жизненного цикла, на которую действует ДКВ, установлено, что наибольшая эффективность противовирусной терапии проявляется в ранних стадиях репродукции вируса (в первые 3 ч после инфицирования). Полученные данные свидетельствуют о потенциале ДКВ как противовирусного агента в отношении вируса Коксаки В4 и перспективности дальнейших исследований антиоксидантов как ингибиторов вирусной репликации.

Ключевые слова: *энтеровирусы; вирусы Коксаки; дигидрокверцетин; антиоксиданты; противовирусные препараты.*

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2016; 61(1): 27–31. DOI 10.18821/0507-4088-2016-61-1-27-31

Galochkina A.V.<sup>1</sup>, Zarubaev V.V.<sup>1</sup>, Kiselev O.I.<sup>1</sup>, Babkin V.A.<sup>2</sup>, Ostroukhova L.A.<sup>2</sup>

### ANTIVIRAL ACTIVITY OF THE DIHYDROQUERCETIN DURING THE COXSACKIEVIRUS B4 REPLICATION *IN VITRO*

<sup>1</sup>Research Institute of Influenza, 197376, St. Petersburg, Russia; <sup>2</sup>A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, 664033, Irkutsk, Russia

A study of the antiviral activity of antioxidants against viral infections is believed to be essential for creating complex antiviral agents. Dihydroquercetin is considered as the most active antioxidant extracted from *Larix gmelinii*. In this work, we present results of experiments of the antiviral properties of dihydroquercetin against a member of the family Picornaviridae – Coxsackievirus B4 *in vitro*. We have estimated that dihydroquercetin reduces viral titers at 100 µg/ml concentration as compared with control of virus. We have shown using the plaque assay that CPE of virus is reduced in the presence of dihydroquercetin at 100 µg/ml. Study of the phase of viral life cycle, in which dihydroquercetin acted, demonstrated that the highest efficacy of the antiviral therapy was reached at early stages of virus reproduction (1-3 hours post infection). These results show that dihydroquercetin has antiviral property against Coxsackievirus B4. This drug and other antioxidants can be tested as inhibitors of viral replication.

Key words: *enteroviruses; Coxsackieviruses B4; dihydroquercetin; antioxidants; antiviral agents.*

Citation: *Voprosy virusologii*. 2016; 61(1): 27–31. (in Russian). DOI 10.18821/0507-4088-2016-61-1-27-31

For correspondence: Anastasiya Galochkina, research assistant; e-mail: nastyalochkina@yandex.ru

Received 05.05.15

### Введение

Энтеровирусные инфекции – группа острых инфекционных заболеваний, возбудителями которых являются энтеровирусы (ЕСНО-вирусы, полиовирусы, Коксаки-вирусы). Наиболее подвержены данной инфекции дети и подростки, а также лица с ослабленным иммунитетом. Энтеровирусные инфекции являются причиной многочисленных эпидемий: энтеровирусного (асептического) менингита во Франции (2002 г., 559 случаев; вирусы ЕСНО 6, 13, 20), в Японии (2000 г., заболело несколько сотен человек; были смертельные исходы; энтеровирус 71-го типа). На постсоветском пространстве наиболее крупные вспышки в последние годы наблюдались в России в Приморском крае (Хабаровск, 1997 г.; преобладали вирусы Коксаки В3, В4, В5, ЕСНО 6, 17, энтеровирус 70-го типа) и Калмыкии (2002 г., 507 случаев; вирус ЕСНО

30) [1]. Вирусы Коксаки типа В – это безоболочечные вирусы, принадлежащие к роду *Enterovirus*, семейству Picornaviridae и содержащие одноцепочечный положительный РНК-геном.

Жизненный цикл энтеровирусов проходит в цитоплазме клетки-хозяина. Начало жизненного цикла связано с прикреплением вируса к специфическим рецепторам клетки-мишени (Коксаки-аденовирусный рецептор (CAR), который распознается вирусами Коксаки В1–В6, CD55 – вирусами Коксаки В1, В3, В5). Затем после конформационных изменений капсида вируса, необходимых для его входа в клетку, вирусная РНК проникает в цитоплазму, и начинается процесс трансляции. Вслед за трансляцией запускается процесс транскрипции, происходящий по схеме (+)РНК – (–)РНК – (+)РНК [2].

