ISSN 0507-4088 (Print)
ISSN 2411-2097 (Online)

Д.И.ИВАНОВСКИЙ

ВОПРОСЫ ВИРУСОЛОГИИ

PROBLEMS OF VIROLOGY

2

Том 70 • 2025

Volume 70 • Issue 2 • 2025

Издатель:
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
www.crie.ru

Журнал «Вопросы вирусологии» знакомит читателей с достижениями российской и мировой вирусологии, помещает статьи, посвящённые изучению вирусов и вирусных болезней человека, животных и растений. Видное место в издании отводится публикации результатов экспериментальных работ по различным вопросам общей и частной вирусологии. В журнале печатаются материалы, способствующие внедрению в практику достижений вирусологической науки по ликвидации и снижению распространённости инфекционных заболеваний, а также их диагностике, профилактике и лечению.

В обзорных статьях обобщаются последние достижения в области вирусологии. Читатель найдет в журнале описание новых методов исследований, методических приёмов, новой аппаратуры и приспособлений.

Журнал рассчитан на вирусологов, эпидемиологов, паразитологов, фармакологов, биохимиков и других специалистов.

The Journal «Problems of virology» is focused on current advances in virology in Russia and the rest of the world. It covers research in virology and viral diseases of humans, animals, and plants. Emphasis is given to the original experimental studies on various aspects of general and special virology. The reviews of recent and historic developments in virology are regularly published.

The journal promotes the implementation of advances in virology aimed at treatment, reduction of the incidence and elimination of infectious diseases and enhancement of diagnostics, prevention, and treatment practices as well. The target audience of the journal are virologists (including medical and veterinary virologists, scientists and practitioners), epidemiologists, parasitologists, pharmacologists, biochemists and specialists in related medical disciplines.

Журнал входит в базу данных SCOPUS и рекомендованный ВАК «Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук» по специальностям:

1.5.10 Вирусология (медицинские и биологические науки)
3.2.2 Эпидемиология (медицинские и биологические науки)
3.1.22 Инфекционные болезни (медицинские и биологические науки)
3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология (медицинские и биологические науки)

В соответствии с рекомендациями ВАК (письмо ВАК от 06.12.2022 № 02-1198), Журнал относится к категории К1, как издание, входящее в базы данных SCOPUS и RSCI.

The journal is indexed in the SCOPUS database and is included in the «List of peer-reviewed scientific journals in which the main scientific results of dissertations for the PhD degree and for the degree of Doctor of Science should be published» recommended by the Higher Attestation Commission for the following specialities:

1.5.10 Virology (medical and biological sciences)
3.2.2 Epidemiology (medical and biological sciences)
3.1.22 Infectious diseases (medical and biological sciences)
3.3.6 Pharmacology, clinical pharmacology (medical and biological sciences)

In accordance with the recommendations of the Higher Attestation Commission (letter of the Higher Attestation Commission dated December 06, 2022 No. 02-1198), the Journal belongs to the K1 category, as a journal included in the SCOPUS and RSCI databases.

Свидетельство о регистрации
ПИ № ФС77-77676 от 29 января 2020 г.

ISSN 0507-4088 (Print)
ISSN 2411-2097 (Online)
DOI prefix: 10.36233

Журнал представлен в международных базах данных и информационно-справочных системах: Russian Science Citation Index, Abstract Journals, AIDS & Cancer Research, Biocontrol News and Information, Biological Sciences, Chemical Abstracts, CrossRef, DOAJ, EBSCOhost Biological Abstracts, EBSCOhost Wildlife & Ecology Studies Worldwide, Elsevier BV Scopus, Elsevier BV EMBASE, Index Medicus, Excerpta Medica, Index Veterinarius, MEDLINE, National Library of Medicine PubMed, Parasitology Database, Poultry Abstracts, Review of Medical and Veterinary Entomology, Thomson Reuters Biological Abstracts, Thomson Reuters BIOSIS Previews, Thomson Reuters Science Citation Index Expanded, Thomson Reuters Web of Science, Tropical Diseases Bulletin, Veterinary Science Database, Virology and AIDS Abstracts, ROAD, HYPERLINK, OPENALEX, FATCAT, ZEITSCHRIFTEN DATENBANK

Журнал открытого доступа,
не берущий плату за публикации.

Контент доступен под лицензией
Commons Attribution International
4.0 CC-BY.

Статьи иностранных авторов
и отдельные статьи, рекомендованные
Редакционной коллегией журнала,
публикуются на русском и английском
языках под единым DOI.

Полные тексты статей журнала
доступны на сайтах:

https://www.virusjour.crie.ru;
https://www.elibrary.ru;
https://www.cyberleninka.ru;
https://www.rucont.ru;
https://www.ebsco.com;
https:// www.doaj.org;
https://www.elsevier.com

ИЗДАТЕЛЬ:
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора
111123, Москва,
ул. Новогиреевская, д. 3А.

Тел.: +7(925) 011-87-79
E-mail: publisher@crie.ru

РЕДАКЦИЯ:
Редакция расположена по адресу
Издателя
E-mail: vopr.virusol@crie.ru

Начальник редакционно-
издательского отдела:
Осокина Ольга Владимировна

Заведующая редакцией:
Неверова Анна Леонидовна

Редакция не несёт ответственности за
содержание рекламных материалов.

К публикации принимаются только
статьи, подготовленные в соответствии с правилами для авторов
(см. https://www.virusjour.crie.ru).

Направляя статью в редакцию,
авторы принимают условия договора
публичной оферты
(https://www.virusjour.crie.ru).

Подписано в печать 27.04.2025.
Формат 60×90 1/8.
Тираж 50 экз.
«Объединенный полиграфический
комплекс». 115114, Москва,
Дербеневская набережная, 7с2.
E-mail: info@opk.bz. www.opk.bz

16+

© ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора, 2025

**Учредители: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора,
Всероссийское научно-практическое общество
эпидемиологов, микробиологов и паразитологов**

ВОПРОСЫ ВИРУСОЛОГИИ

(VOPROSY VIRUSOLOGII)

ДВУХМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Основан в 1956 г.

2

Том 70 · 2025

Редакционная коллегия

Главный редактор: ЛЬВОВ Д.К. (д.м.н., проф., акад. РАН)

Зам. главного редактора: **Гребенникова Т.В.** (д.б.н., проф., член-корр. РАН)
Ответственный секретарь: **Альховский С.В.** (д.б.н., член-корр. РАН)
Научный редактор: **Забережный А.Д.** (д.б.н., проф., член-корр. РАН)

Члены редколлегии:
Белоусова Р.В. (д.в.н., проф.)
Галегов Г.А. (д.б.н., проф.)
Гулюкин М.И. (д.в.н., проф., акад. РАН)
Гурцевич В.Э. (д.м.н., проф.)
Ершов Ф.И. (д.м.н., проф., акад. РАН)
Жирнов О.П. (д.б.н., проф., член-корр. РАН)
Зверев В.В. (д.б.н., проф., акад. РАН)
Зуев В.А. (д.м.н., проф.)
Иванова О.Е. (д.м.н., проф.)
Карганова Г.Г. (д.б.н., проф.)
Лукашев А.Н. (д.м.н., проф., член-корр. РАН)
Лобзин Ю.В. (д.м.н., проф., акад. РАН)
Малеев В.В. (д.м.н., проф., акад. РАН)
Онищенко Г.Г. (д.м.н., проф., акад. РАН)
Попова А.Ю. (д.м.н., проф.)
Урываев Л.В. (д.м.н., проф., член-корр. РАН)
Юминова Н.В. (д.б.н., проф.)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Акимкин В.Г. (д.м.н., проф., акад. РАН; Москва, Россия)

Алипер Т.И. (д.б.н., проф.; Москва, Россия)

Антонов В.А. (д.м.н., проф.; Волгоград, Россия)

Бовин Н.В. (д.х.н., проф.; Москва, Россия)

Борисевич С.В. (д.б.н., проф., акад.РАН; Сергиев Посад, Россия)

Брико Н.И. (д.м.н., проф., акад. РАН; Москва, Россия)

Васин А.В. (д.б.н.; Санкт-Петербург, Россия)

Глотов А.Г. (д.в.н., проф.; пос. Краснообск, Новосибирская обл., Россия)

Глупов В.В. (д.б.н., проф.; Новосибирск, Россия)

Заседателев А.С. (д.ф.-м.н., проф.; Москва, Россия)

Злобин В.И. (д.м.н., проф., акад. РАН; Иркутск, Россия)

Иванов Л.И. (Хабаровск, Россия)

Кузин А.А. (д.м.н.; Санкт-Петербург, Россия)

Кутырев В.В. (д.м.н., проф., акад. РАН; Саратов, Россия)

Леонова Г.Н. (д.м.н., проф.; Владивосток, Россия)

Локтев В.Б. (д.б.н., проф.; Новосибирск, Россия)

Макаров В.В. (д.б.н., проф.; Москва, Россия)

Малышев Н.А. (д.м.н., проф.; Москва, Россия)

Манапова Э.Р. (д.м.н.; Казань, Россия)

Михайлов М.И. (д.м.н., проф., член-корр. РАН; Москва, Россия)

Нетёсов С.В. (д.б.н., проф., акад. РАН; Новосибирск, Россия)

Никифоров В.В. (д.м.н., проф.; Москва, Россия)

Панин А.Н. (д.в.н., проф., акад. РАН; Москва, Россия)

Покровский А.Г. (д.м.н., проф., член-корр. РАН; Новосибирск, Россия)

Резник В.И. (к.м.н.; Хабаровск, Россия)

Романенко В.В. (д.м.н.; Екатеринбург, Россия)

Савельев С.И. (д.м.н., проф.; Липецк, Россия)

Сметанина С.В. (к.м.н.; Москва, Россия)

Степанова Т.Ф. (д.м.н., проф.; Тюмень, Россия)

Тутельян А.В. (д.м.н., проф., член-корр. РАН; Москва, Россия)

Чвала И.А. (к.в.н.; Владимир, Россия)

Чумаков П.М. (д.б.н., проф., член-корр. РАН; Москва, Россия)

Чучалин А.Г. (д.м.н., проф., акад. РАН; Москва, Россия)

Шестопалов А.М. (д.б.н., проф.; Новосибирск, Россия)

Щелканов М.Ю. (д.б.н., проф.; Владивосток, Россия)

Яшкулов К.Б. (к.м.н., Элиста, Россия)

МЕЖДУНАРОДНЫЙ РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Becker J. (PhD, MD, Prof.; Jerusalem, Israel)

Compans R.W. (PhD, Prof.; Atlanta, USA)

Fouchier R.A.M. (PhD, Prof.; Rotterdam, Netherlands)

Goujgoulova G. (PhD; Sofia, Bulgaria)

Hoenen T. (PhD; Greifswald – Insel Riems, Germany)

Kawaoka Y. (PhD, Prof.; Tokyo, Japan)

Liu W.J. (PhD, Prof.; Beijing, P.R. China)

Mackenzie J. (PhD., Prof.; Brisbane, Australia)

Nymadawa P. (PhD, MD, DSc, Prof.; Ulan Bator, Mongolia)

Oxford J. (DSc; London, UK)

Sakoda Y. (PhD, Assoc. Prof.; Sapporo, Japan)

Suarez D.L. (D.V.M., PhD, A.C.V.M.; Athens, USA)

Tashiro M. (PhD, MD; Tokyo, Japan)

Titov L.P. (MD, PhD, Dr. Sci., Prof., RAS Full Member Minsk, Republic of Belarus)

Turan K. (PhD, Prof.; Istanbul, Turkey)

Vaheri A. (PhD, MD, Prof.; Helsinki, Finland)

Webby R. (PhD; Memphis, USA)

Yuelong Shu (PhD; Beijing, P.R. China)

The journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media. Certificate of registration PI no. FS77-77676

ISSN 0507-4088 (Print)
ISSN 2411-2097 (Online)
DOI prefix: 10.36233

The Journal is indexed by the following abstracting and indexing services:

Russian Science Citation Index, Abstract Journals, AIDS & Cancer Research, Biocontrol News and Information, Biological Sciences, Chemical Abstracts, CrossRef, DOAJ, EBSCOhost Biological Abstracts, EBSCOhost Wildlife & Ecology Studies Worldwide, Elsevier BV Scopus, Elsevier BV EMBASE, Index Medicus, Excerpta Medica, Index Veterinarius, MEDLINE, National Library of Medicine PubMed, Parasitology Database, Poultry Abstracts, Review of Medical and Veterinary Entomology, Thomson Reuters Biological Abstracts, Thomson Reuters BIOSIS Previews, Thomson Reuters Science Citation Index Expanded, Thomson Reuters Web of Science, Tropical Diseases Bulletin, Veterinary Science Database, Virology and AIDS Abstracts, ROAD, HYPERLINK, OPENALEX, FATCAT, ZEITSCHRIFTEN DATENBANK

The journal is a Platinum Open Access peer-reviewed scholarly journal, which does not charge author fees.

The content is licensed under Commons Attribution International 4.0 CC-BY.

Articles by foreign authors, as well as Russian-language articles specially recommended by the Editorial Board, are published in Russian and English under the same DOI.

Full texts of issues of the journal are available on:
https://www.virusjour.crie.ru;
https://www.elibrary.ru;
https://www.cyberleninka.ru;
https://www.rucont.ru;
https://www.ebsco.com
https:// www.doaj.org;
https://www.elsevier.com

PUBLISHER:
Central Research Institute for Epidemiology,
111123, 3A, Novogireevskaya Str., Moscow, Russian Federation.
Phone/fax: +7(925) 011-87-79.
E-mail: publisher@crie.ru

Head of the Editorial and Publishing Department: *Olga V. Osokina*

EDITORIAL OFFICE:
111123, 3A, Novogireevskaya Str., Moscow, Russian Federation.
Phone/fax: +7(925) 011-87-79
E-mail: vopr.virusol@crie.ru

Head of Editorial Office:
Anna L. Neverova

The Editorial Board is not responsible for the advertising content.

The materials that do not meet the requirements of the journal (https://www.virusjour.crie.ru) are rejected without further consideration.

When the author submits an article to the Editorial Board, he/she accepts the terms and conditions of the public offer agreement (https://www.virusjour.crie.ru).

Signed to the press on April 27, 2025.
Print format 60 × 90 1/8.
Circulation 50 copies.

Produced at the «United Printing Complex». 115114, 7b2 Derbenevskaya embankment, Moscow, Russia.
E-mail: info@opk.bz. www.opk.bz

16+

© Central Research Institute for Epidemiology, 2025

Founders: Central Research Institute for Epidemiology,

Russian Scientific Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists

PROBLEMS OF VIROLOGY

(VOPROSY VIRUSOLOGII)

SCIENTIFIC THEORETICAL JOURNAL ISSUED ONCE IN TWO MONTHS

Published since 1956

2

Volume 70 · 2025

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief: LVOV D.K., RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine)

Assistant editor in chief: **Grebennikova T.V.,** RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Biology)
Executive secretary: **Alkhovskiy S.V.,** RAS Corr. Member, Dr. Sci. (Biology)
Scientific editor: **Zaberezhny A.D.,** RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Biology)

MEMBERS OF EDITORIAL BOARD

Belousova R.V. – Professor, Dr. Sci. (Veterinary)
Galegov G.A. – Professor, Dr. Sci. (Biology)
Gulyukin M.I. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Veterinary)
Gurtsevich V.E. – Professor, Dr. Sci. (Medicine)
Ershov F.I. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine)
Zhirnov O.P. – RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Biology)
Zverev V.V. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Biology)
Zuev V.A. – Professor, Dr. Sci. (Medicine)
Ivanova O.E. – Professor, Dr. Sci. (Medicine)
Karganova G.G. – Professor, Dr. Sci. (Biology)
Lukashev A.N. – RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine)
Lobzin Yu.V. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine)
Maleev V.V. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine)
Onishchenko G.G. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine)
Popova A.Yu. – Professor, Dr. Sci. (Medicine)
Uryvaev L.V. – RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine)
Yuminova N.V. – Professor, Dr. Sci. (Biology)

EDITORIAL COUNCIL

Akimkin V.G. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Moscow, Russia)

Aliper T.I. – Professor, Dr. Sci. (Biology) (Moscow, Russia)

Antonov V.A. – Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Volgograd, Russia)

Bovin N.V. – Professor, Dr. Sci. (Chemistry),(Moscow, Russia)

Borisevich S.V. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Biology) (Sergiev Posad, Russia)

Briko N.I. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Moscow, Russia)

Vasin A.V. – Dr. Sci. (Biology), (St. Petersburg, Russia)

Glotov A.G. — Professor, Dr. Sci. (Veterinary) (Krasnoobsk, Russia)

Glupov V.V. – Professor, Dr. Sci. (Biology) (Novosibirsk, Russia)

Zasedatelev A.S. – Professor, Dr. Sci. (Physics and Mathematics) (Moscow, Russia)

Zlobin V.I. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Irkutsk, Russia)

Ivanov L.I. – MD (Khabarovsk, Russia)

Kuzin A.A. – Dr. Sci. (Medicine) (St. Petersburg, Russia)

Kutyrev V.V. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Saratov, Russia)

Leonova G.N. – Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Vladivostok, Russia)

Loktev V.B. – Professor, Dr. Sci. (Biology) (Novosibirsk, Russia)

Makarov V.V. – Professor, Dr. Sci. (Biology) (Moscow, Russia)

Malyshev N.A. – Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Moscow, Russia)

Manapova E.R. – Dr. Sci. (Medicine) (Kazan', Russia)

Mikhailov M.I. – RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Moscow, Russia)

Netesov S.V. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Biology) (Novosibirsk, Russia)

Nikiforov V.V. – Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Moscow, Russia)

Panin A.N. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Veterinary) (Moscow, Russia)

Pokrovskiy A.G. – RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Novosibirsk, Russia)

Reznik V.I. – MD, PhD (Khabarovsk, Russia)

Romanenko V.V. – Dr. Sci. (Medicine) (Ekaterinburg, Russia)

Savel'ev S.I. – Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Lipetsk, Russia)

Smetanina S.V. – PhD (Moscow, Russia)

Stepanova T.F. – Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Tyumen', Russia)

Tutel'yan A.V. – RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Moscow, Russia)

Chvala I.A. – PhD (Vladimir, Russia)

Chumakov P.M. – RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Biology) (Moscow, Russia)

Chuchalin A.G. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Moscow, Russia)

Shestopalov A.M. – Professor, Dr. Sci. (Biology) (Novosibirsk, Russia)

Shchelkanov M.Yu. – Professor, Dr. Sci. (Biology) (Vladivostok, Russia)

Yashkulov K.B. – MD, PhD (Elista, Russia)

INTERNATIONAL EDITORIAL COUNCIL

Becker J. (PhD, MD, Prof.; Jerusalem, Israel)

Compans R.W. (PhD, Prof.; Atlanta, USA)

Fouchier R.A.M. (PhD, Prof.; Rotterdam, Netherlands)

Goujgoulova G. (PhD; Sofia, Bulgaria)

Hoenen T. (PhD; Greifswald – Insel Riems, Germany)

Kawaoka Y. (PhD, Prof.; Tokyo, Japan)

Liu W.J. (PhD, Prof.; Beijing, P.R. China)

Mackenzie J. (PhD., Prof.; Brisbane, Australia)

Nymadawa P. (PhD, MD, DSc, Prof.; Ulan Bator, Mongolia)

Oxford J. (DSc; London, UK)

Sakoda Y. (PhD, Assoc. Prof.; Sapporo, Japan)

Suarez D.L. (D.V.M., PhD, A.C.V.M.; Athens, USA)

Tashiro M. (PhD, MD; Tokyo, Japan)

Titov L.P. (MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS; Minsk, Republic of Belarus)

Turan K. (PhD, Prof.; Istanbul, Turkey)

Vaheri A. (PhD, MD, Prof.; Helsinki, Finland)

Webby R. (PhD; Memphis, USA)

Yuelong Shu (PhD; Beijing, P.R. China)

СОДЕРЖАНИЕ

ОБЗОРЫ

Великжанина Е.И., Сашина Т.А., Новикова Н.А.
Реассортантные штаммы *Rotavirus A* (Sedoreoviridae: *Rotavirus: Rotavirus A*):
роль ротавирусов животных в возникновении новых вариантов ротавируса человека. **105**

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Антонова А.А., Протасова Л.А., Ким К.В., Мунчак Я.М., Меженская Е.Н., Орлова-Морозова Е.А., Пронин А.Ю., Прилипов А.Г., Кузнецова А.И.
Генетическое разнообразие белка Vif у вариантов вируса иммунодефицита человека 1-го типа (Retroviridae: *Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1*),
циркулировавших в Московской области в 2019–2020 гг.* **117**

Симакова Я.В., Гущин В.А., Семененко Т.А., Огаркова Д.А., Клейменов Д.А., Ноздрачева А.В., Мануйлов В.А., Ткачук А.П., Гинцбург А.Л.
Оценка популяционного иммунитета к кори, краснухе и эпидемическому паротиту в Москве
на современном этапе* **133**

Литов А.Г., Щетинин А.М., Холодилов И.С., Белова О.А., Калянова А.С., Гущин В.А., Карганова Г.Г.
Детекция Liman tick virus (неклассифицированный представитель *Chuviridae*)
в культуре клеток клещей HAE/CTVM8* **147**

Найденова Е.В., Карташов М.Ю., Шульгина И.С., Пьянков С.А., Кулагин М.А., Ба М.Б., Нурдин И., Н'Фалли М., Коному В., Траоре М.З., Бумбали С., Кутырев В.В.
Результаты выявления специфических антител класса IgG к возбудителю болезни, вызванной вирусом
Эбола (Filoviridae: *Orthoebolavirus*), у жителей Гвинейской Республики после завершения эпидемии* **154**

Фадеев А.В., Иванов Я.В., Петрова П.А., Передерий А.А., Писарева М.М., Мошкин А.Д., Комиссаров А.Б., Даниленко Д.М., Лиознов Д.А.
Генетическое разнообразие метапневмовируса человека (Pneumoviridae: *Metapneumovirus*)
в России: результаты молекулярного анализа **164**

Синюгина А.А., Лычева Н.А., Сапрыкина А.А., Крышень К.Л., Аполохов В.Д., Чернавцева А.Д., Ковпак А.А., Ивин Ю.Ю., Пиняева А.Н., Макарова М.Н., Макаров В.Г., Ишмухаметов А.А.
Влияние инактивированной цельновирионной концентрированной очищенной вакцины
для профилактики COVID-19 на клинические и биохимические параметры крови неполовозрелых крыс . . **177**

Мелентьев Д.А., Новиков Д.В., Мохонова Е.В., Новикова Н.А., Кашников А.Ю., Селиванова С.Г., Голицына Л.Н., Лапин В.А., Цыганова М.И., Зайцев Д.Е., Новиков В.В.
Иммунологические свойства химерного белка, содержащего основной капсидный белок echovirus
30 (Picornaviridae: *Enterovirus: Enterovirus betacoxsackie*) **189**

*Статьи опубликованы на английском языке на сайте журнала: https://virusjour.crie.ru

CONTENTS

REVIEWS

Velikzhanina E.I., Sashina T.A., Novikova N.A.
Reassortant strains of *Rotavirus A* (Sedoreoviridae: *Rotavirus: Rotavirus A*): the role of animal rotaviruses in the emergence of new human rotavirus variants **105**

ORIGINAL RESEARCHES

Antonova A.A., Protasova L.A., Kim K.V., Munchak Ia.M., Mezhenskaya E.N., Orlova-Morozova E.A., Pronin A.Yu., Prilipov A.G., Kuznetsova A.I.
Genetic diversity of Vif protein in human immunodeficiency virus type 1 variants (Retroviridae: *Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1*) that circulated in the Moscow region in 2019–2020* **117**

Simakova Ya.V., Gushchin V.A., Semenenko T.A., Ogarkova D.A., Kleymenov D.A., Nozdracheva A.V., Manuylov V.A., Tkachuk A.P., Gintsburg A.L.
Characteristics of the epidemic process of measles, rubella and mumps in Moscow and assessment of their seroprevalence at the present stage* **133**

Litov A.G., Shchetinin A.M., Kholodilov I.S., Belova O.A., Kalyanova A.S., Gushchin V.A., Karganova G.G.
Detection of the Liman tick virus (unclassified *Chuviridae*) in tick cell line HAE/CTVM8* **147**

Naidenova E.V., Kartashov M.Yu., Shulgina I.S., Pyankov S.A., Kulagin M.A., Bah M.B., Nourdine I., N'Fally M., Konomou V., Traore M.S., Boumbaly S., Kutyrev V.V.
The results of the detection of specific IgG antibodies to Ebola virus (Filoviridae: *Orthoebolavirus*) in residents of the Republic of Guinea after the end of the epidemic* **154**

Fadeev A.V., Ivanov Ya.V., Petrova P.A., Perederiy A.A., Pisareva M.M., Moshkin A.D., Komissarov A.B., Danilenko D.M., Lioznov D.A.
Genetic diversity of human metapneumovirus (Pneumoviridae: *Metapneumovirus*) in Russia: results of molecular analysis* **164**

Sinjugina A.A., Lycheva N.A., Saprykina A.A., Kryshen' K.L., Apolohov V.D., Chernavceva A.D., Kovpak A.A., Ivin Yu.Yu., Piniaeva A.N., Makarova M.N., Makarov V.G., Ishmuhametov A.A.
Effect of inactivated whole-virion concentrated purified vaccine for the prevention of COVID-19 on clinical and biochemical blood parameters of immature rats **177**

Melentev D.A., Novikov D.V., Mokhonova E.V., Novikova N.A., Kashnikov A.Yu., Selivanova S.G., Golitsyna L.N., Lapin V.A., Tsyganova M.I., Zaitsev D.E., Novikov V.V.
Immunological properties of a chimeric protein containing the basic capsid protein of echovirus 30 (Picornaviridae: *Enterovirus: Enterovirus betacoxsackie*) **189**

*The article is published in English on the journal's website: https://virusjour.crie.ru

ОБЗОРЫ

НАУЧНЫЙ ОБЗОР
DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-306
© ВЕЛИКЖАНИНА Е.И., САШИНА Т.А., НОВИКОВА Н.А., 2025

Реассортантные штаммы *Rotavirus A* (Sedoreoviridae: *Rotavirus: Rotavirus A*): роль ротавирусов животных в возникновении новых вариантов ротавируса человека

Великжанина Е.И.[1,2]✉, Сашина Т.А.[1], Новикова Н.А.[1]

[1]ФБУН «Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор), 603950, г. Нижний Новгород, Россия;
[2]Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 603022, г. Нижний Новгород, Россия

Резюме
Ротавирусы (РВ) животных играют важную роль в формировании новых вариантов эпидемически значимых штаммов *Rotavirus A* (РВА) человека. В настоящее время на территории Российской Федерации преобладает реассортантный вариант генотипа G3P[8], происхождение которого связано с РВ лошадей и крупного рогатого скота. Помимо этого, в мире долгое время спорадически выявляются реассортантные варианты РВА генотипов G3P[3], G3P[9], G6P[9], подобные РВ кошек и собак. Учитывая актуальность данной темы, подробное изучение AU-1-подобной геногруппы РВА, представители которой тесно связаны с РВ кошек и собак, представляет научно-практический интерес.
Цель настоящего обзора – анализ опубликованных научных данных о РВ человека, кошек и собак, входящих в состав AU-1-подобной геногруппы и изученных на основе полного генотипа.

Ключевые слова: *обзор; ротавирус А; полногеномная классификация; AU-1-подобная геногруппа; ротавирусы кошек и собак*

Для цитирования: Великжанина Е.И., Сашина Т.А., Новикова Н.А. Реассортантные штаммы *Rotavirus A* (Sedoreoviridae: *Rotavirus: Rotavirus A*): роль ротавирусов животных в возникновении новых вариантов ротавируса человека. *Вопросы вирусологии*. 2025; 70(2): 105–116. DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-306 EDN: https://elibrary.ru/pfcbaz

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.
Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

REVIEW
DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-306

Reassortant strains of *Rotavirus A* (Sedoreoviridae: *Rotavirus: Rotavirus A*): the role of animal rotaviruses in the emergence of new human rotavirus variants.

Elena I. Velikzhanina[1,2]✉, Tatiana A. Sashina[1], Nadezhda A. Novikova[1]

[1]Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare (Rospotrebnadzor), 603950, Nizhny Novgorod, Russia;
[2]Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, 603022, Nizhny Novgorod, Russia

Abstract
Animal rotaviruses (RV) play a significant role in the formation of new variants of epidemiologically significant human group A rotavirus (RVA) strains.A reassortant variant of genotype G3P[8] which has been shown to originate from RV in horses and cattle currently dominates on the territory of the Russian Federation. In addition, reassortant

RV variants of genotypes G3P[3], G3P[9], G6P[9], similar to RV of cats and dogs, have been sporadically identified in the world for a long time. Given the relevance of this topic, a detailed study of the AU-1-like genetic group of RVAs, whose representatives are closely related to animal RVs, particularly those found in cats and dogs, is of scientific and practical interest.
The aim of this review is to analyze published scientific data on human, feline and canine RV that belong to the AU-1-like genetic group and have been studied based on their complete genotypes.

Keywords: *review; rotavirus A; whole-genome classification; AU-1-like genetic group; feline and canine rotaviruses*

For citation: Velikzhanina E.I., Sashina T.A., Novikova N.A. Reassortant strains of *Rotavirus A* (Sedoreoviridae: *Rotavirus: Rotavirus A*): the role of animal rotaviruses in the emergence of new human rotavirus variants. *Problems of Virology* (*Voprosy Virusologii*). 2025; 70(2): 105–116 (In Russ.). DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-306
EDN: https://elibrary.ru/pfcbaz

Funding. This study was not supported by any external sources of funding.
Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Введение

Ротавирус (РВ) вида *Rotavirus A* (РВА, род *Rotavirus*, семейство Sedoreoviridae, порядок *Reovirales,* класс *Resentoviricetes,* тип *Duplornaviricota*) является важным кишечным патогеном, вызывающим острый гастроэнтерит у детей первых лет жизни и молодняка животных. Вирион вируса представляет собой безоболочечную трехслойную частицу размером приблизительно 100 нм, геном состоит из 11 сегментов двунитевой РНК (днРНК). Сегментированный геном обуславливает способность РВ к реассортации. При одновременном инфицировании клетки двумя или более штаммами РВ гены с разной специфичностью могут группироваться независимо друг от друга, обеспечивая генетическое разнообразие потомства [1].

Долгое время естественный резервуар РВ в природе оставался неизвестным. Однако к настоящему времени имеется информация об обнаружении у людей штаммов РВ животных, и наоборот, что может быть связано как с прямой межвидовой передачей, так и/или обменом сегментами днРНК посредством реассортации [2].

С учетом накопленных данных о серотиповом и генетическом разнообразии РВА, для их характеристики было предложено несколько систем классификации. Исторически первая, бинарная, классификация учитывает особенности двух генов, кодирующих белки наружного капсида вириона VP7 и VP4, на основе которых определяют G (гликопротеин) и P (протеазочувствительный) генотипы соответственно [1]. На сегодняшний день известно 42 G- и 58 P-генотипов, а также описано не менее 73 G[P]-комбинаций у РВА, инфицирующих людей [3]. Во всем мире чаще всего встречаются 6 G[P] типов РВА: G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8], G9P[8] и G12P[8] [4]. К менее распространенным относят G9P[4], G9P[9], G8P[8], G2P[8], G6P[9], G4P[4], G3P[9] и др., на долю которых приходится примерно 5% всех случаев инфекции [5].

Некоторые G- и P-генотипы непосредственно связаны с РВ животных. Например, штаммы РВА со специфичностью G6 редко обнаруживаются у людей, но данный генотип наиболее распространен у РВ крупного рогатого скота [6]. РВА генотипа G3, помимо человека, может быть обнаружен у нескольких видов хозяев, включая кроликов, обезьян, свиней, птиц, кошек, собак, лошадей, мышей, коров и ягнят [1, 7]. Генотипы P[3] и P[9] считаются типичными для штаммов РВА кошек и собак [8, 9].

Изучение эволюционной связи между РВА человека и животных стало возможно после введения полногеномной классификации. В отличие от бинарной, она охватывает все 11 генов вируса и позволяет отнести каждый сегмент к определенному генотипу. Для описания полного генотипа используют акроним Gx-P[x]-Ix-Rx-Cx-Mx-Ax-Nx-Tx-Ex-Hx для генов, кодирующих белки VP7-VP4-VP6-VP1-VP2-VP3-NSP1-NSP2-NSP3-NSP4-NSP5/NSP6 соответственно, где x указывает номера соответствующих генотипов [10].

Помимо идентификации генотипов для каждого гена РВ, эта комплексная система классификации позволила провести полное сравнение данных генома штаммов разных генотипов. На первых этапах изучения разнообразия РВ геномные исследования в комплексе с серологической характеристикой на основе гена *VP6* [11] позволили разделить РВА на 3 генетически не связанные между собой геногруппы: Wa-, DS-1- и AU-1-подбную [13].

Наиболее распространенные в мире генотипы G1, G3, G4, G9, G12 и P[8] обычно ассоциируются с первой или Wa-подобной геногруппой (G1/G3/G4/G9-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1). Они имеют общие гены *VP1–VP3* и *NSP1–NSP5* со штаммами РВ свиней. Гены *VP4*, *VP7* и *VP6* Wa-подобных штаммов РВА человека в основном обладают генотипами G1, G3, G4 или G9 в комбинации с P[8]-I1, тогда как для РВ свиней характерны генотипы G5 или G11 в комбинации с P[7]-I5. РВ со специфичностью G1, G3, G4, G5, G9, G12 и G5, G11 заражают как свиней, так и людей. Тот факт, что гены *VP4*, *VP7* и *VP6* частично различаются между Wa-подобными штаммами РВА человека и штаммами РВ свиней, может быть объяснено различным селективным давлением у разных видов хозяев. В совокупности эти данные свидетельствуют об общем происхождении Wa-подобных штаммов человека и РВ свиней [14].

Штаммы генотипа G2P[4], в свою очередь, относятся ко второй, или DS-1-подобной геногруппе

(G2-P[4]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2). Они разделяют большинство своих генов, а именно *VP6*, *VP1*, *VP2*, *VP3*, *NSP2* и *NSP4*, со штаммами РВ крупного рогатого скота. У DS-1-подобных РВА человека для генов *VP7* и *VP4* характерны генотипы G2 и P[4]. У РВ крупного рогатого скота обычно встречаются G6, G8 и G10 и P[5] и P[11]. Такие различия также могут быть обусловлены различным селективным давлением у этих двух видов хозяев. Для генов *NSP1*, *NSP3* и *NSP5/6* штаммов РВ человека и крупного рогатого скота показан видовой диморфизм – A2 и A3, T2 и T6/T7, H2 и H3 соответственно. Тесная эволюционная связь между DS-1-подобными РВА человека и РВ крупного рогатого скота была описана для генов *NSP2*, *NSP4* и *VP3* [14, 15].

Эти две основные геногруппы включают большинство РВ человека, являющихся основой для формирования межгрупповых реассортантных вариантов, которые могут приобретать новые гены от РВ животных. РВ животных играют важную роль в формировании эпидемически значимых штаммов РВА человека. Сообщалось о распространении в Японии G1P[8], в Таиланде G3P[8] и G2P[8] DS-1 подобных межгрупповых реассортантных штаммов. Полногеномные исследования показали, что некоторые штаммы являются мультиреассортантами и несут ряд генов РВ лошадей и крупного рогатого скота [16]. В настоящее время для доминирующего на территории Российской Федерации варианта G3P[8] также показано происхождение от РВ животных. Этот вариант несет в своем составе гены DS-1-подобных РВА человека генотипа, а также гены РВ лошадей и крупного рогатого скота [17].

Третья, AU-1-подобная геногруппа, является минорной и включает РВ генотипов G3P[3], G3P[9] и G6P[9]. Она привлекает внимание происхождением входящих в нее штаммов, которые тесно связаны с РВ животных, в частности с РВ кошек и собак [18].

Целью обзора является анализ опубликованных научных данных о реассортантных РВА человека и животных, входящих в состав AU-1-подобной геногруппы и изученных на основе полного генотипа.

Обнаружение AU-1-подобных штаммов РВА

В 1982 г. в Японии от младенца с острой диареей был выделен штамм (82A001) генотипа G3P[9], получивший название AU-1. В ходе изучения генома методом электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) для него были установлены генетические особенности. Изолят AU-1 имел «длинный» профиль миграции сегментов РНК в ПААГ (ЭФ-тип РНК), но по серологическим характеристикам относился к подгруппе SI [9]. Результат был неожиданным, поскольку РВА человека, характеризующиеся «длинным» ЭФ-типом РНК (быстро мигрирующие сегменты 10–11), относились к подгруппе SII и серотипам 1, 3 или 4, в то время как РВА, относящиеся к подгруппе SI, имели серотип 2 и «короткий» ЭФ-тип РНК (медленно мигрирующие 10–11 сегменты) [19, 20]. Результаты РНК-РНК-гибридизации показали, что основная масса генов *AU-1* не имела близкого родства с генами других РВА человека, кроме гена *VP7*. Это исключило вероятность того, что штамм AU-1 является реассортантом между представителями Wa- и DS-1-подобных геногрупп [21]. Было высказано предположение, что штамм AU-1 является РВ животных, который заразил человека, что предполагало способность РВ преодолевать межвидовые барьеры [19, 21].

В 1986 г. путем генетической реассортации двух РВ с разными серологическими и генетическими характеристиками (HN126 – подгруппа SI, серотип 2 и Wa – подгруппа SII, серотип 1) в лабораторных условиях были созданы два новых варианта вируса. Один из них имел «длинный» ЭФ-тип РНК и относился к подгруппе SI, серотипу 1, напоминая штамм AU-1. Второй вариант показал «короткий» ЭФ-тип РНК, принадлежал к подгруппе SII, серотипу 2. Эти результаты позволили предположить возможность реассортации генов РВА в естественных условиях при коинфекциях [22].

Позднее, в 1987 г., в Японии был обнаружен еще один изолят РВА генотипа G3P[9] – AU228 (87Y0228). Он был похож на AU-1, поскольку обладал «длинным» ЭФ-типом РНК и принадлежал к подгруппе SI и серотипу 3. Этот серотип является общим для РВ, выделенных от разных видов, включая обезьян, лошадей, собак, кошек и людей. Штамм AU228 стал еще одним кандидатом на роль РВ животных, заразившим ребенка, помимо AU-1 [23].

В 1989 г. выяснилось, что AU228 был выделен от ребенка, имевшего контакт с кошкой. Изолят был исследован методом РНК-РНК-гибридизации в сравнении с РВ кошек FRV-1 генотипа G3P[9], а также со штаммом AU-1. Он имел высокую гомологию с AU-1, и они оба были тесно связаны с РВ кошек FRV-1. Ранее такое наблюдалось только среди РВ, поражающих хозяев одного вида. Штаммы AU-1 и AU228 стали первым доказательством того, что РВ в природе могут преодолевать межвидовой барьер [18].

Помимо этого, AU-1 и AU228 не были схожи ни с вирусами Wa-подобной, ни DS-1-подобной геногрупп, что указывало на существование среди РВ человека третьей геногруппы, которая получила название AU-1-подобная, по обозначению первого идентифицированного штамма-прототипа. К этой геногруппе впоследствии были отнесены все РВА, имеющие высокую степень гомологии со штаммом AU-1 [12].

Выделение разнородных подгрупп внутри AU-1-подобной геногруппы

В 1990 г. в Израиле был выделен штамм РВА Ro1845 с генотипом G3P[3]. По своим характеристикам (подгруппа SI, серотип 3, «длинный» ЭФ-тип РНК) он был похож на штамм AU-1. С помощью метода РНК-РНК-гибридизации авторы сравнили Ro1845 со всеми известными на тот момент AU-1-подобными РВ человека, но он не показал гомологии ни с одним из них [12].

Изучив генетическую связь штамма Ro1845 с другими РВ человека (Wa, KUN, P, ST3, 69M, WI61),

а также с тремя штаммами РВ кошек (FRV-1, Cat2, Cat97), ученые установили, что Ro1845 имел гомологию нуклеотидной последовательности сегментов РНК только с Cat97. Это объясняло отсутствие какой-либо связи с AU-1-подобными РВА, близкими к другому РВ кошек FRV-1. Было выдвинуто предположение о наличии среди AU-1-подобных РВА двух подгрупп: одна связана со штаммами AU-1/FRV-1, другая – с Ro1845/Cat97 [18].

Одновременно с исследованием РВ человека изучали вирусы кошек и собак. В 1993–1994 гг. в Японии обнаружили три штамма РВ кошек с P[9]-специфичностью (FRV317, FRV381, FRV384). Их сравнивали с РВ человека (AU-1, AU125, AU242, AU387, AU785, AU938 генотипа G3P[9]; PA151 генотипа G6P[9]) [24] и животных (РВ кошек FRV-1 генотипа G3P[9]; РВ крупного рогатого скота 0510 генотипа G6P[5]) [18]. Оказалось, что эти штаммы принадлежат к AU-1-подобной геногруппе, что свидетельствует о циркуляции AU-1-подобных РВ как среди людей, так и кошек. Такие редкие случаи принадлежности РВ разных видов хозяев к одной геногруппе еще раз указывают на возможность межвидовой передачи [25].

После внедрения полногеномной классификации РВА многие AU-1-подобные штаммы стали исследовать повторно. В 2008 г. полный генотип был установлен для штамма AU-1, а позднее для FRV-1. Внутренние гены обоих РВ имели 3-й генотип (**табл. 1**) [26].

В 2009 г. были проанализированы геномы штаммов генотипа G3P[3]: два штамма РВА человека (Ro1845 и HCR3A), три штамма РВ собак (CU-1, K9 и A79-10) и штамм Cat97 РВ кошек. Все эти вирусы обладали высококонсервативной геномной констелляцией, отличной от таковой у AU-1/FRV-1 (табл. 1) [27].

Генетические исследования совместно с анализом РНК-РНК-гибридизации подтвердили существование двух подгрупп среди AU-1-подобных РВА. Первая подгруппа (AU-1) включает штамм РВА человека AU-1 и РВ кошек FRV-1. Вторая подгруппа (Cat97) содержит штамм РВ кошек Cat97, штаммы РВ собак CU-1, K9 и A79-10, а также штаммы РВА людей Ro1845 и HCR3A [27, 28].

В 2010 г. были описаны два штамма генотипа G3P[9]: PAH136/96 и PAI58/96, обнаруженные в 1996 г. у детей в Италии. Чтобы понять эволюцию и происхождение этих вирусов были изучены их полные генотипы (табл. 1). Эти штаммы отличались от представителей подгрупп AU-1 и Cat97 и оказались мультиреассортантами, содержащими гены от вирусов кошек, жвачных и редких РВ человека с генотипами G6/G8P[14] [29].