Вирус проникает в организм через дыхательные пути и/или ротовую полость, реплицируется в верхних дыхательных путях или тонкой кишке, после чего поступает в кровяное русло, приводя к незначительной вирусемии и диссеминации в органы-мишени (ЦНС, печень, сердце, поджелудочная железа и др.). После этого наступает стадия вторичной вирусемии с потенциальной возможностью распространения инфекции в ЦНС [3]. Широкая пантропность энтеровирусов лежит в основе широкого разнообразия вызываемых ими клинических форм инфекции, затрагивающих практически все органы и ткани организма человека.

Вирус Коксаки В4 (СVB4) является одной из основных причин возникновения инсулинзависимого диабета 1-го типа [4]. Эта патология характеризуется Т-клеточной деструкцией  $\beta$ -клеток поджелудочной железы. Наиболее вероятный механизм, запускающим и/или усиливающий апоптоз  $\beta$ -клеток, – окислительный стресс. После активации фагоциты выделяют реактивные формы кислорода (ROS) и воспалительные цитокины (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ ), которые в дальнейшем усиливают окислительные и другие вирусиндуцированные повреждения (например, ухудшение митохондриальной функции). Воспалительные цитокины стимулируют продукцию ROS, в частности NO, внутри островков Лангерганса, в макрофагах и чувствительных к окислительному стрессу  $\beta$ -клетках [3].

Специфическая терапия энтеровирусных инфекций на сегодняшний день представлена сравнительно небольшим числом препаратов, причем многие из них еще находятся в стадии клинических испытаний. Принцип их действия преимущественно основывается на подавлении жизненного цикла вируса в стадии его входа в клетку за счет специфических элементов в химической структуре. Самыми известными являются препараты плеконарил и пиродавир. Кроме того, существует группа препаратов, направленных на ингибирование других специфических вирусных белков. К этой группе относятся и широко известный рибавирин (синтетический аналог гуанозина). При внедрении рибавирина в вирусную РНК он стимулирует мутации в геноме вируса, что приводит к его гибели. Рибавирин снижает вирусные титры, уменьшает воспаление и вирусиндуцированный некроз тканей [5].

В дополнение к препаратам специфического действия в терапии энтеровирусных инфекций применяются интерфероны. При лечении применяют ИФН- $\beta$  и ИФН- $\gamma$ , под воздействием которых происходит элиминация РНК вирусного генома [6].

В качестве фактора патогенетической терапии используются антиоксиданты, в частности флавоноиды. Наиболее важным их свойством является способность уменьшать образование свободных радикалов [7]. Одним из самых известных и эффективных антиоксидантов является дигидрокверцетин (ДКВ). ДКВ (DHQ, таксифолин, 3,3',4',5,7-пентагидроксифлаванон) – это флавоноид, экстрагируемый из ксилемы лиственни-

цы Гмелина. Данный флавоноид предотвращает аккумуляцию свободных радикалов, обладает противорадиационной, противоопухолевой, противовирусной активностью, влияет на физические свойства липидов в биологических мембранах, активизирует формирование коллагеновых волокон [8].

Целью исследования явилась характеристика противовирусной активности ДКВ при терапии Коксаки В4-вирусной инфекции на модели *in vitro*.

## Материал и методы

**Препараты.** В работе использовались ДКВ с чистой 99,8% (Иркутск) и в качестве препарата сравнения – рибавирин (ЗАО «Канонфарма продакшн», Московская область) (рис. 1).

**Клеточные линии.** Линия клеток Vero была получена из музея клеточных культур ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России. 96-Луночные микропланшеты засеивали по 100 мкл на лунку с посевной концентрацией  $2 \cdot 10^5$  кл/мл в ростовой среде ( $\alpha$ -MEM («Биолот», СПб) с добавлением 5% сыворотки крупного рогатого скота (КРС) («Биолот», СПб)). После этого микропланшеты инкубировали в течение 1 сут в  $\text{CO}_2$ -инкубаторе при  $37^\circ\text{C}$  до формирования монослоя. После инкубации микропланшеты промывали 1 раз поддерживающей средой по 100 мкл ( $\alpha$ -MEM с добавлением 1% сыворотки КРС) и использовали для культивирования вируса.

**Вирус.** Вирус Коксаки В4/Powers был взят из Государственной коллекции вирусов НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского».

**Оценка активности химиопрепаратов.** При определении титра вируса использовали культуру клеток Vero, выращенных на 96-луночных панелях на среде  $\alpha$ -MEM. Из исследуемых препаратов готовили серию 3-кратных разведений (300–10 мкг/мл для ДКВ и 500–30 мкг/мл для рибавирина), вносили в лунки планшета и инкубировали при  $37^\circ\text{C}$  в атмосфере 5%  $\text{CO}_2$  в течение 1 ч. Все контрольные и опытные образцы были изучены в трех повторностях. По истечении этого времени клетки заражали серийными 10-кратными разведениями вируса Коксаки В4 по 100 мкл на лунку от  $10^{-1}$  до  $10^{-6}$  и инкубировали в термостате в течение 5 сут. На 5-е сутки визуально оценивали цитопатический эффект. За титр вируса принимали величину, противоположную десятичному логарифму наибольшего разведения вируса, способного вызвать специфические цитопатические изменения в клетках.

Токсические концентрации ДКВ и рибавирина определяли с помощью микротетразолиевого теста (МТТ) [9]. Вирус культивировали в присутствии препаратов, как описано выше, клетки промывали 1 раз физиологическим раствором, и количество живых клеток оценивали при помощи МТТ, характеризующего интенсивность митохондриального дыхания живых клеток. С этой целью в лунки планшетов добавляли по 100 мкл раствора (5 мг/мл) 3-(4,5-диметилтиазолил-2)2,5-дифенилтетразолия бромид («ICN Biochemicals Inc.», Аурора, Огайо) на физиологическом растворе. Клетки инкубировали при  $37^\circ\text{C}$  в атмосфере 5%  $\text{CO}_2$  в течение 2 ч и промывали в физиологическом растворе. Осадок растворяли в 100 мкл на лунку этилового спирта, после чего оптическую плотность в лунках планшетов измеряли на многофункциональном ридере Victor 1420 («Perkin Elmer», Финляндия) при длине волны 535 нм. Тест на токсичность считали положительным, если оптическая плотность в лунках с образцами препаратов не была меньше в 2 раза по сравнению с лунками клеточного контроля [10].

Для более точной количественной оценки противовирусных свойств препаратов вирус титровали при помощи метода бляшек. Для этого клетки Vero рассеивали

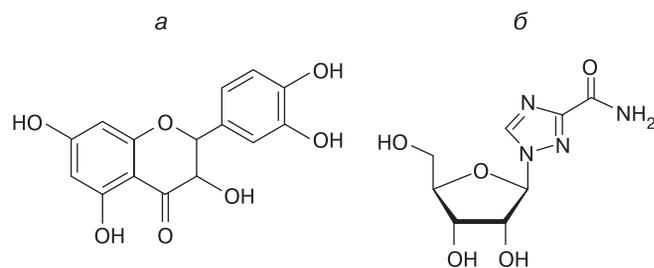


Рис. 1. Структуры ДКВ (а) и рибавирина (б).

Репродукция CVB4 в присутствии химиопрепаратов

Препарат	Титр вируса (в lg EID <sub>50</sub> /0,2 мл) при концентрации препарата, мкг/мл:					
	10	30	100	300	500	0 (контроль вируса)
Рибавирин	-	5,5 ± 0,0	5,5 ± 0,5	5,0 ± 0,0	Токсичность	6,0 ± 0,5
ДКВ	5,0 ± 0,0	4,5 ± 0,0	3,5 ± 0,0	3,5 ± 0,0	-	5,5 ± 0,5

на 6-луночных панелях. После формирования конфлюэнтного монослоя клетки заражали 10-кратными разведениями вируса (2–4 lg EID<sub>50</sub>/2 мл) и инкубировали при комнатной температуре 30 мин. По истечении указанного времени клетки промывали и заливали раствором, состоящим из среды DMEM с растворенным в ней ДКВ в концентрации 100 мкг/мл и жидким авицелом («Sigma-Aldrich», США) в соотношении 1:1. Контрольные лунки заливали по той же схеме в отсутствие препарата. После этого панели инкубировали в термостате в течение 5 сут. На 5-е сутки лунки окрашивали кристаллическим фиолетовым и подсчитывали число вирусных бляшек в каждой из них.