В 2011 г. был изучен штамм BA222, выделенный в 2005 г. у домашней кошки в Италии (табл. 1). Он оказался генетически связан с итальянскими РВА PAI58/96 и PAH136/96. Мультиреассортантная природа этих штаммов может быть объяснена длительным процессом одомашнивания кошек, которые могли стать резервуаром для генерации реассортантных РВ [6]. Генетическое отличие штаммов BA222, PAI58/96 и PAH136/96 генотипа G3P[9] от представителей подгрупп AU-1 и Cat97 показало существование третьей подгруппы AU-1-подобных РВА – BA222 [30].

Штамм РВ кошек Cat2 не был однозначно отнесен ни к одной из трех вышеописанных групп (табл. 1). Филогенетический анализ показал, что Cat2 может быть естественным реассортантом между РВ, при-

Таблица 1. Штаммы-прототипы подгрупп AU-1, Cat97 и BA222
Table 1. Prototype strains of subgroups AU-1, Cat97 and BA222

Штаммы / Strains	Полный генотип / Full genotype										
	VP7	VP4	VP6	VP1	VP2	VP3	NSP1	NSP2	NSP3	NSP4	NSP5
Подгруппа AU-1 / Subgroup AU-1											
Human-tc/JPN/AU-1/1982	G3	P[9]	I3	R3	C3	M3	A3	N3	T3	E3	H3
Cat-wt/JPN/FRV-1/1985	G3	P[9]	I3	R3	C3	M3	A3	N3	T3	E3	H3
Подгруппа Cat97 / Subgroup Cat97											
Human-tc/ISR/Ro1845/1985	G3	P[3]	I3	R3	C2	M3	A9	N2	T3	E3	H6
Human-tc/USA/HCR3A/1984	G3	P[3]	I3	R3	C2	M3	A9	N2	T3	E3	H6
Dog-tc/USA/CU-1/1982	G3	P[3]	I3	R3	C2	M3	A9	N2	T3	E3	H6
Dog-tc/AUS/K9/1981	G3	P[3]	I3	R3	C2	M3	A9	N2	T3	E3	H6
Dog-tc/USA/A79-10/1979	G3	P[3]	I3	R3	C2	M3	A9	N2	T3	E3	H6
Cat-wt/AUS/Cat97/1984	G3	P[3]	I3	R3	C2	M3	A9	N2	T3	E3	H6
Подгруппа BA222 / Subgroup BA222											
Cat-wt/ITA/BA222/2005	G3	P[9]	I2	R2	C2	M2	A3	N1	T3	E2	H3
Human-tc/ITA/PAH136/1996	G3	P[9]	I2	R2	C2	M2	A3	N1	T6	E2	H3
Human-tc/ITA/PAI58/1996	G3	P[9]	I2	R2	C2	M2	A3	N2	T6	E2	H3
Реассортант между Cat97 и BA222 / Reassortant between Cat97 and BA222											
Cat-tc/AUS/Cat2/1984	G3	P[9]	I3	R3	C2	M3	A3	N1	T6	E3	H3

надлежащими к подгруппам Cat97 и BA222, хотя нельзя исключать и дополнительные события реассортации [30].

Разнообразие современных AU-1-подобных штаммов

Подгруппа AU-1. В состав подгруппы AU-1 входят РВА человека с генотипом G3P[9]. Это довольно редкая комбинация, которая также выявляется у РВ кошек. Представители этой подгруппы не отличаются широким геномным разнообразием. После обнаружения штамма AU-1 долгое время не было сообщений о РВ, обладающих генотипом 3 всех внутренних генов [10]. Позже были выявлены РВА, принадлежащие подгруппе AU-1, но их генотипы не были идентичны штамму AU-1 (**табл. 2**).

В 2013 г. были представлены первые отчеты об анализе изолятов РВА человека генотипа G3P[9] на основе полного генотипа в Китае (L621 и E2451) и Таиланде (CU365). Китайские штаммы L621 и E2451 были выявлены в 2006 и 2011 гг., а РВА CU365 из Таиланда – в 2008 г. Все штаммы принадлежали подгруппе AU-1, однако продемонстрировали констелляцию полных генотипов, отличающуюся от AU-1 геном NSP5/6, который имел новый генотип H6 (табл. 2). Филогенетический анализ по гену NSP5/6 показал, что ближайшими родственниками для этих штаммов стали РВ человека и животных генотипа G3P[3], выявленные за пределами Китая и Таиланда [31, 32].

В 2016 г. полный генотип одного штамма – CAU14-1-262 РВА со специфичностью G3P[9], был изучен в Южной Корее. Он был выделен в 2014 г. и демонстрировал новую констелляцию генотипов (табл. 2). CAU14-1-262 имел новый генотип T1 для гена *NSP3*, а также H6 для *NSP5/6*. По гену *NSP3* штамм был связан с представителями Wa-подобной геногруппы, тогда как ген *NSP5/6* был общим с AU-1-подобными штаммами РВА человека с комбинацией G3P[9]-H6 [33].

На примере штаммов, относящихся к подгруппе AU-1, была доказана близкая связь штаммов РВА людей и кошек. Так, в Японии в 2015 г. от 2-летней девочки, ежедневно контактировавшей с кошками, был выделен штамм R11-035. Он был схож с AU-1, за исключением генов *NSP3* (T1) и *NSP5/6* (H6), и имел гомологичную комбинацию генов с корейским штаммом CAU-14-1-262 (табл. 2). Филогенетический анализ показал, что R11-035 был тесно связан со штаммами РВА человека и кошек, а ген *NSP3* (T1) оказался ближе штаммам РВ свиней [34].

Подгруппа Cat97. Для представителей РВА человека подгруппы Cat97 характерен генотип G3P[3]. РВ, несущие специфичность G3P[3], обычно встречаются у животных: собак, кошек, коз, летучих мышей, крупного рогатого скота и обезьян. Все штаммы РВА собак имеют генотип G3P[3], тогда как РВА кошек могут обладать генотипами G3P[9] и G3P[3] [6, 35, 36].

В 2007 г. в Италии был исследован штамм РВА PA260-97, выделенный в 1997 г. у 2-летнего ребенка с гастроэнтеритом. Он отличался от прототипных штаммов подгруппы Cat97 генами *VP2* и *NSP1*, которые имели генотипы C3 и A15, соответственно (**табл. 3**). PA260-97 разделял ген *VP2* со штаммом AU-1. По гену *NSP1* PA26097 стал единственным представителем генотипа A15, образовав отдельную ветвь на филогенетическом дереве [37].

В период 2012–2018 гг. изоляты с генотипом G3P[3] выявлялись в разных частях мира у людей, собак, лошадей и летучих мышей. Так, в 2013 г. в Аргентине был изучен штамм РВ лошади E3198. От прототипных штаммов он отличался генами *VP2* и *NSP2*, которые имели генотипы C3 и N3 соответственно (табл. 3). По гену *VP2* E3198 был наиболее тесно связан со штаммом RRV РВ обезьян генотипа G3P[3], выделенным в 1975 г. в США (91,9%). По гену *NSP2* E3198 имел отдаленное родство с РВА подгруппы AU-1 [38].

Также в 2013 г. в Таиланде на основе полного генотипа был охарактеризован штамм MSLH14, выделенный в 2012 г. от летучей мыши (табл. 3). Он имел дивергентные гены *VP2* (C3), *VP6* (I8) и *NSP2* (N3). По гену *VP2* MSLH14 имел отдаленное родство (86–88%) с РВА человека, лошадей и кроликов генотипов G3P[3], G3P[14], G3P3[9], включая штамм E3198 из Аргентины. Ген *VP6* имел редкий генотип I8

Таблица 2. Констелляции полных генотипов представителей подгруппы AU-1
Table 2. Constellations of full genotypes of representatives of the AU-1 subgroup

Штаммы / Strains	Полный генотип / Full genotype										
	VP7	VP4	VP6	VP1	VP2	VP3	NSP1	NSP2	NSP3	NSP4	NSP5
Референтные штаммы / Reference strains											
Human-tc/JPN/AU-1/1982	G3	P[9]	I3	R3	C3	M3	A3	N3	T3	E3	H3
Cat-wt/JPN/FRV-1/1985	G3	P[9]	I3	R3	C3	M3	A3	N3	T3	E3	H3
Штаммы, обладающие новыми комбинациями / Strains with new combinations											
Human-tc/CHN/L621/2006	G3	P[9]	I3	R3	C3	M3	A3	N3	T3	E3	H6
Human-tc/THA/CU-365/2008	G3	P[9]	I3	R3	C3	M3	A3	N3	T3	E3	H6
Human-wt/CHN/E2451/2011	G3	P[9]	I3	R3	C3	M3	A3	N3	T3	E3	H6
Human-tc/KOR/CAU14-1-262/2014	G3	P[9]	I3	R3	C3	M3	A3	N3	T1	E3	H6
Human-wt/JPN/R11-035/2015	G3	P[9]	I3	R3	C3	M3	A3	N3	T1	E3	H6

Таблица 3. Констелляции полных генотипов представителей подгруппы Cat97
Table 3. Constellations of full genotypes of representatives of the Cat97 subgroup

Штаммы / Strains	Полный генотип / Full genotype										
	VP7	VP4	VP6	VP1	VP2	VP3	NSP1	NSP2	NSP3	NSP4	NSP5
Референтные штаммы / Reference strains											
Dog-tc/USA/A79-10/1979	G3	P[3]	I3	R3	C2	M3	A9	N2	T3	E3	H6
Dog-tc/AUS/K9/1981	G3	P[3]	I3	R3	C2	M3	A9	N2	T3	E3	H6
Dog-tc/USA/CU-1/1982	G3	P[3]	I3	R3	C2	M3	A9	N2	T3	E3	H6
Cat-wt/AUS/Cat97/1984	G3	P[3]	I3	R3	C2	M3	A9	N2	T3	E3	H6
Human-tc/USA/HCR3A/1984	G3	P[3]	I3	R3	C2	M3	A9	N2	T3	E3	H6
Human-tc/ISR/Ro1845/1985	G3	P[3]	I3	R3	C2	M3	A9	N2	T3	E3	H6
Штаммы, обладающие новыми комбинациями / Strains with new combinations											
Cat-tc/JPN/FRV-348/1990	G3	P[3]	I3	R3	C3	M3	A15	N2	T3	E3	H6
Human-tc/ITA/PA260-97/1997	G3	P[3]	I3	R3	C3	M3	A15	N2	T3	E3	H6
Horse-wt/ARG/E3198/2008	G3	P[3]	I3	R3	C3	M3	A9	N3	T3	E3	H6
Dog-wc/HUN/135/2012	G3	P[3]	I3	R3	C3	M3	A15	N2	T3	E3	H6
Bat-tc/THA/MSLH14/2012	G3	P[3]	I8	R3	C3	M3	A9	N3	T3	E3	H6
Bat-wt/ZMB/LUS12-14/2012	G3	P[3]	I3	R2	C2	M3	A9	N2	T3	E2	H3
Human-wt/CHN/M2-102/2014	G3	P[3]	I3	R3	C3	M3	A9	N3	T3	E3	H6
Human-wt/JPN/12638/2014	G3	P[3]	I3	R3	C3	M3	A9	N2	T3	E3	H6
Dog-wc/BRA/IAL-M202/2017	G3	P[3]	I2	R3	C2	M3	A9	N2	T3	E3	H6
Dog-wc/BRA/IAL-M214/2017	G3	P[3]	I2	R3	C2	M3	A9	N2	T3	E3	H6
Dog-wc/BRA/IAL-M414/2017	G3	P[3]	I2	R3	C2	M3	A9	N2	T3	E3	H6
Dog-wc/THA/CU126/2020	G3	P[3]	I2	R3	C2	M3	A9	N2	T3	E3	H6
Dog-wc/THA/CU128/2020	G3	P[3]	I3	R3	C3	M3	A9	N2	T3	E3	H6
Dog-wc/THA/CU132/2020	G3	P[3]	I3	R3	C3	M3	A9	N2	T3	E3	H6
Dog-wc/THA/CU20139/2020	G3	P[3]	I3	R3	C3	M3	A9	N2	T3	E3	H6
Dog-wc/THA/CU23379/2020	G3	P[3]	I3	R3	C3	M3	A9	N2	T3	E3	H6
Cat-wc/THA/CU25045/2024	G3	P[3]	I8	R3	C3	M3	A9	N3	T3	E3	H6

и был наиболее тесно связан с таковым у штамма РВА человека генотипа G3P[3] CMH079 (87%), выделенным в 2005 г. в Таиланде и изученным по генам *VP7*, *VP4*, *VP6*, *NSP4* и *NSP5/6*. На момент 2013 г. эти два штамма были единственными представителя РВА человека генотипа G3P[3] со специфичностью I8. По гену *NSP2* MSLH14 был наиболее тесно связан (93%) со штаммом E3198 РВ лошади из Аргентины, а также с двумя РВА человека генотипа G3P[9] из Китая: L621 и E2451 (91%). [39].

В Венгрии в 2015 г. была опубликована характеристика штамма 135 РВА собак с дивергентными генами *VP2* (C3) и *NSP1* (A15) (табл. 3). Подобная комбинация ранее выявлялась у РВА людей (PA260-97), но у РВА собак была обнаружена впервые. По обоим генам штамм был близок с итальянским РВА человека генотипа G3P[3] PA260-97. На момент 2015 г. эти два штамма являлись единственными РВА, несущими необычный генотип A15 гена *NSP1* [40].

В Китае в 2016 г. был изучен штамм M2-102 РВА человека. Он был выделен в 2014 г. и имел аналогичную констелляцию генотипов штамма РВ лошадей E3198 из Аргентины (табл. 3). Филогенетический анализ показал, что дивергентные гены *VP2* (C2) и *NSP2* (N3) штамма M2-102 были тесно связаны с таковыми у РВ летучих мышей. Ребенок, инфицированный M2-102, был родом из сельской местности, что могло обеспечить естественную среду для реассортации между РВА животных и человека [41].

В Замбии в 2016 г. штамм РВА летучей мыши LUS12-14 генотипа G3P[3] был изучен на основе полного генотипа. Гены *VP1* (R2) и *NSP4* (E2) LUS12-14 оказались общими с РВА людей и крупного рогатого скота, а *NSP5/6* (H3) был общим с AU-1 (табл. 3). Это указывает на межвидовую передачу РВ между летучими мышами и другими млекопитающими с возможными множественными событиями реассортации [42].

В Японии в 2018 г. был исследован штамм РВА человека 12638 генотипа G3P[3], выделенный в 2014 г. (табл. 3). Он отличался от прототипных штаммов подгруппы Cat97 геном *VP2*, который обладал генотипом

C3 и имел наибольше сходство (96,1%) с представителями подгруппы AU-1 [43].

В 2018 г. был изучен японский штамм FRV348 РВ кошек, выявленный в 1990-х гг. (табл. 3). Он принадлежал подгруппе Cat97 и имел новую для РВА кошек констелляцию генотипов, аналогичную РВА собак 135 и РВА человека PA260-97. Генотип A15 гена *NSP1* является редким, и только штаммы PA260-97 и 135 до 2018 г. были зарегистрированы как носители этого генотипа. Идентичность нуклеотидной последовательности гена *NSP1* между FRV348, 135 и PA260-97 составила порядка 96% [44].

На момент 2020 г. в базе данных GenBank было доступно только 7 полных геномов РВА собак генотипа G3P[3] (штамм; RS15, RV198-95, VR52-96, A79-10, CU-1, K9 и HUN135). В Таиланде в 2020 г. было проведено исследование еще 5 РВ собак генотипа G3P[3] (CU126, CU128, CU132, CU20139 и CU23379). Все они имели совокупность генотипов, которая никогда ранее не регистрировалась у РВ собак, но регистрировалась в 2014 г. у РВА человека 12638 из Японии (табл. 3) [45].

В Бразилии в 2023 г. исследовали 3 штамма РВА собак, выявленные в 2017 г. Они имели генетическую комбинацию, которая никогда не встречалась у РВА собак, кошек и людей генотипа G3P[3] с геном *VP6* генотипа I2 (табл. 3) [46].

В Таиланде в 2024 г. был выявлен штамм РВ кошек генотипа G3P[3] CU25045, с комбинацией генов, которая никогда не регистрировалась у кошек, но была выявлена у РВ летучей мыши MSLH14 в Таиланде в 2013 г. (табл. 3). Оба штамма имели другие генотипы генов *VP1* (I8), *VP2* (C3) и *NSP2* (T3), отличные от прототипов подгруппы Cat97 [47].

Подгруппа BA222. К подгруппе BA222 относятся штаммы РВА человека генотипов G3P[9] и G6P[9]. РВ со специфичностью G6 спорадически выявлялись у людей на протяжении долгих лет. Так, штаммы генотипов G6P[8] и G6P[9] (например, Hun7, BP108, BG76 и BG1506) были выявлены в 1990–2010 гг. в Венгрии и Болгарии [48]. В 2010 г. РВА генотипа G6P[6] (например, BA346, ES298, 265-BF и BF98) выявлялись у детей в африканских странах, включая Камерун и Буркина-Фасо [49, 50]. Поскольку ген *VP7* с генотипом G6 обычно обнаруживался у РВ крупного рогатого скота, предполагалось их соответствующее происхождение, но полные генотипы данных штаммов не изучались.

В 2008 г. в Тунисе у 8-месячного ребенка был выделен штамм 17237. В 2013 г. он был изучен и охарактеризован на основе полного генотипа (**табл. 4**). В ходе анализа было установлено, что геномная констелляция штамма 17237 была похожа на таковую у референтного PAH136, за исключением гена *VP7*, который имел генотип G6. Ближайшими родственниками по гену *VP7* стали РВА человека генотипа G6P[9] из Италии и Японии [51].

Позднее, в 2015–2016 гг., полные генотипы РВА со специфичностью G3P[9] были изучены в США (12US1134) и Южной Корее (CAU12-2-51). Все они демонстрировали новые констелляции генотипов с генами *NSP3* и *NSP4* генотипов T1 и E3 соответственно (табл. 4) [52, 53].

Чтобы понять генетические связи между существующими РВ кошек с эволюционной точки зрения в 2015–2018 гг. вернулись к архивным кошачьим штаммам. Все они имели генотип, идентичный либо штамму AU-1, либо Cat97 [27, 44]. Однако в 2021 г. в Таиланде от 2-летней сиамской кошки был получен штамм Meesuk с генотипом G3P[9] (табл. 4). Генетически наиболее близким РВ для него стал штамм BA222. Meesuk был схож с корейским РВА CAU12-2-51 и отличался от BA222-подобных РВ генотипом E3 для *NSP4*. Гены *VP4*, *VP7*, *NSP1*, *NSP3*, *NSP4* и *NSP5* были связаны с таковыми у AU-1-подобных штаммов РВ человек и кошек, в то время как остальные гены

Таблица 4. Констелляции полных генотипов представителей подгруппы BA222
Table 4. Constellations of full genotypes of representatives of the BA222 subgroup

Штаммы / Strains	Полный генотип / Full genotype										
	VP7	VP4	VP6	VP1	VP2	VP3	NSP1	NSP2	NSP3	NSP4	NSP5
Референтные штаммы / Reference strains											
Cat-wt/ITA/BA222/2005	G3	P[9]	I2	R2	C2	M2	A3	N1	T3	E2	H3
Human-tc/ITA/PAH136/1996	G3	P[9]	I2	R2	C2	M2	A3	N1	T6	E2	H3
Human-tc/ITA/PAI58/1996	G3	P[9]	I2	R2	C2	M2	A3	N2	T6	E2	H3
Штаммы, обладающие новыми комбинациями / Strains with new combinations											
Human-wt/TUN/17237/2008	G6	P[9]	I2	R2	C2	M2	A3	N1	T6	E2	H3
Human-wt/USA/12US1134/2012	G3	P[9]	I2	R2	C2	M2	A3	N2	T1	E2	H3
Cat-wt/JPN/Mie20120017f/2012	G6	P[9]	I2	R2	C2	M2	A3	N2	T3	E3	H3
Cat-wt/JPN/Mie20120022f/2012	G6	P[9]	I2	R2	C2	M2	A3	N2	T3	E3	H3
Human-tc/KOR/CAU12-2-51/2014	G3	P[9]	I2	R2	C2	M2	A3	N2	T3	E3	H3
Human-wt/DEU/GER29-14/2014	G6	P[9]	I2	R2	C2	M2	A3	N2	T3	E2	H3
Cat-wt/THA/Meesuk/2021	G3	P[9]	I2	R2	C2	M2	A3	N2	T3	E3	H3

были похожи на гены DS-1-подобных штаммов РВ человека и крупного рогатого скота [54].

В 2024 г. были определены полные нуклеотидные последовательности генома штаммов РВ генотипа G6P[9] Mie20120017f и Mie20120022f, выделенных в 2012 г. в Японии. Это были первые полученные полные геномы штамма генотипа G6P[9] РВ кошек (табл. 3) Они принадлежали подгруппе BA222 и отличались генами *VP7* (G6) и *NSP4* (E3) [55].

Позже был изучен штамм GER29-14, обнаруженный у 8-летнего ребенка с острым гастроэнтеритом в Германии в 2014 г. Он имел высокую нуклеотидную идентичность с японскими РВ кошек. Несмотря на отсутствие каких-либо явных контактов с животными в истории болезни этого ребенка, эти результаты свидетельствуют о том, что он был заражен РВ кошек [56]. Таким образом, РВ кошек генотипа G6 могут инфицировать людей во всем мире [55].

Выявление РВА AU-1-подобной геногруппы в России

Штаммы, относящиеся к AU-1-подобной геногруппе, спорадически выявляются на территории Российской Федерации. По данным государственного доклада 2017 г., циркуляция штаммов генотипа G3P[9] отмечалась в разных регионах России в период 2011–2014 и 2015–2016 гг. [57]. В Москве в период 2009–2014 гг. доля РВ генотипа G3P[9] составила 0,5%. В то время как следующие 5 лет, с 2015 по 2020 г., штаммы с генотипом G3P[9] отсутствовали в московской популяции РВ. О циркуляции штаммов генотипов G3P[3] и G6P[9] на территории Москвы не упоминалось [58]. В Западной Сибири (Новосибирск, Омск) в 2007–2011 гг. в отдельных случаях были обнаружены штаммы генотипа G3P[9] [59]. Однако в этих исследованиях изучение AU-1-подобных РВ в рамках полного генотипа не проводилось.

В Нижнем Новгороде первые упоминания о выявлении AU-1-подобных РВА датируются 1992 г. Первое исследование штаммов РВА человека, подобных РВ кошек, на основе полного генотипа было проведено в 2023 г. Были изучены 3 штамма (два – G3P[9], один – G6P[9]), выявленные в период 2016–2018 гг., с нехарактерными для Wa- и DS-1-подобных геногрупп, «широкими», ЭФ-типами РНК. Они имели медленно мигрирующий 5-й сегмент, быстро мигрирующие 6-й и 11-й сегменты геномной РНК. Штаммы были изучены с помощью частичного нуклеотидного секвенирования всех генов (**табл. 5**) [60].

По результатам филогенетического анализа исследуемые изоляты оказались наиболее близки итальянскому кошачьему РВА BA222. Каждый штамм имел по 10 общих генов с представителями подгруппы BA222 и отличался по генам *VP7* и/или *NSP4*, в зависимости от генотипа. Дивергентные гены *NSP4* (G3P[9], G6P[9]) и *VP7* (G6P[9]) нижегородских изолятов РВА имели другие генотипы. Ген *NSP4* штаммов генотипов G3P[9] и G6P[9] обладал генотипом E3 и был сходен с таковым у других нижегородских РВ генотипов G6P[9] и G3P[9], выявленных ранее в 2015 и 2016 гг., но не изученных на основе полного генотипа, а также у штаммов из Японии. Ген *VP7* штамма G6P[9] показал родство с РВ генотипа G6 из Нижнего Новгород (2015 г.), Италии (2011 г.) и Туниса (2008 г.) [60].

Констелляция нижегородского РВА генотипа G6P[9] была гомологична таковой у РВ кошек Mie20120017f и Mie20120022f, исследованных в 2024 г. в Японии [55].

Позднее, в 2024 г., в ходе изучения ротавирусной популяции Нижнего Новгорода в период 2021–2022 гг. было обнаружено еще 4 штамма генотипа G3P[9] и два – G2P[4]. Они имели такие же необычные ЭФ-типы, как и РВ 2016–2018 гг. Для них были установлены полные геномные констелляции (табл. 5). По итогам филогенетического анализа 4 штамма генотипа G3P[9] 2021–2022 гг. на 99,7–100,0% были сходны по всем генам с изолятами G3P[9] 2016–2018 гг. Они разделяли 10 генов (*VP1–VP4*, *VP6*, *VP7*, *NSP1*, *NSP2*, *NSP3*, *NSP5/6*) с прототипными РВА подгруппы BA222. Дивергентный ген *NSP4* имел генотип E3 [61].

Подобная констелляция генотипов выявлялась у РВ человека CAU-12-2-51 в Южной Корее в 2015–2016 гг., а также у РВ кошек Meesuk, выявленного в Таиланде в 2021 г. [54].

Помимо штаммов со специфичностью G3P[9] и G6P[9], на территории Нижнего Новгорода были выявлены РВ генотипа G2P[4], имеющие родство с РВА кошек (табл. 5). Гены *VP1–VP3*, *VP6*, *NSP1–NSP5/6* у одного из них и *VP1–VP3*, *VP6*, *NSP1–NSP3* у второго были общими с прототипными РВА подгруппы BA222. Остальные гены (а именно *VP4*, *VP7* и в случае одного штамма NSP4 и NSP5/6) обладали другими генотипами (G2, P[4], E3 и H3). В России и в мире сообщений о выявлении аналогичных AU-1-подобных штаммов генотипа G2P[4] ранее не было отмечено. По всем генам, как по BA222-, так и по DS-1-подобным, данные штаммы имели ближайших родственников из Нижнего Новгорода, что позволяет предположить их локальное происхождение [61].

Таким образом, на территории Нижнего Новгорода спорадически циркулируют AU-1-подобные штаммы, в основном генотипа G3P[9], реже – G6P[9]. Выявленные за период 2016–2022 гг. нижегородские РВ генотипа G3P[9] (6 штаммов) и G6P[9] (1 штамм) принадлежали к подгруппе BA222. Помимо этого, в процессе 6-летней циркуляции нижегородские представители подгруппы BA222, вероятно, стали участниками событий реассортации внутри популяции РВ. Это привело к появлению AU-1-подобных штаммов генотипа G2P[4].

Заключение

Накопленная за многие годы информация о генетических и серологических особенностях штаммов внутри AU-1-подобной геногруппы РВА, позволила разделить ее на 3 разнородные подгруппы в соответствии с референтными штаммами AU-1, Cat97 и BA222. Широкое геномное разнообразие внутри подгрупп отражает генетическую изменчивость AU-1-подобных РВ и их потенциал для широкого распространения в популяции людей.

Во всем мире AU-1-подобные РВА активно изучаются на основе полного генотипа. Однако на территории Российской Федерации подобные исследования не распространены. В Нижнем Новгороде были изучены AU-1-подобные РВ генотипов G2P[4], G3P[9], G6P[9], выявленные в 2016–2022 гг. Было показано, что они являлись представителями подгруппы BA222. Других исследований AU-1-подобных РВ на основе полного генотипа в России не отмечено.

Тот факт, что штаммы РВА кошек и собак вместе с РВА человека входят в состав третьей геногруппы, говорит об их активной межвидовой передаче. Из-за длительного процесса одомашнивания кошки и собаки могли стать резервуаром для генерации реассортантных РВ. Изучение таких вирусов имеет значение для ответа на вопрос о происхождении новых штаммов РВ человека, что актуально в контексте широкого применения ротавирусных вакцин в мире.

ЛИТЕРАТУРА

1. Estes M.K., Kapikian A.Z. Rotaviruses. In: Fields B.N., Knipe D.M., Howley P.M., eds. *Fields Virology*. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2007: 1917–73.
2. Palombo E.A. Genetic analysis of Group A rotaviruses: evidence for interspecies transmission of rotavirus genes. *Virus Genes*. 2002; 24(1): 11–20. https://doi.org/10.1023/a:1014073618253
3. KU Leuven. Rotavirus classification working group: RCWG; 2024. Available at: https://rega.kuleuven.be/cev/viralmetagenomics/virus-classification/rcwg
4. Matthijnssens J., Heylen E., Zeller M., Rahman M., Lemey P., Van Ranst M. Phylodynamic analyses of rotavirus genotypes G9 and G12 underscore their potential for swift global spread. *Mol. Biol. Evol.* 2010; 27(10): 2431–6. https://doi.org/10.1093/molbev/msq137
5. Sashina T.A., Morozova O.V., Epifanova N.V., Novikova N.A. Predominance of new G9P[8] rotaviruses closely related to Turkish strains in Nizhny Novgorod (Russia). *Arch. Virol.* 2017; 162(8): 2387–92. https://doi.org/10.1007/s00705-017-3364-7
6. Martella V., Bányai K., Matthijnssens J., Buonavoglia C., Ciarlet M. Zoonotic aspects of rotaviruses. *Vet. Microbiol*. 2010; 140(3-4): 246–55. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.08.028
7. Martella V., Ciarlet M., Camarda A., Pratelli A., Tempesta M., Greco G., et al. Molecular characterization of the VP4, VP6, VP7, and NSP4 genes of lapine rotaviruses identified in Italy: emergence of a novel VP4 genotype. *Virology.* 2003; 314(1): 358–70. https://doi.org/10.1016/s0042-6822(03)00418-5
8. Wang Y.H., Pang B.B., Zhou X., Ghosh S., Tang W.F., Peng J.S. et al. Complex evolutionary patterns of two rare human G3P[9] rotavirus strains possessing a feline/canine-like H6 genotype on an AU-1-like genotype constellation. *Infect. Genet. Evol.* 2013; 16: 103–12. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.01.016
9. Nakagomi O., Nakagomi T., Oyamada H., Suto T. Relative frequency of human rotavirus subgroups 1 and 2 in Japanese children with acute gastroenteritis. *J. Med. Virol.* 1985; 17(1): 29–34. https://doi.org/10.1002/jmv.1890170105
10. Matthijnssens J., Ciarlet M., Rahman M., Attoui H., Bányai K., Estes M.K., et al. Recommendations for the classification of group A rotaviruses using all 11 genomic RNA segments. *Arch. Virol*. 2008; 153(8): 1621–9. https://doi.org/10.1007/s00705-008-0155-1
11. Iturriza Gómara M., Wong C., Blome S., Desselberger U., Gray J. Molecular characterization of VP6 genes of human rotavirus isolates: correlation of genogroups with subgroups and evidence of independent segregation. *J. Virol*. 2002; 76(13): 6596–601. https://doi.org/10.1128/jvi.76.13.6596-6601.2002
12. Nakagomi O., Nakagomi T., Akatani K., Ikegami N. Identification of rotavirus genogroups by RNA-RNA hybridization. *Mol. Cell. Probes*. 1989; 3(3): 251–61. https://doi.org/10.1016/0890-8508(89)90006-6
13. Heiman E.M., McDonald S.M., Barro M., Taraporewala Z.F., Bar-Magen T., Patton J.T. Group a human rotavirus genomics: evidence that gene constellations are influenced by viral protein interactions. *J. Virol*. 2008; 82(22): 11106–16. https://doi.org/10.1128/JVI.01402-08
14. Uprety T., Wang D., Li F. Recent advances in rotavirus reverse genetics and its utilization in basic research and vaccine development. *Arch. Virol.* 2021; 166(9): 2369–86. https://doi.org/10.1007/s00705-021-05142-7
15. Новикова Н.А., Пономарева Н.В., Новиков Д.В., Прилипов А.Г., Епифанова Н.В., Голицына Л.Н. Анализ нуклеотидных последовательностей гена NSP4 ротавирусов группы А, изолированных в Нижнем Новгороде. *Вопросы вирусологии*. 2008; 53(6): 35–9. https://elibrary.ru/kaxfub
16. Komoto S., Tacharoenmuang R., Guntapong R., Ide T., Tsuji T., Yoshikawa T., et al. Reassortment of human and animal rotavirus gene segments in emerging DS-1-Like G1P[8] rotavirus strains. *PLoS One*. 2016; 11(2): e0148416. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148416
17. Morozova O.V., Sashina T.A., Epifanova N.V., Velikzhanina E.I., Novikova N.A. Phylodynamic characteristics of reassortant DS-1-like G3P[8]-strains of rotavirus type A isolated in Nizhny Novgorod (Russia). *Braz. J. Microbiol.* 2023; 54(4): 2867–77. https://doi.org/10.1007/s42770-023-01155-3
18. Nakagomi T., Nakagomi O. RNA-RNA hybridization identifies a human rotavirus that is genetically related to feline rotavirus. *J. Virol*. 1989; 63(3): 1431–4. https://doi.org/10.1128/JVI.63.3.1431-1434.1989
19. Flores J., Perez-Schael I., Boeggeman E., White L., Perez M., Purcell R., et al. Genetic relatedness among human rotaviruses. *J. Med. Virol*. 1985; 17(2): 135–43. https://doi.org/10.1002/jmv.1890170206
20. Espejo R.T., Calderón E., González N., Salomon A., Martuscelli A., Romero P. Presence of two distinct types of rotavirus in infants and young children hospitalized with acute gastroenteritis in Mexico City, 1977. *J. Infect. Dis*. 1979; 139(4): 474–7. https://doi.org/10.1093/infdis/139.4.474
21. Greenberg H., McAuliffe V., Valdesuso J., Wyatt R., Flores J., Kalica A., et al. Serological analysis of the subgroup protein of rotavirus, using monoclonal antibodies. *Infect. Immun*. 1983; 39(1): 91–9. https://doi.org/10.1128/iai.39.1.91-99.1983
22. Urasawa S., Urasawa T., Taniguchi K. Genetic reassortment between two human rotaviruses having different serotype and subgroup specificities. *J. Gen. Virol*. 1986; 67(Pt. 8): 1551–9. https://doi.org/10.1099/0022-1317-67-8-1551
23. Nakagomi T., Katsushima N., Nakagomi O. Relative frequency of human rotavirus subgroups I and II in relation to “short” and “long” electropherotypes of viral RNA. *Ann. Inst. Pasteur Virol.* 1988; 139(3): 295–300. https://doi.org/10.1016/s0769-2617(88)80043-1
24. Nakagomi O., Isegawa Y., Ueda S., Gerna G., Sarasini A., Kaga E., et al. Nucleotide sequence comparison of the VP8* gene of rotaviruses possessing the AU-1 gene 4 allele. *J. Gen. Virol*. 1993; 74(Pt. 8): 1709–13. https://doi.org/10.1099/0022-1317-74-8-1709
25. Nakagomi O., Nakagomi T. Genetic diversity and similarity among mammalian rotaviruses in relation to interspecies transmission of rotavirus. *Arch. Virol*. 1991; 120(1-2): 43–55. https://doi.org/10.1007/BF01310948
26. Matthijnssens J., Van Ranst M. Genotype constellation and evolution of group A rotaviruses infecting humans. *Curr. Opin. Virol.* 2012; 2(4): 426–33. https://doi.org/10.1016/j.coviro.2012.04.007
27. Gauchan P., Sasaki E., Nakagomi T., Do L.P., Doan Y.H., Mochizuki M., et al. Whole genotype constellation of prototype feline rotavirus strains FRV-1 and FRV64 and their phylogenetic relationships with feline-like human rotavirus strains. *J. Gen. Virol*. 2015; 96(Pt. 2): 338–50. https://doi.org/10.1099/vir.0.070771-0
28. Mochizuki M., Nakagomi O., Shibata S. Hemagglutinin activity of two distinct genogroups of feline and canine rotavirus strains. *Arch. Virol*. 1992; 122(3-4): 373–81. https://doi.org/10.1007/BF01317199
29. De Grazia S., Giammanco G.M., Potgieter C.A., Matthijnssens J., Banyai K., Platia M.A., et al. Unusual assortment of segments in 2 rare human rotavirus genomes. *Emerg. Infect. Dis.* 2010; 16(5): 859–62. https://doi.org/10.3201/eid1605.091826
30. Martella V.A., Potgieter C., Lorusso E., De Grazia S., Giammanco G.M., Matthijnssens J., et al. A feline rotavirus G3P[9] carries traces of multiple reassortment events and resembles rare human G3P[9] rotaviruses. *J. Gen. Virol.* 2011; 92(Pt. 5): 1214–21. https://doi.org/10.1099/vir.0.027425-0
31. Wang Y.H., Pang B.B., Zhou X., Ghosh S., Tang W.F., Peng J.S., et al. Complex evolutionary patterns of two rare human G3P[9] rotavirus strains possessing a feline/canine-like H6 genotype on an AU-1-like genotype constellation. *Infect. Genet. Evol.* 2013; 16: 103–12. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.01.016
32. Theamboonlers A., Maiklang O., Thongmee T., Chieochansin T., Vuthitanachot V., Poovorawan Y. Complete genome analysis of a

rare human G3P[9] rotavirus posing as an AU-1 like strain. *Springerplus*. 2013; 2: 569. https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-569
33. Nguyen T.H., Than V.T., Thanh H.D., Kim W. Evidence of multiple reassortment events of feline-to-human rotaviruses based on a rare human G3P[9] rotavirus isolated from a patient with acute gastroenteritis. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis*. 2016; 46: 53–9. https://doi.org/10.1016/j.cimid.2016.04.003
34. Fukuda Y., Kaoru A., Megumi H., Yuji Y., Shuhei A., Saho H., et al. Sequence analysis of a feline- and porcine-origin G3P[9] rotavirus A strain in a child with acute gastroenteritis in Japan. *Arch. Virol*. 2023; 168(2): 45. https://doi.org/10.1007/s00705-022-05685-3
35. Martella V., Pratelli A., Greco G., Gentile M., Fiorente P., Tempesta M., et al. Nucleotide sequence variation of the VP7 gene of two G3-type rotaviruses isolated from dogs. *Virus Res*. 2001; 74(1-2): 17–25. https://doi.org/10.1016/s0168-1702(00)00230-6
36. Lee J.B., Youn S.J., Nakagomi T., Park S.Y., Kim T.J., Song C.S., et al. Isolation, serologic and molecular characterization of the first G3 caprine rotavirus. *Arch. Virol*. 2003; 148(4): 643–57. https://doi.org/10.1007/s00705-002-0963-7
37. Matthijnssens J., De Grazia S., Piessens J., Heylen E., Zeller M., Giammanco G.M., et al. Multiple reassortment and interspecies transmission events contribute to the diversity of feline, canine and feline/canine-like human group A rotavirus strains. *Infect. Genet. Evol*. 2011; 11(6): 1396–406. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.05.007
38. Miño S., Matthijnssens J., Badaracco A., Garaicoechea L., Zeller M., Heylen E., et al. Equine G3P[3] rotavirus strain E3198 related to simian RRV and feline/canine-like rotaviruses based on complete genome analyses. *Vet. Microbiol*. 2013; 161(3-4): 239–46. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.07.033
39. He B., Yang F., Yang W., Zhang Y., Feng Y., Zhou J., et al. Characterization of a novel G3P[3] rotavirus isolated from a lesser horseshoe bat: a distant relative of feline/canine rotaviruses. *J. Virol*. 2013; 87(22): 12357–66. https://doi.org/10.1128/JVI.02013-13
40. Papp H., Mihalov-Kovács E., Dóró R., Marton S., Farkas S.L., Giammanco G.M., et al. Full-genome sequencing of a Hungarian canine G3P[3] Rotavirus A strain reveals high genetic relatedness with a historic Italian human strain. *Virus Genes*. 2015; 50(2): 310–5. https://doi.org/10.1007/s11262-014-1163-8
41. Dong H., Qian Y., Nong Y., Zhang Y., Mo Z., Li R. Genomic characterization of an unusual human G3P[3] rotavirus with multiple cross-species reassortment. *Bing Du Xue Bao*. 2016; 32(2): 129–40. (in Chinese)
42. Sasaki M., Orba Y., Sasaki S., Gonzalez G., Ishii A., Hang'ombe B.M., et al. Multi-reassortant G3P[3] group A rotavirus in a horseshoe bat in Zambia. *J. Gen. Virol*. 2016; 97(10): 2488–93. https://doi.org/10.1099/jgv.0.000591
43. Okitsu S., Hikita T., Thongprachum A., Khamrin P., Takanashi S., Hayakawa S., et al. Detection and molecular characterization of two rare G8P[14] and G3P[3] rotavirus strains collected from children with acute gastroenteritis in Japan. *Infect. Genet. Evol*. 2018; 62: 95–108. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.04.011
44. Nakagomi T., Agbemabiese C.A., Nakagomi O. Full genotype constellations of six feline Rotavirus A strains isolated in Japan in the 1990s including a rare A15 NSP1 genotype. *Arch. Virol*. 2018; 163(8): 2257–60. https://doi.org/10.1007/s00705-018-3835-5
45. Charoenkul K., Janetanakit T., Bunpapong N., Boonyapisitsopa S., Tangwangvivat R., Suwannakarn K., et al. Molecular characterization identifies intra-host recombination and zoonotic potential of canine rotavirus among dogs from Thailand. *Transbound. Emerg. Dis*. 2021; 68(3): 1240–52. https://doi.org/10.1111/tbed.13778
46. Azevedo L.S., Costa F.F., Ghani M.B.A., Viana E., França Y., Medeiros R.S., et al. Full genotype characterization of Brazilian canine G3P[3] strains during a 10-year survey (2012-2021) of rotavirus infection in domestic dogs and cats. *Arch. Virol*. 2023; 168(7): 176. https://doi.org/10.1007/s00705-023-05807-5
47. Chamsai E., Charoenkul K., Udom K., Jairak W., Chaiyawong S., Amonsin A. Genetic characterization and evidence for multiple reassortments of rotavirus A G3P[3] in dogs and cats in Thailand. *Front. Vet. Sci*. 2024; 11: 1415771. https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1415771
48. Bányai K., Martella V., Molnár P., Mihály I., Van Ranst M., Matthijnssens J. Genetic heterogeneity in human G6P[14] rotavirus strains detected in Hungary suggests independent zoonotic origin. *J. Infect*. 2009; 59(3): 213–5. https://doi.org/10.1016/j.jinf.2009.06.009
49. Nordgren J., Nitiema L.W., Sharma S., Ouermi D., Traore A.S., Simpore J., et al. Emergence of unusual G6P[6] rotaviruses in children, Burkina Faso, 2009-2010. *Emerg. Infect. Dis*. 2012; 18(4): 589–97. https://doi.org/10.3201/eid1804.110973
50. Ndze V.N., Esona M.D., Achidi E.A., Gonsu K.H., Doro R., Marton S., et al. Full genome characterization of human Rotavirus A strains isolated in Cameroon, 2010-2011: diverse combinations of the G and P genes and lack of reassortment of the backbone genes. *Infect. Genet. Evol.* 2014; 28: 537–60. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.10.009
51. Ben Hadj Fredj M., Heylen E., Zeller M., Fodha I., Benhamida-Rebai M., Van Ranst M., et al. Feline origin of rotavirus strain, Tunisia, 2008. *Emerg. Infect. Dis*. 2013; 19(4): 630–4. https://doi.org/10.3201/eid1904.121383
52. Mijatovic-Rustempasic S., Roy S., Sturgeon M., Rungsrisuriyachai K., Esona M.D., Degroat D., et al. Full-genome sequence of a rare human G3P[9] rotavirus strain. *Genome Announc.* 2014; 2(2): e00143-14. https://doi.org/10.1128/genomeA.00143-14
53. Jeong S., Than VT.., Lim I., Kim W. Whole-genome analysis of a rare human Korean G3P[9] rotavirus strain suggests a complex evolutionary origin potentially in evolving reassortment events between feline and bovine rotaviruses. *PLoS One*. 2014; 9(5): e97127. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097127
54. Lestari F.B., Chandranoi K., Chuchaona W., Vongpunsawad S., Poovorawan Y. A G3P[9] rotavirus strain with an unusual genome constellation in a diarrheic cat in Thailand. *Arch. Virol*. 2023; 168(1): 24. https://doi.org/10.1007/s00705-022-05641-1
55. Fukuda Y., Kusuhara H., Takai-Todaka R., Haga K., Katayama K., Tsugawa T. Human transmission and outbreaks of feline-like G6 rotavirus revealed with whole-genome analysis of G6P[9] feline rotavirus. *J. Med. Virol*. 2024; 96(4): e29565. https://doi.org/10.1002/jmv.29565
56. Pietsch C., Liebert U.G. Evidence for presumable feline origin of sporadic G6P[9] rotaviruses in humans. *Infect. Genet. Evol*. 2018; 63: 180–94. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.05.030
57. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2017 году». М.; 2018.
58. Kiseleva V., Faizuloev E., Meskina E., Marova A., Oksanich A., Samartseva T., et al. Molecular-genetic characterization of human rotavirus A strains circulating in Moscow, Russia (2009–2014). *Virol. Sin.* 2018; 33(4): 304–13. https://doi.org/10.1007/s12250-018-0043-0
59. Жираковская Е.В., Аксанова Р.Х., Горбунова М.Г., Тикунов А.Ю., Курильщиков А.М., Соколов С.Н. и др. Генетическое разнообразие изолятов ротавирусов группы А, выявленных в Западной Сибири в 2007–2011 гг. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2012; (4): 33–41. https://elibrary.ru/rbgqib
60. Sashina T.A., Velikzhanina E.I., Morozova O.V., Epifanova N.V., Novikova N.A. Detection and full-genotype characterization of rare and reassortant rotavirus A strains in Nizhny Novgorod, European part of Russia. *Arch. Virol*. 2023; 168(8): 215. https://doi.org/10.1007/s00705-023-05838-y
61. Великжанина Е.И., Сашина Т.А., Морозова О.В., Епифанова Н.В., Новикова Н.А. Вариабельность генов неструктурных белков ротавируса А (Reoviridae: Rotavirus: Rotavirus A) генотипа G9P[8] в период доминирования на территории Нижнего Новгорода (центральная часть России) (2011–2020). *Вопросы вирусологии*. 2022; 67(6): 475–86. https://doi.org/10.36233/0507-4088-143 https://elibrary.ru/oeuvma