Для выявления вирулицидных свойств препарата вирус инкубировали с ДКВ в концентрации 100 мкг/мл в течение 1 ч при 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. После этого определяли инфекционный титр вируса в контрольных и опытных образцах, как описано выше.

Для определения стадии вирусного жизненного цикла, на которую действует ДКВ, проводили опыты по срокам добавления препарата. Для этого ДКВ в концентрации 100 мкг/мл добавляли в лунки 24-луночного планшета при различных сроках после инфицирования и инкубировали в термостате до окончания жизненного цикла вируса (6 ч). После этого супернатант каждой концентрации препарата раститровывали на 96-луночной панели и визуально оценивали титр вируса по цитопатическому действию (ЦПД).

**Статистическая обработка данных.** Статистическую обработку результатов (расчет средних значений и стандартных отклонений, а также 50% эффективных доз при помощи линейной регрессии) проводили при помощи программы Microsoft Excel. Достоверность различий оценивали по U-критерию Манна–Уитни [11]

### Результаты и обсуждение

ДКВ снижал вирусные титры Коксаки В4 *in vitro*. Токсические концентрации препаратов ДКВ и рибавирина составляли более 300 и 500 мкг/мл соответственно. Противовирусная активность изучаемых препаратов

была оценена по ЦПД клеток Vero и результатам МТТ. Результаты титрования вируса представлены в табл. 1. Как видно из приведенных данных, вирус Коксаки В4 эффективно размножался в клетках Vero, достигая титров 5,5 – 6,0 lg EID<sub>50</sub>/0,2 мл, препарат сравнения рибавирин снижал вирусные титры на 1 lg EID<sub>50</sub>/0,2 мл в концентрации 300 мкг/мл, ДКВ снижал вирусные титры на 2 lg EID<sub>50</sub>/0,2 мл в концентрации 100 мкг/мл.

На основе полученных результатов был рассчитан химиотерапевтический индекс (ХТИ) препаратов – отношение 50% цитотоксической дозы (ЦТД<sub>50</sub>, мкг/мл) к 50% ингибирующей дозы (ИД<sub>50</sub>, мкг/мл) (табл. 2).

Противовирусную активность ДКВ также оценивали количественно посредством подсчета вирусных бляшек в лунках с контролем вируса и препарата. Результаты представлены на рис. 2 и количественно суммированы в табл. 3.

В отдельной серии экспериментов *in vitro* оценивали вирулицидные свойства ДКВ в концентрации 100 мкг/мл. Как в присутствии ДКВ, так и без него титр вируса составил 5,5 ± 0,0, что свидетельствует об отсутствии у ДКВ вирулицидной активности.

В следующей стадии экспериментов изучали эффективность ДКВ в зависимости от срока его добавления в инфицированную культуру. Результаты суммированы на рис. 3. Наибольшая противовирусная активность ДКВ соответствует ранним стадиям репродукции вируса Коксаки В4 (1–3-й час после заражения). Наименьшие вирусные титры отмечены при добавлении ДКВ в ранние сроки.

В проведенных исследованиях продемонстрирована вирусингибирующая активность ДКВ в отношении вируса Коксаки В4. ДКВ, являясь представителем класса биофлавоноидов, эффективно подавлял репликацию вируса Коксаки В4, снижая вирусные титры на 2 lg EID<sub>50</sub>/0,2 мл *in vitro* по сравнению с контролем, а также препятствовал образованию вирусных бляшек и деструкции клеточного монослоя. Максимальное снижение вирусных титров при добавлении ДКВ наблюдалось на ранних этапах жизненного цикла (1–3-й час после ин-

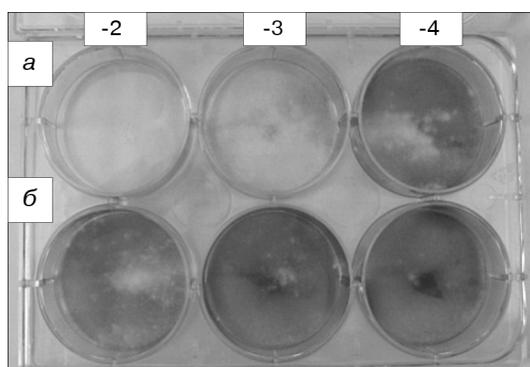


Рис. 2. Патогенное действие CVB4 в присутствии ДКВ.