REFERENCES

1. Estes M.K., Kapikian A.Z. Rotaviruses. In: Fields B.N., Knipe D.M., Howley P.M., eds. *Fields' Virology*. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2007: 1917–73.
2. Palombo E.A. Genetic analysis of Group A rotaviruses: evidence for interspecies transmission of rotavirus genes. *Virus Genes*. 2002; 24(1): 11–20. https://doi.org/10.1023/a:1014073618253
3. KU Leuven. Rotavirus classification working group: RCWG; 2024. Available at: https://rega.kuleuven.be/cev/viralmetagenomics/virus-classification/rcwg
4. Matthijnssens J., Heylen E., Zeller M., Rahman M., Lemey P., Van Ranst M. Phylodynamic analyses of rotavirus genotypes G9 and G12 underscore their potential for swift global spread. *Mol. Biol. Evol.* 2010; 27(10): 2431–6. https://doi.org/10.1093/molbev/msq137
5. Sashina T.A., Morozova O.V., Epifanova N.V., Novikova N.A. Predominance of new G9P[8] rotaviruses closely related to Turkish strains in Nizhny Novgorod (Russia). *Arch. Virol*. 2017; 162(8): 2387–92. https://doi.org/10.1007/s00705-017-3364-7
6. Martella V., Bányai K., Matthijnssens J., Buonavoglia C., Ciarlet M. Zoonotic aspects of rotaviruses. *Vet. Microbiol*. 2010; 140(3-4): 246–55. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.08.028

7. Martella V., Ciarlet M., Camarda A., Pratelli A., Tempesta M., Greco G., et al. Molecular characterization of the VP4, VP6, VP7, and NSP4 genes of lapine rotaviruses identified in Italy: emergence of a novel VP4 genotype. *Virology.* 2003; 314(1): 358–70. https://doi.org/10.1016/s0042-6822(03)00418-5
8. Wang Y.H., Pang B.B., Zhou X., Ghosh S., Tang W.F., Peng J.S. et al. Complex evolutionary patterns of two rare human G3P[9] rotavirus strains possessing a feline/canine-like H6 genotype on an AU-1-like genotype constellation. *Infect. Genet. Evol.* 2013; 16: 103–12. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.01.016
9. Nakagomi O., Nakagomi T., Oyamada H., Suto T. Relative frequency of human rotavirus subgroups 1 and 2 in Japanese children with acute gastroenteritis. *J. Med. Virol.* 1985; 17(1): 29–34. https://doi.org/10.1002/jmv.1890170105
10. Matthijnssens J., Ciarlet M., Rahman M., Attoui H., Bányai K., Estes M.K., et al. Recommendations for the classification of group A rotaviruses using all 11 genomic RNA segments. *Arch. Virol*. 2008; 153(8): 1621–9. https://doi.org/10.1007/s00705-008-0155-1
11. Iturriza Gómara M., Wong C., Blome S., Desselberger U., Gray J. Molecular characterization of VP6 genes of human rotavirus isolates: correlation of genogroups with subgroups and evidence of independent segregation. *J. Virol*. 2002; 76(13): 6596–601. https://doi.org/10.1128/jvi.76.13.6596-6601.2002
12. Nakagomi O., Nakagomi T., Akatani K., Ikegami N. Identification of rotavirus genogroups by RNA-RNA hybridization. *Mol. Cell. Probes*. 1989; 3(3): 251–61. https://doi.org/10.1016/0890-8508(89)90006-6
13. Heiman E.M., McDonald S.M., Barro M., Taraporewala Z.F., Bar-Magen T., Patton J.T. Group a human rotavirus genomics: evidence that gene constellations are influenced by viral protein interactions. *J. Virol*. 2008; 82(22): 11106–16. https://doi.org/10.1128/JVI.01402-08
14. Uprety T., Wang D., Li F. Recent advances in rotavirus reverse genetics and its utilization in basic research and vaccine development. *Arch. Virol.* 2021; 166(9): 2369–86. https://doi.org/10.1007/s00705-021-05142-7
15. Novikova N.A., Ponomareva N.V., Novikov D.V., Prilipov A.G., Yepifanova N.V., Golitsyna L.N. Nucleotide sequence analysis of the NSP4 gene from group a rotavirus-es isolated in Nizhni Novgorod. *Voprosy virusologii*. 2008; 53(6): 35–9. https://elibrary.ru/kaxfub (In Russia)
16. Komoto S., Tacharoenmuang R., Guntapong R., Ide T., Tsuji T., Yoshikawa T., et al. Reassortment of human and animal rotavirus gene segments in emerging DS-1-Like G1P[8] rotavirus strains. *PLoS One*. 2016; 11(2): e0148416. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148416
17. Morozova O.V., Sashina T.A., Epifanova N.V., Velikzhanina E.I., Novikova N.A. Phylodynamic characteristics of reassortant DS-1-like G3P[8]-strains of rotavirus type A isolated in Nizhny Novgorod (Russia). *Braz. J. Microbiol.* 2023; 54(4): 2867–77. https://doi.org/10.1007/s42770-023-01155-3
18. Nakagomi T., Nakagomi O. RNA-RNA hybridization identifies a human rotavirus that is genetically related to feline rotavirus. *J. Virol*. 1989; 63(3): 1431–4. https://doi.org/10.1128/JVI.63.3.1431-1434.1989
19. Flores J., Perez-Schael I., Boeggeman E., White L., Perez M., Purcell R., et al. Genetic relatedness among human rotaviruses. *J. Med. Virol*. 1985; 17(2): 135–43. https://doi.org/10.1002/jmv.1890170206
20. Espejo R.T., Calderón E., González N., Salomon A., Martuscelli A., Romero P. Presence of two distinct types of rotavirus in infants and young children hospitalized with acute gastroenteritis in Mexico City, 1977. *J. Infect. Dis*. 1979; 139(4): 474–7. https://doi.org/10.1093/infdis/139.4.474
21. Greenberg H., McAuliffe V., Valdesuso J., Wyatt R., Flores J., Kalica A., et al. Serological analysis of the subgroup protein of rotavirus, using monoclonal antibodies. *Infect. Immun*. 1983; 39(1): 91–9. https://doi.org/10.1128/iai.39.1.91-99.1983
22. Urasawa S., Urasawa T., Taniguchi K. Genetic reassortment between two human rotaviruses having different serotype and subgroup specificities. *J. Gen. Virol*. 1986; 67(Pt. 8): 1551–9. https://doi.org/10.1099/0022-1317-67-8-1551
23. Nakagomi T., Katsushima N., Nakagomi O. Relative frequency of human rotavirus subgroups I and II in relation to “short” and “long” electropherotypes of viral RNA. *Ann. Inst. Pasteur Virol.* 1988; 139(3): 295–300. https://doi.org/10.1016/s0769-2617(88)80043-1
24. Nakagomi O., Isegawa Y., Ueda S., Gerna G., Sarasini A., Kaga E., et al. Nucleotide sequence comparison of the VP8* gene of rotaviruses possessing the AU-1 gene 4 allele. *J. Gen. Virol*. 1993; 74(Pt. 8): 1709–13. https://doi.org/10.1099/0022-1317-74-8-1709
25. Nakagomi O., Nakagomi T. Genetic diversity and similarity among mammalian rotaviruses in relation to interspecies transmission of rotavirus. *Arch. Virol*. 1991; 120(1-2): 43–55. https://doi.org/10.1007/BF01310948
26. Matthijnssens J., Van Ranst M. Genotype constellation and evolution of group A rotaviruses infecting humans. *Curr. Opin. Virol.* 2012; 2(4): 426–33. https://doi.org/10.1016/j.coviro.2012.04.007
27. Gauchan P., Sasaki E., Nakagomi T., Do L.P., Doan Y.H., Mochizuki M., et al. Whole genotype constellation of prototype feline rotavirus strains FRV-1 and FRV64 and their phylogenetic relationships with feline-like human rotavirus strains. *J. Gen. Virol*. 2015; 96(Pt. 2): 338–50. https://doi.org/10.1099/vir.0.070771-0
28. Mochizuki M., Nakagomi O., Shibata S. Hemagglutinin activity of two distinct genogroups of feline and canine rotavirus strains. *Arch. Virol*. 1992; 122(3-4): 373–81. https://doi.org/10.1007/BF01317199
29. De Grazia S., Giammanco G.M., Potgieter C.A., Matthijnssens J., Banyai K., Platia M.A., et al. Unusual assortment of segments in 2 rare human rotavirus genomes. *Emerg. Infect. Dis.* 2010; 16(5): 859–62. https://doi.org/10.3201/eid1605.091826
30. Martella V.A., Potgieter C., Lorusso E., De Grazia S., Giammanco G.M., Matthijnssens J., et al. A feline rotavirus G3P[9] carries traces of multiple reassortment events and resembles rare human G3P[9] rotaviruses. *J. Gen. Virol.* 2011; 92(Pt. 5): 1214–21. https://doi.org/10.1099/vir.0.027425-0
31. Wang Y.H., Pang B.B., Zhou X., Ghosh S., Tang W.F., Peng J.S., et al. Complex evolutionary patterns of two rare human G3P[9] rotavirus strains possessing a feline/canine-like H6 genotype on an AU-1-like genotype constellation. *Infect. Genet. Evol.* 2013; 16: 103–12. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.01.016
32. Theamboonlers A., Maiklang O., Thongmee T., Chieochansin T., Vuthitanachot V., Poovorawan Y. Complete genome analysis of a rare human G3P[9] rotavirus posing as an AU-1 like strain. *Springerplus*. 2013; 2: 569. https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-569
33. Nguyen T.H., Than V.T., Thanh H.D., Kim W. Evidence of multiple reassortment events of feline-to-human rotaviruses based on a rare human G3P[9] rotavirus isolated from a patient with acute gastroenteritis. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis*. 2016; 46: 53–9. https://doi.org/10.1016/j.cimid.2016.04.003
34. Fukuda Y., Kaoru A., Megumi H., Yuji Y., Shuhei A., Saho H., et al. Sequence analysis of a feline- and porcine-origin G3P[9] rotavirus A strain in a child with acute gastroenteritis in Japan. *Arch. Virol*. 2023; 168(2): 45. https://doi.org/10.1007/s00705-022-05685-3
35. Martella V., Pratelli A., Greco G., Gentile M., Fiorente P., Tempesta M., et al. Nucleotide sequence variation of the VP7 gene of two G3-type rotaviruses isolated from dogs. *Virus Res*. 2001; 74(1-2): 17–25. https://doi.org/10.1016/s0168-1702(00)00230-6
36. Lee J.B., Youn S.J., Nakagomi T., Park S.Y., Kim T.J., Song C.S., et al. Isolation, serologic and molecular characterization of the first G3 caprine rotavirus. *Arch. Virol*. 2003; 148(4): 643–57. https://doi.org/10.1007/s00705-002-0963-7
37. Matthijnssens J., De Grazia S., Piessens J., Heylen E., Zeller M., Giammanco G.M., et al. Multiple reassortment and interspecies transmission events contribute to the diversity of feline, canine and feline/canine-like human group A rotavirus strains. *Infect. Genet. Evol*. 2011; 11(6): 1396–406. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.05.007
38. Miño S., Matthijnssens J., Badaracco A., Garaicoechea L., Zeller M., Heylen E., et al. Equine G3P[3] rotavirus strain E3198 related to simian RRV and feline/canine-like rotaviruses based on complete genome analyses. *Vet. Microbiol*. 2013; 161(3-4): 239–46. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.07.033
39. He B., Yang F., Yang W., Zhang Y., Feng Y., Zhou J., et al. Characterization of a novel G3P[3] rotavirus isolated from a lesser horseshoe bat: a distant relative of feline/canine rotaviruses. *J. Virol*. 2013; 87(22): 12357–66. https://doi.org/10.1128/JVI.02013-13
40. Papp H., Mihalov-Kovács E., Dóró R., Marton S., Farkas S.L., Giammanco G.M., et al. Full-genome sequencing of a Hungarian canine G3P[3] Rotavirus A strain reveals high genetic relatedness with a historic Italian human strain. *Virus Genes*. 2015; 50(2): 310–5. https://doi.org/10.1007/s11262-014-1163-8
41. Dong H., Qian Y., Nong Y., Zhang Y., Mo Z., Li R. Genomic characterization of an unusual human G3P[3] rotavirus with multiple cross-species reassortment. *Bing Du Xue Bao*. 2016; 32(2): 129–40. (in Chinese)
42. Sasaki M., Orba Y., Sasaki S., Gonzalez G., Ishii A., Hang’ombe B.M., et al. Multi-reassortant G3P[3] group A rotavirus in a horseshoe bat in Zambia. *J. Gen. Virol*. 2016; 97(10): 2488–93. https://doi.org/10.1099/jgv.0.000591
43. Okitsu S., Hikita T., Thongprachum A., Khamrin P., Takanashi S.,

Hayakawa S., et al. Detection and molecular characterization of two rare G8P[14] and G3P[3] rotavirus strains collected from children with acute gastroenteritis in Japan. *Infect. Genet. Evol*. 2018; 62: 95–108. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.04.011
44. Nakagomi T., Agbemabiese C.A., Nakagomi O. Full genotype constellations of six feline Rotavirus A strains isolated in Japan in the 1990s including a rare A15 NSP1 genotype. *Arch. Virol*. 2018; 163(8): 2257–60. https://doi.org/10.1007/s00705-018-3835-5
45. Charoenkul K., Janetanakit T., Bunpapong N., Boonyapisitsopa S., Tangwangvivat R., Suwannakarn K., et al. Molecular characterization identifies intra-host recombination and zoonotic potential of canine rotavirus among dogs from Thailand. *Transbound. Emerg. Dis*. 2021; 68(3): 1240–52. https://doi.org/10.1111/tbed.13778
46. Azevedo L.S., Costa F.F., Ghani M.B.A., Viana E., França Y., Medeiros R.S., et al. Full genotype characterization of Brazilian canine G3P[3] strains during a 10-year survey (2012-2021) of rotavirus infection in domestic dogs and cats. *Arch. Virol*. 2023; 168(7): 176. https://doi.org/10.1007/s00705-023-05807-5
47. Chamsai E., Charoenkul K., Udom K., Jairak W., Chaiyawong S., Amonsin A. Genetic characterization and evidence for multiple reassortments of rotavirus A G3P[3] in dogs and cats in Thailand. *Front. Vet. Sci*. 2024; 11: 1415771. https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1415771
48. Bányai K., Martella V., Molnár P., Mihály I., Van Ranst M., Matthijnssens J. Genetic heterogeneity in human G6P[14] rotavirus strains detected in Hungary suggests independent zoonotic origin. *J. Infect*. 2009; 59(3): 213–5. https://doi.org/10.1016/j.jinf.2009.06.009
49. Nordgren J., Nitiema L.W., Sharma S., Ouermi D., Traore A.S., Simpore J., et al. Emergence of unusual G6P[6] rotaviruses in children, Burkina Faso, 2009-2010. *Emerg. Infect. Dis*. 2012; 18(4): 589–97. https://doi.org/10.3201/eid1804.110973
50. Ndze V.N., Esona M.D., Achidi E.A., Gonsu K.H., Doro R., Marton S., et al. Full genome characterization of human Rotavirus A strains isolated in Cameroon, 2010-2011: diverse combinations of the G and P genes and lack of reassortment of the backbone genes. *Infect. Genet. Evol.* 2014; 28: 537–60. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.10.009
51. Ben Hadj Fredj M., Heylen E., Zeller M., Fodha I., Benhamida-Rebai M., Van Ranst M., et al. Feline origin of rotavirus strain, Tunisia, 2008. *Emerg. Infect. Dis*. 2013; 19(4): 630–4. https://doi.org/10.3201/eid1904.121383
52. Mijatovic-Rustempasic S., Roy S., Sturgeon M., Rungsrisuriyachai K., Esona M.D., Degroat D., et al. Full-genome sequence of a rare human G3P[9] rotavirus strain. *Genome Announc.* 2014; 2(2): e00143-14. https://doi.org/10.1128/genomeA.00143-14
53. Jeong S., Than VT.., Lim I., Kim W. Whole-genome analysis of a rare human Korean G3P[9] rotavirus strain suggests a complex evolutionary origin potentially in evolving reassortment events between feline and bovine rotaviruses. *PLoS One*. 2014; 9(5): e97127. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097127
54. Lestari F.B., Chandranoi K., Chuchaona W., Vongpunsawad S., Poovorawan Y. A G3P[9] rotavirus strain with an unusual genome constellation in a diarrheic cat in Thailand. *Arch. Virol*. 2023; 168(1): 24. https://doi.org/10.1007/s00705-022-05641-1
55. Fukuda Y., Kusuhara H., Takai-Todaka R., Haga K., Katayama K., Tsugawa T. Human transmission and outbreaks of feline-like G6 rotavirus revealed with whole-genome analysis of G6P[9] feline rotavirus. *J. Med. Virol*. 2024; 96(4): e29565. https://doi.org/10.1002/jmv.29565
56. Pietsch C., Liebert U.G. Evidence for presumable feline origin of sporadic G6P[9] rotaviruses in humans. *Infect. Genet. Evol*. 2018; 63: 180–94. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.05.030
57. State report «On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2017». Moscow; 2018. (in Russian)
58. Kiseleva V., Faizuloev E., Meskina E., Marova A., Oksanich A., Samartseva T., et al. Molecular-genetic characterization of human rotavirus A strains circulating in Moscow, Russia (2009–2014). *Virol. Sin.* 2018; 33(4): 304–13. https://doi.org/10.1007/s12250-018-0043-0
59. Zhirakovskaya E.V., Tikunov A.Y., Kurilshchikov A.M., Tikunova N.V., Aksanova R.K., Sokolov S.N., et al. Genetic diversity of group A rotavirus isolates found in Western Siberia in 2007–2011. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya*. 2012; 27(4): 174–83. https://doi.org/10.3103/S0891416812040076 https://elibrary.ru/rgcgdz
60. Sashina T.A., Velikzhanina E.I., Morozova O.V., Epifanova N.V., Novikova N.A. Detection and full-genotype characterization of rare and reassortant rotavirus A strains in Nizhny Novgorod, European part of Russia. *Arch. Virol*. 2023; 168(8): 215. https://doi.org/10.1007/s00705-023-05838-y
61. Velikzhanina E.I., Sashina T.A., Morozova O.V., Epifanova N.V., Novikova N.A. Variability of genes encoding nonstructural proteins of rotavirus A (Reoviridae: Rotavirus: Rotavirus A) genotype G9P[8] during the period of dominance in the territory of Nizhny Novgorod (central part of Russia) (2011–2020). *Voprosy virusologii*. 2022; 67(6): 475–86. https://doi.org/10.36233/0507-4088-143 https://elibrary.ru/oeuvma (in Russian)

Информация об авторах:

Великжанина Елена Игоревна✉ – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия. E-mail: www.e_velikzhanina@mail.ru; https://orcid.org/0000-0003-4069-1427

Сашина Татьяна Александровна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия. E-mail: tatyana.sashina@gmail.com; https://orcid.org/0000-0003-3203-7863

Новикова Надежда Алексеевна – д-р биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия. E-mail: novikova_na@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-3710-6648

Участие авторов: Великжанина Е.И. – сбор и анализ данных, подготовка и научное редактирование текста; Сашина Т.А. – научное редактирование текста; Новикова Н.А. – научное редактирование текста, утверждение окончательной версии статьи для публикации.

Поступила 13.03.2025
Принята в печать 24.04.2025
Опубликована 30.04.2025

Information about the authors:

Elena I. Velikzhanina✉ – Junior Researcher, laboratory of molecular epidemiology of viral infections I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: www.e_velikzhanina@mail.ru; https://orcid.org/0000-0003-4069-1427

Tatiana A. Sashina – PhD, Senior Researcher, laboratory of molecular epidemiology of viral infections I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: tatyana.sashina@gmail.com; https://orcid.org/0000-0003-3203-7863

Nadezhda A. Novikova – Dr. Sci., Professor, Leading Researcher, Head of the laboratory of molecular epidemiology of viral infections I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: novikova_na@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-3710-6648

Contribution: Velikzhanina E.I. − collection and analysis of the data, preparing and editing of the text; Sashina T.A. − editing of the text; Novikova N.A. – editing of the text, approval of the final version of the article for publication.

Received 13 March 2025
Accepted 24 April 2025
Published 30 April 2025

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-281
© АНТОНОВА А.А., ПРОТАСОВА Л.А., КИМ К.В., МУНЧАК Я.М., МЕЖЕНСКАЯ Е.Н., ОРЛОВА-МОРОЗОВА Е.А., ПРОНИН А.Ю., ПРИЛИПОВ А.Г., КУЗНЕЦОВА А.И., 2025

Генетическое разнообразие белка Vif у вариантов вируса иммунодефицита человека 1-го типа (Retroviridae: *Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1*), циркулировавших в Московской области в 2019–2020 гг.

Антонова А.А.[1], Протасова Л.А.[1], Ким К.В.[1], Мунчак Я.М.[1], Меженская Е.Н.[1], Орлова-Морозова Е.А.[2], Пронин А.Ю.[2], Прилипов А.Г.[1], Кузнецова А.И.[1]✉

[1]Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, Россия;
[2]ГБУЗ Московской области «Центр профилактики и борьбы со СПИД», 140053, Московская область, г. Котельники, Россия

Резюме
Введение. Белок Vif вируса иммунодефицита человека 1-го типа (ВИЧ-1) является фактором вирусной инфекционности и противодействует клеточным дезаминазам семейства APOBEC3, препятствующим репликации вируса. На основе белка Vif ведутся разработки для создания терапевтических средств. Природные замены в белке Vif могут влиять на его функциональность и ассоциироваться с ускоренным переходом ВИЧ-инфекции в стадию СПИДа. Изучение особенностей белка Vif у вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в России, ранее не проводилось.
Цель работы: изучить генетическое разнообразие белка Vif вариантов ВИЧ-1, циркулировавших в Московской области в 2019–2020 гг.
Материалы и методы. Проанализировано 234 образца цельной крови ВИЧ-инфицированных пациентов без опыта приема антиретровирусной терапии. Дизайн исследования включал следующие стадии: экстракция провирусной ДНК, амплификация гена *vif*, секвенирование продуктов амплификации, определение генетических вариантов полученных нуклеотидных последовательностей; затем проводили исследование консенсусных последовательностей белка Vif наиболее распространенных генетических вариантов ВИЧ-1, анализ консервативности и генетического разнообразия белка Vif-A6 (белок Vif вариантов ВИЧ-1 суб-субтипа A6) у пациентов с разными стадиями заболевания, оценку генетического разнобразия белка Vif-A6 в Московской области.
Результаты. Проведена оценка генетического разнообразия ВИЧ-1 в области генома, кодирующего белок Vif, – выявлено большое генетическое разнообразие, включающее в себя ВИЧ-1 чистых субтипов (A6, B и G), а также его рекомбинантных форм (CRF63_02A6). Впервые получены консенсусные последовательности белка Vif генетических вариантов ВИЧ-1 – B и CRF63_02A6, циркулирующих на территории Российской Федерации. Для наиболее распространенных в России вариантов ВИЧ-1 определены характерные замены в консенсусных последовательностях.
Заключение. Ограничением исследования является небольшая выборка последовательностей, принадлежащих генетическим вариантам B и CRF63_02A6 ВИЧ-1. Полученные результаты могут быть интересны и учтены при разработке терапевтических средств на основе белка Vif, а также при изучении вопросов патогенности ВИЧ-1 суб-субтипа A6.

Ключевые слова: *ВИЧ-1; Vif; суб-субтип A6; субтип B; CRF63_02A6*

Для цитирования: Антонова А.А., Протасова Л.А., Ким К.В., Мунчак Я.М., Меженская Е.Н., Орлова-Морозова Е.А., Пронин А.Ю., Прилипов А.Г., Кузнецова А.И. Генетическое разнообразие белка Vif у вариантов вируса иммунодефицита человека 1-го типа (Retroviridae: *Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1*), циркулировавших в Московской области в 2019–2020 гг. *Вопросы вирусологии*. 2025; 70(2): 117–132. DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-281 EDN: https://elibrary.ru/qoqqce

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 23-15-00027, https://rscf.ru/project/23-15-00027/ (дата заключения соглашения 15.05.2023).

Благодарности. Авторы выражают благодарность к.б.н., научному сотруднику лаборатории вирусов лейкозов Алексею Владимировичу Лебедеву за помощь в графической визуализации результатов.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.
Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (протокол № 16 от 08.02.2019).

ORIGINAL STUDY ARTICLE
DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-281

Genetic diversity of Vif protein in human immunodeficiency virus type 1 variants (Retroviridae: *Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1*) that circulated in the Moscow region in 2019–2020

Anastasiia A. Antonova[1], Larisa A. Protasova[1], Kristina V. Kim[1], Iana M. Munchak[1], Ekaterina N. Mezhenskaya[1], Elena A. Orlova-Morozova[2], Alexander Yu. Pronin[2], Alexey G. Prilipov[1], Anna I. Kuznetsova[1]✉

[1]D.I. Ivanovsky Institute of Virology of National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya, 123098, Moscow, Russia;
[2]Center for the Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, 140053, Moscow region, Kotelniki, Russia

Abstract
Introduction. The Vif protein counteracts cellular deaminases, APOBEC3, which prevent viral replication. Vif is used for development of therapeutic agents. Natural polymorphisms in Vif can affect its functionality and may be associated with accelerated progression of HIV-infection to the AIDS. The study of Vif features in HIV-1 variants circulating in Russia has not been conducted previously.
The aim of the study: to study the genetic diversity of Vif in the HIV-1 variants that circulated in the Moscow region in 2019–2020.
Materials and methods. 234 whole blood samples obtained from HIV-infected patients without experience of therapy were analyzed. The study design included the following stages: extraction of proviral DNA, amplification of the *vif* gene, sequencing, identification of genetic variants, followed by a study of consensus sequences of the most common genetic variants of HIV-1, analysis of the conservation and genetic diversity of Vif-A6 (Vif protein of HIV-1 sub-subtype A6 variants) in patients with different stages of the disease, and assessment of genetic diversity of Vif-A6 in the Moscow region.
Results. A high degree of genetic diversity of *vif* gene was revealed. Consensus sequences of Vif in B and CRF63_02A6 variants were obtained for the first time. Characteristic substitutions in the consensus sequences were determined for the most common HIV-1 variants.
Conclusion. The limitation of this study is the small sample of B and CRF63_02A6. The results obtained may be of interest and may be taken into account in the development of therapeutic agents based on the Vif protein, as well as in the study of the pathogenicity of HIV-1 sub-subtype A6.

Keywords: *HIV-1; Vif; sub-subtype A6; subtype B; CRF63_02A6*

For citation: Antonova A.A., Protasova L.A., Kim K.V., Munchak Ia.M., Mezhenskaya E.N., Orlova-Morozova E.A., Pronin A.Yu., Prilipov A.G., Kuznetsova A.I. Genetic diversity of Vif protein in human immunodeficiency virus type 1 variants (Retroviridae: *Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1*) that circulated in the Moscow region in 2019–2020. *Problems of Virology* (*Voprosy Virusologii*). 2025; 70(2): 117–132. DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-281 EDN: https://elibrary.ru/qoqqce

Funding. The research was funded by the Russian Science Foundation, grant number 23-15-00027, https://rscf.ru/project/23-15-00027/, date of agreement 15 May 2023.
Acknowledgement. The authors are grateful to Aleksey Vladimirovich Lebedev, PhD, Researcher in Laboratory of T-lymphotropic viruses, Ivanovsky Institute of virology, Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, for assistance in graphical visualization of the results.
Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.
Ethics approval. All obtained clinical material was used with the informed consent of patients based on the permission of the Committee on Biomedical Ethics of the D.I. Ivanovsky Institute of Virology of National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia (protocol No. 16 of 8 February 2019).

Введение

Белок Vif вируса иммунодефицита человека 1-го типа (Retroviridae: *Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1,* HIV-1, ВИЧ-1) является фактором вирусной инфекционности, который специфически противодействует клеточным дезаминазам семейства APOBEC3, или A3 [1, 2]. Члены семейства APOBEC3 являются эффекторами врожденного иммунитета, противодействующими многим экзогенным вирусам, включая ВИЧ-1. При этом геном человека кодирует 7 генов A3 (*A3A*, *B*, *C*, *D*, *F*, *G* и *H*) [2]. A3G (APOBEC3G) является наиболее сильным ингибитором репликации ВИЧ-1 в отсутствие белка Vif [2, 3]. Благодаря своей цитидиндезаминазной активности, A3G преобразует цитидин (C) в уридин (U) в одноцепочечной некодирующей вирусной ДНК, образующейся в процессе обратной транскрипции вирусной РНК. На этапе синтеза второй, кодирующей, цепи провирусной ДНК происходит замена гуанина (G) на аденин (A), что в конечном итоге приводит к нарушению синтеза белка и прерыванию репликации ВИЧ-1 [2, 4]. Другие белки семейства APOBEC3: A3D, A3F и A3H, проявляют разную степень противовирусной активности [5, 6]. При этом белки семейства A3 могут проявлять противовирусную активность также дезаминазно-независимым способом на разных стадиях цикла репликации вируса (обратная транскрипция, интеграция, созревание) [2, 7, 8]. Vif нейтрализует белки семейства A3 через присоединение этих белков к E3-убиквитин-лигазному комплексу, включающему белки Cullin 5, Elongin C, Elongin B и CBF-β, для поли-убиквитинилирования с последующей протеасомной деградацией. Кроме того, Vif способен ингибировать транскрипцию A3G через захват транскрипционного кофактора (CBF-β), блокировать трансляцию A3G, ингибировать включение A3G во вновь образованные вирусные частицы [2].

Белок Vif является высоко основным полипептидом, состоящим из 192 аминокислот, массой около 23 кДа, синтезирующимся на поздней стадии репликации вируса [9, 10]. На протяжении многих лет с момента открытия белка Vif (1986 г.) изучаются его свойства и особенности взаимодействия с белками клетки-хозяина, однако полностью его роль так и не определена [2, 9–11]. На **рис. 1** обозначены описанные функциональные мотивы белка Vif.

В более ранних исследованиях показано, что натуральные вариации в белке Vif могут вызывать дефекты A3G- и A3F-нейтрализующей активности [12]. Последующие работы продемонстрировали, что между разными вариантами ВИЧ-1 присутствуют различия в функциональной активности белка Vif [13, 14]. Например, в области генома ВИЧ-1, кодирующего ген *vif*, суб-субтипа A6, широко распространенного на территории Российской Федерации, были обнаружены 12 нуклеотидных замен, 4 из которых являлись несинонимичными и приводили к заменам аминокислот K91Q, E134N, Q136P и I159E, по сравнению с ВИЧ-1 HXB2 [15]. При этом в другом исследовании была обнаружена ассоциация изменений Vif с ускоренным переходом заболевания в стадию СПИДа, мутация Q136P являлась одним из таких изменений наряду со вставкой одной аминокислоты в 61-м положении и заменами A62D/N/S [16].

В процессе исследований генетического разнообразия белка Vif были определены пары аминокислот и единичные замены, которые могут быть ассоциированы как со сниженным уровнем CD4-клеток, так и с высокой вирусной нагрузкой (ВН) [17, 18]. Таким образом, естественные вариации в белке Vif могут влиять на функциональность белка и течение заболевания.

Более того, в настоящее время разрабатываются молекулы, являющиеся антагонистами белка Vif, которые в дальнейшем могут стать основой для создания антиретровирусных препаратов нового класса [19–21]. В дизайн многих разрабатываемых мультиэпитопных вакцинных конструкций входят антигены, содержащиеся в белке Vif [22]. Таким образом, белок Vif является привлекательной мишенью для разработки терапевтических препаратов и вакцин, что делает исследование его генетического разнообразия еще более актуальным. Высокое генетическое разнообразие ВИЧ-1 и неравномерное распределение существующих вариантов вируса в мире определяют актуальность изучения особенностей белка Vif у локально циркулирующих вариантов вируса [14, 18, 23–25].

В России состав циркулирующих генетических вариантов ВИЧ-1 уникален: доминирующим вариантом является суб-субтип A6 (82,9%), на втором месте – субтип B (7,14%), затем быстро распространяющаяся рекомбинантная форма CRF63_02A6 (3,59%), и око-

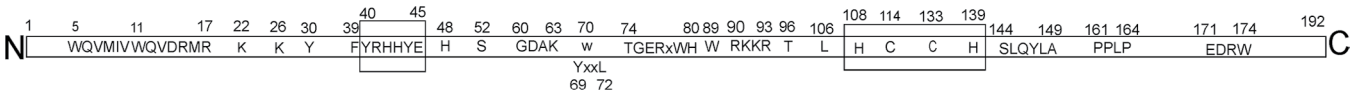


Рис. 1. Схематическое изображение функциональных мотивов в белке Vif.

[11]WQVDRMR[17], [74]TGERxWH[80] и [171]EDRW[174] – сайты, картирующиеся с A3F; K[22], K[26], Y[30], [40]YRHHYE[45], S[52], W[70] и [161]PPLP[164] – с A3G; F[39], H[48] и [60]GDAK[63] – с A3H; [69]YxxL[72] – с A3G и A3F; [90]RKKR[93] – сигнал, ингибирующий ядерную локализацию; 108Hx5Cx17−18Cx3−5H139(HCCH мотив) – с Cullin 5, входит в состав E3-убиквитин-лигазного комплекса; [144]SLQYLA[149] – с Elongin C, входит в состав E3-убиквитин-лигазного комплекса; [5]WQVMIVW[11], W[89], T[96], L[106] – с CBF-β [2, 9–11].

Fig. 1. Schematic representation of functional motifs in the Vif protein.

[11]WQVDRMR[17], [74]TGERxWH[80] and [171]EDRW[174] – sites mapping to A3F; K[22], K[26], Y[30], [40]YRHHYE[45], S[52], W[70] and [161]PPLP[164] – to A3G; F[39], H[48] and [60]GDAK[63] – to A3H; [69]YxxL[72] – to A3G и A3F; [90]RKKR[93] – a signal inhibiting nuclear localisation; [108]Hx5Cx17−18Cx3−5H[139] (HCCH motif) – to Cullin 5, is part of the E3 ubiquitin ligase complex; [144]SLQYLA[149] – to Elongin C, is a member of the E3-ubiquitin ligase complex; [5]WQVMIVW[11], W[89], T[96], L[106] – to CBF-β [2, 9–11].

ло 1% приходится на каждую из рекомбинантных форм CRF02_AG и CRF03_AB [26]. В ранее проведенных нами исследованиях были изучены особенности регуляторных белков Tat, Rev и вспомогательного белка Vpu ВИЧ-1 среди вирусов, принадлежащих суб-субтипу A6, который является наиболее широко распространенным генетическим вариантом на территории Российской Федерации; в процессе исследований проводили сравнение генетической вариабельности данных белков среди пациентов с разными стадиями заболевания [27–30]. При сравнении консенсусных последовательностей белка Vif у вариантов вируса суб-субтипа A6, циркулирующих в разных регионах России, были отмечены характерные особенности, которые могут быть связаны с так называемым «эффектом основателя» [31].

Цель исследования – изучение генетического разнообразия белка Vif вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в Московской области: определение генетических вариантов, сравнение консенсусных последовательностей наиболее распространенных из них; анализ консервативности и генетического разнообразия белка Vif-A6 (белок Vif вариантов ВИЧ-1 суб-субтипа A6) у пациентов с разными стадиями заболевания, оценка генетического разнобразия белка Vif-A6 в Московской области.

Материалы и методы

В работе были использованы клинические образцы цельной крови, полученные от 234 наивных (без опыта приема антиретровирусной терапии (АРТ) в анамнезе) ВИЧ-инфицированных пациентов, проходивших лечение в ГКУЗ МО «Центр профилактики и борьбы со СПИД» (далее – Центр СПИД). Процедуру забора крови осуществляли сотрудники Центра СПИД. Забор крови производили единоразово в период с августа 2019 г. по июль 2020 г. в рамках реализации проекта CARE (https://www.careresearch.eu/, доступ на 29 июня 2024 г.). Весь полученный клинический материал использовали с информированного согласия пациентов на основании одобрения Комитета по биомедицинской этике ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (протокол № 16 от 08.02.2019). Выявление факторов риска инфицирования проводили путем опроса пациентов при сборе эпидемиологического анамнеза. Также регистрировали следующую дополнительную информацию: пол и возраст пациента, дату забора клинического образца, стадию заболевания, показатели ВН и иммунный статус пациента (количество $CD4^+$-клеток).

Таблица 1. Характеристика включенных в исследование ВИЧ-инфицированных пациентов, классифицированных по стадии ВИЧ-инфекции*
Table 1. Characteristics of HIV-infected patients included in the study, classified by stage of HIV infection*

Характеристики Characteristics	2-я стадия/стадия начальных проявлений Stage 2/stage of initial manifestations	3-я стадия/субклиническая стадия Stage 3/subclinical stage	4-я стадия/стадия вторичных проявлений Stage 4/stage of secondary manifestations
Всего пациентов, абс. Total patients, abs.	47	82	105
Пол, абс. | Gender, abs.			
мужской | male	29	46	75
женский | female	18	36	30
Возраст, медиана лет (диапазон) Age, median years (range)	38 (19–62)	38 (21–70)	39 (24–64)
Путь инфицирования, абс. | infection route, abs.			
гетеро | hetero	25	58	64
ПИН | IDU	5	11	36
МСМ | MSM	16	10	4
нозокомиальный nosocomial	0	0	1
неизвестно unknown	1	3	0
CD4, кл/мкл (диапазон) CD4, cells/μL (range)	642,96 (290–2022)	474,10 (110–1658)	236,78 (8–1062)
Вирусная нагрузка, lg РНК, копий/мл (диапазон) Viral load, log10 RNA, copies/mL (range)	4,9 (3,4–7,0)	4,6 (3,3–6,2)	5,1 (3,1–6,4)

Примечание. В скобках представлены диапазоны абсолютных значений. ПИН – потребители инъекционных наркотиков; МСМ – мужчины, имеющие секс с мужчинами.

Note. Ranges of absolute values are presented in brackets. IDU – injecting drug users; MSM – men having sex with other men

Пациенты, включенные в исследование, находились на 2, 3 и 4-й стадиях заболевания (**табл. 1**). Таким образом, для дальнейшего анализа были сформированы 3 группы пациентов в зависимости от их стадии заболевания.

В табл. 1 показаны основные демографические и клинико-эпидемиологические характеристики пациентов, включенных в исследование, в зависимости от стадии ВИЧ-инфекции, согласно клиническим рекомендациям Минздрава России.

Экстракцию провирусной ДНК в составе геномной ДНК из клеток крови (лимфоцитов) осуществляли методом высаливания [32]. На следующем этапе проводили амплификацию гена *vif* с помощью «гнездовой (Nested)» двухраундовой полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим секвенированием продуктов амплификации. Последовательности использованных в работе праймеров и условия амплификации:

– *1-й раунд:* праймеры: Vif1p (GCAGGTAAGAGAGCAAGCTGAACA) и Vif1o (GTCTCCGCTTCTTCCTGCCATAGGA), программа: 1) 95 °C – 5 мин; 2) 35 циклов: 95 °C – 30 с, 57 °C – 1 мин, 72 °C – 1 мин 20 с; 3) 72 °C – 7 мин; 4) 4 °C – ∞ (хранение);

– *2-й раунд:* праймеры; Vif2p (GCTaCTCTGGAAAGGTGAAGG) и Vif2o (TACAAGGAGTCTTGGGCTGAC), программа: 1) 95 °C – 5 мин; 2) 35 циклов: 95 °C – 30 с, 53 °C – 1 мин, 72 °C – 1 мин 20 с; 3) 72 °C – 7 мин; 4) 4 °C – ∞ (хранение).

Амплифицированный фрагмент содержал 948 нуклеотидных оснований и включал ген *vif*. Очистку продуктов амплификации проводили с использованием коммерческого набора для очистки ПЦР-фрагментов – Clean S-Cap («Евроген», Россия) в соответствии с протоколом фирмы-производителя.

Определение нуклеотидных последовательностей осуществляли дидезокси-методом по Сэнгеру с использованием набора BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США) и праймеров Vif2p и Vif2o согласно протоколу фирмы-производителя. Проведение оценки реакции секвенирования выполнялось автоматически в генетическом анализаторе ABI Prism 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США).

Сборку и редактирование полученных нуклеотидных последовательностей проводили с использованием приложения SeqMan II 6.1. (DNASTAR Inc., США). Попарное и множественное выравнивание было выполнено с помощью модуля ClustalW, интегрированного в программный пакет AliView [33]. В случае, если в полученных алайментах были выявлены проблемные участки, проводили их дополнительное выравнивание «вручную».

Предварительное определение генетических вариантов ВИЧ-1 осуществляли с применением специализированных программ: COMET HIV-1 (https://comet.lih.lu/) – использует контекстноориентированное моделирование для быстрого типирования вирусов ВИЧ-1 [34]; jpHMM – определяет рекомбинантные формы вируса, используя скрытую марковскую модель [35]; RIP 3.0 (https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/RIP/RIP) – служит для идентификации рекомбинантных форм вируса; размер окна при анализе составил 50 н.о., что позволило детектировать рекомбинацию в последовательностях короткой длины. Для уточнения полученных результатов был проведен филогенетический анализ. Его осуществляли методом максимального правдоподобия (Maximum Likelihood, ML) с использованием программы IQ-TREE [36]. Источником эталонных последовательностей служила база данных Лос-Аламосской лаборатории США (https://www.hiv.lanl). Модель замещения нуклеотидов определяли при помощи программы jModelTest v. 2.1.7 на основании информационного критерия Акаике (Akaike information criterion, AIC) [37]. Достоверность выведенных филогений оценивали с помощью бутстрэп-теста (bootstrap) и критерия приблизительного отношения правдоподобия Шимодайры–Хасегавы (SH-aLRT) с 1000 послестартовых итераций. Кластеры с поддержкой SH-aLRT > 0,9 считали достоверно установленными. Визуализацию и графическую обработку результатов филогенетического анализа осуществляли в программе iTOL [38].

Затем были отобраны наиболее распространенные генетические варианты ВИЧ-1, для каждого из них были сформированы консенсусные аминокислотные последовательности для их дальнейшего сравнения. Для этого первоначально полученные нуклеотидные последовательности ВИЧ-1 наиболее распространенных генетических вариантов были переведены в аминокислотные последовательности с помощью онлайн-инструмента для трансляции, представленного на сайте: https://www.bioinformatics.org/sms2/translate.html. После этого с помощью инструмента Simple Consensus Maker (https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/CONSENSUS/SimpCon.html) на основе полученных аминокислотных последовательностей для каждого анализируемого генетического варианта ВИЧ-1 была сформирована общая консенсусная аминокислотная последовательность. Далее полученные консенсусные последовательности сравнивали между собой и относительно референсного штамма HXB2 ВИЧ-1 (GenBank Accession No: K03455) с применением программы MEGA v. 10.2.2.

На следующем этапе исследования оценивали консервативность и генетическую вариабельность белка Vif ВИЧ-1 суб-субтипа A6 у пациентов с разными стадиями заболевания. Для этого полученные аминокислотные последовательности Vif-A6 были сгруппированы в соответствии со стадией ВИЧ-инфекции пациента (3 группы), от которого они были получены. Затем для каждой группы дополнительно формировали консенсусные последовательности, как описано ранее. Таким образом, с помощью инструмента Simple Consensus Maker (https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/CONSENSUS/SimpCon.html) на основе полученных аминокислотных последовательностей для каждой стадии заболевания (2, 3 и 4-я) была сформирована общая консенсусная аминокислотная последовательность, характерная для каждой

стадии. Затем оценивали уровень консервативности аминокислот в каждой позиции в каждой группе, между группами и по отношению к общему консенсусу для вариантов суб-субтипа A6, полученных ранее для всей группы исследуемых последовательностей (см. абзац выше). Для каждой позиции аминокислоты проводилась оценка консервативности по следующей шкале: 100, 90–99, 76–89, 51–75, ≤ 50%. Далее с применением программного модуля Nonparametric Statistics из пакета Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США) оценивали статистически значимые различия в консервативности последовательностей белка Vif у пациентов с разными стадиями заболевания (точный двусторонний тест Фишера с коррекцией множественного теста Бонферрони, $p < 0{,}0033$).

Для оценки генетической вариабельности белка Vif ВИЧ-1 суб-субтипа A6 аминокислотные последовательности Vif-A6 также были поделены на группы в зависимости от стадии заболевания пациента (3 группы). Затем определяли аминокислотные замены (с применением программы MEGA v. 10.2.2) в каждой группе пациентов, используя в качестве референсной последовательности общую консенсусную аминокислотную последовательность, полученную для Vif ВИЧ-1 суб-субтипа A6. Сайты со статистически достоверными различиями в частоте встречаемости у пациентов с разными стадиями заболевания выявляли с с применением программного модуля Nonparametric Statistics из пакета Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США), допустимым считали уровень значимости при использовании критерия χ^2 с поправкой Бонферрони ($p < 0{,}0005$).

На завершающем этапе исследования в рамках изучения генетического разнообразия белка Vif суб-субтипа A6 в группе вариантов вируса, циркулирующих в Московской области, проводили их сравнение с референс-группой. Для формирования референсной группы из международной базы данных Лос-Аламос (www.hiv.lanl.gov, дата обращения 17 октября 2024 г.) были выгружены полногеномные нуклеотидные последовательности ВИЧ-1 суб-субтипа A6. Последовательности, полученные от одного и того же пациента, были исключены из анализа. Общее число последовательностей для дальнейшего анализа составило 166. Затем из загруженных полногеномных нуклеотидных последовательностей в программе MEGA v. 10.2.2 были вырезаны последовательности гена *vif*; полученные нуклеотидные последовательности гена *vif* переведены в аминокислотные, как описано ранее. Также на основе полученных аминокислотных последовательностей (исследуемых и загруженных) была сформирована общая консенсусная последовательность, которая использовалась в качестве референсной последовательности. Под генетическим разнообразием понимали частоту встречаемости аминокислоты, отличной от представленной в референсной последовательности, в каждой группе (последовательностей Vif-A6 из Московской области и последовательностей Vif-A6 из не Московской области). С помощью программного модуля Nonparametric Statistics из пакета Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США) были выявлены участки со статистически значимыми различиями ($p < 0{,}0013$ при использовании критерия χ^2 с поправкой Бонферрони).

Результаты

По результатам первичного анализа нуклеотидных последовательностей было установлено, что два образца (0,86%, 2/234), полученные от пациентов с 3-й стадией заболевания, 1311000563 и 1311001125, относились к уникальным рекомбинантам (URFs) ВИЧ-1 и были образованы фрагментами ВИЧ-1 генетических вариантов A6 и B. Данные последовательности были исключены из дальнейшего филогенетического анализа.

По результатам филогенетического анализа 6 (2,56%) нуклеотидных последовательностей (н.п.) были включены в кластер, образованный нуклеотидными последовательностями ВИЧ-1 субтипа G, 8 (3,42%) н.п. – циркулирующей рекомбинантной формы CRF63_02A6, 19 (8,12%) н.п. – субтипа B. Остальные 199 (85,04%) последовательностей образовали достоверный кластер с нуклеотидными последовательностями ВИЧ-1 суб-субтипа A6 (**рис. 2**).

При этом нуклеотидные последовательности, относящиеся к генетическим вариантам B и G, были получены от пациентов со всеми стадиями заболевания, тогда как последовательности, определенные как CRF63_02A6, – для пациентов с 3-й и 4-й стадиями заболевания. Также было выявлено, что две (1311001061 и 1311001117) из 234 исследуемых аминокислотных последовательностей, полученных от пациентов со 2-й стадией заболевания, имели делецию в 131-м положении аминокислотной последовательности. При этом обе последовательности относились к ВИЧ-1 субтипа B. Одна последовательность (1311001065), также B-субтипа, полученная от пациента с 3-й стадией ВИЧ-инфекции, содержала инсерцию 62insG.

Все полученные в ходе настоящего исследовании нуклеотидные последовательности гена *vif* ВИЧ-1 (234) были депонированы в международную базу данных генотипов GenBank со следующими номерами: PQ572780–PQ573013.

Консенсусные последовательности белка Vif были сформированы для вариантов ВИЧ-1 суб-субтипа A6, субтипа B и рекомбинантной формы CRF63_02A6 как наиболее часто встречающихся на территории Российской Федерации [26]. Общая консенсусная аминокислотная последовательность Vif суб-субтипа A6 была сформирована на основе 199 исследуемых последовательностей: субтипа B – 19, а CRF63_02A6 – 8 соответственно. Все сформированные консенсусные последовательности состояли из 192 аминокислотных остатков и не содержали ни инсерций, ни делеций. При этом в 8 аминокислотных последовательностях суб-субтипа A6, полученных от пациентов с 3-й и 4-й стадией заболевания, были обнаружены стоп-кодоны в различных позициях: наиболее часто (37,5%) – в 70-й позиции и в 25% в каждой из позиций: 21, 38 и 192.

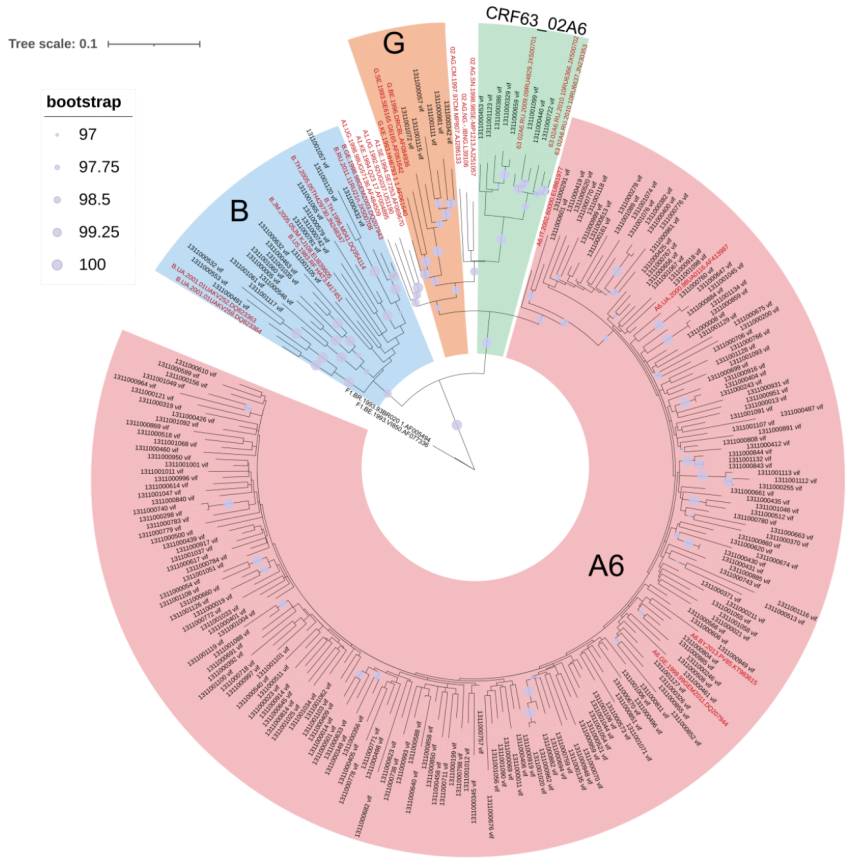


Рис. 2. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена *vif* ВИЧ-1 (n = 257, модель замещения нуклеотидов – GTR + I + G4).

Референсные последовательности выделены красным цветом, исследуемые – черным.

Fig. 2. Phylogenetic analysis of nucleotide sequences of the HIV-1 *vif* gene (n = 257, nucleotide substitution model – GTR + I + G4).

Reference sequences are highlighted in red, study sequences are highlighted in black.

Дополнительно проведенная оценка силы связи между исследуемыми признаками (наличие стоп-кодонов и стадия ВИЧ-инфекции) с применением критерия ϕ и V Крамера показала несущественную силу взаимосвязи.

Затем было проведено сравнение полученных консенсусных последовательностей. Результаты сравнения консенсусных последовательностей Vif ВИЧ-1 разных генетических вариантов представлены на **рис. 3**.

При сравнении консенсусных последовательностей вариантов ВИЧ-1, циркулирующих на территории Российской Федерации, были обнаружены различия у Vif ВИЧ-1 разных генетических вариантов, а также относительно референсной последовательности HXB2.

Принимая во внимание абсолютное доминирование ВИЧ-1 суб-субтипа A6 на территории России и в связи с тем, что репрезентативная выборка нуклеотидных последовательностей была получена только для суб-субтипа A6, в дальнейший анализ вошли только последовательности гена *vif* суб-субтипа A6 (всего 199 н.п., полученных от 199 пациентов с разной стадией заболевания): 35 н.п. – от пациентов со 2-й стадией (стадией начальных проявлений), 68 н.п. – с 3-й (субклинической стадией) и 96 – с 4-й (стадией вторичных проявлений) ВИЧ-инфекции.

При анализе консервативности белка Vif у пациентов с разными стадиями заболевания было выявлено, что консенсусные последовательности в каждой группе содержали преимущественно аминокислоты, аналогичные аминокислотам в общей консенсусной последовательности, однако с разной частотой выявления (**рис. 4**).

Оценка распределения позиций с различной степенью консервативности в белке Vif в разных группах (по стадиям заболевания) пациентов не выявила статистически значимых различий (**табл. 2**).

При оценке вариабельности Vif у пациентов с разными стадиями ВИЧ-инфекции выявлено 35 замен со статистически значимыми различиями (**табл. 3**). Однако с учетом множественного сравнения, реально статистически значимыми в данном случае различия становятся с учетом поправки Бонферрони, т.е. при уровне значимости $p < 0{,}0005$.

Таким образом, с учетом поправки по Бонферрони, не было выявлено ни одного сайта со статистически значимыми различиями в частоте встречаемости у пациентов с разными стадиями заболевания.

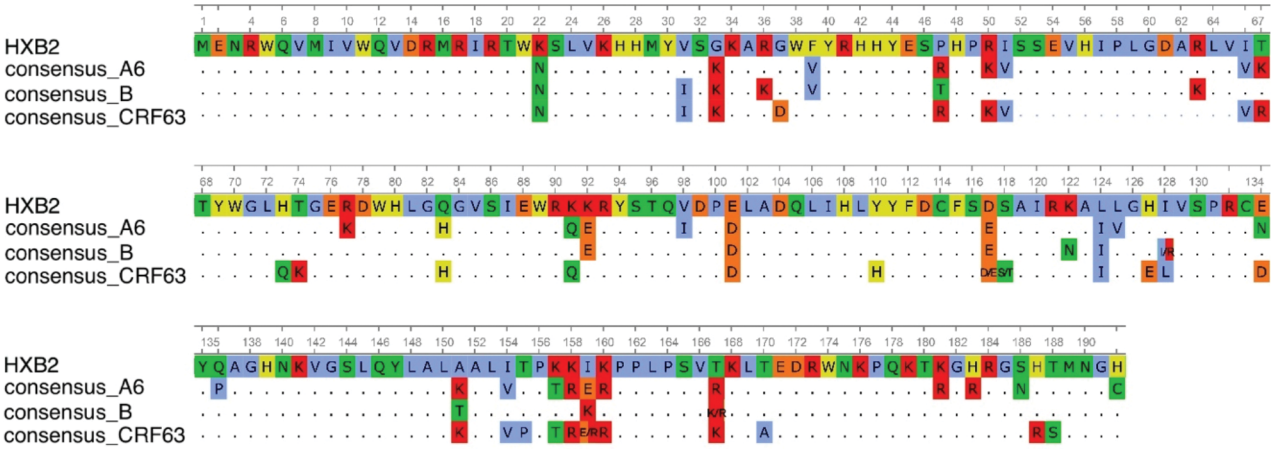


Рис. 3. Консенсусные последовательности Vif ВИЧ-1 генетических вариантов, наиболее часто встречающихся на территории России (суб-субтипа A6, субтипа B и рекомбинантной формы CRF63) выравненные относительно референс-штамма HXB2.

Точками обозначены позиции аминокислотных остатков (АК), в которых АК в консенсусах соответствовали референсу. Аминокислоты классифицированы на основе полярности радикалов. Неполярные аминокислоты: G (глицин), A (аланин), V (валин), L (лейцин), I (изолейцин), P (пролин), отмечены синим цветом; полярные незаряженные аминокислоты: S (серин), T (треонин), C (цистеин), M (метионин), N (аспарагин), Q (глутамин) – зеленым; ароматические аминокислоты: F (фенилаланин), Y (тирозин), W (триптофан), H (гистидин) – желтым; отрицательно заряженные аминокислоты: D (аспарагиновая кислота) и E (глутаминовая кислота) – оранжевым; положительно заряженные аминокислоты: K (лизин), R (аргинин) – красным [39, 40].

Fig. 3. Consensus sequences of Vif HIV-1 genetic variants most frequently encountered in Russia. The dots indicate amino acid residues (a.a.r.) positions in which the a.a.r. in the consensus corresponded to the reference.

Non-polar amino acids: G (glycine), A (alanine), V (valine), L (leucine), I (isoleucine), P (proline) – are marked in blue; polar uncharged amino acids: S (serine), T (threonine), C (cysteine), M (methionine), N (asparagine), Q (glutamine) – green; aromatic amino acids: F (phenylalanine), Y (tyrosine), W (tryptophan), H (histidine) – yellow; polar acidic, negatively charged, amino acids: D (aspartic acid) and E (glutamic acid) – orange; polar basic, positively charged amino acids: K (lysine), R (arginine) – in red [39, 40].

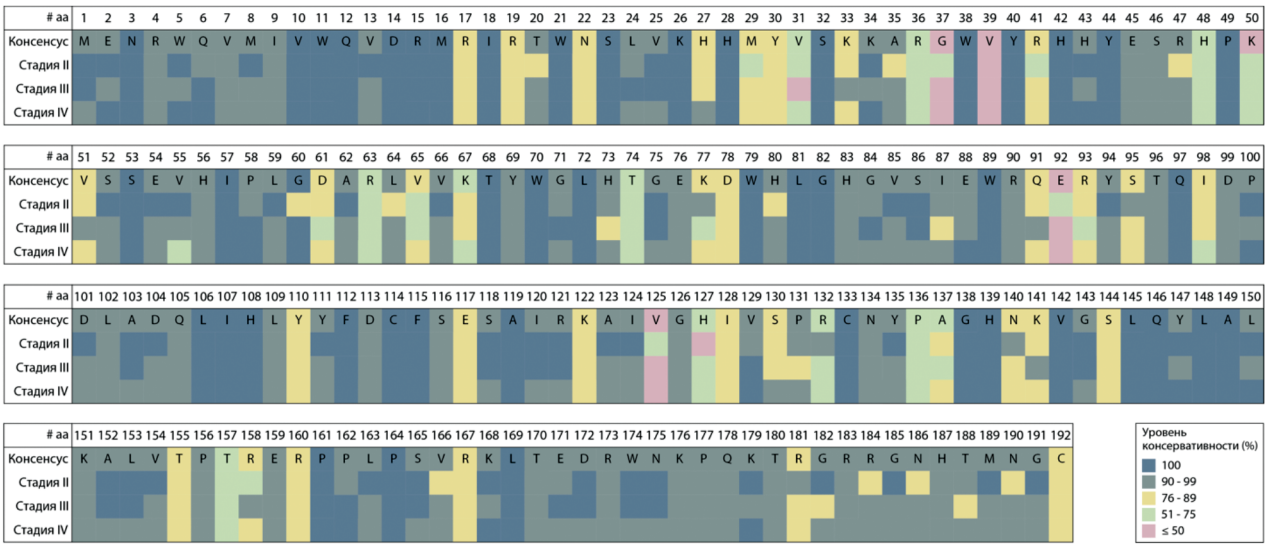


Рис. 4. Консервативность аминокислотных последовательностей белка Vif суб-субтипа A6 в группах пациентов с разными стадиями заболевания.

Аминокислоты в общем консенсусе обозначены однобуквенным кодом: A – аланин; C – цистеин; D – аспарагиновая кислота; E – глутаминовая кислота; F – фенилаланин; G – глицин; H – гистидин; I – изолейцин; K – лизин; L – лейцин; M – метионин; H – аспарагин; P – пролин; Q – глутамин; R – аргинин; S – серин; T – треонин; V – валин; W – триптофан; Y – тирозин.

Fig. 4. Conservation of amino acid sequences of the Vif sub-subtype A6 protein in groups of patients with different stages of the disease.

Amino acids are designated by a general consensus with a one-letter code: A, alanine; C, cysteine; D, aspartic acid; E, glutamic acid; F, phenylalanine; G, glycine; H, histidine; I, isoleucine; K, lysine; L, leucine; M, methionine; N, asparagine; P, proline; Q, glutamine; R, arginine; S, serine; T, threonine; V, valine; W, tryptophan; Y, tyrosine.

Таблица 2. Распределение консервативности позиций в белке Vif в группах пациентов с разными стадиями ВИЧ-инфекции
Table 2. Distribution of conserved positions in the Vif protein in groups of patients with different stages of HIV infection

Консервативность (%) Conserved positions (%)	Число сайтов (*n*) | Number of sites (*n*)			*p**		
	1-я стадия stage 1	2-я стадия stage 2	3-я стадия stage 2	p_{2-3}	p_{3-4}	p_{2-4}
100	92	70	88	0,0299	0,0778	0,7591
90–99	49	75	60	0,0062	0,1344	0,2576
76–89	34	28	28	0,4883	1,0000	0,4883
51–75	15	5	12	0,0363	0,1345	0,6905
≤ 50	2	14	4	0,0036	0,0271	0,6850

Примечание. * – указано значение *p* для разницы в показателе между группами (точный двусторонний тест Фишера с коррекцией множественного теста Бонферрони, $p = 0{,}0033$).

Note. * – indicates *p*-value for difference between groups is indicated (Fisher's exact two-tailed test with Bonferroni multiple test correction, $p = 0.0033$).

Сравнение генетического разнообразия белка Vif ВИЧ-1 суб-субтипа A6 в группе вариантов вирусов, циркулирующих в Московской области, и в референсной группе выявило 39 аминокислотных замен, имеющих разницу в частоте встречаемости ($p < 0{,}05$) (**табл. 4**).

С учетом поправки Бонферрони ($p < 0{,}0013$) частота встречаемости замен в 5 сайтах достоверно значимо различалась между группами.

Обсуждение

Применение современной антиретровирусной терапии для лечения ВИЧ-инфекции предотвращает клиническое прогрессирование заболевания, однако не приводит к устранению вирусных резервуаров, т.е. не позволяет элиминировать вирус, что определяет необходимость пожизненного приема антиретровирусных препаратов. Постоянный прием антиретровирусных препаратов, в свою очередь, со временем может приводить к появлению побочных эффектов лечения, формированию лекарственной устойчивости вируса и возникновению проблемы межлекарственных взаимодействий. В связи с этим в мире на постоянной основе ведется работа по созданию новых антиретровирусных препаратов, а также немалые усилия прикладывают к созданию средств полного излечения от ВИЧ-инфекции. В рамках этой работы конструируются также антогонисты белка Vif разного принципа действия: ингибиторы мультимеризации белка Vif, ингибиторы прямого связывания Vif с A3G, ингибиторы связывания Vif с Elongin C и ингибиторы связывания Vif с CBF-β [19, 41]. Кроме того, на основе белка Vif разрабатываются основы для создания терапевтических вакцин и генной терапии ВИЧ-инфекции. Так, эксперименты, проведенные *in vitro*, продемонстрировали, что мультиэпитопная конструкция, содержащая неструктурный белок Vif, имела высокую эффективность проникновения в клетки [42]. Разрабатываются лентивирусные векторы для генной терапии ВИЧ-инфекции, кодирующие A3G, устойчивые к действию белка Vif [43]. В настоящем исследовании впервые изучались особенности белка Vif у вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в России.

Результаты распределения генетических вариантов ВИЧ-1 в настоящем исследовании и в ранее проведенном масштабном исследовании генетического разнообразия ВИЧ-1 на территории Российской Федерации хорошо коррелируют между собой: суб-субтип A6 – 85,04%, субтип B – 8,12%, CRF63_02A6 – 3,42% и суб-субтип A6 – 82.9%, субтип B – 7,14%, CRF63_02A6 – 3,59% соответственно. Однако в настоящем исследовании 2,56% последовательностей были генотипированы как субтип G, тогда как, по результатам более масштабного исследования, на долю субтипа G приходилось менее 1% от проанализированных образцов [26]. Такое несовпадение может быть объяснено тем, что часть последовательностей, которые в настоящем исследовании по гену *vif* были определены как субтип G, на самом деле могут являться циркулирующими рекомбинантными формами или уникальными рекомбинантами. Например, некоторые варианты ВИЧ-1, первоначально генотипированные по гену *pol* как субтип G, затем методом полногеномного секвенирования были определены как рекомбинантная форма BG [44].

По результатам проведенного исследования было установлено, что две последовательности, полученные от пациентов со 2-й стадией ВИЧ-инфекции, содержали делеции; одна последовательность, полученная от пациента с 3-й стадией ВИЧ-инфекции, содержала инсерцию (62insG). В 8 последовательностях, полученных от пациентов с 3-й (3 последовательности) и 4-й стадией (5 последовательностей) заболевания, были обнаружены стоп-кодоны в разных позициях. Чаще всего (в 37,5% аминокислотных последовательностей, содержащих стоп-кодоны) стоп-кодоны находились в 70-й позиции. В 25% последовательностей встречались стоп-кодоны в каждой из следующих позиций: 21, 38 и 192. Учитывая высокую частоту встречаемости стоп-кодонов в определенных позициях, можно сделать предположение о неслучайном механизме данного явления, которое связано с действием клеточного белка A3G [2, 4].

Сила связи наличия стоп-кодонов и стадии заболевания была несущественной. При этом в ряде исследований отмечается, что на фоне течения ВИЧ-инфекции количество дефектного провируса увеличива-

Таблица 3. Аминокислотные замены Vif-A6 со статистически значимыми различиями по частоте встречаемости в группах ВИЧ-инфицированных пациентов с разными стадиями заболевания

Table 3. Vif-A6 amino acid substitutions with statistically significant differences in frequency of occurrence in groups of HIV-infected patients with different stages of the disease

Позиция Position	Мутация Mutation	2-я стадия stage 2 n = 35	3-я стадия stage 3 n = 68	4-я стадия stage 4 n = 96	p*		
					$p_{2–3}$	$p_{2–4}$	$p_{3–4}$
24	L24I	2	0	3	0,047	–	–
29	M29I	8	10	9	–	0,042	–
31	V31I	7	28	21	0,032	–	0,008
31	V31H	2	0	0	0,047	0,018	–
33	K33G	2	0	1	0,047	–	–
35	A35V	2	0	0	0,047	0,018	–
41	**R41I**	2	1	0	–	0,018	–
48	**H48E**	0	8	4	0,035	–	–
50	K50R	23	31	43	–	0,034	–
51	V51I	4	2	11	–	–	0,047
60	**G60R**	3	0	3	0,014	–	–
60	**G60E**	2	0	4	0,047	–	–
61	**D61E**	3	18	12	0,033	–	0,023
61	**D61G**	2	0	0	0,047	0,018	–
63	**R63M**	2	0	2	0,047	–	–
65	V65I	6	14	5	–	0,029	0,002
77	**K77R**	2	16	10	0,024	–	0,024
122	K122Q	2	0	1	0,047	–	–
122	K122R	0	5	1	–	–	0,034
127	H127Q	17	20	22	–	0,004	–
130	S130R	2	11	3	–	–	0,003
131	P131H	1	3	0	–	–	0,038
132	R132S	1	11	7	0,046	–	–
136	P136S	6	18	13	–	–	0,037
137	A137E	2	7	1	–	–	0,007
141	K141Q	4	3	15	–	–	0,024
156	P156L	2	1	0	–	0,018	–
157	T157A	3	1	1	–	0,027	–
158	R158K	8	5	10	0,025	–	–
159	E159A	2	0	0	0,047	0,018	–
173	**R173K**	2	1	0	–	0,018	–
181	R181K	1	9	15	–	0,048	–
182	G182D	0	7	7	0,049	–	–
184	R184K	4	1	4	0,026	–	–
186	N186H	2	0	0	0,047	0,018	–

Примечание. Значения p-value представлены для всех позиций с $p < 0,05$; позиции с $p \geq 0,05$ отмечены знаком «–». Достоверно значимыми считали различия с p с поправкой Бонферрони ($p < 0,0005$). * – указано значение p для разницы в показателе между группами. Жирным шрифтом отмечены замены в функционально значимых областях (рис. 1).

Note. The *p-values* are presented for items with $p < 0.05$; items with $p \geq 0.05$ are marked with '–'. Differences with *p-value* with Bonferroni correction ($p < 0.0005$) were considered significantly significant. * – indicates p-value for difference between groups is indicated Substitutions in functionally significant areas are marked in bold (Figure 1).

Таблица 4. Сравнение генетического разнообразия Vif-A6 ВИЧ-1 в группе вариантов вируса, циркулирующих в Московской области, и референсной группе

Table 4. Comparing genetic diversity of Vif-A6 HIV-1 between the group of virus variants circulating in the Moscow region and the reference group

Позиция Position	Мутация Mutation	Московская область Moscow region (n = 199)	Референсная группа Reference group (n = 166)	p
9	I9V	10	2	0,042
17	R17X	1	9	0,004
19	R19K	21	6	0,012
20	T20X	1	18	**0,000009**
27	H27Y	19	6	0,023
31	V31N	5	0	0,04
31	V31X	7	16	0,017
33	K33R	17	5	0,027
41	R41X	2	10	0,007
45	E45D	13	3	0,028
51	V51G	0	4	0,028
56	H56X	0	4	0,028
61	D61X	2	7	0,049
65	V65X	2	11	0,004
67	K67I	9	1	0,022
73	H73Q	17	36	**0,0004**
74	T74X	1	13	**0,0003**
77	K77R	28	12	0,037
78	D78A	8	1	0,036
93	R93K	21	5	0,005
93	R93M	0	5	0,014
93	R93X	0	11	**0,0002**
98	I98X	5	12	0,033
113	D113N	5	0	0,04
128	I128X	0	5	0,014
140	N140X	2	11	0,004
141	K141X	0	5	0,014
153	L153I	1	14	**0,0001**
155	T155X	2	9	0,014
157	T157A	5	0	0,04
158	R158K	23	8	0,021
158	R158X	1	7	0,016
160	R160X	0	5	0,014
167	R167X	2	10	0,007
176	K176X	0	4	0,028
181	R181X	2	9	0,014
185	G185X	0	6	0,007
188	T188S	6	0	0,024
192	C192R	8	1	0,036

Примечание. X – аминокислота не определена. Значения p представлены для позиций с $p < 0,05$. Достоверно значимыми считали различия p с поправкой Бонферрони ($p < 0,0013$) – выделены жирным шрифтом.

Note. X – amino acid is not defined. *p-values* are given for the positions with $p < 0.05$. In bold: significant in the χ^2 test with Bonferroni correction $p < 0.0013$.

ется, а его доля может составлять порядка 90% всего резервуара ВИЧ [45, 46].

Однако существующие ограничения исследования, такие как относительно небольшой объем выборки и отсутствие наличия сиквенсов от одного и того же пациента в динамике, а также индивидуальные особенности течения болезни у каждого конкретного человека не дают нам возможности говорить о каких-либо тенденциях относительно стоп-кодонов в последовательностях Vif. Для белков Rev и Tat неоднократно отмечалась возможность наличия преждевременных стоп-кодонов с сохранением функциональной активности белков, тогда как для белка Vif к настоящему моменту таких данных нет, поэтому оценить функциональную значимость каждой позиции стоп-кодона так же пока не представляется возможным [47, 48].

При сравнении консенсусов циркулирующих в России вариантов ВИЧ-1 было обнаружено, что консенсусная последовательность белка Vif суб-субтипа A6 отличалась от референсной последовательности HXB2 в 30 позициях, субтипа B – в 16 позициях, рекомбинантной формы CRF63_02A6 – в 32 позициях. Наибольшее количество замен, 2 и более, консенсусы белка Vif циркулирующих в России вариантов ВИЧ-1 относительно HXB2 содержали в позициях: 47, 128, 134, 151, 159 и 167. При этом между собой консенсусы белка Vif циркулирующих в России вариантов ВИЧ-1 также отличались: от консенсуса суб-субтипа A6 консенсус субтипа B отличался в 28 из 192 позиций (на 14,6%), а консенсус рекомбинантной формы CRF63_02A6 – в 25 из 192 позиций (на 13%). Кроме того, следует отметить, что циркулирующая рекомбинантная форма CRF63_02A6 представляет собой вторичный рекомбинант, образованный ВИЧ-1 суб-субтипа A6 и CRF02_A6G, а ген *vif* является областью рекомбинации с включением фрагментов обоих вариантов вируса (https://www.hiv.lanl.gov/components/sequence/HIV/crfdb/crfs.comp).

Важно отметить, что консенсусы вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в России, в 7 функционально значимых позициях отличались от референс-штамма HXB2 и содержали следующие замены: K22N, F39V, R63K, T74K, R77K, K91Q, K92E (рис. 1). Замены аргинина (R) на лизин (K) в 63-й и 77-й позиции не приводят к изменению типа аминокислоты в анализируемой позиции, т.е. аминокислота остается положительно заряженной, тогда как замены K22N, F39V, T74K, K91Q, K92E приводят к изменению типа аминокислоты (рис. 1), что может повлиять на изменение функциональных свойства белка. Так, ранее было показано, что наличие положительного заряда в функционально значимом мотиве, в который входит K22, важен для связывания и инактивации A3G [49]. Таким образом, замена лизина (K) – положительно заряженной аминокислоты в 22-м положении, на аспарагин (N) – полярную незаряженную аминокислоту, может привести к снижению положительного заряда, что, в свою очередь, может повлиять на связывание и инактивацию A3G.

Оценка распределения консервативности позиций в белке Vif не выявила достоверной разницы между группами пациентов с разными стадиями заболевания (табл. 3), что согласуется с результатами аналогичных исследований для белка Vpu [29].

По результатам исследования вариабельности Vif у пациентов с разными стадиями ВИЧ-инфекции не было выявлено замен со статистически значимыми различиями в частоте встречаемости (табл. 3), что отличает результаты этого исследования от результатов изучения других неструктурных белков – Tat и Vpu [28, 29]. Анализ замен в области функционально значимых областей белка Vif (табл. 3) у пациентов с разными стадиями заболевания не позволяет также выявить какую-либо тенденцию в частоте их встречаемости. В ранее проведенном исследовании генетического разнообразия белка Vif ВИЧ-1 субтипа B было показано, что у пациентов, инфицированных вариантами вируса, содержащими замену K22H, отмечалась тенденция к более низкому уровню CD4-клеток и более высокой ВН [18]. В настоящем исследовании разницы в частоте встречаемости ($p < 0,05$) замены K22H у пациентов с разными стадиями заболевания обнаружено не было.

Характерных замен, достоверно чаще встречающихся у вариантов ВИЧ-1 суб-субтипа A6, циркулирующих в Московской области, обнаружено не было, при этом частота встречаемости замен в 5 сайтах (T20X, H73Q, T74X, R93X, L153I) в референсной группе была достоверно выше (табл. 4). Аналогичное исследование генетического разнообразия белка Vif субтипа C в Уганде, Южной Африке и Индии позволило выявить специфичные аминокислотные замены, характерные для исследуемых географических регионов [50]. Полученные нами результаты могут быть связаны с особенностью исследуемого региона. Так, Московский столичный регион (включающий в себя Москву и Московскую область) представляет собой крупнейший транспортный узел в России, что обуславливает пересечение крупных миграционных потоков, в свою очередь приводящих к постоянной циркуляции и смене вариантов ВИЧ-1 суб-субтипа A6 из различных регионов нашей страны, а также стран бывшего Советского Союза. Все это может препятствовать формированию каких-либо выраженных особенностей циркулирующих вариантов ВИЧ-1 суб-субтипа A6 на территории Московской области [51].

Заключение

В проведенном исследовании был впервые проведен комплексный анализ особенностей белка Vif вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в России, в Московской области. Состав генетических вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в Московской области, определенный по гену *vif*, преимущественно коррелировал с составом генетических вариантов ВИЧ-1, циркулирующих на территории Российской Федерации в целом. При проведении исследования впервые получены и представлены консенсусные последовательности белка Vif ВИЧ-1 генетических вариантов B и CRF63_02A6, циркулирующих в России. Определены аминокислотные замены в функционально значимых позициях белка Vif, характерные для вариантов ВИЧ-1, наиболее распространенных в России; данные замены потенциально могут оказать влияние на изменение свойств белка и в будущем могут быть учтены при разработке терапевтических препаратов на основе белка Vif. Сравнение консервативности и генетической вариабельности белка Vif-A6 у пациентов с разными стадиями ВИЧ-инфекции не выявило достоверно значимых различий. При этом были определены позиции, содержащие делеции, инсерции и стоп-кодоны в области генома ВИЧ-1, кодирующей белок Vif. В целом генетическое разнообразие белка Vif-A6 ВИЧ-1 вариантов вируса, циркулирующих в Московской области, было меньше, чем в общей популяции вариантов ВИЧ-1 суб-субтипа A6. Проведенное исследование имеет ограничение, связанное с небольшой выборкой последовательностей Vif ВИЧ-1 генетических варинтов – B и CRF63_02A6.