а – ряд контроля вируса; б – ряд ДКВ; -2-3-4 – доза вируса 4, 3 и 2 lg EID<sub>50</sub>/0,2 мл соответственно.

Таблица 2

### Показатели токсичности и противовирусной активности химиопрепаратов

Препарат	ЦТД <sub>50</sub> , мкг/мл	ИД <sub>50</sub> , мкг/мл	ХТИ
ДКВ	> 300,0	7,8	> 38,4
Рибавирин	199,3	17,4	11,4

Таблица 3

### Вирусингибирующие свойства ДКВ на модели энтеровирусной инфекции в культуре клеток Vero

Препарат	Количество бляшек при разведении вируса		
	-2	-3	-4
Контроль вируса	Полная деструкция монослоя	> 100	90 ± 10
ДКВ	> 80	40 ± 5	4 ± 1

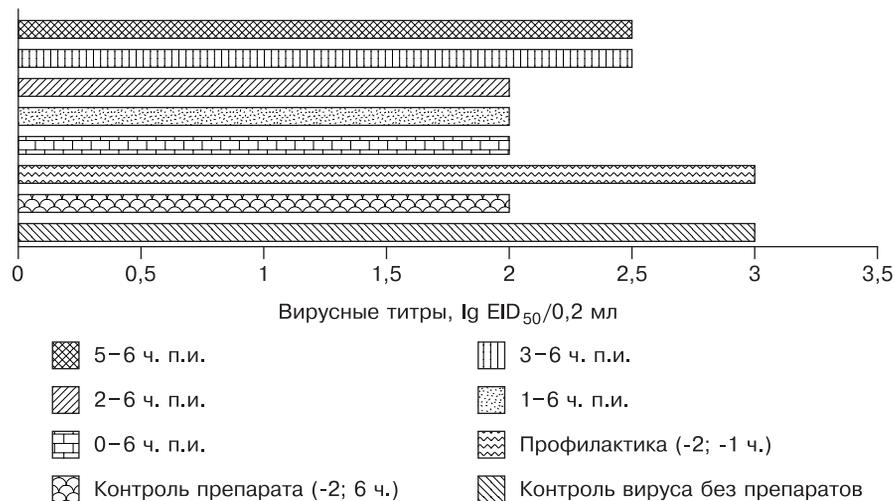


Рис. 3. Репродукция вируса Коксаки В4 в присутствии ДКВ в зависимости от времени добавления. ч. п. и. – час после инфицирования.

фицирования). Кроме того, исследования показали, что данный препарат не обладает вирулицидной активностью в отношении данного вируса.

На сегодняшний день установлено, что ROS играют важную роль в патогенезе многих вирусных инфекций. Например, при Коксаки-вирусной инфекции свободные радикалы приводят к деструктивным процессам в  $\beta$ -клетках поджелудочной железы [12]; при гриппозной инфекции они вызывают повреждения тканей легких [13] и т. д. Главными источниками ROS считаются митохондрии, поскольку они являются энергетическими клеточными центрами и мишенями для вирусных белков, что делает их важным участником иммунной защиты при вирусной атаке на клетки хозяина. Митохондриальная дыхательная цепь (МДЦ), система антиоксидантной защиты и члены семейства Bcl-2 существенно влияют на митохондриальную целостность. МДЦ является конечным этапом продукции аденозинтрифосфата, она обеспечивает перенос электронов от молекул-доноров к акцептору  $O_2$ . Дисбаланс в этой системе приводит к неправильной транспортировке электронов и как следствие к увеличению продукции ROS. Данное явление называется окислительным стрессом. Для предотвращения окислительного стресса в организме существуют защитные механизмы, представленные различными антиоксидантными системами. Антиоксидантные механизмы включают компоненты, представленные энзимными и неэнзимными сквенджерами. Наиболее распространенной системой является глутатионовая (GSH). Данная система помогает обезвреживать ксенобиотики в реакциях конъюгации. К другим важным защитным механизмам можно отнести еще 2 системы: систему каталазы (CAT) и супероксиддисмутазы (SOD). SOD метаболизирует 2 молекулы  $O_2^-$ , превращая их в  $O_2$  и  $H_2O_2$ , затем CAT восстанавливает  $H_2O_2$  до  $O_2$  и  $2H_2O$ . Кроме того, CAT детоксифицирует фенолы и спирты. К неэнзимным механизмам относятся вещества с низкомолекулярной массой, такие как витамин E, C, Se-содержащие компоненты, липоевая кислота и убихиноны [14].