ЛИТЕРАТУРА

1. Rose K.M., Marin M., Kozak S.L., Kabat D. The viral infectivity factor (Vif) of HIV-1 unveiled. *Trends Mol. Med*. 2004; 10(6): 291–7. https://doi.org/10.1016/j.molmed.2004.04.008
2. Stupfler B., Verriez C., Gallois-Montbrun S., Marquet R., Paillart J.C. Degradation Independent inhibition of APOBEC3G by the HIV-1 Vif protein. *Viruses*. 2021; 13(4): 617. https://doi.org/10.3390/v13040617
3. Sheehy A.M., Gaddis N.C., Choi J.D., Malim M.H. Isolation of a human gene that inhibits HIV-1 infection and is suppressed by the viral Vif protein. *Nature*. 2002; 418(6898): 646–50. https://doi.org/10.1038/nature00939
4. Mangeat B., Turelli P., Caron G., Friedli M., Perrin L., Trono D. Broad antiretroviral defence by human APOBEC3G through lethal editing of nascent reverse transcripts. *Nature*. 2003; 424(6944): 99–103. https://doi.org/10.1038/nature01709
5. Hultquist J.F., Lengyel J.A., Refsland E.W., LaRue R.S., Lackey L., Brown W.L., et al. Human and rhesus APOBEC3D, APOBEC3F, APOBEC3G, and APOBEC3H demonstrate a conserved capacity to restrict Vif-Deficient HIV-1. *J. Virol*. 2011; 85(21): 11220–34. https://doi.org/10.1128/JVI.05238-11
6. Wang X., Abudu A., Son S., Dang Y., Venta P.J., Zheng Y.H. Analysis of human APOBEC3H haplotypes and anti-human immunodeficiency virus type 1 activity. *J. Virol*. 2011; 85(7): 3142–52. https://doi.org/10.1128/JVI.02049-10
7. Guo F., Cen S., Niu M., Yang Y., Gorelick R.J., Kleiman L. The interaction of APOBEC3G with human immunodeficiency virus type 1 nucleocapsid inhibits tRNA3Lys annealing to viral RNA. *J. Virol*. 2007;81(20):11322–31. https://doi.org/10.1128/JVI.00162-07
8. Xu W.K., Byun H., Dudley J.P. The role of APOBECs in viral replication. *Microorganisms*. 2020; 8(12): 1899. https://doi.org/10.3390/microorganisms8121899
9. Azimi F.C., Lee J.E. Structural perspectives on HIV-1 Vif and APOBEC3 restriction factor interactions. *Protein Sci*. 2020; 29(2): 391–406. https://doi.org/10.1002/pro.3729
10. Friedler A., Zakai N., Karni O., Friedler D., Gilon C., Loyter A. Identification of a nuclear transport inhibitory signal (NTIS) in the basic domain of HIV-1 Vif protein. *J. Mol. Biol*. 1999; 289(3): 431–7. https://doi.org/10.1006/jmbi.1999.2785
11. Takaori-Kondo A., Shindo K. HIV-1 Vif: a guardian of the virus that opens up a new era in the research field of restriction factors. *Front. Microbiol*. 2013; 4: 34. https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00034
12. Simon V., Zennou V., Murray D., Huang Y., Ho D.D., Bieniasz P.D. Natural variation in Vif: differential impact on APOBEC3G/3F and a potential role in HIV-1 diversification. *PLoS Pathog*. 2005; 1(1): e6. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0010006
13. Iwabu Y., Kinomoto M., Tatsumi M., Fujita H., Shimura M., Tanaka Y., et al. Differential anti-APOBEC3G activity of HIV-1 Vif pro-

teins derived from different subtypes. *J. Biol. Chem*. 2010; 285(46): 35350–8. https://doi.org/10.1074/jbc.M110.173286
14. Ronsard L., Raja R., Panwar V., Saini S., Mohankumar K., Sridharan S., et al. Genetic and functional characterization of HIV-1 Vif on APOBEC3G degradation: First report of emergence of B/C recombinants from North India. *Sci. Rep.* 2015; 5: 15438. https://doi.org/10.1038/srep15438
15. Громов К.Б., Лага В.Ю., Мурзакова А.В., Киреев Д.Е. Анализ полиморфизма неструктурных генов ВИЧ-1 Vif и Rev. В кн.: *Молекулярная диагностика – 2017: сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием*. М.; 2017: 455–6.
16. De Maio F.A., Rocco C.A., Aulicino P.C., Bologna R., Mangano A., Sen L. Effect of HIV-1 Vif variability on progression to pediatric AIDS and its association with APOBEC3G and CUL5 polymorphisms. *Infect. Genet. Evol*. 2011; 11(6): 1256–62. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.04.020
17. Bizinoto M.C., Yabe S., Leal É., Kishino H., Martins L. de O., de Lima M.L., et al. Codon pairs of the HIV-1 vif gene correlate with CD4+ T cell count. *BMC Infect. Dis*. 2013; 13: 173. https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-173
18. Villanova F., Barreiros M., Janini L.M., Diaz R.S., Leal É. Genetic diversity of HIV-1 gene Vif among treatment-naive Brazilians. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2017; 33(9): 952–9. https://doi.org/10.1089/AID.2016.0230
19. Bennett R.P., Salter J.D., Smith H.C. A new class of antiretroviral enabling innate immunity by protecting APOBEC3 from HIV Vif-dependent degradation. *Trends Mol. Med*. 2018; 24(5): 507–20. https://doi.org/10.1016/j.molmed.2018.03.004
20. Sharkey M., Sharova N., Mohammed I., Huff S.E., Kummetha I.R., Singh G., et al. HIV-1 escape from small-molecule antagonism of Vif. *mBio*. 2019; 10(1): e00144-19. https://doi.org/10.1128/mBio.00144-19
21. Duan S., Wang S., Song Y., Gao N., Meng L., Gai Y., et al. A novel HIV-1 inhibitor that blocks viral replication and rescues APOBEC3s by interrupting Vif/CBFβ interaction. *J. Biol. Chem.* 2020; 295(43): 14592–605. https://doi.org/10.1074/jbc.RA120.013404
22. Akbari E., Seyedinkhorasani M., Bolhassani A. Conserved multiepitope vaccine constructs: A potent HIV-1 therapeutic vaccine in clinical trials. *Braz. J. Infect. Dis*. 2023; 27(3): 102774. https://doi.org/10.1016/j.bjid.2023.102774
23. Guerra-Palomares S.E., Hernandez-Sanchez P.G., Esparza-Perez M.A., Arguello J.R., Noyola D.E., Garcia-Sepulveda C.A. Molecular characterization of Mexican HIV-1 Vif sequences. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2016; 32(3): 290–5. https://doi.org/10.1089/AID.2015.0290
24. Bbosa N., Kaleebu P., Ssemwanga D. HIV subtype diversity worldwide. *Curr. Opin. HIV AIDS*. 2019; 14(3): 153–60. https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000534
25. Williams M.E. HIV-1 Vif protein sequence variations in South African people living with HIV and their influence on Vif-APOBEC3G interaction. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 2024; 43(2): 325–38. https://doi.org/10.1007/s10096-023-04728-0
26. Антонова А.А., Кузнецова А.И., Ожмегова Е.Н., Лебедев А.В., Казеннова Е.В., Ким К.В. и др. Генетическое разнообразие ВИЧ-1 на современном этапе эпидемии в Российской Федерации: увеличение распространенности рекомбинантных форм. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2023; 15(3): 61–72. https://doi.org/10.22328/2077-9828-2023-15-3-61-72 https://elibrary.ru/tpwttn
27. Кузнецова А.И., Громов К.Б., Киреев Д.Е., Шлыкова А.В., Лопатухин А.Э., Казеннова Е.В. и др. Анализ особенностей белка Tat вируса иммунодефицита человека 1 типа суб-субтипа A6 (Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1). *Вопросы вирусологии*. 2021; 66(6): 452–63. https://doi.org/10.36233/0507-4088-83 https://elibrary.ru/cmzgyc
28. Kuznetsova A., Kim K., Tumanov A., Munchak I., Antonova A., Lebedev A., et al. Features of Tat protein in HIV-1 sub-subtype A6 variants circulating in the Moscow Region, Russia. *Viruses*. 2023; 15(11): 2212. https://doi.org/10.3390/v15112212 https://elibrary.ru/ucqyal
29. Антонова А.А., Лебедев А.В., Казеннова Е.В., Ким К.В., Ожмегова Е.Н., Туманов А.С. и др. Вариабельность белка VPU ВИЧ-1 суб-субтипа A6 у пациентов с различными стадиями ВИЧ-инфекции. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2024; 16(2): 40–50. https://doi.org/10.22328/2077- 9828-2024-16-2-40-50 https://elibrary.ru/lpjxqk
30. Lebedev A., Kim K., Ozhmegova E., Antonova A., Kazennova E., Tumanov A., et al. Rev protein diversity in HIV-1 group M clades. *Viruses*. 2024; 16(5): 759. https://doi.org/10.3390/v16050759
31. Антонова А.А., Лебедев А.В., Ожмегова Е.Н., Шлыкова А.В., Лаповок И.А., Кузнецова А.И. Вариабельность неструктурных белков у вариантов ВИЧ-1 суб-субтипа A6 (Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1, sub-subtype A6), циркулирующих в разных регионах Российской Федерации. *Вопросы вирусологии*. 2024; 69(5): 470–80. https://doi.org/10.36233/0507-4088-262 https://elibrary.ru/wbbkuq
32. Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic. Acids. Res.* 1988; 16(3): 1215. https://doi.org/10.1093/nar/16.3.1
33. Larsson A. AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics.* 2014; 30(22): 3276–8. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu531
34. Struck D., Lawyer G., Ternes A.M., Schmit J.C., Bercoff D.P. COMET: adaptive context-based modeling for ultrafast HIV-1 subtype identification. *Nucleic Acids Res.* 2014; 42(18): e144. https://doi.org/10.1093/nar/gku739
35. Schultz A.K., Bulla I., Abdou-Chekaraou M., Gordien E., Morgenstern B., Zoaulim F., et al. jpHMM: recombination analysis in viruses with circular genomes such as the hepatitis B virus. *Nucleic Acids Res*. 2012; 40: W193-8. https://doi.org/10.1093/nar/gks414.
36. Nguyen L.T., Schmidt H.A., von Haeseler A., Minh B.Q. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol. Biol. Evol*. 2015; 32(1): 268–74. https://doi.org/10.1093/molbev/msu300
37. Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat Methods*. 2012; 9(8): 772. https://doi.org/10.1038/nmeth.2109.
38. Letunic I., Bork P. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Res*. 2021; 49(W1): W293–6. https://doi.org/10.1093/nar/gkab301
39. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. *Биологическая химия.* М.: Медицина; 1998.
40. Lobanov M.Y., Pereyaslavets L.B., Likhachev I.V., Matkarimov B.T., Galzitskaya O.V. Is there an advantageous arrangement of aromatic residues in proteins? Statistical analysis of aromatic interactions in globular proteins. *Comput. Struct. Biotechnol. J*. 2021; 19: 5960–8. https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.10.036
41. Duan S., Wang S., Song Y., Gao N., Meng L., Gai Y., et al. A novel HIV-1 inhibitor that blocks viral replication and rescues APOBEC3s by interrupting vif/CBFβ interaction. *J. Biol. Chem.* 2020; 295(43): 14592–605. https://doi.org/10.1074/jbc.RA120.013404
42. Kardani K., Hashemi A., Bolhassani A. Comparison of HIV-1 Vif and Vpu accessory proteins for delivery of polyepitope constructs harboring Nef, Gp160 and P24 using various cell penetrating peptides. *PLoS One.* 2019; 14(10): e0223844. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223844
43. Delviks-Frankenberry K.A., Ackerman D., Timberlake N.D., Hamscher M., Nikolaitchik O.A., Hu W.S., et al. Development of Lentiviral Vectors for HIV-1 Gene Therapy with Vif-Resistant APOBEC3G. *Mol. Ther. Nucleic Acids*. 2019; 18: 1023–38. https://doi.org/10.1016/j.omtn.2019.10.024
44. Murzakova A., Kireev D., Baryshev P., Lopatukhin A., Serova E., Shemshura A., et al. Molecular epidemiology of HIV-1 subtype G in the Russian Federation. *Viruses.* 2019; 11(4): 348. https://doi.org/10.3390/v11040348
45. Бобкова М.Р. Дефектные провирусы ВИЧ: возможное участие в патогенезе ВИЧ-инфекции. *Вопросы вирусологии*. 2024; 69(5): 399–414. https://doi.org/10.36233/0507-4088-261 https://elibrary.ru/pselci
46. Веселова Е.И., Каминский Г.Д., Самойлова А.Г., Васильева И.А. Резервуар ВИЧ у больных ВИЧ-инфекцией. *Туберкулёз и болезни лёгких*. 2019; 97(5): 50–7. http://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-5-50-57 https://elibrary.ru/hfadpt
47. Jayaraman B., Fernandes J.D., Yang S., Smith C., Frankel A.D. Highly mutable linker regions regulate HIV-1 rev function and stability. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 5139. https://doi.org/10.1038/s41598-019-41582-7
48. Li L., Dahiya S., Kortagere S., Aiamkitsumrit B., Cunningham D., Pirrone V., et al. Impact of Tat genetic variation on HIV-1 disease. *Adv. Virol*. 2012; 2012: 123605. https://doi.org/10.1155/2012/123605

49. Chen G., He Z., Wang T., Xu R., Yu X.F. A patch of positively charged amino acids surrounding the human immunodeficiency virus type 1 Vif SLVx4Yx9Y motif influences its interaction with APOBEC3G. *J. Virol*. 2009; 83(17): 8674–82. https://doi.org/10.1128/JVI.00653-09
50. Williams ME. HIV-1 Vif protein sequence variations in South African people living with HIV and their influence on Vif-APOBEC3G interaction. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 2024; 43(2): 325–38. https://doi.org/10.1007/s10096-023-04728-0
51. Савченко-Бельский В.Ю., Мальцева М.В., Маслова А.П. Проблемы и перспективы развития транспортной системы Московской агломерации. *Транспортное дело России.* 2022; (1): 124–7. https://doi.org/10.52375/20728689_2022_1_124 https://elibrary.ru/cctqsp

REFERENCES

1. Rose K.M., Marin M., Kozak S.L., Kabat D. The viral infectivity factor (Vif) of HIV-1 unveiled. *Trends Mol. Med*. 2004; 10(6): 291–7. https://doi.org/10.1016/j.molmed.2004.04.008
2. Stupfler B., Verriez C., Gallois-Montbrun S., Marquet R., Paillart J.C. Degradation Independent inhibition of APOBEC3G by the HIV-1 Vif protein. *Viruses.* 2021; 13(4): 617. https://doi.org/10.3390/v13040617
3. Sheehy A.M., Gaddis N.C., Choi J.D., Malim M.H. Isolation of a human gene that inhibits HIV-1 infection and is suppressed by the viral Vif protein. *Nature*. 2002; 418(6898): 646–50. https://doi.org/10.1038/nature00939
4. Mangeat B., Turelli P., Caron G., Friedli M., Perrin L., Trono D. Broad antiretroviral defence by human APOBEC3G through lethal editing of nascent reverse transcripts. *Nature.* 2003; 424(6944): 99–103. https://doi.org/10.1038/nature01709
5. Hultquist J.F., Lengyel J.A., Refsland E.W., LaRue R.S., Lackey L., Brown W.L., et al. Human and rhesus APOBEC3D, APOBEC3F, APOBEC3G, and APOBEC3H demonstrate a conserved capacity to restrict Vif-Deficient HIV-1. *J. Virol.* 2011; 85(21): 11220–34. https://doi.org/10.1128/JVI.05238-11
6. Wang X., Abudu A., Son S., Dang Y., Venta P.J., Zheng Y.H. Analysis of human APOBEC3H haplotypes and anti-human immunodeficiency virus type 1 activity. *J. Virol*. 2011; 85(7): 3142–52. https://doi.org/10.1128/JVI.02049-10
7. Guo F., Cen S., Niu M., Yang Y., Gorelick R.J., Kleiman L. The interaction of APOBEC3G with human immunodeficiency virus type 1 nucleocapsid inhibits tRNA3Lys annealing to viral RNA. *J. Virol*. 2007;81(20):11322–31. https://doi.org/10.1128/JVI.00162-07
8. Xu W.K., Byun H., Dudley J.P. The role of APOBECs in viral replication. *Microorganisms*. 2020; 8(12): 1899. https://doi.org/10.3390/microorganisms8121899
9. Azimi F.C., Lee J.E. Structural perspectives on HIV-1 Vif and APOBEC3 restriction factor interactions. *Protein Sci*. 2020; 29(2): 391–406. https://doi.org/10.1002/pro.3729
10. Friedler A., Zakai N., Karni O., Friedler D., Gilon C., Loyter A. Identification of a nuclear transport inhibitory signal (NTIS) in the basic domain of HIV-1 Vif protein. *J. Mol. Biol*. 1999; 289(3): 431–7. https://doi.org/10.1006/jmbi.1999.2785
11. Takaori-Kondo A., Shindo K. HIV-1 Vif: a guardian of the virus that opens up a new era in the research field of restriction factors. *Front. Microbiol*. 2013; 4: 34. https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00034
12. Simon V., Zennou V., Murray D., Huang Y., Ho D.D., Bieniasz P.D. Natural variation in Vif: differential impact on APOBEC3G/3F and a potential role in HIV-1 diversification. *PLoS Pathog*. 2005; 1(1): e6. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0010006
13. Iwabu Y., Kinomoto M., Tatsumi M., Fujita H., Shimura M., Tanaka Y., et al. Differential anti-APOBEC3G activity of HIV-1 Vif proteins derived from different subtypes. *J. Biol. Chem*. 2010; 285(46): 35350–8. https://doi.org/10.1074/jbc.M110.173286
14. Ronsard L., Raja R., Panwar V., Saini S., Mohankumar K., Sridharan S., et al. Genetic and functional characterization of HIV-1 Vif on APOBEC3G degradation: First report of emergence of B/C recombinants from North India. *Sci. Rep.* 2015; 5: 15438. https://doi.org/10.1038/srep15438
15. Gromov K.B., Laga V.Y., Murzakova A.V., Kireev D.E. Analysis of polymorphism of non-structural HIV-1 Vif and Rev genes. In: *Molecular Diagnostics – 2017: Proceedings of the IX All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation [Molekulyarnaya diagnostika – 2017: sbornik trudov IKH Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem]*. Moscow; 2017: 455–6. (in Russian)
16. De Maio F.A., Rocco C.A., Aulicino P.C., Bologna R., Mangano A., Sen L. Effect of HIV-1 Vif variability on progression to pediatric AIDS and its association with APOBEC3G and CUL5 polymorphisms. *Infect. Genet. Evol*. 2011; 11(6): 1256–62. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.04.020
17. Bizinoto M.C., Yabe S., Leal É., Kishino H., Martins L. de O., de Lima M.L., et al. Codon pairs of the HIV-1 vif gene correlate with CD4+ T cell count. *BMC Infect. Dis*. 2013; 13: 173. https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-173
18. Villanova F., Barreiros M., Janini L.M., Diaz R.S., Leal É. Genetic diversity of HIV-1 gene Vif among treatment-naive Brazilians. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2017; 33(9): 952–9. https://doi.org/10.1089/AID.2016.0230
19. Bennett R.P., Salter J.D., Smith H.C. A new class of antiretroviral enabling innate immunity by protecting APOBEC3 from HIV Vif-dependent degradation. *Trends Mol. Med*. 2018; 24(5): 507–20. https://doi.org/10.1016/j.molmed.2018.03.004
20. Sharkey M., Sharova N., Mohammed I., Huff S.E., Kummetha I.R., Singh G., et al. HIV-1 escape from small-molecule antagonism of Vif. *mBio*. 2019; 10(1): e00144-19. https://doi.org/10.1128/mBio.00144-19
21. Duan S., Wang S., Song Y., Gao N., Meng L., Gai Y., et al. A novel HIV-1 inhibitor that blocks viral replication and rescues APOBEC3s by interrupting Vif/CBFβ interaction. *J. Biol. Chem.* 2020; 295(43): 14592–605. https://doi.org/10.1074/jbc.RA120.013404
22. Akbari E., Seyedinkhorasani M., Bolhassani A. Conserved multiepitope vaccine constructs: A potent HIV-1 therapeutic vaccine in clinical trials. *Braz. J. Infect. Dis*. 2023; 27(3): 102774. https://doi.org/10.1016/j.bjid.2023.102774
23. Guerra-Palomares S.E., Hernandez-Sanchez P.G., Esparza-Perez M.A., Arguello J.R., Noyola D.E., Garcia-Sepulveda C.A. Molecular characterization of Mexican HIV-1 Vif sequences. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2016; 32(3): 290–5. https://doi.org/10.1089/AID.2015.0290
24. Bbosa N., Kaleebu P., Ssemwanga D. HIV subtype diversity worldwide. *Curr. Opin. HIV AIDS*. 2019; 14(3): 153–60. https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000534
25. Williams M.E. HIV-1 Vif protein sequence variations in South African people living with HIV and their influence on Vif-APOBEC3G interaction. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 2024; 43(2): 325–38. https://doi.org/10.1007/s10096-023-04728-0
26. Antonova A.A., Kuznetsova A.I., Ozhmegova E.N., Lebedev A.V., Kazennova E.V., Kim K.V., et al. Genetic diversity of HIV-1 at the current stage of the epidemic in the Russian Federation: an increase in the prevalence of recombinant forms. *VICH-infektsiya i immunosupressii.* 2023; 15(3): 61–72. https://doi.org/10.22328/2077-9828-2023-15-3-61-72 https://elibrary.ru/tpwttn (in Russian)
27. Kuznetsova A.I., Gromov K.B., Kireev D.E., Shlykova A.V., Lopatukhin A.E., Kazennova E.V., et al. Analysis of Tat protein characteristics in human immunodeficiency virus type 1 sub-subtype A6 (Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1). *Voprosy virusologii*. 2021; 66(6): 452–63. https://doi.org/10.36233/0507-4088-83 https://elibrary.ru/cmzgyc (in Russian)
28. Kuznetsova A., Kim K., Tumanov A., Munchak I., Antonova A., Lebedev A., et al. Features of Tat protein in HIV-1 sub-subtype A6 variants circulating in the Moscow Region, Russia. *Viruses*. 2023; 15(11): 2212. https://doi.org/10.3390/v15112212 https://elibrary.ru/ucqyal
29. Antonova A.A., Lebedev A.V., Kazennova E.V., Kim K.V., Ozhmegova E.N., Tumanov A.S., et al. Variability of VPU protein in HIV-1 sub-subtype A6 in patients with different stages of HIV infection. *VICH-infektsiya i immunosupressii*. 2024; 16(2): 40–50. https://doi.org/10.22328/2077- 9828-2024-16-2-40-50 https://elibrary.ru/lpjxqk (in Russian)
30. Lebedev A., Kim K., Ozhmegova E., Antonova A., Kazennova E., Tumanov A., et al. Rev protein diversity in HIV-1 group M clades. *Viruses*. 2024; 16(5): 759. https://doi.org/10.3390/v16050759
31. Antonova A.A., Lebedev A.V., Ozhmegova E.N., Shlykova A.V., Lapavok I.A., Kuznetsova A.I. Variability of non-structural proteins in HIV-1 sub-subtype A6 (Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1, sub-subtype A6) variants

circulating in different regions of the Russian Federation. *Voprosy virusologii*. 2024; 69(5): 470–80. https://doi.org/10.36233/0507-4088-262 https://elibrary.ru/wbbkuq (in Russian)
32. Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic. Acids. Res*. 1988; 16(3): 1215. https://doi.org/10.1093/nar/16.3.1
33. Larsson A. AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics.* 2014; 30(22): 3276–8. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu531
34. Struck D., Lawyer G., Ternes A.M., Schmit J.C., Bercoff D.P. COMET: adaptive context-based modeling for ultrafast HIV-1 subtype identification. *Nucleic Acids Res.* 2014; 42(18): e144. https://doi.org/10.1093/nar/gku739
35. Schultz A.K., Bulla I., Abdou-Chekaraou M., Gordien E., Morgenstern B., Zoaulim F., et al. jpHMM: recombination analysis in viruses with circular genomes such as the hepatitis B virus. *Nucleic Acids Res*. 2012; 40: W193-8. https://doi.org/10.1093/nar/gks414.
36. Nguyen L.T., Schmidt H.A., von Haeseler A., Minh B.Q. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol. Biol. Evol*. 2015; 32(1): 268–74. https://doi.org/10.1093/molbev/msu300
37. Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat Methods*. 2012; 9(8): 772. https://doi.org/10.1038/nmeth.2109.
38. Letunic I., Bork P. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Res*. 2021; 49(W1): W293–6. https://doi.org/10.1093/nar/gkab301
39. Berezov T.T., Korovkin B.F. *Biological Chemistry [Biologicheskaya khimiya]*. Moscow: Meditsina; 1998 (in Russian)
40. Lobanov M.Y., Pereyaslavets L.B., Likhachev I.V., Matkarimov B.T., Galzitskaya O.V. Is there an advantageous arrangement of aromatic residues in proteins? Statistical analysis of aromatic interactions in globular proteins. *Comput. Struct. Biotechnol. J*. 2021; 19: 5960–8. https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.10.036
41. Duan S., Wang S., Song Y., Gao N., Meng L., Gai Y., et al. A novel HIV-1 inhibitor that blocks viral replication and rescues APOBEC3s by interrupting vif/CBFβ interaction. *J. Biol. Chem.* 2020; 295(43): 14592–605. https://doi.org/10.1074/jbc.RA120.013404
42. Kardani K., Hashemi A., Bolhassani A. Comparison of HIV-1 Vif and Vpu accessory proteins for delivery of polyepitope constructs harboring Nef, Gp160 and P24 using various cell penetrating peptides. *PLoS One.* 2019; 14(10): e0223844. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223844
43. Delviks-Frankenberry K.A., Ackerman D., Timberlake N.D., Hamscher M., Nikolaitchik O.A., Hu W.S., et al. Development of Lentiviral Vectors for HIV-1 Gene Therapy with Vif-Resistant APOBEC3G. *Mol. Ther. Nucleic Acids*. 2019; 18: 1023–38. https://doi.org/10.1016/j.omtn.2019.10.024
44. Murzakova A., Kireev D., Baryshev P., Lopatukhin A., Serova E., Shemshura A., et al. Molecular epidemiology of HIV-1 subtype G in the Russian Federation. *Viruses.* 2019; 11(4): 348. https://doi.org/10.3390/v11040348
45. Bobkova M.R. Defective HIV proviruses: possible involvement in the HIV infection pathogenesis. *Voprosy virusulogii.* 2024; 69(5): 399–414. https://doi.org/10.36233/0507-4088-261 https://elibrary.ru/pselci (in Russian)
46. Veselova E.I., Kaminskiy G.D., Samoylova A.G., Vasilyeva I.A. HIV reservoir in HIV patients. *Tuberkulez i bolezni legkikh*. 2019; 97(5): 50–7. http://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-5-50-57 https://elibrary.ru/hfadpt (in Russian)
47. Jayaraman B., Fernandes J.D., Yang S., Smith C., Frankel A.D. Highly mutable linker regions regulate HIV-1 rev function and stability. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 5139. https://doi.org/10.1038/s41598-019-41582-7
48. Li L., Dahiya S., Kortagere S., Aiamkitsumrit B., Cunningham D., Pirrone V., et al. Impact of Tat genetic variation on HIV-1 disease. *Adv. Virol*. 2012; 2012: 123605. https://doi.org/10.1155/2012/123605
49. Chen G., He Z., Wang T., Xu R., Yu X.F. A patch of positively charged amino acids surrounding the human immunodeficiency virus type 1 Vif SLVx4Yx9Y motif influences its interaction with APOBEC3G. *J. Virol*. 2009; 83(17): 8674–82. https://doi.org/10.1128/JVI.00653-09
50. Williams ME. HIV-1 Vif protein sequence variations in South African people living with HIV and their influence on Vif-APOBEC3G interaction. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 2024; 43(2): 325–38. https://doi.org/10.1007/s10096-023-04728-0
51. Savchenko-Belsky V., Maltseva M., Maslova A. Problems and prospects of the development of the transport system of the Moscow agglomeration. *Transportnoe delo Rossii.* 2022; (1): 124–7. https://doi.org/10.52375/20728689_2022_1_124 https://elibrary.ru/cctqsp (in Russian)

Информация об авторах:

Антонова Анастасия Александровна – канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: anastaseika95@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-9180-9846

Протасова Лариса Анатольевна – лаборант-исследователь лаборатории вирусов лейкозов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: larisa.protasova.03@mail.ru; https://orcid.org/0009-0001-0430-1578

Ким Кристина Вячеславовна – младший научных сотрудник лаборатории вирусов лейкозов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: kimsya99@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-4150-2280

Мунчак Яна Михайловна – младший научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: yana_munchak@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-4792-8928

Меженская Екатерина Никитична – канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: belokopytova.01@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-3110-0843

Орлова-Морозова Елена Александровна – канд. мед. наук, заведующая амбулаторно-поликлиническим отделением ГБУЗ МО «Центр профилактики и борьбы со СПИД», Московская область, Котельники, Россия. E-mail: orlovamorozova@gmail.com;

https://orcid.org/0000-0003-2495-6501

Пронин Александр Юрьевич – канд. мед. наук, главный врач ГБУЗ МО «Центр профилактики и борьбы со СПИД», Московская область, Котельники, Россия. E-mail: alexanderp909@gmail.com; https://orcid.org/0000-0001-9268-4929

Прилипов Алексей Геннадьевич – д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной генетики Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: a_prilipov@mail.ru; https://orcid.org/0000-0001-8755-1419

Кузнецова Анна Игоревна✉ **–** заведующая лаборатории вирусов лейкозов, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи», Москва, Россия. E-mail: a-myznikova@list.ru;

https://orcid.org/0000-0001-5299-3081

Участие авторов: Антонова А.А. – анализ и интерпретация данных, подготовка текста, одобрение окончательного варианта статьи для публикации; Протасова Л.А. – анализ и интерпретация данных; Ким К.В. – проведение экспериментов; Мунчак Я.М. – проведение экспериментов; Меженская Е.Н. – анализ и интерпретация данных; Орлова-Морозова Е.А. – сбор данных; Пронин А.Ю. – сбор данных; Прилипов А.Г. – проведение экспериментов; Кузнецова А.И. – концепция и дизайн исследования, анализ и интерпретация данных, подготовка текста, одобрение окончательного варианта статьи для публикации.

Поступила 19.11.2024
Принята в печать 14.01.2025
Опубликована 30.04.2025

Information about the authors:

Anastasiia A. Antonova – PhD, Researcher, Laboratory of T-lymphotropic viruses, Ivanovsky Institute of virology, Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia. E-mail: aantonova1792@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-9180-9846

Larisa A. Protasova – research assistant, Laboratory of T-lymphotropic viruses, Ivanovsky Institute of virology, Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Russia. E-mail: larisa.protasova.03@mail.ru; https://orcid.org/0009-0001-0430-1578

Kristina V. Kim – junior researcher, Laboratory of T-lymphotropic viruses, Ivanovsky Institute of virology, Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia. E-mail: kimsya99@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-4150-2280

Iana M. Munchak – junior researcher, Laboratory of T-lymphotropic viruses, Ivanovsky Institute of virology, Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia. E-mail: yana_munchak@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-4792-8928

Ekaterina N. Mezhenskaya – PhD, Researcher, Laboratory of T-lymphotropic viruses, Ivanovsky Institute of virology, Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia. E-mail: belokopytova.01@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-3110-0843

Elena A. Orlova-Morozova – PhD, Head of outpatient department, Center for the Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, Moscow region, Kotelniki, Russia. E-mail: orlovamorozova@gmail.com; https://orcid.org/0000-0003-2495-6501

Alexander Yu. Pronin – PhD, Chief Physician, Center for the Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, Moscow region, Kotelniki, Russia. E-mail: alexanderp909@gmail.com; https://orcid.org/0000-0001-9268-4929

Alexey G. Prilipov – Doctor of Biological Sciences, leading researcher, head of the laboratory of molecular genetics, Ivanovsky Institute of virology, Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia. E-mail: a_prilipov@mail.ru; https://orcid.org/0000-0001-8755-1419

Anna I. Kuznetsova✉ – head of laboratory of T-lymphotropic viruses, PhD, leading researcher, Ivanovsky Institute of virology, Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia. E-mail: a-myznikova@list.ru; https://orcid.org/0000-0001-5299-3081

Contribution: Antonova A.A. – analysis and interpretation of the data, preparing of the text, final approval of the article for publication; Protasova L.A. – analysis and interpretation of the data; Kim K.V. – conducting experiments; Munchak Ia.M. – conducting experiments; Mezhenskaya E.N. – analysis and interpretation of the data; Orlova-Morozova E.A. – data collection; Pronin A.Yu. – data collection; Prilipov A.G. – conducting experiments; Kuznetsova A.I. – the study concept and design, analysis and interpretation of the data, preparing of the text, final approval of the article for publication.

Received 19 November 2024
Accepted 14 January 2025
Published 30 April 2025

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-282
© СИМАКОВА Я.В., ГУЩИН В.А., СЕМЕНЕНКО Т.А., ОГАРКОВА Д.А., КЛЕЙМЕНОВ Д.А., НОЗДРАЧЕВА А.В., МАНУЙЛОВ В.А., ТКАЧУК А.П., ГИНЦБУРГ А.Л., 2025

Оценка популяционного иммунитета к кори, краснухе и эпидемическому паротиту в Москве на современном этапе

Симакова Я.В.[1], Гущин В.А.[1–3]✉, Семененко Т.А.[1,2], Огаркова Д.А.[1], Клейменов Д.А.[1], Ноздрачева А.В.[1], Мануйлов В.А.[1,4], Ткачук А.П.[5], Гинцбург А.Л.[1,2]

[1]ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи», 123098, г. Москва, Россия;
[2]ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), 119048, г. Москва, Россия;
[3]ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», 119234, г. Москва, Россия;
[4]ФГАОУ ВО «Новосибирский государственный университет», 630090, г. Новосибирск, Россия;
[5]ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных болезней» Минздрава России, 127994, г. Москва, Россия

Резюме
Введение. Проблема заболеваемости вакциноуправляемыми инфекциями на этапе их элиминации требует слежения за состоянием популяционного специфического иммунитета с помощью серологического мониторинга, являющегося компонентом системы эпидемиологического надзора.
Цель исследования. Изучить эпидемиологические особенности кори, краснухи и эпидемического паротита (ЭП) и оценить уровень их серопревалентности в последнее десятилетие в Москве.
Материалы и методы. Для проведения ретроспективного анализа заболеваемости использовали формы федерального статистического наблюдения № 2, № 5 и № 6; данные государственных докладов «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в городе Москве»; официальные сведения ЕМИСС за 2012–2023 гг. Образцы сывороток крови (n = 7458) от условно здоровых лиц, стратифицированных по возрасту, изучены на наличие антител класса G (IgG) к вирусам кори, краснухи и ЭП методом иммуноферментного анализа. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программ Microsoft Excel и SPSS Statistics v. 27 (IBM).
Результаты. При анализе эпидемиологической ситуации в Москве с 2012 по 2023 г. установлено наличие разнонаправленных тенденций: волнообразного роста заболеваемости корью, стабилизации регистрации случаев краснухи на спорадическом уровне и неустойчивой заболеваемости ЭП с небольшим трендом в сторону увеличения. Определен высокий уровень антител IgG к вирусу краснухи, препятствующий распространению инфекции среди населения. Сформированный уровень популяционного иммунитета к ЭП не позволяет снизить заболеваемость до спорадических случаев. Наблюдаемый тренд роста заболеваемости корью в последнее десятилетие может быть объяснен накоплением неиммунных лиц среди населения.
Заключение. Возникшие сложности с достижением целевых уровней охвата вакцинацией во время пандемии COVID-19, а также значительная доля серонегативных лиц свидетельствуют о необходимости коррекции тактики вакцинопрофилактики и проведения мер по подчищающей и догоняющей иммунизации населения в отношении кори и эпидемического паротита, особенно в возрастных группах риска.

Ключевые слова: *эпидемический процесс; заболеваемость; корь; краснуха; эпидемический паротит; популяционный иммунитет*

Для цитирования: Симакова Я.В., Гущин В.А., Семененко Т.А., Огаркова Д.А., Клейменов Д.А., Ноздрачева А.В., Мануйлов В.А., Ткачук А.П., Гинцбург А.Л. Оценка популяционного иммунитета к кори, краснухе и эпидемическому паротиту в Москве на современном этапе. *Вопросы вирусологии*. 2025; 70(2): 133–146. DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-282 EDN: https://elibrary.ru/vhxaqq

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства здравоохранения РФ в рамках реализации государственного задания № 123031400022-0 «Изучение изменчивости SARS-CoV-2 в контексте биологических рисков снижения эффективности применяемых средств терапии и профилактики в ходе пандемии COVID-19» и государственного задания № 1023022600018-1-3.3.9;3.5.2 «Лабораторно-определяемые маркеры и их цифровая трансформация с целью прогнозирования напряженности популяционного иммунитета в отношении актуальных инфекций, в том числе COVID-19, для решения вопросов биобезопасности».
Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.
Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи (протокол № 17 от 16.11.2018).

ORIGINAL STUDY ARTICLE
DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-282

Characteristics of the epidemic process of measles, rubella and mumps in Moscow and assessment of their seroprevalence at the present stage

Yana V. Simakova[1], Vladimir A. Gushchin[1–3]✉, Tatiana A. Semenenko[1,2], Daria A. Ogarkova[1], Denis A. Kleymenov[1], Anna V. Nozdracheva[1], Victor A. Manuylov[1,4], Artem P. Tkachuk[5], Alexander L. Gintsburg[1,2]

[1]National Research Centre for Epidemiology and Microbiology Named After Honorary Academician N. F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, 123098, Moscow, Russia;
[2]I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 119048, Moscow, Russia;
[3]Lomonosov Moscow State University, 119234, Moscow, Russia;
[4]Novosibirsk State University, 630090, Novosibirsk, Russia;
[5]National Medical Research Center for Phthisiopulmonology and Infectious Diseases of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127994, Moscow, Russia

Abstract
Introduction. The problem of vaccine-preventable infections requires assessing the state of herd immunity through serological monitoring.
The aim. To study the epidemiological features of measles, rubella and mumps and to estimate their seroprevalence in the last decade in Moscow.
Materials and methods. Forms of federal statistical observation; State reports «On the state of sanitary and epidemiological well-being of the Moscow population»; official EMISS data for 2012–2023 were used to conduct a retrospective analysis of incidence. Blood serum samples (n = 7458) from healthy individuals stratified by age were tested for the presence of IgG antobodies to measles, rubella and mumps using the ELISA. Statistical data processing was performed using Microsoft Excel and SPSS Statistics v.27 (IBM).
Results. The analysis of epidemiological situation in Moscow in 2012–2023 revealed the presence of multidirectional trends: wave-like increase in the incidence of measles, stabilization of rubella cases registration and unstable incidence of mumps with an upward trend. A high prevalence of IgG antibodies to rubella virus was determined, preventing the spread of infection among the population. The formed level of herd immunity to mumps does not allow reducing the incidence to sporadic cases. The observed trend of increasing measles incidence can be explained by the accumulation of non-immune individuals among the population.
Conclusion. The significant proportion of seronegative individuals indicate the necessity to adjust vaccination prevention tactics and implement measures for mopping-up and catch-up immunization of the population against measles and mumps, especially in risk age groups.

Keywords: *epidemic process; morbidity; measles; rubella; mumps; population immunity*

For citation: Simakova Ya.V., Gushchin V.A., Semenenko T.A., Ogarkova D.A., Kleymenov D.A., Nozdracheva A.V., Manuylov V.A., Tkachuk A.P., Gintsburg A.L. Characteristics of the epidemic process of measles, rubella and mumps in Moscow and assessment of their seroprevalence at the present stage. *Problems of Virology* (*Voprosy Virusologii*). 2025; 70(2): 133–146. DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-282 EDN: https://elibrary.ru/vhxaqq

Funding. The study was funded by the Ministry of Health of the Russian Federation (Project No. 123031400022-0, titled Investigation of SARS-CoV-2 variability in relation to the biological risks associated with the reduced efficacy of therapy and prevention used during the COVID-19 pandemic and Project No. 1023022600018-1-3.3.9;3.5.2 Laboratory-determined markers and their digital transformation to predict the strength of population immunity in relation to current infections, including COVID-19, to address biosafety issues).
Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.
Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Local Ethics Committee of the National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya (protocol No. 17, November 16, 2018).

Введение

Мировой опыт борьбы с инфекционными заболеваниями показал, что иммунизация населения является одним из основных средств контроля эпидемического процесса многих инфекций. В частности, к ныне управляемым инфекциям относятся корь, краснуха и эпидемический паротит (ЭП), каждая из которых в довакцинальный период наносила значительный экономический ущерб и характеризовалась высокой летальностью. Провозглашенная Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) в 1974 г. расширенная программа иммунизации (РПИ) поставила своей

целью создание высокого охвата населения профилактическими прививками и внедрение системы эффективного эпидемиологического надзора в странах-участниках независимо от их географического положения или социально-экономического статуса[1]. За прошедшие 50 лет усилия по реализации РПИ спасли более 154 млн человек во всем мире и способствовали изменению глобального ландшафта здравоохранения[2].

После введения в Национальный календарь профилактических прививок России вакцинации против кори (1967 г.), паротита (1981 г.) и краснухи (1997 г.) заболеваемость населения этими инфекциями, а также смертность от них стали планомерно снижаться. Эти заболевания традиционно рассматриваются как вирусные инфекции с весьма схожим эпидемическим процессом и имеют ряд общих характеристик: воздушно-капельный механизм передачи; низкая устойчивость возбудителя в окружающей среде; протективный постинфекционный иммунитет; сходная тактика профилактики аттенуированными вакцинами и др. [1]. Европейское региональное бюро ВОЗ разработало и внедрило стратегическую программу по элиминации кори и краснухи к 2010 г., заключавшуюся в прерывании местного распространения инфекции вследствие высокого уровня популяционного иммунитета, при этом могут регистрироваться завозные случаи и ограниченные вспышки. Для реализации программы необходимым являлось достижение и устойчивое поддержание высокого уровня охвата вакцинацией двумя дозами вакцины против кори (> 95%) и по крайней мере одной дозой вакцины против краснухи[3].

Однако на фоне снижения числа случаев краснухи до единичных с 2011 г. стали регистрировать подъемы заболеваемости корью во многих странах мира, в том числе в Российской Федерации. Пролонгирование действия Программы ВОЗ по элиминации кори и краснухи до 2020 г.[4], а затем до 2030 г.[5] не внесло существенных изменений, и медико-социальная значимость этих инфекций, особенно кори, остается высокой [2–4]. В 2023 г. на территории Российской Федерации отмечался очередной циклический подъем заболеваемости корью. Зарегистрировано 13 083 случая кори, показатель заболеваемости составил 8,92 случая на 100 тыс. населения, что выше среднемноголетнего показателя (СМП) в 7 раз (СМП – 1,28 на 100 тыс. населения)[6]. Согласно информации ВОЗ, Россия заняла 3-е место в Европейском регионе по количеству выявленных случаев заболевания корью с июля 2023 г. по июнь 2024 г.[7]

Большинство работ, посвященных проблеме заболеваемости вакциноуправляемыми инфекциями на этапе их элиминации, сосредоточено на вопросах, касающихся изучения закономерностей развития эпидемического процесса, а также на анализе охвата населения профилактическими прививками по данным статистической отчетности. Недостаточная объективность оценки качества иммунопрофилактики только по документации может быть связана с несоблюдением «холодовой цепи» при транспортировке препарата, низкой эффективностью вакцин, нарушением схем иммунизации, увеличением числа отказов от прививок и др. [5, 6]. В связи с этим особую значимость в условиях гетерогенности прививаемого населения приобретает слежение за состоянием популяционного и индивидуального специфического иммунитета с помощью серологического мониторинга, являющегося компонентом подсистемы информационного обеспечения системы эпидемиологического надзора за вакцинопрофилактикой [7, 8].

В методических указаниях по организации и проведению серологического мониторинга состояния коллективного иммунитета к инфекциям, управляемым средствами специфической профилактики, для оценки эффективности проведенных прививочных мероприятий рассматриваются индикаторные группы населения[8], однако на современном этапе возникает необходимость обследования более широких слоев населения, в ряде случаев – без сведений о прививочном анамнезе, поскольку не все (особенно взрослые лица) имеют прививочные паспорта, где достоверно отражены эти данные.

Цель исследования – изучение эпидемиологических особенностей кори, краснухи и ЭП и оценка уровня их серопревалентности в последнее десятилетие на примере крупного мегаполиса – города Москвы.

[1]50th anniversary of the Expanded Programme on Immunization (EPI); 2024. Доступно по: https://who.int/news-room/events/detail/2024/01/01/default-calendar/50th-anniversary-of-the-expanded-programme-on-immunization-(epi)

[2]Global immunization efforts have saved at least 154 million lives over the past 50 years; 2024. Доступно по: https://www.unicef.org/eca/press-releases/global-immunization-efforts-have-saved-least-154-million-lives-over-past-50-years

[3]Eliminating measles and rubella and preventing congenital rubella infection. WHO European Region strategic plan, 2005–2010. Доступно по: https://who-sandbox.squiz.cloud/__data/assets/pdf_file/0008/79028/E87772.pdf

[4]WHO. European Vaccine Action Plan 2015–2020. Copenhagen; 2014. Доступно по: https://apps.who.int/iris/handle/10665/340400

[5]WHO. The European Immunization Agenda 2030. Copenhagen; 2021. Доступно по: https://who.int/europe/initiatives/the-european-immunization-agenda-2030

[6]Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2023 году». М.; 2024.

[7]WHO. Measles and rubella monthly update – WHO European Region – July 2024; 2024. Доступно по: https://who.int/europe/publications/m/item/measles-and-rubella-monthly-update---who-european-region---july-2024

[8]МУ 3.1.2943–11. Организация и проведение серологического мониторинга состояния коллективного иммунитета к инфекциям, управляемым средствами специфической профилактики (дифтерия, столбняк, коклюш, корь, краснуха). М.; 2011.

Материалы и методы

Материалом для ретроспективного анализа заболеваемости послужили формы федерального государственного статистического наблюдения № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», № 5 «Сведения о профилактических прививках», № 6 «Сведения о контингентах детей и взрослых, привитых против инфекционных заболеваний», данные государственных докладов «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации» и «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в городе Москве», а также официальные данные Единой межведомственной информационно-статистической системы (ЕМИСС) за 2012–2023 гг.

С целью оценки популяционного иммунитета к различным инфекциям в России были организованы исследования с формированием банка, содержащего 28 395 образцов сывороток крови, собранных от условно здорового населения без ограничения по возрасту в период с 2018 г. по начало 2020 г. Исследование проводилось в соответствии с принципами Хельсинкской декларации. Все участники (доноры образцов сывороток крови) дали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено Независимым междисциплинарным Комитетом по этической экспертизе клинических исследований (Москва, Россия) (разрешение № 17 от 16.11.2018). В настоящей работе описываются только данные, полученные при исследовании 7458 образцов сывороток крови, полученных в 2019 г. от условно здоровых доноров, проживающих на территории Москвы и Московской области, на наличие специфических антител класса G (IgG) к вирусам кори, краснухи и паротита. При оценке уровня популяционного иммунитета обследуемые лица были стратифицированы в возрастные группы: 0–1 год, 2 года – 5 лет, 6–10 лет и далее с шагом в 5 лет до 60 лет, 60–70 лет и старше 71 года. Исследование было организовано и проведено в соответствии с методическими указаниями по организации и проведению серологического мониторинга состояния коллективного иммунитета к инфекциям, управляемым средствами специфической профилактики[8]. Информация о прививочном статусе и анамнезе заболевания изучаемыми инфекциями была получена при анкетировании добровольцев. Образцы сывороток крови изучали методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием отечественных тест-систем «ВектоКорь-IgG», «ВектоРубелла-IgG», «ВектоПаротит-IgG» («Вектор-Бест», Россия), следуя инструкциям фирмы-изготовителя. Согласно инструкции по использованию тест-систем, в качестве положительных результатов учитывали следующие показатели уровня IgG в сыворотке крови: для кори ≥ 0,18 МЕ/мл, для краснухи ≥ 10 МЕ/мл, для паротита ≥ 29,27 УЕ/мл.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программ Microsoft Excel и SPSS Statistics v. 27 (IBM, США). Для эпидемиологического анализа использовали абсолютные и относительные показатели заболеваемости с построением доверительных интервалов по методу Уилсона. Для проверки значимости различий результатов между группами обследованных лиц использовали критерий χ^2 с поправкой Йетса при наличии соответствующих критериев. Коэффициент ассоциации (Ka) использовался для анализа взаимодействия между бинарными показателями. Для анализа взаимодействия более двух параметров друг с другом были построены модели логистической регрессии. Для анализа качества модели применяли коэффициент детерминации R^2 Найджелкерка.

Результаты

Ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости корью в Москве на фоне высокого охвата вакцинацией свидетельствует о разной интенсивности эпидемического процесса, который характеризовался периодическими подъемами и спадами: В годы подъема – в 2018, 2019 и 2023 гг. – показатель заболеваемости корью у взрослых достигал 4,4, 8,0 и 9,5 на 100 тыс. населения соответственно; в годы спада – в 2016, 2021 и 2022 гг. – показатель снижался до 0,1, 0 и 0,1 на 100 тыс. населения (**рис. 1**). Среди детского населения разброс показателей был еще более значительным: 21,2, 24,5 и 54,9 на 100 тыс. населения в годы подъема и 0,3, 0 и 0,3 на 100 тыс. населения в годы спада соответственно (рис. 1). В обеих когортах наблюдался возрастающий тренд заболеваемости, который был подтвержден ее пиком в марте 2024 г.

В связи с пандемией COVID-19 в Москве был задействован широкий комплекс мер неспецифической профилактики, а также противоэпидемических мероприятий, большинство из которых направлено на прерывание аэрозольного и контактного механизмов передачи инфекции [9–11]. Учитывая общность указанных механизмов передачи для многих заболеваний, можно констатировать, что проведение ограничительных и карантинных мероприятий положительным образом отразилось на снижении распространенности всех воздушно-капельных инфекций. Однако регистрируемый спад заболеваемости корью в 2020–2021 гг. не является показательным и с большой долей вероятности не отражает истинных характеристик эпидемического процесса, поскольку в период пандемии отмечена гиподиагностика инфекционных заболеваний, связанная с перегруженностью системы здравоохранения.

В Москве 2023 г. характеризовался ростом показателей заболеваемости корью как среди детского (54,9 на 100 тыс. населения), так и взрослого населения (9,5 на 100 тыс. населения), и риск заболеть коревой инфекцией у детей был выше, чем у взрослых в 5,5 раза (рис. 1). По всей видимости, такой «всплеск» заболеваемости корью связан с отменой карантинных мероприятий, накоплением невакцинированных лиц из-за снижения активности работы прививочных кампаний в период пандемии, необоснованных медицинских отводов, а также большим наплывом трудовых мигрантов из стран ближнего

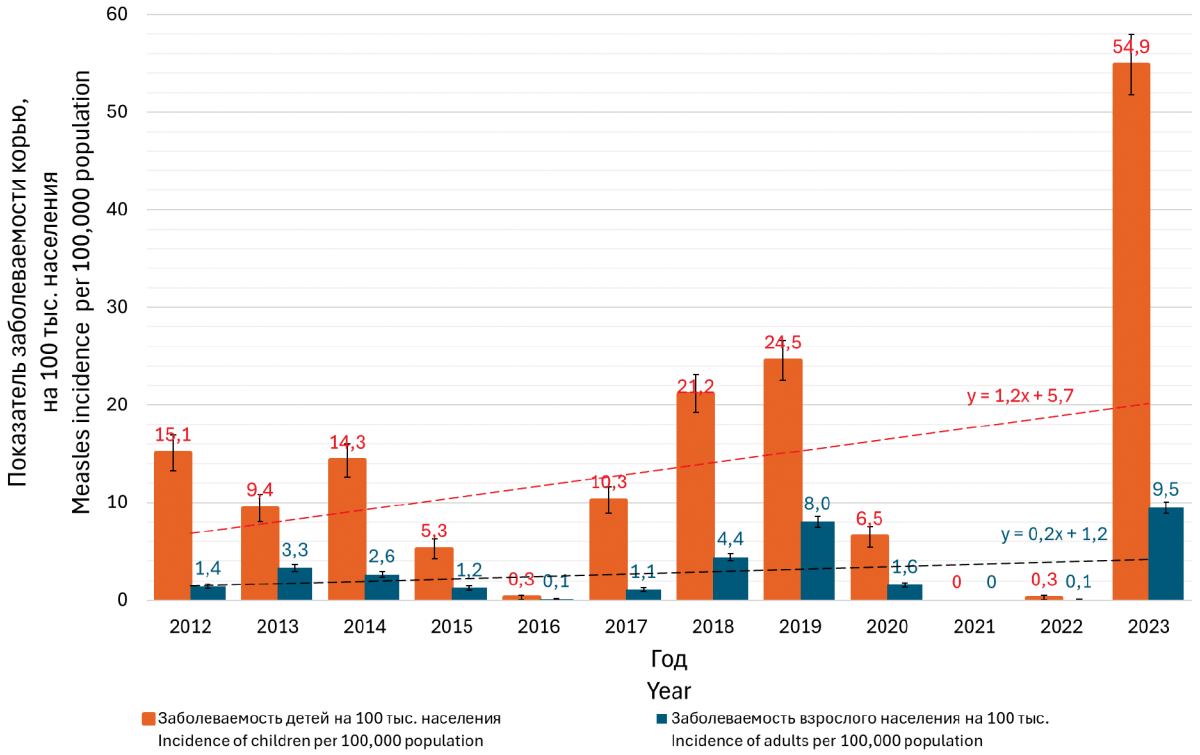


Рис. 1. Показатели заболеваемость корью (на 100 тыс. населения) в Москве в период с 2012 по 2023 г. среди взрослых и детей. Красная пунктирная линия отображает тренд среди детского населения, а черная пунктирная линия – тренд заболеваемости взрослых.

Fig. 1. Measles incidence rates (per 100,000 population) in Moscow in 2012–2023 among adults and children. The red dotted line shows the trend in incidence among the child population, and the black dotted line shows the trend in incidence among adults.

зарубежья с неизвестным прививочным анамнезом[9]. Кроме того, на фоне пандемии COVID-19 произошла активизация антивакцинальных настроений во всем мире, в том числе в России [4].

Возрастная структура заболевших корью детей и взрослых за изучаемый период была неоднородной. Так, в 2013 г. соотношение долей заболевших детей от 0 до 17 лет и взрослых составляло 34,3% против 65,7%, а в 2017 г. – 66,4% против 33,6% соответственно (**рис. 2**). В 2023 г. не установлено статистически значимых различий между удельным весом больных детей и взрослых (53,8 и 46,2%). Согласно данным официальной статистики, целевые показатели ВОЗ по охвату жителей страны профилактическими прививками в отношении кори успешно достигнуты и поддерживаются на уровне не менее 90% взрослого населения и 95% детского населения[6]. При этом заболеваемость корью определяется непривитыми лицами. Отмечено, что 92,5% заболевших (n = 2076) от всех зарегистрированных случаев кори либо не имели сведений о прививках, либо достоверно не были привиты в соответствии с национальным календарем профилактических прививок[9].

В отличие от кори, динамика заболеваемости краснухой в Москве до 2016 г. имела стойкую тенденцию к снижению, которую можно описать экспоненциальным трендом, а в последние годы показатель заболеваемости остается на одном уровне – 0,02 на 100 тыс. населения (**рис. 3**), что обусловлено совершенствованием эпидемиологического надзора и контроля за этой инфекцией. При этом, в связи с высоким уровнем заболеваемости краснухой в конце 1990-х – начале 2000-х гг., в популяции сохраняется доля населения, имеющего постинфекционный иммунитет, более выраженный и стойкий по сравнению с поствакцинальным [12]. Следует также учитывать, что для ограничения распространения краснухи достаточно более низкого уровня иммунитета, чем для кори, что связано с меньшим контагиозным числом для этой инфекции.

Заболеваемость ЭП в Москве носит устойчивый спорадический характер, однако в период пандемии, вызванной коронавирусной инфекцией, также было отмечено снижение числа зарегистрированных случаев инфекции, что могло быть вызвано недостаточным статистическим учетом заболевших. В 2023 г. в Москве отмечен подъем уровня заболеваемости ЭП (67 случаев; показатель 0,53 на 100 тыс. населения), что в 2,7 раза больше, чем в 2022 г. (25 случаев; показатель 0,20 на 100 тыс. населения) и в 2,9 раза больше, чем в 2021 г. (23 случая; показатель заболеваемости 0,18 на 100 тыс. населения)[9].

[9]Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в городе Москве в 2023 году». М.; 2024.

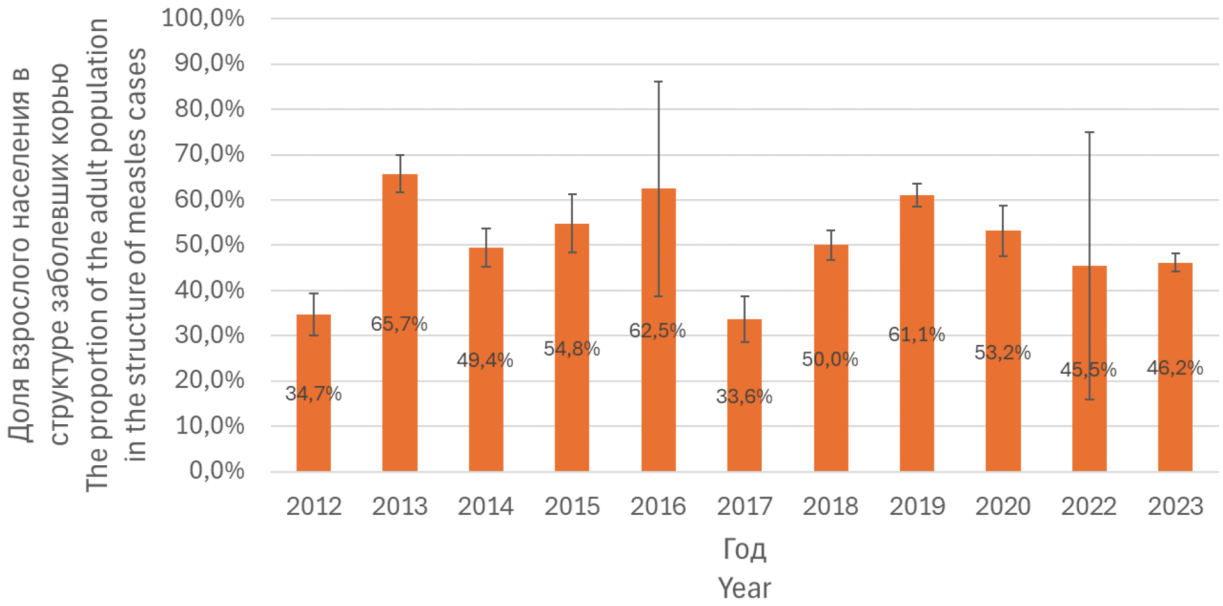


Рис. 2. Доли взрослых среди заболевших корью в г. Москве в 2012–2023 гг.

Fig. 2. Proportion of adults among measles patients in Moscow in 2012–2023.

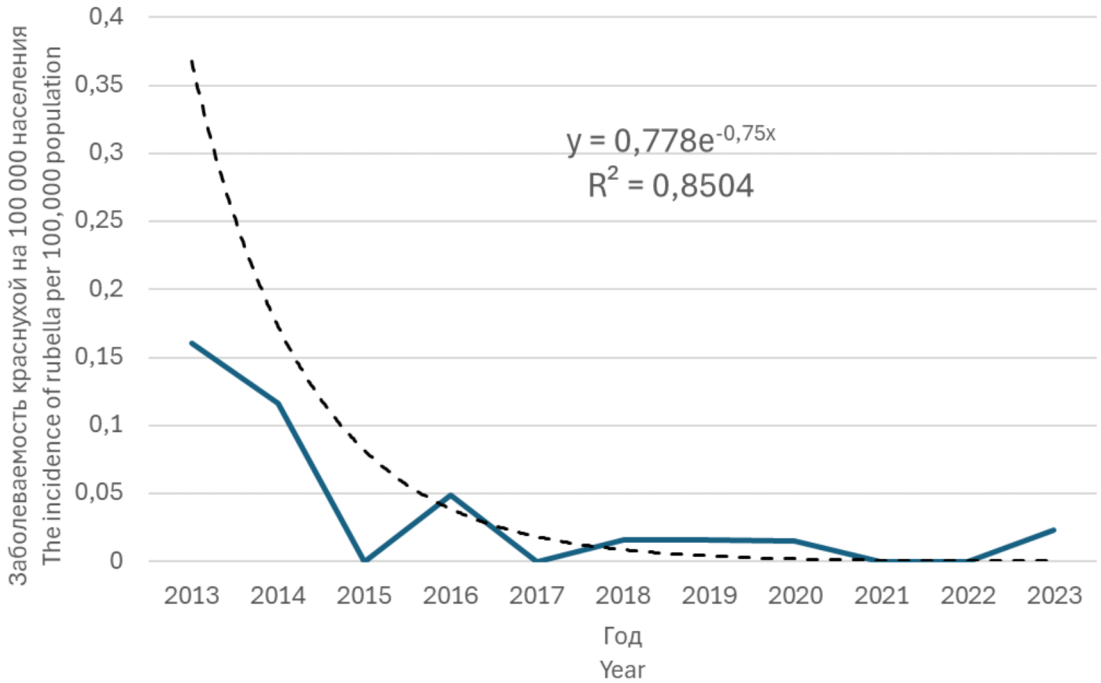


Рис. 3. Показатели заболеваемость краснухой (на 100 тыс. населения) в Москве в период с 2012 по 2023 г.
Черным пунктиром показана логарифмическая линия тренда.

Fig. 3. Rubella incidence rates (per 100,000 population) in Moscow in 2012–2023.
The black dotted line shows the logarithmic trend line.

Несмотря на значимость данных официальной статистики о заболеваемости и документированной иммунизации, они не дают ответа на основной вопрос: какова фактическая защищенность разных возрастных и социальных групп населения от той или иной инфекции? В связи с возможными нарушениями схем иммунизации, несоблюдением «холодовой цепи» при транспортировке и хранении вакцинных препаратов, наличием в популяции лиц, не способных к выработке полноценного иммунного ответа (нон-респондеры), и других причин [5, 7, 13–15], объективная оценка эффективности массовой вакцинации может быть получена только на основании данных серологического исследования. Динамическое слежение за состоянием иммунитета населения к инфекциям, управляемым средствами специфиче-

ской профилактики, позволяет своевременно установить признаки эпидемиологического неблагополучия, свидетельствующего о начавшейся активизации эпидемического процесса. Прогноз дальнейшего развития ситуации по каждой из наблюдаемых инфекций считается неудовлетворительным, если выявляется тенденция к увеличению доли серонегативных лиц и превышению допустимого уровня [8].

Для обеспечения популяционного иммунитета к кори, краснухе, ЭП, достаточного для предупреждения распространения инфекции среди населения, охват прививками населения на территории муниципального образования должен составлять:

– вакцинацией и ревакцинацией против кори, краснухи, ЭП детей в декретированных возрастах не менее 95%;

– вакцинацией против краснухи женщин в возрасте 18–25 лет не менее 90%;

– вакцинацией против кори взрослых в возрасте 18–35 лет не менее 90%;

– вакцинацией против кори лиц декретированных профессий 18–55 лет не менее 90%[10].

Актуальность популяционных исследований различных аспектов инфекционной патологии стала основанием для формирования паспортизированной коллекции образцов сывороток крови в НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи. Использование материалов банка сывороток крови позволяет проводить широкомасштабные научные исследования, которые в значительной мере расширяют представления об особенностях эпидемиологических процессов многих инфекций [16–19]. В рамках настоящего исследования проведено серологическое исследование более 7000 образцов сывороток крови, полученных в 2019 г. от условно здорового населения, проживающего на территории Москвы и Московской области, на наличие специфических антител к вирусам кори, краснухи и паротита. Выбор временно́й точки был обусловлен тем, что 2019 г. явился предшествующим началу пандемии коронавирусной инфекции, а также характеризовался максимальными показателями заболеваемости корью. При оценке уровня иммунитета обследуемые лица были стратифицированы в возрастные группы: 0–1 год, 2 года – 5 лет, 6–10 лет и далее с шагом в 5 лет до 60 лет, 60–70 лет и старше 71 года. Согласно анкетам, данные о наличии/отсутствии вакцинации указали 6829 человек (91,6%), а данные о наличии или отсутствии перенесенного заболевания известны для 6833 лиц (91,6%).

Ввиду того, что при проведении исследования для сбора вакцинального и инфекционного анамнеза использовали данные анкетирования, не всегда у обследованных лиц, имевших сведения о встрече с возбудителями кори, краснухи или ЭП, в серологических реакциях были выявлены соответствующие антитела (**рис. 4**). Наличие данных о серии вакцины и дате вакцинации, а также о диагнозе перенесенного заболевания и дате его постановки является достоверным подтверждением прививочного и инфекционного анамнеза. Однако не всегда медицинские документы с указанной информацией доступны для населения. Тем не менее сбор данных посредством анкетирования позволяет уточнить отношение анкетируемых к вакцинации и косвенным образом оценить охват вакцинацией дополнительно к данным официальной статистики.

Среди тех участников, которые сообщили о наличии вакцинации против кори в прошлом, имели антитела 72,1% (95% ДИ 70,58–73,59%), а среди тех, кто не отметил свой вакцинальный статус (т.е. не имел достоверной информации о нем или не пожелал ответить) – 63,5% (95% ДИ 61,88–65,1%). Анкетные данные в наибольшей степени соответствовали результатам серологических исследований в возрастной группе 16–20 лет. Так, 86,8% (95% ДИ 83,69–89,62%) добровольцев этой группы, указавших корь в анамнезе, имели антитела к возбудителю, а среди тех, кто не сообщил о заболевании, – только 65,7% (95% ДИ 64,53–66,86%). При этом в группе молодых лиц (в возрасте до 31 года) была выявлена умеренная корреляционная связь между вакцинальным анамнезом и наличием антител (Ka = 0,345, $p < 0,001$), а между наличием антител и сведениями о перенесенной инфекции выявлена слабая корреляционная связь (Ka = 0,224, $p < 0,001$). В группе лиц старше 31 года наблюдалась заметная связь между сведениями о перенесенной инфекции и наличием антител (Ka = 0,558, $p < 0,001$). Между вакцинальным анамнезом и наличием антител статистически значимой связи не обнаружено. Согласно модели логистической регрессии, такие параметры, как возраст, инфекционный и прививочный анамнез, объяснили только 9,1% данных о наличии антител (R^2 Найджелкерка = 0,091, $p < 0,001$). Данные о перенесенной инфекции, по-видимому, слабо информативны для предсказания уровня иммунитета к кори. Аналогичная ситуация наблюдалась и в отношении краснухи и ЭП. Согласно модели логистической регрессии, такие параметры, как возраст, анамнез и прививочный анамнез, объясняют только 11,0% данных о наличии антител к вирусу краснухи (R^2 Найджелкерка = 0,110, $p < 0,001$) и 6,5% к вирусу ЭП (R^2 Найджелкерка = 0,065, $p < 0,001$).

С увеличением возраста наблюдается сходимость графиков доли серопозитивных лиц, что может быть объяснено либо увеличением доли неверной информации о проведенной вакцинации, либо перенесенной инфекцией, в том числе в бессимптомной форме.

Анализ прививочного анамнеза обследованных лиц в отношении кори показал, что среди детей считают себя не вакцинированными от 33 до 41% респондентов (при этом для детей до 14 лет, в соответствии с условиями участия в исследовании, анкеты заполняли их родители или опекуны). Среди взрослых доля таких лиц была больше и достигла 58% в группе 56–60 лет. Необходимо отметить, что указанная возрастная группа и лица старше этого возраста родились

[10]СанПиН 3.3686–21. Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней. М.; 2021.

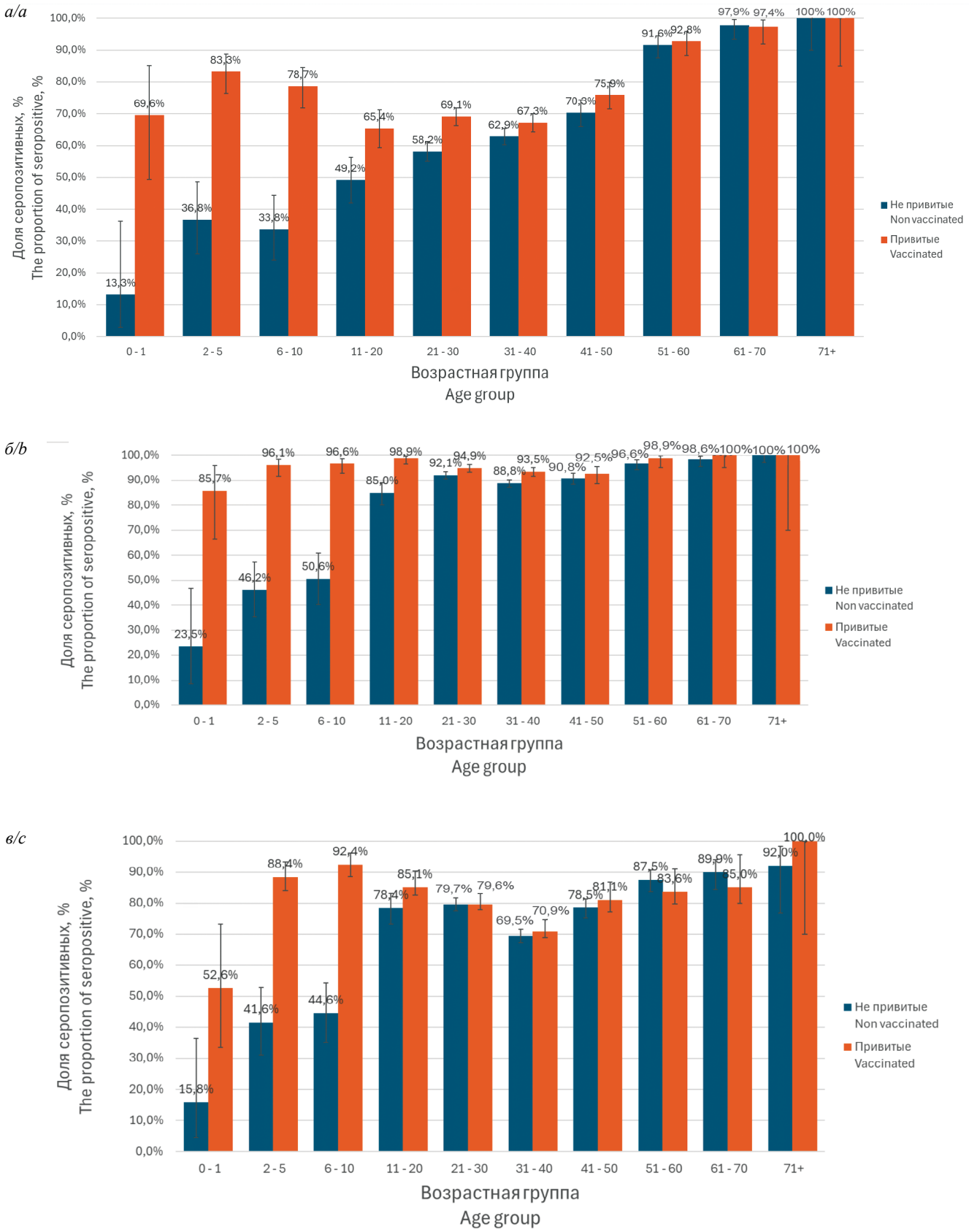


Рис. 4. Доля серопозитивных лиц к кори (а), краснухе (б), ЭП (в) в зависимости от вакцинального статуса согласно анкетным данным в разных возрастных группах лиц, обследованных в 2019 г.

Fig. 4. The proportion of seropositive persons to measles (a), rubella (b), mumps (c), depending on the vaccination status according to the questionnaire data in various age groups surveyed in 2019.

до начала массовой вакцинопрофилактики в 60-х гг., что объясняет полученные данные о вакцинальном анамнезе. В отношении краснухи и ЭП считала себя не привитой сопоставимая доля обследованных лиц (статистически значимых различий не выявлено, $p > 0,05$) (**таблица**).

Отмечены различия в распределении серопозитивных лиц к изучаемым инфекциям в разных возрастных группах. В среднем к вирусу кори были иммунными 67,38% (95% ДИ 66,31–68,44%), краснухи – 90,65% (95% ДИ 89,98–91,3%), ЭП – 75,25% (95% ДИ 74,24–76,24%) обследованных соответственно (**рис. 5**). При этом в возрастной группе до 24 мес доля иммунных ко всем трем инфекциям лиц была наименьшей и не превышала 50% обследованных, что объясняется вакцинацией от трех исследуемых инфекций в возрасте 12 мес. Вероятно, на момент проведения исследования не все дети данной возрастной группы успели получить соответствующую вакцину.

Тем не менее в возрастной группе 6–10 лет более 90% детей должны были получить как минимум одну дозу вакцины согласно официальной статистической отчетности об охвате вакцинацией в декретированных возрастных группах. Согласно полученным данным, только 61,34% (95% ДИ 55,46–67,06%) обследованных лиц данной возрастной группы имели специфические антитела класса IgG. Доли иммунных к вирусам ЭП и краснухи лиц составили 68,05% (95% ДИ 62,33–73,5%) и 76,58% (95% ДИ 71,34–81,44%) соответственно.

Обращает на себя внимание снижение скорости прироста доли серопозитивных лиц в группе 31 года – 35 лет (в случае ЭП – 31 года – 40 лет). Иммунными были только 63,26% (95% ДИ 60,84–65,66%), 88,69% (95% ДИ 87,05–90,22%) и 70,85% (95% ДИ 68,49–73,15%) соответственно.

Таблица. Распределение лиц с разным вакцинальным анамнезом (на основе опроса) в возрастных группах обследованных лиц
Table. Distribution of persons with different vaccination history (based on the survey) in the age groups of the examined persons

Возрастная группа, лет Age group, years	Вакцинальный статус (на основе опроса: привит – «+»; не привит – «–») Vaccination status (based on the survey: vaccinated – «+»; not vaccinated – «–«)	Корь Measles		Краснуха Rubella		Эпидемический паротит Mumps	
		абс. abs.	% (95% ДИ / CI)	абс. abs.	% (95% ДИ / CI)	абс. abs.	% (95% ДИ / CI)
0–1	–	15	39,47 (25,17–55,32)	17	44,74 (29,8–60,44)	19	50 (34,59–65,41%)
	+	23	60,53 (44,68–74,83)	21	55,26 (39,56–70,2)	19	50,00 (34,59–65,41)
2–5	–	68	33,01 (26,86–39,63)	78	37,86 (31,45–44,62)	77	38,89 (32,30–45,80)
	+	138	66,99 (60,37–73,14)	128	62,14 (55,38–68,55)	121	61,11 (54,20–67,70)
6–10	–	80	34,04 (28,21–40,27)	87	37,02 (31,04–43,32)	101	43,53 (37,27–49,96)
	+	155	65,96 (59,73–71,79)	148	62,98 (56,68–68,96)	131	56,47 (50,04–62,73)
11–15	–	69	41,82 (34,49–49,43)	78	47,27 (39,76–54,88)	88	54,66 (46,94–62,21)
	+	96	58,18 (50,57–65,51)	87	52,73 (45,12–60,24)	73	45,34 (37,79–53,06)
16–20	–	114	43,68 (37,76–49,74)	168	64,37 (58,42–69,99)	181	74,79 (69,05–79,95)
	+	147	56,32 (50,26–62,24)	93	35,63 (30,01–41,58)	61	25,21 (20,05–30,95)
21–25	–	367	44,00 (40,66–47,39)	496	59,47 (56,11–62,77)	600	76,24 (73,17–79,11)
	+	467	56,00 (52,61–59,34)	338	40,53 (37,23–43,89)	187	23,76 (20,89–26,83)
26–30	–	633	50,36 (47,60–53,12)	817	65,00 (62,33–67,60)	919	77,75 (75,31–80,05)
	+	624	49,64 (46,88–52,40)	440	35,00 (32,40–37,67)	263	22,25 (19,95–24,69)
31–35	–	773	54,47 (51,88–57,05)	946	66,67 (64,18–69,08)	1044	77,68 (75,39–79,84)
	+	646	45,53 (42,95–48,12)	473	33,33 (30,92–35,82)	300	22,32 (20,16–24,61)
36–40	–	506	53,89 (50,69–57,06)	659	70,18 (67,20–73,04)	705	79,30 (76,55–81,87)
	+	433	46,11 (42,94–49,31)	279	29,74 (26,88–32,73)	184	20,70 (18,13–23,45)
41–45	–	297	53,80 (49,63–57,93)	402	72,83 (69,00–76,41)	437	82,14 (78,72–85,22)
	+	255	46,20 (42,07–50,37)	150	27,17 (23,59–31,00)	95	17,86 (14,78–21,28)
46–50	–	154	50,33 (44,74–55,90)	228	74,51 (69,41–79,15)	241	81,97 (77,28–86,04)
	+	152	49,67 (44,10–55,26)	78	25,49 (20,85–30,59)	53	18,03 (13,96–22,72)
51–55	–	127	55,46 (48,99–61,79)	179	78,17 (72,48–83,14)	185	83,71 (78,42–88,13)
	+	102	44,54 (38,21–51,01)	50	21,83 (16,86–27,52)	36	16,29 (11,87–21,58)
56–60	–	111	58,73 (51,62–65,57)	147	77,78 (71,46–83,25)	150	82,87 (76,89–87,82)
	+	78	41,27 (34,43–48,38)	42	22,22 (16,75–28,54)	31	17,13 (12,18–23,11)
61–70	–	95	55,56 (48,07–62,86)	140	81,87 (75,59–87,09)	149	88,17 (82,66–92,38)
	+	76	44,44 (37,14–51,93)	31	18,13 (12,91–24,41)	20	11,83 (7,62–17,34)
71 и старше (71 and older)	–	18	64,29 (45,84–79,94)	25	89,29 (74,09–96,89)	25	89,29 (74,09–96,89)
	+	10	35,71 (20,06–54,16)	3	10,71 (3,11–25,91)	3	10,71 (3,11–25,91)
Итого Total	–	3427	50,18 (49,00–51,37)	4467	65,42 (64,29–66,54)	4921	75,73 (74,68–76,76)
	+	3402	49,82 (49,63–51,00)	2361	34,58 (33,46–35,71)	1577	24,27 (23,24–25,32)

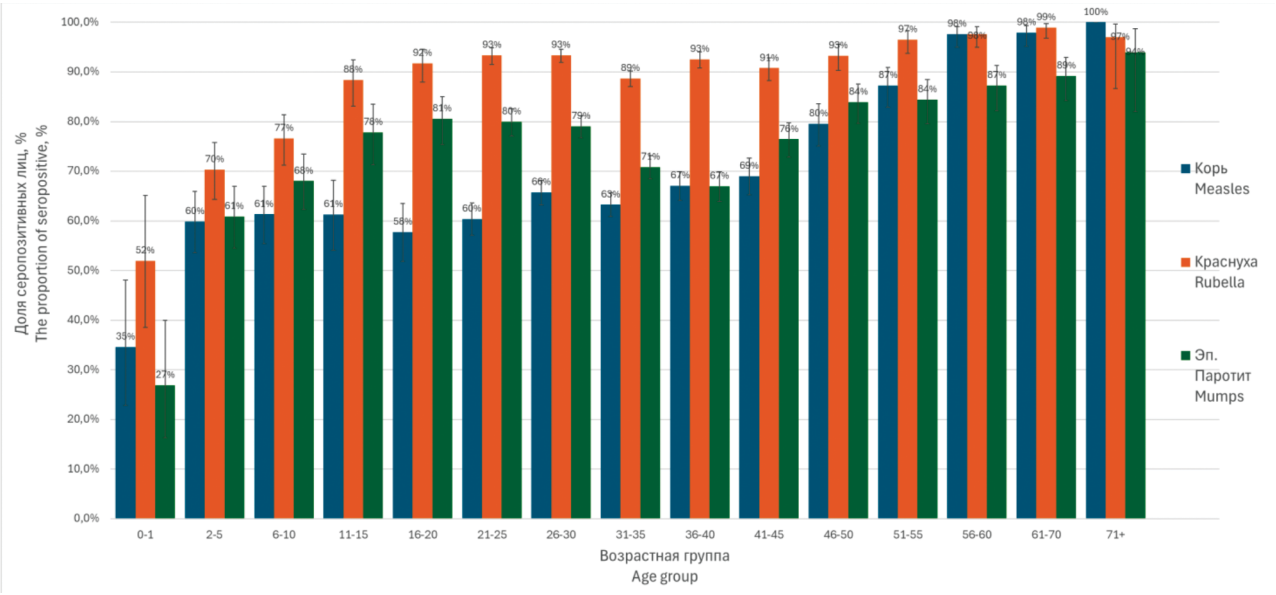


Рис. 5. Распределение серопозитивных лиц к вирусам кори, краснухи и ЭП среди разных возрастных групп, обследованных в 2019 г.

Fig. 5. Distribution of persons seropositive to measles, rubella, and mumps viruses among different age groups surveyed in 2019.

Среди обследованных в возрасте до 50 лет соотношение лиц, иммунных к трем исследуемым инфекциям, было одинаковым – наименьшая их доля выявлялась к кори, а наибольшая – к краснухе. Старше этого возраста ситуация стала несколько меняться – к кори и краснухе выявлена практически одинаковая доля иммунных лиц, приближающаяся к 100%, в то время как к ЭП она была меньше и достигла 90% только в самой старшей возрастной группе.

Обсуждение

Анализ эпидемиологической ситуации по кори, краснухе и ЭП в Москве с 2012 по 2023 г. позволил установить наличие разнонаправленных тенденций, несмотря на то что все указанные инфекции входят в единую унифицированную систему эпидемиологического надзора, а для их профилактики используют эффективные аттенуированные вакцины стабильного антигенного состава, вводимые детям в возрасте 12 мес и 6 лет. Кроме того, согласно данным официальной статистической отчетности, охват вакцинации в отношении трех инфекций составляет более 90% среди взрослых и 95% среди детей. Однако эпидемический процесс этих инфекций на сегодняшний день различен и объективно проявляется волнообразным ростом заболеваемости корью, стабилизацией регистрации случаев краснухи на спорадическом уровне и неустойчивой заболеваемостью ЭП с небольшой тенденцией к увеличению за последние 3 года[9]. Результаты серологических исследований распространенности специфических антител IgG в разных возрастных группах населения Москвы и Московской области среди лиц с разным прививочным и инфекционным анамнезом соответствовали возрастной структуре заболеваемости по каждой из трех исследуемых инфекций.

Нужно учесть, что вакцинальный и инфекционный анамнез, собранный со слов обследованных лиц, без документального подтверждения имеет ограниченную научную значимость и в старших возрастных группах может быть недостоверным в силу естественных причин. Тем не менее при обследовании детского населения и молодых взрослых его сбор является предпочтительным, т.к. сведения о встрече с возбудителем сохранены в современных электронных медицинских картах и прививочных сертификатах, доступных для ознакомления лиц, участвовавших в исследовании. Важно, что до 40% обследованных детей не были вакцинированы, со слов их законных представителей, что может во многом объяснять выявленные значительные доли неиммунных лиц среди них и свидетельствует о высоком распространении антипрививочных настроений среди населения [2, 5, 6]. При обследовании детского населения, вакцинация которого является значимым вопросом для их законных представителей, заполнивших анкету нашего исследования, показано, что анамнестические сведения имеют наибольшую достоверность (подтверждаются серологически) и косвенно могут быть использованы для оценки охвата вакцинацией. С учетом того, что сроки введения вакцины для профилактики всех трех изучаемых инфекций одинаковы, а также разработаны и доступны к применению комбинированные препараты, то отличия в долевом распределении иммунных к возбудителям лиц могут быть объяснены разной иммунологической эффективностью соответствующих вакцин. В возрастных группах старше 56 лет вакцинальный анамнез не имел высокой ценности для проводимого исследования, т.к. коллективный иммунитет в них определяется перенесением инфекции в детстве, когда распространенность кори, краснухи и ЭП была многократно выше современной,

а массовая вакцинация не проводилась. Кроме того, серологические данные в указанной возрастной группе иллюстрируют, что сохранность антител IgG после перенесенной кори и краснухи практически не различается и близится к 100%.

Показано, что сформировавшийся высокий уровень популяционного иммунитета к вирусу краснухи на сегодняшний день препятствует распространению инфекции среди населения. Эти данные согласуются с полученными нами ранее результатами по оценке иммунологической восприимчивости населения мегаполиса [7]. При этом следует отметить, что вклад вакцинации в формирование популяционного иммунитета ограничивается детским населением, в то время как взрослые родились до начала массового применения вакцины и являются иммунными вследствие перенесенной инфекции.

В отношении ЭП эпидемическая ситуация относительно благополучная, однако сформированный уровень популяционного иммунитета не позволяет свести заболеваемость до стабильного спорадического уровня. Установлено, что среди детского населения до 16 лет доля иммунных лиц в 2019 г. была меньше 80%, очевидно это способствует накоплению неиммунных лиц в популяции и грозит при сохранении такой тенденции проявиться дальнейшим ростом заболеваемости. Это подтверждают и данные эпидемиологического анализа о небольшом росте заболеваемости в 2021–2023 гг. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости проведения профилактических мероприятий по вакцинации не охваченного ранее населения.

Наблюдаемый тренд роста заболеваемости корью в последнее десятилетие может быть объяснен накоплением неиммунных лиц среди молодого и детского населения, что убедительно показано по результатам проведенного исследования. Неблагоприятная тенденция по увеличению доли серонегативных лиц среди разных групп населения показана многими авторами, проводившими скрининг распространенности специфических антител IgG в России и Европе [3, 20–23]. Полученные данные серологического исследования о наличии значительной доли неиммунных лиц среди детей и молодых взрослых в 2019 г. свидетельствуют о высоком риске роста заболеваемости в перспективе. Так, среди обследованных детей доля серопозитивных была максимальной в группах 6–10 и 11–15 лет и составила только 61,3%. Этот риск реализовался по завершении пандемии COVID-19 в 2023 г., когда в Москве показатели заболеваемости корью как среди детского (54,9 на 100 тыс. населения), так и взрослого населения (9,5 на 100 тыс. населения) превысили значения 2019 г. (25,9 и 11,1 на 100 тыс. населения соответственно) и стали максимальными за период исследования с 2012 по 2023 г. При этом риск заболеть корью у детей был выше, чем у взрослых, в 5,5 раза.

Аналогичные тревожные данные подтверждаются и зарубежными специалистами, отмечающими медленные темпы восстановления охвата плановыми прививками против кори, краснухи и других вакциноуправляемых инфекций в результате пандемии COVID-19. По мнению ВОЗ и ЮНИСЕФ, заболеваемость в Европейском регионе продолжает расти и число случаев кори, зарегистрированных в 2024 г., вскоре превысит общий показатель за весь 2023 г.[11,12]

Заключение

По результатам проведенной работы убедительно продемонстрирована значимость серологических исследований для определения рисков распространения инфекционных заболеваний среди населения. Показано, что уровень популяционного иммунитета, сформировавшийся в отношении краснухи (90,65% (95% ДИ 89,98–91,3%)), позволяет практически прекратить распространение этой инфекции. В отношении ЭП иммунными были 75,25% (95% ДИ 74,24–76,24%) обследованных лиц, что, по всей видимости, стало условием наблюдаемого снижения заболеваемости, на территории Москвы. Тем не менее существует риск накопления доли неиммунных лиц в будущем, что чревато ростом регистрации случаев заболевания. Современная неблагоприятная эпидемиологическая ситуация по кори во многом определяется наличием когорт неиммунных лиц среди детей и молодых взрослых (доля иммунных составила порядка 60%), что проявляется максимальными показателями заболеваемости этих групп среди всего населения. Сформированный на сегодняшний день уровень популяционного иммунитета не позволяет предотвратить волнообразное нарастание заболеваемости, регистрируемое в последние годы.

Ввиду наличия активных миграционных процессов в мегаполисе, а также возникших во время пандемии COVID-19 сложностей с достижением целевых уровней охвата вакцинацией, необходимой является коррекция тактики вакцинопрофилактики и проведения мер по подчищающей и догоняющей иммунизации населения в отношении кори и ЭП, особенно в возрастных группах риска.