При Коксаки-вирусной инфекции окислительный стресс запускает механизмы клеточного апоптоза, что способствует вирусной репродукции [14]. Антиоксиданты в терапии могут быть использованы в качестве патогенетического средства, направленного против свободных радикалов, образующихся в ходе вирусного патогенеза.

Многие представители класса полифенолов оказывают противовирусное действие на энтеровирусы. Например, эпигаллокатехина галлат эффективно подавляет вирусную репликацию энтеровируса 71-го типа [15]. Эффективно подавляют полиовирусную репликацию флавоноиды, экстрагируемые из растения *Psidia dentate*, – 3-метилкемпферол, 3,4-диметилкемпферол [16].

С другой стороны, растительные полифенолы и другие антиоксиданты могут снижать вирусные титры вне зависимости от антиоксидантной активности. Например, известный антиоксидант PDTC (пирролидина дитиокарбамат) подавляет репликацию вируса Коксаки В3 посредством угнетения убиквитин-протеасомного пути (UPS) [17]. UPS играет ключевую роль в регуляции фундаментальных клеточных процессов, таких как регуляция клеточного цикла, апоптоз, восстановление ДНК и др.

Исходя из полученных результатов, можно говорить о потенциале ДКВ в качестве противовирусного агента в отношении энтеровирусов, в том числе вируса Коксаки В4. Дополнительные исследования необходимы для выяснения конкретной мишени и механизма его противовирусной активности, а также возможной замены структуры молекулы для повышения ее эффективности.

#### ЛИТЕРАТУРА (п. п. 2–10, 12–19 с. м. REFERENCES)

1. Энтеровирусная инфекция, лечение, причины, симптомы, профилактика. Available at: <http://www.pitermed.com/simptombolezn/?cat=6&word=55036>
11. U-критерий Манна–Уитни. Available at: <http://medstatistic.ru/theory/mann.html>

#### REFERENCES

1. Enterovirus infection, treatment, causes, symptoms, prevention. Available at: <http://www.pitermed.com/simptombolezn/?cat=6&word=55036> (in Russian)
2. Suvi Rasilainen. *Coxsackie Virus Infections and Oxidative Stress as Mediators of Beta Cell Damage*: Diss. Helsinki; 2004.
3. Zaoutis T., Klein J.D. Enterovirus Infections. *Pediatr. Rev.* 1998; 19(6): 183–91.
4. Varela-Calvino R., Peakman M. Enteroviruses and type 1 diabetes. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2003; 19(6): 431–41.
5. Kuo R.L., Shih S.R. Strategies to develop antivirals against enterovirus 71. *Virol. J.* 2013; 10: 28.
6. Piconi L., Quagliaro L., Ceriello A. Oxidative stress in diabetes. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2003, 41(9): 1144–9.
7. Kuo R.L., Shih S.R. Strategies to develop antivirals against enterovirus 71. *Virol. J.* 2013; 10: 28.

8. Feng Q., Langereis M.A., Lork M., Nguyen M., Hato S.V., Lanke K. et al. Enterovirus 2Apro targets MDA5 and MAVS in infected cells. *J. Virol.* 2014; 88(6): 3369–78.
9. Pietta P.G. Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.* 2000; 63(7): 1035–42.
11. Gibellini L., Pinti M., Nasi M., Montagna J.P., De Biasi S., Roat E. et al. Quercetin and cancer chemoprevention. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2011; 2011: 591356.
12. U-Mann–Whitney. Available at: <http://medstatistic.ru/theory/mann.html> (in Russian)
13. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods.* 1983; 65(1–2): 55–63.
14. West I.C. Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabet.Med.* 2000; 17(3): 171–80.
15. Piconi L., Quagliario L., Ceriello A. Oxidative stress in diabetes. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2003, 41(9): 1144–9.
16. Han S.N., Meydani S.N. Antioxidants, cytokines and influenza infection in aged mice and elderly humans. *J. Infect. Dis.* 2000; 182(Suppl. 1): S74–80.
17. Nathan C., Cunningham-Bussel A. Beyond oxidative stress: an immunologist's guide to reactive oxygen. *Nat. Rev. Immunol.* 2013; 13(5): 349–61.
18. Ho H.Y., Cheng M.L., Weng S.F., Leu Y.L., Chiu D.T. Antiviral effect of epigallocatechin gallate on enterovirus 71. *J. Agric. Food Chem.* 2009; 57(14): 6140–7.
19. Robin V., Irurzun A., Amoros M., Boustie J., Carrasco L. Antipoliiovirus flavonoids from *Psidium dentate*. *Antivir. Chem. Chemother.* 2001; 12(5): 283–91.
20. De Palma A.M., Vlieghe I., De Clercq E., Neyts J. Selective inhibitors of picornavirus replication. *Med. Res. Rev.* 2008; 28(6): 823–84. Available at: [www.interscience.wiley.com](http://www.interscience.wiley.com)

Поступила 05.05.15

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016  
УДК 578.833.29.083.2

*Иунихина О. В., Компанец Г. Г.*

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ СОХРАНЕНИЯ ХАНТАВИРУСА В КОМПЛЕКСАХ С СУБСТРАТАМИ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ

ФГБУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» СО РАМН, 690087, г. Владивосток

Длительность сохранения вирусов во внешней среде, особенно вирусов инфекций с непрямой передачей, является актуальной проблемой в эпидемиологии. В данной работе представлены результаты экспериментального изучения возможности адсорбции и сохранения хантавируса на различных субстратах внешней среды (природные органические и неорганические сорбенты). Установлена эффективность белоксодержащего раствора для элюции инфекционного хантавируса (5–10% бычий сывороточный альбумин) и фосфатно-солевого буфера с pH 7,2 при обнаружении специфической РНК. Показана возможность сохранения хантавируса в комплексе с субстратами внешней среды до 14 дней при 4°C.

Ключевые слова: хантавирус; адсорбция; сохранение во внешней среде; полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2016; 61(1): 31–33. DOI 10.18821/0507-4088-2016-61-1-31-33

*Iunikhina O.V., Kompanets G.G.*

## EXPERIMENTAL RESEARCH OF THE HANTAVIRUS SURVIVAL IN COMPLEXES WITH ENVIRONMENTAL SUBSTRATES

G.P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 690087, Vladivostok, Russia

Survival of viruses in the environment is a very important problem in epidemiology, especially for infections with indirect transmission. This work describes the results of the experimental study of adsorption and survival of the hantavirus on different environmental substrates (natural organic and inorganic sorbents). Bovine serum albumin (BSA) solution (5–10%) was effective in the hantavirus elution and phosphate-buffer saline (PBS) pH 7.2 was optimal for elution of specific RNA. Potential survival of the infectious hantavirus on environmental substrates was observed within up to 14 days at +4°C.

Key words: hantavirus; adsorption; survival in environment; reverse transcription polymerase chain reaction.

Citation: Voprosy virusologii. 2016; 61(1): 31–33. (In Russ.). DOI 10.18821/0507-4088-2016-61-1-31-33

For correspondence: Olga Iunikhina, MD, PhD; e-mail: [olga\\_iun@inbox.ru](mailto:olga_iun@inbox.ru)

Received 04.08.14

### Введение

Хантавирусы, представители рода *Hantavirus* семейства Bunyviridae, как и их основные природные хозяева мелкие грызуны, широко распространены по всему миру и вызывают на территории Евразийского континента геморрагическую лихорадку с почечным синдромом (ГЛПС), а в Северной и Южной Америке – хантавирусный кардиолегочный синдром (ХКЛС). Инфицирование грызунов – природных носителей

вируса, а также людей происходит преимущественно при вдыхании выделений грызунов, контаминированных хантавирусом [1]. Таким образом, для реализации аэрогенного механизма передачи хантавирусы должны обладать определенной стабильностью вне организма хозяина. Длительность сохранения вирусов в окружающей среде является актуальной проблемой для эпидемиологии тех заболеваний, при которых передача возбудителя происходит при прямом контакте с ис-

Для корреспонденции: Иунихина Ольга Викторовна, канд. мед. наук, научный сотрудник лаб. хантавирусных инфекций; e-mail: [olga\\_iun@inbox.ru](mailto:olga_iun@inbox.ru)