ЛИТЕРАТУРА

1. Таточенко В.К., Озерецковский Н.А. Иммунопрофилактика 2020 (Справочник). *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2020; 19(6): 100. https://elibrary.ru/uhbxbs
2. Семененко Т.А., Сметанина С.В., Колобухина Л.В., Кареткина Г.Н., Ноздрачева А.В., Кружкова И.С. *Корь: эпидемиологические особенности в период элиминации, современные возможности профилактики, диагностики и лечения. Значение серологического исследования популяционного иммунитета населения. Методические рекомендации №74.* М.; 2020.
3. Цвиркун О.В., Тихонова Н.Т., Тураева Н.В., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Герасимова А.Г. Характеристика популяцион-

[11]UNICEF. Measles cases across Europe continue to surge, putting millions of children at risk; 2024. Доступно по: https://unicef.org/press-releases/measles-cases-across-europe-continue-surge-putting-millions-children-risk

[12]WHO. Rapid response to measles outbreak is critical, as cases this year predicted to soon exceed total number reported in 2023; 2024. Доступно по: https://who.int/europe/news/item/28-05-2024-joint-press-release-from-who-and-unicef--measles-cases-across-europe-continue-to-surge--putting-millions-of-children-at-risk

ного иммунитета к кори в Российской Федерации. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2020; 19(4): 6–13. https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-4-6-13 https://elibrary.ru/phmiue
4. Семененко Т.А., Ноздрачева А.В. Анализ и перспективы развития эпидемической ситуации по кори в условиях пандемии COVID-19. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2021; 20(5): 21–31. https://doi.org/10.31631/2073-3046-2021-20-5-21-31 https://elibrary.ru/jjvvwf
5. Чернова Т.М., Тимченко В.Н., Мыскина Н.А., Лапина М.А., Орехова А.Е., Канина А.Д. Причины нарушения графика вакцинации детей раннего возраста. *Педиатр*. 2019; 10(3): 31–6. https://doi.org/10.17816/PED10331-36 https://elibrary.ru/facwbw
6. Моисеева К.Е., Алексеева А.В. Основные причины отказов от вакцинации. *Социальные аспекты здоровья населения.* 2019; 65(5): 9. https://doi.org/10.21045/2071-5021-2019-65-5-9 https://elibrary.ru/aywtkt
7. Ноздрачева А.В., Семененко Т.А., Асатрян М.Н., Шмыр И.С., Ершов И.Ф., Соловьев Д.В. и др. Иммунологическая восприимчивость населения мегаполиса к кори на этапе ее элиминации. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2019; 18(2): 18–26. https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-2-18-26
8. Семененко Т.А., Акимкин В.Г. Сероэпидемиологические исследования в системе надзора за вакциноуправляемыми инфекциями. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2018; 95(2): 87–94. https://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-2-87-94 https://elibrary.ru/yxuagt
9. Семененко Т.А. Эпидемиологические аспекты неспецифической профилактики инфекционных заболеваний. *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2001; 56(11): 25–9.
10. Акимкин В.Г., Семененко Т.А., Углева С.В., Дубоделов Д.В., Кузин С.Н., Яцышина С.Б. и др. COVID-19 в России: эпидемиология и молекулярно-генетический мониторинг. *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2022; 77(4): 254–60. https://doi.org/10.15690/vramn2121 https://elibrary.ru/dozijs
11. Брико Н.И., Каграманян И.Н., Никифоров В.В., Суранова Т.Г., Чернявская О.П., Полежаева Н.А. Пандемия COVID-19. Меры борьбы с ее распространением в Российской Федерации. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2020; 19(2): 4–12. https://doi:10.31631/2073-3046-2020-19-2-4-12 https://elibrary.ru/ruwkxq
12. Поздняков А.А., Чернявская О.П. Проявления эпидемического процесса кори и краснухи на современном этапе. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2018; 17(5): 45–53. https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-5-45-53 https://elibrary.ru/vouvre
13. Ноздрачева А.В., Асатрян М.Н., Рыбак Л.А., Волошкин А.А., Семененко А.В. Совершенствование информационного обеспечения расследования случаев кори с применением новых программных средств. *Санитарный врач.* 2022; (5): 316–25. https://doi.org/10.33920/med-08-2205-01 https://elibrary.ru/mjqfsh
14. Семененко Т.А. Иммунный ответ при вакцинации против гепатита В у лиц с иммунодефицитными состояниями. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2011; (1): 51–8. https://elibrary.ru/ndihiz
15. Жукова Э.В., Мирская М.А., Готвянская Т.П., Каира А.Н., Семененко А.В., Ноздравчева А.В. и др. К вопросу о безопасности отечественных вакцин против новой коронавирусной инфекции у медицинских работников. *Санитарный врач.* 2024; (2): 92–104. https://doi.org/10.33920/med-08-2402-01 https://elibrary.ru/isrlfo
16. Семененко Т.А. Роль банка сывороток крови в системе биологической безопасности страны. *Вестник Росздравнадзора.* 2010; (3): 55–8. https://elibrary.ru/muutej
17. Гущин В.А., Мануйлов В.А., Мазунина Е.П., Клейменов Д.А., Семененко Т.А., Гинцбург А.Л. и др. Иммунологическая память как основа рациональной вакцинопрофилактики населения. Обоснование создания системы сероэпидемиологического мониторинга в России. *Вестник Российского государственного медицинского университета.* 2017; (5): 5–28. https://elibrary.ru/zvzdpz
18. Семененко Т.А., Ананьина Ю.В., Боев Б.В., Гинцбург А.Л. Банки биологических ресурсов в системе фундаментальных эпидемиологических и клинических исследований. *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2011; 66(10): 5–9. https://elibrary.ru/oghqpb
19. Anisimov S.V., Meshkov A.N., Glotov A.S., Borisova A.L., Balanovsky O.P., Belyaev V.E., et al. National association of biobanks and biobanking specialists: new community for promoting biobanking ideas and projects in Russia. *Biopreserv. Biobank.* 2021; 19(1): 73–82. https://doi.org/10.1089/bio.2020.0049
20. Ноздрачева А.В., Семененко Т.А. Состояние популяционного иммунитета к кори в России: систематический обзор и метаанализ эпидемиологических исследований. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2020; 97(5): 445–57. https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-5-7 https://elibrary.ru/cquubm
21. Böröcz K., Samardžić S., Drenjančević I., Markovics Á., Berki T., Németh P. Dynamic features of herd immunity: similarities in age-specific anti-measles seroprevalence data between two countries of different epidemiological history. *J. Clin. Med.* 2022; 11(4): 1145. https://doi.org/10.3390/jcm11041145
22. Plans-Rubió P. Low percentages of measles vaccination coverage with two doses of vaccine and low herd immunity levels explain measles incidence and persistence of measles in the European Union in 2017–2018. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2019; 38(9): 1719–29. https://doi.org/10.1007/s10096-019-03604-0
23. Семененко Т.А., Ноздрачева А.В., Асатрян М.Н., Акимкин В.Г., Тутельян А.В., Шмыр И.С. и др. Комплексный анализ влияния вакцинации на формирование популяционного иммунитета к кори среди населения мегаполиса. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2019; 74(5): 351–60. https://doi.org/10.15690/vramn1170 https://elibrary.ru/wwtsug

REFERENCES

1. Tatochenko V.K., Ozeretskovsky N.A. *Immunoprophylaxis 2020 (Reference Book). Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika.* 2020; 19(6): 100. https://elibrary.ru/uhbxbs (in Russian)
2. Semenenko T.A., Smetanina S.V., Kolobukhina L.V., Karetkina G.N., Nozdracheva A.V., Kruzhkova I.S., et al. Measles: epidemiological features during the elimination period, modern possibilities of prevention, diagnosis and treatment. the importance of a serological study of the population immunity of the population. Methodological recommendations No. 74. Moscow; 2020. (in Russian)
3. Tsvirkun O.V., Tikhonova N.T., Turaeva N.V., Ezhlova E.B., Melnikova A.A., Gerasimova A.G., et al. Population immunity and structure of measles cases in the Russian Federation. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika.* 2020; 19(4): 6–13. https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-4-6-13 https://elibrary.ru/phmiue (in Russian)
4. Semenenko T.A., Nozdracheva A.V. Analysis and outlook for the development of measles epidemic situation during the COVID-19 pandemic. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*. 2021; 20(5): 21–31. https://doi.org/10.31631/2073-3046-2021-20-5-21-31 https://elibrary.ru/jjvvwf (in Russian)
5. Chernova T.M., Timchenko V.N., Myskina N.A., Lapina M.A., Orekhova A.E., Kanina A.D. Causes of violation of vaccination schedule in young children. *Pediatr.* 2019; 10(3): 31–6. https://doi.org/10.17816/PED10331-36 https://elibrary.ru/facwbw (in Russian)
6. Moiseeva K.E., Alekseeva A.V. Main reasons for vaccination refusals. *Sotsial'nye aspekty zdorov'ya naseleniya.* 2019; 65(5): 9. https://doi.org/10.21045/2071-5021-2019-65-5-9 https://elibrary.ru/aywtkt (in Russian)
7. Nozdracheva A.V., Asatryan M.N., Asatryan M.N., Shmyr I.S., Ershov I.F., Solov'ev D.V., et al. Immunological susceptibility of metropolis population to measles in its elimination stage. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*. 2019; 18(2): 18–26. https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-2-18-26 (in Russian)
8. Semenenko T.A., Akimkin V.G. Seroepidemiology in the surveillance of vaccine-preventable diseases. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology.* 2018; 95(2): 87–94. https://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-2-87-94 https://elibrary.ru/yxuagt (in Russian)
9. Semenenko T.A. Epidemiological aspects of non-specific prevention of infectious diseases. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk.* 2001; 56(11): 25–9. (in Russian)
10. Akimkin V.G., Semenenko T.A., Ugleva S.V., Dubodelov D.V., Kuzin S.N., Yatsyshina S.B., et al. COVID-19 in Russia: epidemiology and molecular genetic monitoring. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk.* 2022; 77(4): 254–60. https://doi.org/10.15690/vramn2121 https://elibrary.ru/dozijs (in Russian)

11. Briko N.I., Kagramanyan I.N., Nikiforov V.V., Suranova T.G., Chernyavskaya O.P., Polezhaeva N.A. COVID-19. Prevention measures in the Russian Federation. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*. 2020; 19(2): 4–12. https://doi:10.31631/2073-3046-2020-19-2-4-12 https://elibrary.ru/ruwkxq (in Russian)
12. Pozdnyakov A.A., Chernyavskaya O.P. Manifestations of the epidemic process of measles and Rubella at the present stage. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*. 2018; 17(5): 45–53. https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-5-45-53 https://elibrary.ru/vouvre (in Russian)
13. Nozdracheva A.V., Asatryan M.N., Rybak L.A., Voloshkin A.A., Semenenko A.V. Improvement of epidemiological diagnosis in the system of epidemiological surveillance of current infections by creating a database of the results of foci investigation. *Sanitarnyi vrach.* 2022; (5): 316–25. https://doi.org/10.33920/med-08-2205-01 https://elibrary.ru/mjqfsh (in Russian)
14. Semenenko T.A. Immune response after vaccination against hepatitis B in patients with immunodeficiency. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*. 2011; (1): 51–8. https://elibrary.ru/ndihiz (in Russian)
15. Zhukova E.V., Mirskaya M.A., Gotvyanskaya T.P., Kaira A.N., Semenenko A.V., Nozdracheva A.V., et al. On the issue of the safety of domestic vaccines against new coronavirus infection in medical workers. *Sanitarnyi vrach.* 2024; (2): 92–104. https://doi.org/10.33920/med-08-2402-01 https://elibrary.ru/isrlfo (in Russian)
16. Semenenko T.A. The role of the blood serum bank in the biological safety system of the country. *Vestnik Roszdravnadzora.* 2010; (3): 55–8. https://elibrary.ru/muutej (in Russian)
17. Gushchin V.A., Manuilov V.A., Mazunina E.P., Kleymenov D.A., Semenenko T.A., Gintsburg A.L., et al. Immunological memory as a basis for a wise vaccination strategy. A rationale for introducing a comprehensive seroepidemiological surveillance system in Russia. *Bulletin of Russian State Medical University.* 2017; (5): 5–25. https://doi.org/10.24075/brsmu.2017-05-01 https://elibrary.ru/zwrdtx
18. Semenenko T.A., Ananyina Yu.V., Boev B.V., Ginzburg A.L. Banks of biological resources in the system of fundamental epidemiological and clinical research. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk.* 2011; 66(10): 5–9. https://elibrary.ru/oghqpb (in Russian)
19. Anisimov S.V., Meshkov A.N., Glotov A.S., Borisova A.L., Balanovsky O.P., Belyaev V.E., et al. National association of biobanks and biobanking specialists: new community for promoting biobanking ideas and projects in Russia. *Biopreserv. Biobank.* 2021; 19(1): 73–82. https://doi.org/10.1089/bio.2020.0049
20. Nozdracheva A.V., Semenenko T.A. The status of herd immunity to measles in Russia: A systematic review and meta-analysis of epidemiological studies. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2020; 97(5): 445–57. https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-5-7 https://elibrary.ru/cquubm (in Russian)
21. Böröcz K., Samardžić S., Drenjančević I., Markovics Á., Berki T., Németh P. Dynamic features of herd immunity: similarities in age-specific anti-measles seroprevalence data between two countries of different epidemiological history. *J. Clin. Med.* 2022; 11(4): 1145. https://doi.org/10.3390/jcm11041145
22. Plans-Rubió P. Low percentages of measles vaccination coverage with two doses of vaccine and low herd immunity levels explain measles incidence and persistence of measles in the European Union in 2017–2018. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2019; 38(9): 1719–29. https://doi.org/10.1007/s10096-019-03604-0
23. Semenenko T.A., Nozdracheva A.V., Asatryan M.N., Akimkin V.G., Tutelyan A.V., Shmyr I.S., et al. Multivariate analysis of the megacity population immunity to measles. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk.* 2019; 74(5): 351–60. https://doi.org/10.15690/vramn1170 https://elibrary.ru/wwtsug (in Russian)

Информация об авторах:

Симакова Яна Владимировна – научный сотрудник ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: y.v.simakova@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0002-5033-6931

Гущин Владимир Алексеевич✉ – д-р биол. наук, доцент, заведующий отделом ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, заведующий кафедрой медицинской генетики ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, старший научный сотрудник кафедры вирусологии Биологического факультета ФГАОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия. E-mail: wowaniada@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0002-9397-3762

Семененко Татьяна Анатольевна – д-р мед. наук, профессор, главный научный сотрудник, ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: semenenko@gamaleya.org; https://orcid.org/0000-0002-6686-9011

Огаркова Дарья Алексеевна – младший научный сотрудник ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: DashaDv1993@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-1152-4120

Клейменов Денис Александрович – канд. биол. наук, заведующий лабораторией ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: mne10000let@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0001-9422-7238

Ноздрачева Анна Валерьевна – канд. мед. наук, заведующая лабораторией ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: nozdrachevaav@gamaleya.org; https://orcid.org/0000-0002-8521-1741

Мануйлов Виктор Александрович – канд. биол. наук, старший научный сотрудник факультета естественных наук Новосибирского государственного университета, Новосибирск, Россия. E-mail: victormanuilov@yandex.com; https://orcid.org/0000-0002-2296-6151

Ткачук Артем Петрович – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных болезней» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: artem.p.tkachuk@gmail.com; https://orcid.org/0000-0003-3262-4873

Гинцбург Александр Леонидович – д-р биол. наук, профессор, академик РАН, директор ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, заведующий кафедрой инфектологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: gintsburg@gamaleya.org; https://orcid.org/0000-0003-1769-5059

Участие авторов: Гущин В.А., Семененко Т.А., Клейменов Д.А., Ноздрачева А.В., Мануйлов В.А., Ткачук А.П., Гинцбург – дизайн исследования; руководство группой разработчиков; участие в написании и редактировании рукописи; Симакова Я.В., Огаркова Д.А. – сбор, анализ, интерпретация и статистическая обработка данных; оформление таблиц и рисунков; написание отдельных глав статьи. Каждый автор внес существенный вклад в подготовку статьи, прочел и одобрил финальную версию до публикации.

Поступила 25.11.2024
Принята в печать 20.01.2025
Опубликована 30.04.2025

Information about the authors:

Yana V. Simakova – Researcher N.F. Gamalei Scientific Research Center of the Ministry of Health of the Russian Federation), Moscow, Russia. E-mail: y.v.simakova@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0002-5033-6931

Vladimir A. Gushchin✉ – Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Leading researcher, Head of the Department, N.F. Gamalei Scientific Research Institute of the Ministry of Health of the Russian Federation, Head of the Department of Medical Genetics, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Senior Researcher at the Department of Virology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia. E-mail: wowaniada@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0002-9397-3762

Tatiana A. Semenenko – Doctor of Medical Sciences, Professor, Chief Researcher, N.F. Gamalei Scientific Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: semenenko@gamaleya.org; https://orcid.org/0000-0002-6686-9011

Daria A. Ogarkova – Junior Researcher, N.F. Gamalei Scientific Research Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: DashaDv1993@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-1152-4120

Denis A. Kleymenov – PhD, Head of the Laboratory, N.F. Gamalei Scientific Research Institute of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: mne10000let@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0001-9422-7238

Anna V. Nozdracheva – Ph.D., Head of the Laboratory, N.F. Gamalei Scientific Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: nozdrachevaav@gamaleya.org; https://orcid.org/0000-0002-8521-1741

Victor A. Manuylov – PhD, Senior Researcher, Faculty of Natural Sciences, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia. E-mail: victormanuilov@yandex.com; https://orcid.org/0000-0002-2296-6151

Artem P. Tkachuk – PhD, Leading Researcher, National Medical Research Center of Phthisiopulmonology and Infectious Diseases of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: artem.p.tkachuk@gmail.com; https://orcid.org/0000-0003-3262-4873

Alexander L. Gintsburg – Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of the N.F. Gamalei National Research Medical Center, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Head of the Department of Infectology, Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: gintsburg@gamaleya.org; https://orcid.org/0000-0003-1769-5059

Contribution: Gushchin V.A., Semenenko T.A., Kleymenov D.A., Nozdracheva A.V., Manuylov V. A., Tkachuk A.P., Gintsburg A.L. – design of the study; management of scientific groups; preparation and editing of the article; Simakova Ya.V., Ogarkova D.A. – data collection, analysis, interpretation and statistical treatment of the data; design of tables and figures; writing the article. Each author made a substantial contribution to the preparation of the article, read and approved the final version prior to publication.

Received 25 November 2024
Accepted 20 January 2025
Published 30 April 2025

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-283
© ЛИТОВ А.Г., ЩЕТИНИН А.М., ХОЛОДИЛОВ И.С., БЕЛОВА О.А., КАЛЯНОВА А.С., ГУЩИН В.А., КАРГАНОВА Г.Г., 2025

Детекция Liman tick virus (неклассифицированный представитель *Chuviridae*) в культуре клеток клещей HAE/CTVM8

Литов А.Г.[1,2]✉, Щетинин А.М.[3], Холодилов И.С.[1], Белова О.А.[1], Калянова А.С.[1], Гущин В.А.[3,4], Карганова Г.Г.[1,2]

[1]ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов имени М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), 108819, г. Москва, Россия;
[2]Институт трансляционной медицины и биотехнологии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, Россия;
[3]ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, Россия;
[4]ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, Россия

Резюме
Введение. Культуры клеток клещей широко используются для изучения биологии этих членистоногих и переносимых ими патогенов, в особенности вирусов. Большинство имеющихся в настоящее время культур клеток были получены из эмбриональных клеток клещей и могут быть инфицированы вирусами. Клеточная линия HAE/CTVM8, полученная из клещей *Hyalomma anatolicum*, часто используется для выделения переносимых клещами внутриклеточных инфекционных агентов.
Цель работы – изучение клеточной линии HAE/CTVM8 с помощью высокопроизводительного секвенирования с целью поиска вирусов в ней.
Материалы и методы. Культуральную жидкость клеток HAE/CTVM8 ультрацентрифугировали. Полученный осадок использовали для высокопроизводительного секвенирования после выделения РНК, реакции обратной транскрипции и синтеза второй цепи. Полученные прочтения фильтровали по длине и качеству в программе Trimmomatic, после чего собирали контиги с помощью программы SPAdes и анализировали их на присутствие вирусных последовательностей. Финальная сборка генома вируса осуществлялась в программе Ugene. Выравнивание последовательностей производили с использованием программы MAFFT. Построение филогенетических деревьев производилось с применением программы IQ-TREE.
Результаты. Выявлена персистенция одного вируса – Liman tick virus (LMTV) – в культуре клеток HAE/CTVM8. Филогенетически LMTV принадлежит новому семейству *Chuviridae*, состоящему из вирусов, обнаруженных с помощью высокопроизводительного секвенирования, вирусологическая характеристика которых отсутствует.
Заключение. Полученная в настоящем исследовании информация крайне важна для использования культуры клеток HAE/CTVM8 в научных исследованиях и изоляции новых вирусов. Наше исследование показывает, что клеточная линия HAE/CTVM8 с персистирующим в ней LMTV представляет собой готовую систему для изучения репродукции представителей семейства *Chuviridae*.

Ключевые слова: *Liman tick virus; культура клеток клещей; HAE/CTVM8; персистенция; Mivirus; Chuviridae*

Для цитирования: Литов А.Г., Щетинин А.М., Холодилов И.С., Белова О.А., Калянова А.С., Гущин В.А., Карганова Г.Г. Детекция Liman tick virus (неклассифицированный представитель Chuviridae) в культуре клеток клещей HAE/CTVM8. *Вопросы вирусологии*. 2025; 70(2): 147–153. DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-283 EDN: https://elibrary.ru/hrnscv

Финансирование. Исследование выполнено за счет средств государственного задания № FNZG-2024-0008.
Благодарность. Авторы выражают признательность Tick Cell Biobank (Ливерпульский университет, Великобритания) и персонально д-ру Лесли Бель-Саки за предоставление культуры клеток HAE/CTVM8.
Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи. Культура клеток HAE/CTVM8 предоставлена на безвозмездной основе в рамках договора о совместной научной деятельности из Tick Cell Biobank (Ливерпульский университет, Великобритания).

ORIGINAL STUDY ARTICLE
DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-283

Detection of the Liman tick virus (unclassified *Chuviridae)* in tick cell line HAE/CTVM8

Alexander G. Litov[1,2]✉, Alexey M. Shchetinin[3], Ivan S. Kholodilov[1], Oxana A. Belova[1], Anna S. Kalyanova[1], Vladimir A. Gushchin[3,4], Galina G. Karganova[1,2]

[1]Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of RAS (Institute of Poliomyelitis), 108819, Moscow, Russia;
[2]Institute for Translational Medicine and Biotechnology, Sechenov University, 119991, Moscow, Russia;
[3]Gamaleya Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of the Russian Federation, 123098, Moscow, Russia;
[4]Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 119991, Moscow, Russia

Abstract
Introduction. Tick cell lines are widely used to study the biology of ticks and tick-borne pathogens, especially viruses. Most of the cell cultures currently available have been obtained from tick embryonic cells and can be infected with viruses. The HAE/CTVM8 cell line was obtained from *Hyalomma anatolicum* ticks and is often used for isolation of novel viruses.
The aim of the work is to study the HAE/CTVM8 cell line using high-throughput sequencing in order to search for viruses in it.
Materials and methods. The HAE/CTVM8 cell culture fluid was ultracentrifuged. The resulting pellet was used for high-throughput sequencing after RNA extraction, reverse transcription reaction, and synthesis of the second strand. The resulting reads were filtered by length and quality in the Trimmomatic program, after which the contigs were assembled using the SPAdes program and analyzed for the presence of viral sequences. The final assembly of the virus genome was carried out in the Ugene program. Sequence alignment was performed by the MAFFT program. The phylogenetic trees were constructed using the IQ-TREE program.
Results. We have identified the persistence of one virus, Liman tick virus (LMTV), in HAE/CTVM8 cell culture. Phylogenetically LMTV belongs to the *Chuviridae* – novel family, that consists of viruses detected by high-throughput sequencing, the virological characteristics of which are currently unknown.
Conclusion. The obtained information is of significant importance when utilizing HAE/CTVM8 cell culture in scientific research and during the process of isolating new viruses. Our study shows that this cell line with persistent LMTV is a ready-to-use system for studying *Chuviridae* reproduction

Keywords: *Liman tick virus; tick cell line; HAE/CTVM8; persistence; Mivirus; Chuviridae*

For citation: Litov A.G., Shchetinin A.M., Kholodilov I.S., Belova O.A., Kalyanova A.S., Gushchin V.A., Karganova G.G. Detection of the Liman tick virus (unclassified *Chuviridae*) in tick cell line HAE/CTVM8. *Problems of Virology* (*Voprosy Virusologii*). 2025; 70(2): 147–153. DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-283
EDN: https://elibrary.ru/hrnscv

Funding. This work was supported by the Chumakov FSC R&D IBP RAS (Institute of Poliomyelitis) fundamental research assignment No. FNZG-2024-0008
Acknowledgement. The authors would like to thank the Tick Cell Biobank (University of Liverpool, UK) and Dr. Leslie Bel-Saki for kindly providing the HAE/CTVM8 cell culture.
Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article. HAE/CTVM8 cell culture was provided free of charge under a collaborative research agreement from the Tick Cell Biobank (University of Liverpool, UK).

Введение

Клещи являются переносчиками возбудителей опасных заболеваний, таких как болезнь Лайма, клещевой энцефалит и многие другие [1, 2]. В связи с этим изучение биологии, физиологии клещей и способов борьбы с ними приобретает все большую актуальность. Культуры клеток клещей стали незаменимым инструментом для исследователей [3]. В первую очередь они крайне полезны для изучения физиологии и генетики клещей [3, 4], однако, гораздо чаще их используют для размножения переносимых клещами патогенных вирусов [5, 6] и бактерий [7].

Попытки культивировать клетки клещей продолжаются более 50 лет. Ранние исследования привели к получению первичных культур клеток и/или тканей клещей, способных выживать до 6 мес [8]. Позднее были получены перевиваемые клетки разных видов клещей, способные культивироваться в лабораторных условиях длительное время [3, 9].

Большинство доступных в настоящее время клеточных линий клещей были получены из эмбриональных клеток. Такая специфика получения культур клеток, а также ограниченность наших знаний о вироме клещей приводит к тому, что во многих культурах кле-

ток клещей персистируют вирусы [10–12]. Например, *Orbivirus saintcroixense* (St. Croix River virus) был обнаружен в культурах клеток IDE2, полученных из клещей *Ixodes scapularis*, и RA243 и RA257 из клещей *Rhipicephalus appendiculatus* [10, 11]. В культуре клеток IRE/CTVM19 было обнаружено сразу три рабдоподобных вируса: IRE/CTVM19-associated rhabdovirus, Chimay rhabdovirus и Norway mononegavirus 1 [12]. Кроме того, скрининг большого количества доступных культур клеток клещей при помощи пан-найровирусных олигонуклеотидов дал положительный результат, хотя остались сомнения, является ли амплификация специфичной [10]. Таким образом, сами по себе культуры клеток клещей могут быть источником новых вирусов. Тем не менее использование клеток с персистентной вирусной инфекцией может повлиять на результаты научных исследований, особенно при изоляции и изучении свойств других вирусных или бактериальных внутриклеточных агентов.

Современные подходы к обнаружению новых вирусов предполагают использование высокопроизводительного секвенирования в комбинации с биоинформатическими методами, что позволяет открывать десятки и сотни новых вирусов в процессе работы [13–16]. Такой подход показал себя крайне эффективным при описании новых вирусов членистоногих [14, 16], в том числе и клещей [13, 15], а также был использован нами ранее для описания вирусов, персистирующих в культуре клеток IRE/CTVM19 [12].

Одним из достижений высокопроизводительного секвенирования стало недавнее выделение нового семейства (−)РНК-содержащих вирусов – *Chuviridae*. На сегодняшний момент данное семейство включает в себя 16 родов и 43 вида вирусов, которые были детектированы в паукообразных, ракообразных, насекомых, рыбах и рептилиях. Самым крупным родом семейства является род *Mivirus*, включающий в себя 10 видов, которые в основном ассоциированы с разными видами иксодовых клещей. Неклассифицированные чувирусные последовательности были обнаружены в головоногих моллюсках, термитах и черепахах. Семейство *Chuviridae* является самым большим в порядке *Jingchuvirales*, который родственен порядку *Mononegavirales*, объединяющему многие хорошо известные (−)РНК-содержащие вирусы [17].

Согласно биоинформатическим данным, представители *Chuviridae* – это вирусы с одноцепочечной (−)РНК, которые кодируют от 2 до 4 открытых рамок считывания, включая полимеразу, гликопротеин и нуклеопротеин. Геномы разных представителей *Chuviridae* могут быть линейными или кольцевыми, сегментированными или несегментированными [17].

Культура клеток HAE/CTVM8 была получена из клещей *Hyalomma anatolicum* [9] и рутинно используется для изоляции и поддержания различных вирусов [8, 18–20]. При этом на данный момент остается неизвестным, содержит ли эта культура какие-либо персистирующие вирусы. Имеются лишь некоторые данные, позволяющие предположить присутствие неизвестных найроподобных вирусов в этой культуре клеток [10].

Цель работы – изучение клеточной линии HAE/CTVM8 с помощью высокопроизводительного секвенирования с целью поиска вирусов в ней.

Материалы и методы

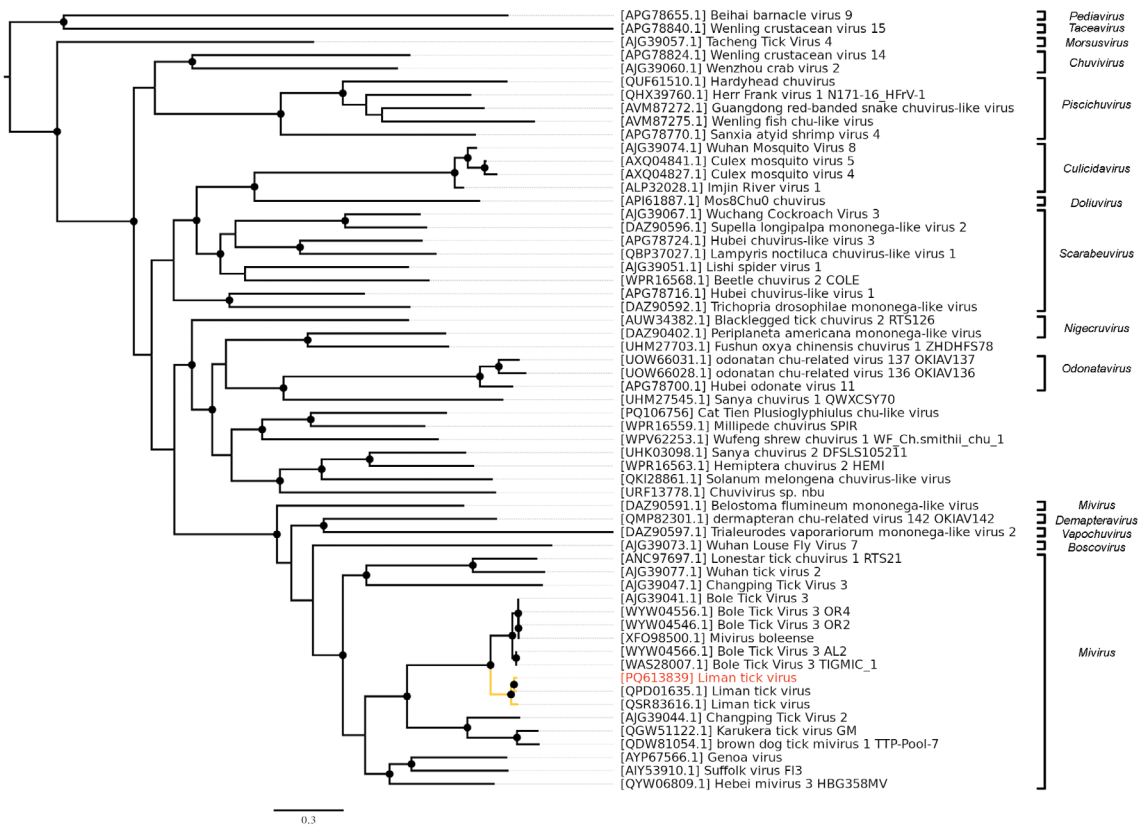
Клетки HAE/CTVM8 культивировали в среде L-15 (ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), Россия) с 10% триптоз-фосфатного бульона (Difco, США), 20% фетальной бычьей сывороткой (Gibco, США), 2 мМ L-глутамина и антибиотиками, согласно ранее описанной методике [21]. Культуральную жидкость собирали и проводили осветление центрифугированием при 10 000 об/мин в течение 30 мин при +4 °C с использованием ротора SW-28 на центрифуге Optima L-90K Ultracentrifuge (Beckman Coulter, США). После этого супернатант ультрацентрифугировали при 25 000 об/мин в течение 6 ч при +4 °C в том же роторе и центрифуге.

Для проведения высокопроизводительного секвенирования осадок после ультрацентрифугирования растворяли в 200 мкл PBS. Выделение РНК проводили с помощью RNeasy Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Германия). Реакцию обратной транскрипции проводили со случайным гексануклеотидным праймером, используя RevertAid (ThermoFisher Scientific, США). Далее осуществляли синтез второй цепи при помощи набора NEBNext Ultra II Non-Directional RNA Second Strand Synthesis Module (NEB, США). Полученную ДНК очищали с использованием Ampure XP (Beckman Coulter, США). Библиотеки готовили с использованием набора NEBNext Fast DNA Library Prep Set for Ion Torrent (NEB, США) и секвенировали на приборе Ion S5XL с использованием чипа Ion 530 Chip.

Полученные прочтения фильтровали по длине (не менее 35 нт) и качеству (Q20) с использованием программы Trimmomatic v. 0.39 [22]. Качество прочтений проверяли с помощью программы FaQCs [23]. Обработанные прочтения собирали в контиги с помощью программы SPAdes v. 3.13.0 используя опцию «-rnaviral». Полученные контиги фильтровали от последовательностей с низкой сложностью и заведомо невирусных последовательностей по ранее описанной методике [24]. В оставшихся контигах поиск вируссодержащих контигов выполняли по ранее описанной методике [24]. Для улучшения полученной сборки и отсечения возможных ошибок было дополнительно проведено картирование прочтений с использованием в качестве референсного генома Liman tick virus (номер GenBank MN542376) в программе Ugene v. 50.0 [25].

Для филогенетического анализа были получены полные аминокислотные последовательности белка L (РНК-полимеразы семейства *Chuviridae*) для выявленного вируса, все полные последовательности белка L LMTV, доступные в базе данных GenBank, несколько выбранных представителей *Mivirus boleense*, а также представители родов и филогенетических клад, входящих в семейство *Chuviridae*. Последовательности выравнивали с помощью программы MAFFT v. 7.310, используя алгоритм E-INS-i [26]. Неопределенно выравненные участки обрезали при

а/a



б/b

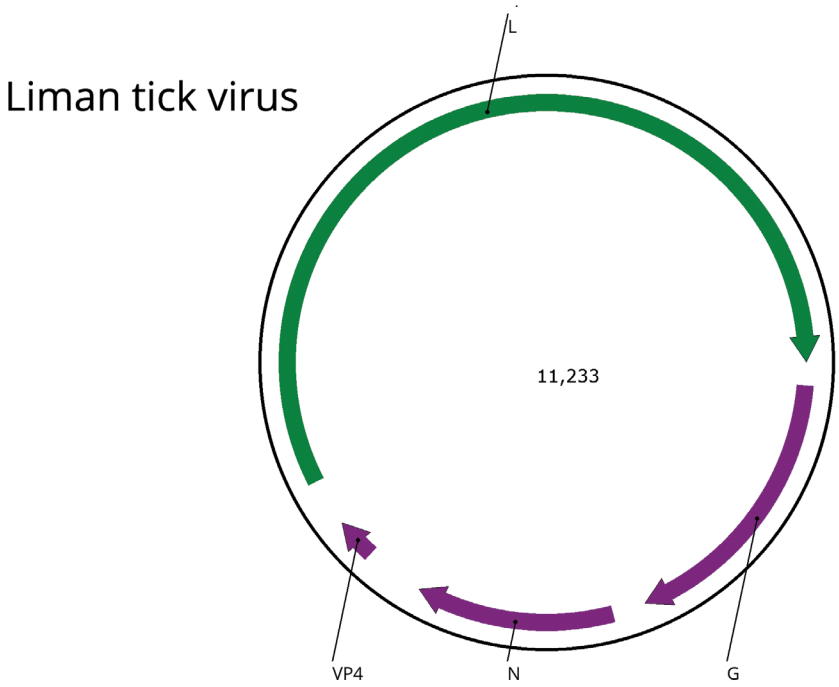


Рисунок. Структура генома и филогенетические взаимоотношения вируса Liman tick.

а – укорененное в среднюю точку филогенетическое дерево семейства *Chuviridae*. Дерево было построено методом максимального правдоподобия с использованием аминокислотных последовательностей РНК-зависимой РНК-полимеразы (1000 реплик bootstrap; указаны узлы с поддержкой bootstrap ≥ 85%). Шкала представляет количество аминокислотных замен на сайт. Клада Liman tick вирусов выделена желтым цветом. Liman tick вирус, обнаруженный в данной работе, выделен красным цветом; *б* – схема генома Liman tick вируса. Открытые рамки считывания (ОРС) показаны фиолетовым цветом. ОРС, кодирующая вирусную полимеразу, отмечена зеленым цветом.

Figure. Genomic structure and phylogenetic relationships of the Liman tick virus.

a – Midpoint-rooted phylogenetic tree of the family *Chuviridae*. Maximum-likelihood phylogenetic tree was constructed using the amino acid sequences of the RdRp (1000 bootstrap replicates; nodes with ≥ 85% bootstrap support are indicated). The scale bar represents the number of amino acid substitutions per site. The Liman tick viruses clade is marked in yellow. Liman tick virus detected in the current work marked in red; *b* – Scheme of the Liman tick virus genome. ORFs are shown in purple. The RdRp-encoding ORF is marked in green.

помощи программы TrimAL v. 1.4. rev 15 с автоматической детекцией [27]. Филогенетическое дерево было построено при помощи метода максимального правдоподобия в программе IQ-TREE v. 2.3.2 [28] с 1000 bootstrap-реплик и автоматической детекцией модели замен [29]. Филогенетические деревья визуализировали в программе FigTree v. 1.4.4. Геном был аннотирован вручную и визуализировался при помощи инструмента GenomeDrawing (https://github.com/justNo4b/GenomeDrawing).

Результаты

В ходе работы было выполнено высокопроизводительное секвенирование транскриптома культуральной жидкости чистой культуры клеток HAE/CTVM8, полученной из клещей *H. anatolicum*. В результате фильтрования прочтений по длине и качеству было получено 2,2 млн прочтений. Последующая обработка данных позволила выявить в полученных прочтениях присутствие генома одного вируса. Предварительный анализ показал, что данный вирус генетически близок к LMTV: 92,5% сходства по нуклеотидному составу полного генома, согласно программе blastn.

Детальный анализ сборки генома и сравнение его с референсным позволило установить, что в нашем случае имеются прямые повторы на концах контига, что свидетельствует о кольцевой природе генома LMTV. Это неоднократно описано для представителей семейства *Chuviridae* [17] и показано ранее для LMTV [30]. Таким образом, нам удалось собрать полный геном данного вируса. Карта генома представлена **рисунке** (*б*). Геном вируса был выложен в международной базе GenBank под номером PQ613839.

Количество прочтений LMTV в образце является достаточно большим – 2,42% относительно общего количества прочтений, что является косвенным показателем того, что вирус активно реплицируется при персистенции в культуре клеток HAE/CTVM8.

Филогенетический анализ, выполненный по последовательностям РНК-зависимой РНК-полимеразы, показал, что обнаруженный вирус оказался близким родственником и формировал монофилетическую группу с другими изолятами LMTV из клещей рода *Hyalomma.* Сама группа LMTV формировала монофилетическую группу с изолятами Bole tick virus 3 (*Mivirus boleense*) и попадала в род *Mivirus* (**рисунок** (*а*)).

Обсуждение

Культура клеток HAE/CTVM8 рутинно используется для вирусологических исследований [8, 18–20]. Несмотря на то что, по некоторым данным, эта культура содержит персистирующие вирусы [10], их геномы до сих пор оставались неизвестными, а сама культура не была исследована при помощи современных подходов. Ранее мы описали наличие трех рабдовирусов в культуре клеток IRE/CTVM19 [12].

В настоящей работе, применив схожую методику, мы обнаружили геном LMTV в культуре клеток HAE/CTVM8, которая была получена в 1991 г., что свидетельствует о долговременном присутствии LMTV в этой системе. При этом поскольку собранный геном является полным и кольцевым, встроенность его в геном хозяина крайне маловероятна. Настоящее исследование подтверждает эффективность метагеномного подхода в характеристике вновь полученных культур клеток.

Геном LTMV был впервые обнаружен в клещах *H. anatolicum*, собранных в Лиманском районе Астраханской области Российской Федерации, и опубликован в GenBank в 2020 г. д-ром Альховским и соавт. (MN542376.1). Позднее новый изолят этого вируса был обнаружен в клещах *H. rufipes*, собранных с верблюдов в Garrisa County (Кения). Более того, у одного из исследованных верблюдов были обнаружены антитела к LMTV, а сам вирус – в крови [30]. Эти данные указывают на то, что этот вирус может быть арбовирусом.

Согласно биоинформатическим данным, чувирусы обладают чрезвычайно интересной биологией, поскольку включают в себя вирусы с кольцевой одноцепочечной (−)РНК. При этом репликация и строение вириона представителей семейства *Chuviridae* остаются неизученными [17]. Таким образом, культура клеток HAE/CTVM8 является готовой моделью для изучения репликации и биологии семейства *Chuviridae*.

Хорошо описаны примеры, когда присутствие одного вируса в культуре клеток оказывает существенное влияние на размножение других – как близкородственных, так и филогенетически удаленных вирусов [31–33]. Пока остается неясным, как LMTV может взаимодействовать с другими вирусами, однако наличие данного вируса в культуре клеток HAE/CTVM8, несомненно, следует учитывать при проведении дальнейших экспериментов.

Заключение

Полученная в настоящем исследовании информация крайне важна для использования культуры клеток HAE/CTVM8 в научных исследованиях и изоляции новых вирусов. Клеточная линия HAE/CTVM8 с персистирующим в ней LMTV представляет собой готовую систему для изучения репродукции представителей семейства *Chuviridae*.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Marques A.R., Strle F., Wormser G.P. Comparison of Lyme disease in the United States and Europe. *Emerg. Infect. Dis*. 2021; 27(8): 2017–24. https://doi.org/10.3201/eid2708.204763
2. Ruzek D., Avšič Županc T., Borde J., Chrdle A., Eyer L., Karganova G., et al. Tick-borne encephalitis in Europe and Russia: Review of pathogenesis, clinical features, therapy, and vaccines. *Antiviral. Res*. 2019; 164: 23–51. https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2019.01.014
3. Bell-Sakyi L., Zweygarth E., Blouin E.F., Gould E.A., Jongejan F. Tick cell lines: tools for tick and tick-borne disease research. *Trends. Parasitol*. 2007; 23(9): 450–7. https://doi.org/10.1016/j.pt.2007.07.009
4. Mangia C., Vismarra A., Kramer L., Bell-Sakyi L., Porretta D., Otranto D., et al. Evaluation of the in vitro expression of ATP binding-cassette (ABC) proteins in an Ixodes ricinus cell line exposed to ivermectin. *Parasit. Vectors*. 2016; 9: 215. https://doi.org/10.1186/s13071-016-1497-2
5. Kholodilov I.S., Litov A.G., Klimentov A.S., Belova O.A., Polienko A.E., Nikitin N.A., et al. Isolation and characterisation of Alongshan virus in Russia. *Viruses*. 2020; 12(4): 362. https://doi.org/10.3390/v12040362

6. Palomar A.M., Premchand-Branker S., Alberdi P., Belova O.A., Moniuszko-Malinowska A., Kahl O., et al. Isolation of known and potentially pathogenic tick-borne microorganisms from European ixodid ticks using tick cell lines. *Ticks Tick Borne Dis*. 2019; 10(3): 628–38. https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.02.008
7. Husin N.A., Khoo J.J., Zulkifli M.M.S., Bell-Sakyi L., AbuBakar S. Replication kinetics of Rickettsia raoultii in tick cell lines. *Microorganisms*. 2021; 9(7): 1370. https://doi.org/10.3390/microorganisms9071370
8. Salata C., Moutailler S., Attoui H., Zweygarth E., Decker L., Bell-Sakyi L. How relevant are in vitro culture models for study of tick-pathogen interactions? *Pathog. Glob. Health*. 2021; 115(7-8): 437–55. https://doi.org/10.1080/20477724.2021.1944539
9. Bell-Sakyi L. Continuous cell lines from the tick Hyalomma anatolicum anatolicum. *J. Parasitol*. 1991; 77(6): 1006–8.
10. Alberdi M.P., Dalby M.J., Rodriguez-Andres J., Fazakerley J.K., Kohl A., Bell-Sakyi L. Detection and identification of putative bacterial endosymbionts and endogenous viruses in tick cell lines. *Ticks TickBorne.Dis*. 2012; 3(3): 137–46. https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.05.002
11. Attoui H., Stirling J.M., Munderloh U.G., Billoir F., Brookes S.M., Burroughs J.N., et al. Complete sequence characterization of the genome of the St Croix River virus, a new orbivirus isolated from cells of Ixodes scapularis. *J. Gen. Virol*. 2001; 82(Pt. 4): 795–804. https://doi.org/10.1099/0022-1317-82-4-795
12. Litov A.G., Shchetinin A.M., Kholodilov I.S., Belova O.A., Gadzhikurbanov M.N., Ivannikova A.Y., et al. High-throughput sequencing reveals three rhabdoviruses persisting in the IRE/CTVM19 cell line. *Viruses*. 2024; 16(4): 576. https://doi.org/10.3390/v16040576
13. Harvey E., Rose K., Eden J.S., Lo N., Abeyasuriya T., Shi M., et al. Extensive diversity of RNA viruses in Australian ticks. *J. Virol*. 2019; 93(3): e01358–18. https://doi.org/10.1128/JVI.01358-18
14. Li C.X., Shi M., Tian J.H., Lin X.D., Kang Y.J., Chen L.J., et al. Unprecedented genomic diversity of RNA viruses in arthropods reveals the ancestry of negative-sense RNA viruses. *Elife*. 2015; 4: e05378. https://doi.org/10.7554/eLife.05378
15. Ni X.B., Cui X.M., Liu J.Y., Ye R.Z., Wu Y.Q., Jiang J.F., et al. Metavirome of 31 tick species provides a compendium of 1,801 RNA virus genomes. *Nat. Microbiol*. 2023; 8(1): 162–73. https://doi.org/10.1038/s41564-022-01275-w
16. Shi M., Lin X.D., Tian J.H., Chen L.J., Chen X., Li C.X., et al. Redefining the invertebrate RNA virosphere. *Nature*. 2016; 540(7634): 539–43. https://doi.org/10.1038/nature20167
17. Kuhn J.H., Dheilly N.M., Junglen S., Paraskevopoulou S., Shi M., Di Paola N. ICTV virus taxonomy profile: Jingchuvirales 2023. *J. Gen. Virol*. 2023; 104(12): 001924. https://doi.org/10.1099/jgv.0.001924
18. Kholodilov I.S., Belova O.A., Ivannikova A.Y., Gadzhikurbanov M.N., Makenov M.T., Yakovlev A.S., et al. Distribution and characterisation of tick-borne flavi-, flavi-like, and phenuiviruses in the Chelyabinsk region of Russia. *Viruses*. 2022; 14(12): 2699. https://doi.org/10.3390/v14122699
19. Salata C., Monteil V., Karlberg H., Celestino M., Devignot S., Leijon M., et al. The DEVD motif of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus nucleoprotein is essential for viral replication in tick cells. *Emerg. Microbes Infect*. 2018; 7(1): 190. https://doi.org/10.1038/s41426-018-0192-0
20. Salvati M.V., Salaris C., Monteil V., Del Vecchio C., Palù G., Parolin C., et al. Virus-derived DNA forms mediate the persistent infection of tick cells by Hazara virus and Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J. Virol*. 2021; 95(24): e0163821. https://doi.org/10.1128/JVI.01638-21
21. Kholodilov I.S., Belova O.A., Morozkin E.S., Litov A.G., Ivannikova A.Y., Makenov M.T., et al. Geographical and tick-dependent distribution of flavi-like Alongshan and Yanggou tick viruses in Russia. *Viruses*. 2021; 13(3): 458. https://doi.org/10.3390/v13030458
22. Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*. 2014; 30(15): 2114–20. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170
23. Lo C.C., Chain P.S. Rapid evaluation and quality control of next generation sequencing data with FaQCs. *BMC Bioinformatics*. 2014; 15(1): 366. https://doi.org/10.1186/s12859-014-0366-2
24. Litov A.G., Semenyuk I.I., Belova O.A., Polienko A.E., Thinh N.V., Karganova G.G., et al. Extensive diversity of viruses in millipedes collected in the Dong Nai biosphere reserve (Vietnam). *Viruses*. 2024; 16(9): 1486. https://doi.org/10.3390/v16091486
25. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*. 2012; 28(8): 1166–7. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091
26. Katoh K., Standley D.M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol. Biol. Evol*. 2013; 30(4): 772–80. https://doi.org/10.1093/molbev/mst010
27. Capella-Gutiérrez S., Silla-Martínez J.M., Gabaldón T. trimAl: a tool for automated alignment trimming in large-scale phylogenetic analyses. *Bioinformatics*. 2009; 25(15): 1972–3. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp348
28. Nguyen L.T., Schmidt H.A., von Haeseler A., Minh B.Q. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol. Biol. Evol*. 2015; 32(1): 268–74. https://doi.org/10.1093/molbev/msu300
29. Kalyaanamoorthy S., Minh B.Q., Wong T.K.F., von Haeseler A., Jermiin L.S. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nat. Methods*. 2017; 14(6): 587–9. https://doi.org/10.1038/nmeth.4285
30. Zhang Y., Hu B., Agwanda B., Fang Y., Wang J., Kuria S., et al. Viromes and surveys of RNA viruses in camel-derived ticks revealing transmission patterns of novel tick-borne viral pathogens in Kenya. *Emerg. Microbes Infect*. 2021; 10(1): 1975–87. https://doi.org/10.1080/22221751.2021.1986428
31. Abrao E.P., da Fonseca B.A. Infection of mosquito cells (C6/36) by Dengue-2 virus interferes with subsequent infection by yellow fever virus. *Vector. Borne Zoonotic Dis*. 2016; 16(2): 124–30. https://doi.org/10.1089/vbz.2015.1804
32. Kuwata R., Isawa H., Hoshino K., Sasaki T., Kobayashi M., Maeda K., et al. Analysis of mosquito-borne flavivirus superinfection in Culex tritaeniorhynchus (Diptera: Culicidae) cells persistently infected with Culex flavivirus (Flaviviridae). *J. Med. Entomol*. 2015; 52(2): 222–9. https://doi.org/10.1093/jme/tju059
33. Patterson E.I., Kautz T.F., Contreras-Gutierrez M.A., Guzman H., Tesh R.B., Hughes G.L., et al. Negeviruses reduce replication of alphaviruses during coinfection. *J. Virol*. 2021; 95(14): e0043321. https://doi.org/10.1128/JVI.00433-21

Информация об авторах:

Литов Александр Геннадьевич✉ – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биологии арбовирусов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), Москва, Россия. E-mail: novosti-wxo@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0002-6086-3655

Щетинин Алексей Михайлович – научный сотрудник лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: shchetinin.alexey@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0003-1842-3899

Холодилов Иван Сергеевич – канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биологии арбовирусов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), Москва, Россия. E-mail: ivan-kholodilov@bk.ru; https://orcid.org/0000-0002-3764-7081

Белова Оксана Андреевна – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биологии арбовирусов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), Москва, Россия. E-mail: mikasusha@bk.ru; https://orcid.org/0000-0002-9040-0774

Калянова Анна Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории биологии арбовирусов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), Москва, Россия. E-mail: annakalyanova@bk.ru; https://orcid.org/0009-0003-1154-3852

Гущин Владимир Алексеевич – д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: wowaniada@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-9397-3762

Карганова Галина Григорьевна – д-р биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией биологии арбовирусов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), Москва, Россия. E-mail: karganova@bk.ru; https://orcid.org/0000-0002-8901-6206

Участие авторов: Литов А.Г. – концептуализация, формальный анализ, подготовка статьи, рецензирование и научное редактирование, визуализация; Щетинин А.М. – формальный анализ, проведение исследования, рецензирование и научное редактирование, визуализация; Холодилов И.С. – проведение исследования, подготовка статьи, рецензирование и научное редактирование; Белова О.А. – проведение исследования, рецензирование и научное редактирование; Калянова А.С. – проведение исследования, подготовка статьи, рецензирование и научное редактирование; Гущин В.А. – администрирование проекта, ресурсы; Карганова Г.Г. – администрирование проекта, концептуализация, рецензирование и редактирование.

Поступила 10.12.2024
Принята в печать 04.02.2025
Опубликована 30.04.2025

Information about the authors:

Alexander G. Litov✉ – PhD, leading researcher in Laboratory of Biology of Arboviruses, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of RAS (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia. E-mail: novosti-wxo@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0002-6086-3655

Alexey M. Shchetinin – researcher in Pathogenic Microorganisms Variability Laboratory, Gamaleya Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: shchetinin.alexey@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0003-1842-3899

Ivan S. Kholodilov – MD, PhD, leading researcher in Laboratory of Biology of Arboviruses, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of RAS (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia. E-mail: ivan-kholodilov@bk.ru; https://orcid.org/0000-0002-3764-7081

Oxana A. Belova – PhD, leading researcher in Laboratory of Biology of Arboviruses, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of RAS (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia. E-mail: mikasusha@bk.ru; https://orcid.org/0000-0002-9040-0774

Anna S. Kalyanova – junior researcher in Laboratory of Biology of Arboviruses, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of RAS (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia. E-mail: annakalyanova@bk.ru; https://orcid.org/0009-0003-1154-3852

Vladimir A. Gushchin – Doctor of Biological Sciences, leading researcher and head of Pathogenic Microorganisms Variability Laboratory, Gamaleya Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: wowaniada@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-9397-3762

Galina G. Karganova – Doctor of Biological Sciences, professor, leading researcher and head of Laboratory of Biology of Arboviruses, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of RAS (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia. E-mail: karganova@bk.ru; https://orcid.org/0000-0002-8901-6206

Contribution: Litov A.G. – conceptualization, formal analysis, original draft preparation, review and editing, visualization; Shchetinin A.M. – formal analysis, investigation, review and editing, visualization; Kholodilov I.S. – investigation, review and editing, original draft preparation; Belova O.A. – investigation, review and editing; Kalyanova A.S. – investigation, original draft preparation, review and editing; Gushchin V.A. – project administration, resources; Karganova G.G. – project administration, conceptualization, review and editing.

Received 10 December 2024
Accepted 04 February 2025
Published 30 April 2025

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-288
© НАЙДЕНОВА Е.В., КАРТАШОВ М.Ю., ШУЛЬГИНА И.С., ПЬЯНКОВ С.А., КУЛАГИН М.А., БА М.Б., НУРДИН И., Н'ФАЛЛИ М., КОНОМУ В., ТРАОРЕ М.З., БУМБАЛИ С., КУТЫРЕВ В.В., 2025

Результаты выявления специфических антител класса IgG к возбудителю болезни, вызванной вирусом Эбола (Filoviridae: *Orthoebolavirus*), у жителей Гвинейской Республики после завершения эпидемии

Найденова Е.В.[1]✉, Карташов М.Ю.[2], Шульгина И.С.[2], Пьянков С.А.[2], Кулагин М.А.[1], Ба М.Б.[3], Нурдин И.[4], Н'Фалли М.[4], Коному В.[5], Траоре М.З.[3], Бумбали С.[4], Кутырев В.В.[1]

[1]ФКУН Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, 410005, г. Саратов, Россия;
[2]ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, 630559, п.г.т. Кольцово, Новосибирская обл., Россия;
[3]Исследовательский институт прикладной биологии Гвинеи, г. Киндиа, Гвинейская Республика;
[4]Лаборатория вирусных геморрагических лихорадок, г. Конакри, Гвинейская Республика;
[5]Научный клинико-диагностический центр эпидемиологии и микробиологии, г. Киндиа, Гвинейская Республика

Резюме
Введение. В 2014–2016 гг. на территории Гвинеи была зарегистрирована эпидемия болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ). В 2021 г. случаи БВВЭ в регионе повторились. Важность изучения длительности постинфекционного иммунитета к вирусу Эбола в организме реконвалесцентов обусловлена тем, что после завершения эпидемии эти лица могут являться основными источниками заражения. Один из показателей циркуляции возбудителя на определенной территории – обнаружение специфических иммуноглобулинов класса G (IgG) в сыворотках крови населения.
Цель работы – выявление антител класса IgG к вирусу Эбола в сыворотках крови переболевших и практически здоровых жителей Гвинейской Республики после завершения эпидемии.
Материалы и методы. Методом иммуноферментного анализа протестированы сыворотки крови 9 пациентов, проходивших лечение в госпитале НКДЦЭМ (г. Киндиа, Гвинея), взятые после окончания болезни и до 72 мес после выздоровления, и 3939 проб крови практически здоровых жителей Гвинеи.
Результаты. Антитела класса IgG в сыворотках крови переболевших через месяц после выздоровления выявляли в титре до 1 : 800. К 12 мес уровень антител снизился до 1 : 100 и держался на таком уровне до 48 мес. После 72 мес наблюдений антитела не регистрировались. Из 3939 образцов крови здоровых жителей антитела класса IgG к вирусу Эбола выявлены в 5,6%. Бóльшая часть положительных образцов собрана в Лесной Гвинее (7,7%), а меньшая – в Верхней (4,5%). Максимальное количество позитивных проб выявлено у лиц старше 70 лет (12,3%).
Заключение. В настоящем исследовании высокий уровень постинфекционного иммунитета в сыворотках крови переболевших БВВЭ сохранялся первые 6 мес, что соответствует данным, полученным другими авторами, и не исключает возможность повторного заражения. Самый высокий уровень иммунной прослойки населения зарегистрирован в Лесной Гвинее. Это может свидетельствовать об активной циркуляции возбудителя и постоянном контакте с ним жителей региона, что приводит к эпидемиологическим осложнениям.

Ключевые слова: *иммуноглобулины класса IgG; болезнь, вызванная вирусом Эбола; вирус Эбола; иммунная прослойка; Гвинейская Республика; иммуноферментный анализ*

Для цитирования: Найденова Е.В., Карташов М.Ю., Шульгина И.С., Пьянков С.А., Кулагин М.А., Ба М.Б., Нурдин И., Н'Фалли М., Коному В., Траоре М.З., Бумбали С., Кутырев В.В. Результаты выявления специфических антител класса IgG к возбудителю болезни, вызванной вирусом Эбола (Filoviridae: *Orthoebolavirus*), у жителей Гвинейской Республики после завершения эпидемии. *Вопросы вирусологии*. 2025; 70(2): 154–163. DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-288 EDN: https://elibrary.ru/ukfplk

Финансирование. Исследования проводили в рамках реализации федерального проекта «Санитарный щит – безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)»: «Экстерриториальный мониторинг инфекционных угроз на базе Центра Всемирной организации здравоохранения по реагированию на эпидемии и сети центров за рубежом – Научно-методическое и практическое взаимодействие на базе Российско-Гвинейского Центра».
Благодарность. Авторский коллектив выражает благодарность за помощь в сборе образцов биологического материала руководству и сотрудникам региональных госпиталей городов Конакри (Conakry), Боке (Boké), Боффа (Boffa), Телимеле (Télimélé), Коя (Coyah), Маму (Mamou), Киндиа (Kindia), Лабе (Labé), Нзерекоре (NZérékoré), Гекеду (Guékédou), Лола (Lola), Сигири (Siguiri), Канкан (Kankan), Дабола (Dabola), Далаба (Dalaba), Пита (Pita), Фарана (Faranah), а также госпиталя НКДЦЭМ (Гвинейская Республика).
Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов или законных представителей несовершеннолетних пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Гвинеи (протокол № 129/CNERS/16 от 31.08.2015).

ORIGINAL STUDY ARTICLE
DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-288

The results of the detection of specific IgG antibodies to Ebola virus (Filoviridae: *Orthoebolavirus*) in residents of the Republic of Guinea after the end of the epidemic

Ekaterina V. Naidenova[1]✉, Mikhail Yu. Kartashov[2], Irina S. Shulgina[2], Stepan A. Pyankov[2], Maksim A. Kulagin[1], Mamadou B. Bah[3], Ibrahim Nourdine[4], Magassouba N'Faly[4], Victor Konomou[5], Mohamed S. Traore[3], Sanaba Boumbaly[4], Vladimir V. Kutyrev[1]

[1]Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe» of the Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rospotrebnadzor), 410005, Saratov, Russia;
[2]State Scientific Center of Virology and Biotechnology «Vector» of the Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rospotrebnadzor), 630559, Novosibirsk Region, Kol'tsovo, Russia;
[3]Research Institute of Applied Biology of Guinea, Kindia, Republic of Guinea;
[4]Virological Research Center, Laboratory of Viral Hemorrhagic Fevers of Guinea, Conakry, Republic of Guinea;
[5]Scientific Clinical and Diagnostic Center of Epidemiology and Microbiology, Kindia, Republic of Guinea

Abstract
Introduction. In 2014–2016, an epidemic of Ebola virus disease (EVD) was registered in Guinea. In 2021, EVD cases were repeated in the region. The importance of studying the duration of post-infection immunity to the Ebola virus in the body of convalescents is due to the fact that after the end of the epidemic they can be the main sources of infection. One of the indicators of the pathogen circulation in a certain area is the detection of specific IgG antibodies in the blood sera of the inhabitants.
The aim of the study is to identify IgG immunoglobulins to Ebola virus in the blood sera of reconvalescents and practically healthy residents of the Republic of Guinea after the end of the epidemic.
Materials and methods. The ELISA method was used to test the blood sera of 9 patients treated at the NKDCEM hospital (Kindia), collected after the end of the disease and up to 72 months after recovery, and 3939 blood serum samples from practically healthy residents of Guinea.
Results. IgG antibodies in the blood sera of reconvalescents a month after recovery were detected in a titer of up to 1 : 800. By 12 months, the antibody level decreased to 1 : 100 and remained at this level for up to 48 months. After 6 years of observation, no antibodies were registered. Among the 3939 blood samples from healthy residents, IgG immunoglobulins to the Ebola virus were detected in 5.6%. Most of the positive samples were collected in Forest Guinea (7.7%), and a smaller part in Upper Guinea (4.5%). The maximum percentage of positive samples was detected in people over 70 years of age (12.3%).
Conclusion. In our case, it was shown that a high level of post-infection immunity in the blood sera of patients with EVD persists for the first 6 months, this corresponds to the data obtained by other authors, and does not exclude the possibility of re-infection. The highest level of the seroprevalence is registered in Forest Guinea. This indicates the active circulation of the pathogen and the constant contact of the inhabitants of the region with it, which leads to epidemiological complications.

Keywords: *IgG class immunoglobulins; Ebola virus disease; Ebola virus; immune layer; Republic of Guinea; ELISA*

For citation: Naidenova E.V., Kartashov M.Yu., Shulgina I.S., Pyankov S.A., Kulagin M.A., Bah M.B., Nourdine I., N'Fally M., Konomou V., Traore M.S., Boumbaly S., Kutyrev V.V. The results of the detection of specific IgG antibodies to Ebola virus (Filoviridae: *Orthoebolavirus*) in residents of the Republic of Guinea after the end of the epidemic. *Problems of Virology* (*Voprosy Virusologii*). 2025; 70(2): 154–163.
DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-288 EDN: https://elibrary.ru/ukfplk

Funding. The research was conducted within the framework of the Federal Project «Sanitary Shield – Health Safety (Prevention, Detection, Response)»: Extraterritorial Monitoring of Infectious Threats Based on the World Health Organization Center for Epidemic Response and the Network of Centers Abroad – Scientific, Methodological and Practical Interaction Based on the Russian-Guinean Center.
Acknowledgment. The authors would like to thank the management and staff of the regional hospitals of Conakry, Boké, Boffa, Télimélé, Coyah, Mamou, Kindia, Labé, Nzérékoré, Guékédou, Lola, Siguiri, Kankan, Dabola, Dalaba, Pita, Faranah, as well as the hospital of the National Center for Epidemiology and Microbiology (Republic of Guinea) for their assistance in collecting biological material samples.
Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Ethics approval. The study was conducted with the voluntary informed consent of patients or legal representatives of minor patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of Guinea (Protocol No. 129/CNERS/16 dated 31 August 2015).

Введение

Болезнь, вызванная вирусом Эбола (БВВЭ), или лихорадка Эбола, известна с 1976 г., когда первые документально подтвержденные случаи были зарегистрированы на границе Южного Судана и северного Заира (в настоящее время – Демократическая Республика Конго (ДРК)). В течение последующих десятилетий были зафиксированы периодические вспышки болезни в странах Центральной Африки (ДРК, Судан, Габон, Уганда). Общее количество больных в те годы составило 2433 человека, летальность в среднем – 65% [1, 2].

Ситуация резко изменилась в декабре 2013 г., когда БВВЭ в короткие сроки охватила 3 страны Западной Африки (Гвинея, Либерия, Сьерра-Леоне), где ранее случаев заболевания не было. К 2014 г. вспышка инфекции достигла масштабов эпидемии, которая завершилась только в июне 2016 г. Общее количество больных, выявленных во время этих событий, составило около 28 тыс. человек, более 11 тыс. из которых погибли. При проведении молекулярно-генетических исследований установлено, что вирус Эбола (Filoviridae: *Orthoebolavirus, Orthoebolavirus zairense*), явившийся причиной чрезвычайной ситуации международного масштаба, был занесен из Центральной Африки, но пути заноса так и не удалось выяснить[1] [2].

В начале 2021 г. правительство Гвинейской Республики объявило о новой вспышке БВВЭ, зафиксированной на территории страны, когда лабораторными методами было подтверждено 16 случаев, 12 из которых закончились летальным исходом [3, 4]. При изучении генетических последовательностей вируса Эбола, выделенных во время этих событий, было установлено, что их профиль практически не отличается от штаммов, обнаруженных в 2013–2016 гг., и находится с ними в одном филогенетическом кластере. Эти данные позволили сделать предположение о длительной персистенции вируса в организме людей, перенесших БВВЭ [5].

В связи с вышесказанным актуальным является вопрос о длительности полученного иммунитета у переболевших лиц. Необходимость определения сроков циркуляции специфических иммуноглобулинов класса G (IgG) к вирусу Эбола в организме реконвалесцентов подчеркивается тем, что после завершения эпидемии именно эти лица могут являться основными источниками инфекции, сохраняя способность передавать возбудитель с грудным молоком или семенной жидкостью [6–8]. Также имеются сведения о повторном инфицировании вирусом Эбола двух пациентов в Конго. Заражение произошло через 11 и через 5 мес после первичного заболевания. Вирусный менингоэнцефалит, который развился у обоих пациентов, привел к летальным исходам. Было высказано предположение, что жизнеспособный вирус мог сохраниться в центральной нервной системе переболевших. В обоих случаях во время повторного заболевания БВВЭ в первые несколько дней после появления клинических признаков инфекции в сыворотке крови и спинномозговой жидкости выявлены специфические антитела класса IgG [9]. Установлена высокая концентрация IgG к вирусу Эбола в сыворотках крови новорожденных в Либерии, родившихся от матерей, перенесших инфекцию [10].

Исследования, направленные на изучение длительности сохранения специфических антител в сыворотках крови переболевших БВВЭ, проводились в разные годы. При обследовании методом иммуноферментного анализа (ИФА) 29 жителей провинции Кикивит (ДРК), выживших после вспышки инфекции в 1995–1996 гг., было выявлено, что антитела к возбудителю в некоторых случаях сохранялись до 749 сут (срок наблюдения) [11]. Согласно экспериментальным данным, полученным с использованием микрочипа, устойчивые уровни специфических антител IgG к вирусным белкам GP, NP и VP40 в сыворотках крови переболевших БВВЭ сохранялись в течение 14 лет после заражения, но перекрестно реагировали и с другими филовирусами, использованными в исследовании [12]. В некоторых работах показано, что часть антител в сыворотке крови пациентов, перенесших БВВЭ, может нейтрализовать живой вирус и через 40 лет после заражения [13]. При массовом обследовании сывороток крови выживших после БВВЭ в Гвинейской Республике с использованием авторского варианта мультиплексного анализа, основанного на технологии Luminex, было показано, что наличие антител класса IgG к одному или нескольким антигенам вируса Эбола сохранялось до 60 мес наблюдения, хотя примерно у 25% исследованных лиц антитела не определялись. Это не исключает возможность снижения иммунитета населения и возникновения новых вспышек болезни в том же регионе [14]. Однако четких данных об уровне специфических антител, способном обеспечить защиту от последующих заражений ранее переболевших лиц, в доступных источниках найти не удалось.

Также известно, что одним из показателей циркуляции возбудителя на определенной территории является выявление антител класса IgG к возбудителю в сыворотках крови лиц, проживающих в данной местности. В разные периоды времени были проведены исследования по изучению иммунной прослойки

[1]Health worker Ebola infections in Guinea, Liberia and Sierra Leone Preliminary report. WHO/EVD/SDS/REPORT/2015.1 [Электронный ресурс]. URL. https://www.who.int/publications/i/item/WHO-EVD-SDS-REPORT-2015.1 (дата обращения 09.11.2024).

населения разных африканских стран к вирусу Эбола.

Например, в период с 1985 по 1987 г. при массовом обследовании жителей стран Центральной Африки (Габон, Камерун, Конго, Центральноафриканская Республика (ЦАР), Чад и Экваториальная Гвинея) с целью выявления специфических антител класса IgG к возбудителям вирусных геморрагических лихорадок, актуальных для данного региона, антитела к вирусу Эбола обнаружены в среднем в 12,4% образцов [15].

В последующие годы проведены еще несколько исследований среди населения стран, где были зафиксированы вспышки БВВЭ (ДРК и Габон) и где случаев заболевания на тот момент зарегистрировано не было (Камерун, ЦАР и Мали) [16–21].

При изучении образцов сывороток крови городских и сельских жителей провинции Киквит (ДРК), доля лиц, у которых были выявлены специфические антитела к вирусу Эбола, составила 2,2 и 9,3% соответственно [17]. С использованием метода ИФА было также проведено масштабное серологическое обследование сельского населения Габонской Республики, специфичные антитела класса IgG в данном случае были обнаружены в 15,3% случаев. Уровень иммунной прослойки оказался значительно выше для жителей лесных районов (19,4%), чем у лиц, проживающих в саванне [18].

Другими авторами с помощью непрямой иммунофлуоресценции было проверено наличие антител к вирусу Эбола у 1517 практически здоровых людей в 5 регионах Камеруна. Положительный результат был получен в 9,7% случаев, что подтверждает циркуляцию вируса в регионе при отсутствии клинических случаев. Самые высокие показатели были зафиксированы среди племен пигмеев, живущих в тропических лесах [20]. При проведении эпидемиологического мониторинга в ЦАР также было показано, что пигмеи имеют значительно более высокую серопревалентность к вирусу Эбола (7,02%), чем представители других этнических групп (4,2%) [20]. Исследования, проведенные в Мали, свидетельствуют о том, что население южной части страны, граничащей с Гвинеей и Кот-д'Ивуаром, также контактирует с представителями филовирусов (6,1% от общего количества исследованных проб) [21].

Первые данные по изучению иммунной прослойки к возбудителю БВВЭ населения некоторых регионов Гвинеи были начаты в 1982 г. на базе Советско-Гвинейской вирусологической и микробиологической лаборатории. Специфические антитела класса IgG к вирусу Эбола в тот период были обнаружены у 8% местных жителей, что подтверждало возможную циркуляцию возбудителя на данной территории [22, 23]. В 90-е гг. прошлого столетия исследования были прекращены в связи с закрытием лаборатории, и вопрос о распространении вируса Эбола на территории различных регионов Гвинеи так и остался не изученным.

После завершения эпидемии БВВЭ на территории Гвинейской Республики, в ликвидации которой принимали участие и российские специалисты, правительством Российской Федерации было принято решение об открытии Российско-Гвинейского научно-исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней (далее Центр), который функционирует на базе Института прикладной биологии Гвинеи в г. Киндиа (Гвинейская Республика) и имеет разрешение на работу с возбудителями I–II групп патогенности [24]. Исследования по выявлению специфических антител к вирусу Эбола были продолжены на базе лаборатории Центра.

Целью данной работы было выявление специфических антител класса IgG к вирусу Эбола в сыворотках крови переболевших, а также практически здоровых жителей Гвинейской Республики после завершения эпидемии БВВЭ.

Материалы и методы

Сбор образцов клинического и биологического материала и последующие исследования проводили на базе лаборатории Центра российские и гвинейские специалисты, прошедшие специальную подготовку и имеющие опыт работы с особо опасными вирусами, руководствуясь требованиями санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». Актуальных документов, в соответствии с которыми принято работать с возбудителями особо опасных инфекционных болезней в Гвинее, в настоящее время нет.

Сыворотки крови переболевших лиц и практически здоровых людей были получены в региональных госпиталях Гвинейской Республики местными специалистами. Забор крови производили в утренние часы натощак из локтевой вены в количестве 5–10 мл в одноразовую стерильную вакуумную пробирку с активатором образования сгустка для проведения иммуносерологических исследований и с 3,8% цитратом натрия – для молекулярно-генетических. В последующем образцы доставляли в лабораторию Центра с соблюдением условий биологической безопасности и температурного режима.

С целью изучения напряженности иммунитета после перенесенной БВВЭ был собран клинический материал от 9 пациентов (6 мужчин и 3 женщины) госпиталя Научного клинико-диагностического центра эпидемиологии и микробиологии (НКДЦЭМ) (г. Киндиа, Гвинейская Республика) [24], проходивших лечение в мае–июле 2015 г. Исследуемые лица с подтвержденным диагнозом БВВЭ получали только поддерживающую терапию, никакие экспериментальные препараты и иммунные сыворотки во время острой фазы инфекции не использовались. Образцы крови забирали после выписки пациентов при отсутствии клинических проявлений заболевания и двукратным (с разницей 48 ч) отрицательным результатом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), а затем через 1, 3, 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72 мес (примерно в одни и те же сроки, с разницей ± 5 сут) после начала заболевания (**табл. 1**). Всего за время проведения эксперимента было исследовано 88 образцов крови, т.к. на последнем этапе работы два участника выбыли.

Таблица 1. Выявление специфических антител класса IgG к вирусу Эбола в сыворотках крови пациентов госпиталя НКДЦЭМ в разные сроки от начала заболевания

Table 1. Detection of specific IgG antibodies to Ebola virus in the blood sera of patients at the SCDCEM hospital at different times from the onset of the disease

Пол Gender	Возраст (на момент начала заболевания), лет Age (at the time of the onset of the disease), years	Результаты выявления антител в зависимости от сроков наблюдения (месяцы ± 5 сут) Antibody detection results depending on the time of observation (months ± 5 days)									
		0*	1	3	6	12	24	36	48	60	72
M	33	1 : 800	1 : 400	1 : 200	1 : 200	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	н.и. / n.i.
M	28	1 : 400	1 : 400	1 : 400	1 : 200	1 : 100	1 : 100	1 : 100	0	0	0
M	45	1 : 400	1 : 400	1 : 400	1 : 200	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	0
M	25	1 : 400	1 : 400	1 : 400	1 : 200	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	0
M	30	1 : 800	1 : 800	1 : 400	1 : 200	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	0
M	26	1 : 400	1 : 400	1 : 200	1 : 200	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	н.и. / n.i.
Ж / F	30	1 : 800	1 : 400	1 : 400	1 : 200	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	0
Ж / F	22	1 : 1600	1 : 1600	1 : 800	1 : 400	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	0
Ж / F	49	1 : 400	1 : 400	1 : 400	1 : 200	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	0	0

Примечание. * – при выписке. Все пациенты с диагнозом БВВЭ, принимавшие участие в исследовании, проходили лечение в госпитале в мае–июле 2015 г.; н.и. – не исследовали.

Note. * – at discharge. All patients diagnosed with EVD who participated in the study were treated at the hospital in May–July 2015; n.t. – not tested.

Для определения уровня иммунной прослойки населения Гвинейской Республики к возбудителю БВВЭ была подготовлена панель из 3939 сывороток крови лиц, проживающих во всех 4 ландшафтно-географических зонах страны, из которых 1953 (49,6%) – женщины, а 1986 (50,4%) – мужчины (**табл. 2**). Материал для исследования был собран в 2022–2024 гг., т.е. после завершения эпидемии.

Все полученные образцы крови перед началом работы тестировали с помощью ОТ-ПЦР набором реагентов «АмплиСенс EBOV Zaire-FL» (ФБУН ЦНИИЭ, Россия) для выявления РНК вируса Эбола. Во всех случаях был получен отрицательный результат. Для исключения вероятности неспецифических реакций при экспериментальной работе сыворотки также исследовали методом иммунохроматографического анализа для обнаружения антигенов малярийных плазмодиев с применением диагностического препарата SDBIOLINE Malaria Ag P.f./Pan (Standart Diagnostics, Inc., Республика Корея). Образцы, содержащие антигены возбудителей малярии, из последующих исследований исключили.

Сыворотки, полученные от реконвалесцентов, изучали в разведениях от 1 : 100 до 1 : 3200, от практически здоровых лиц – в титре 1 : 100. Исследования проводили методом ИФА для выявления специфических антител класса IgG к вирусу Эбола с использованием набора реагентов «Вектор ИФА Эбола-АТ скрин» (РУ № РЗН 2015/3458; ГНЦ ВБ «Вектор», Российская Федерация). Диагностическая специфичность и чувствительность препарата была оценена во время эпидемии БВВЭ в Гвинейской Республике. В последующем, после прохождения всех этапов клинических и лабораторных испытаний, набор был официально зарегистрирован [25].

Проведение описываемой научной работы одобрено решением Этического комитета Гвинеи (протокол № 129/CNERS/16 от 31.08.2015). Материал забирали после подписания взрослыми пациентами информированного согласия, а у несовершеннолетних – после разрешения родителей или законных представителей. Практически здоровые лица, принимавшие участие в исследовании, дополнительно подтверждали, что в 2014–2016 гг. не были инфицированы вирусом Эбола, но не исключали контакт с дикими и домашними животными.

Результаты

В результате работы специфические антитела класса IgG к вирусу Эбола в сыворотках крови пациентов госпиталя через 1 мес после завершения болезни выявляли в титре от 1 : 200 до 1 : 800. К 12 мес уровень антител во всех образцах снизился до титра 1 : 100 и продолжал держаться до 48 мес, а после 6 лет (72 мес) наблюдений во всех случаях был получен отрицательный результат (табл. 1).

При исследовании 3939 образцов крови от практически здоровых жителей Гвинеи специфические антитела класса IgG к вирусу Эбола были выявлены в 222 случаях, что составило 5,6% (95% ДИ 4,9–6,4%). Из общего количества положительных проб 119 (53,6%) принадлежали мужчинам, а 103 (46,4%) – женщинам. Достоверной зависимости уровня иммунной прослойки от гендерной принадлежности обследованных лиц не выявлено. Максимальный процент позитивных проб был выявлен в возрастной группе лиц старше 70 лет (12,3% (95% ДИ 8,9–16,6%)), а минимальный – у жителей страны в возрасте от 10 до 20 лет (3,2% (95% ДИ 2,0–5,0%)).

Бóльшая часть положительных образцов была собрана на территории Лесной Гвинеи (7,7% (95% ДИ 6,2–9,5%)), где в феврале–апреле 2021 г. отмечалась вспышка БВВЭ [3], а меньшая – в Верхней Гвинее (4,5%) (табл. 2, **рисунок**). Иммунная прослойка к возбудителю БВВЭ для жителей Средней и Нижней (Приморской) Гвинеи зарегистрирована на уровне 5,5% (95% ДИ 4,3–7,2%) и 4,9% (95% ДИ 3,8–6,3%) соответственно.

Таблица 2. Выявление специфических антител класса IgG к вирусу Эбола в сыворотках крови практически здоровых жителей Гвинейской Республики

Table 2. Detection of specific IgG class antibodies to the Ebola virus in the blood sera of practically healthy residents of the Republic of Guinea

Возрастная группа (лет) Age group (years old)	Количество образцов; из них положительных; % (95% ДИ) Number of samples; of them positive; % (95% CI)		
	общее количество образцов total number of samples	мужчины men	женщины women
Нижняя (Приморская) Гвинея / Lower (Maritime) Guinea			
< 10	71; 0; 0 (0–5,1)	38; 0; 0 (0–9,1)	33; 0; 0 (0–10,4)
10–20	111; 2; 1,8 (0,5–6,3)	51; 1; 1,9 (0,4–10,3)	60; 1; 1,7 (0,3–8,7)
20–30	246; 8; 3,2 (1,7–6,3)	133; 5; 3,8 (1,6–8,5)	113; 3; 2,6 (0,9–7,5)
30–40	242; 15; 6,2 (3,8–9,9)	112; 9; 8,0 (4,3–14,5)	130; 6; 4,6 (2,1–9,7)
40–50	229; 14; 6,1 (3,7–10,0)	98;7; 7,1 (3,5–14,0)	131; 7; 5,3 (2,6–10,6)
50–60	122; 8; 6,6 (3,4–12,4)	63; 4; 6,3 (2,5–15,2)	59; 4; 6,8 (2,7–16,1)
> 60	80; 7; 8,7 (4,3–16,9)	33; 3; 9,1 (3,1–23,5)	47; 4; 8,5 (3,4–19,9)
Всего / Total	1101; 54; 4,9 (3,8–6,3)	528; 29; 5,5 (3,8–7,8)	573; 25; 4,7 (3,2–6,8)
Средняя Гвинея / Middle Guinea			
< 10	57; 4; 7,0 (2,7–16,7)	24; 2 ;8,3 (2,3–25,8)	33; 2; 6,1 (1,7–19,6)
10–20	123; 9; 7,3 (3,9–13,3)	57; 5; 8,7 (3,8–18,9)	66; 4; 6,1 (2,4–14,5)
20–30	226; 10; 4,4 (2,4–7,9)	101; 5; 4,9 (2,1–11,0)	125; 5; 4,0 (1,7–9,0)
30–40	239; 10 4,2 (2,3–7,5)	110; 6; 5,4 (2,5–11,4)	129; 4; 3,1 (1,2–7,7)
40–50	165; 7; 4,5 (2,2–8,9)	87; 5; 5,7 (2,5–12,7)	78; 2; 2,6 (0,7–8,8)
50–60	101; 7; 6,9 (3,4–13,6)	46; 4; 8,7 (3,4–20,3)	55; 3; 5,4 (1,9–14,8)
> 60	62; 7; 11,3 (5,6–21,5)	37; 4; 10,8 (4,3–24,7)	25; 3; 12,0 (4,2–29,9)
Всего / Total	973; 54; 5,5 (4,3–7,2)	462; 31; 6,7 (4,7–9,3)	511; 23; 4,5 (3,0–6,7)
Верхняя Гвинея / Upper Guinea			
< 10	49; 0; 0 (0–7,2)	28; 0; 0 (0–12,1)	21; 0; 0 (0–15,5)
10–20	128; 0; 0 (0–2,9)	68; 0; 0 (0–5,3)	60; 0; 0 (0–6,0)
20–30	199; 7; 3,5 (1,7–7,1)	102; 3; 2,9 (1,1–8,2)	97; 4; 4,1 (1,6–10,1)
30–40	190; 8; 4,2 (2,1–8,1)	100; 5; 5,0 (2,1–11,2)	90; 3; 3,3 (1,1–9,3)
40–50	188; 11; 5,8 (3,3–10,2)	104; 6; 5,7 (2,7–12,0)	84; 5; 5,9 (2,6–13,1)
50–60	90; 9; 10,0 (5,3–17,9)	51; 4; 7,8 (3,1–18,5)	39; 5; 12,8 (5,6–26,7)
> 60	72; 6; 8,3 (3,9–17,0)	39; 3; 7,7 (2,6–20,3)	33; 3; 9,1 (3,1–23,5)
Всего / Total	916; 41; 4,5 (3,3–6,0)	492; 21; 7,2 (2,8–6,4)	424; 20; 4,7 (3,1–7,1)
Лесная Гвинея / Forest Guinea			
< 10	51; 5; 9,8 (4,3–20,9)	28; 2; 7,1 (1,9–22,6)	23; 3; 13,0 (4,5–32,1)
10–20	200; 7; 3,5 (1,7–7,0)	107; 4; 3,7 (1,4–9,2)	93; 3; 3.2 (1,1–9,0)
20–30	239; 12; 5,0 (2,9–8,6)	129; 6; 4,6 (2,1–9,7)	110; 6; 5,4 (2,5–11,4)
30–40	190; 10; 5,3 (2,9–9,4)	95; 6; 6,3 (2,9–13,1)	95; 4; 4,2 (1,6–10,3)
40–50	72; 8; 11,1 (5,7–20,4)	41; 4; 9,7 (3,8–22,5)	31; 4; 12,9 (5,1–28,8)
50–60	126; 16; 12,7 (7,9–19,6)	68; 9; 13,2 (7,1–23,3)	58; 7; 12,0 (5,9–22,8)
> 60	71; 15; 21,1 (13,2–31,9)	36; 7; 19,4 (9,7–35,0)	35; 8; 22,8 (12,1–39,0)
Всего / Total	949; 73; 7,7 (6,2–9,5)	504; 38; 9,5 (5,5–10,2)	445; 35; 7,8 (5,7–10,7)
Общее по стране / Total by country			
< 10	228; 9; 3,9 (2,1–7,3)	118; 4; 3,4 (1,3–8,4)	110; 5 4,5 (1,9–10,2)
10–20	562; 18; 3,2 (2,0–5,0)	283; 13; 4,6 (2,7–7,7)	279; 5; 1,8 (0,8–4,1)
20–30	910; 37; 4,1 (2,9–5,5)	465; 19; 4,1 (2,6–6,3)	445; 18; 4,0 (2,6–6,3)
30–40	861; 43; 4,9 (3,7–6,7)	417; 24; 5,7 (3,9–8,4)	444; 19; 4,3 (2,8–6,6)
40–50	654; 40; 6,1 (4,5–8,2)	330;22; 6,7 (4,4–9,8)	324; 18; 5,6 (3,5–8,6)
50–60	439; 40; 9,1 (6,7–12,2)	228; 21; 9,2 (6,1–13,7)	211; 19; 9,0 (5,8–13,6)
> 60	285; 35; 12,3 (8,9–16,6)	145; 17; 11,7 (7,4–17,9)	140; 18; 12,8 (8,3–19,4)
Всего / Total	3939; 222; 5,6 (4,9–6,4)	1986; 119; 6,0 (5,0–7,1)	1953;103; 5,3 (4,4–6,4)

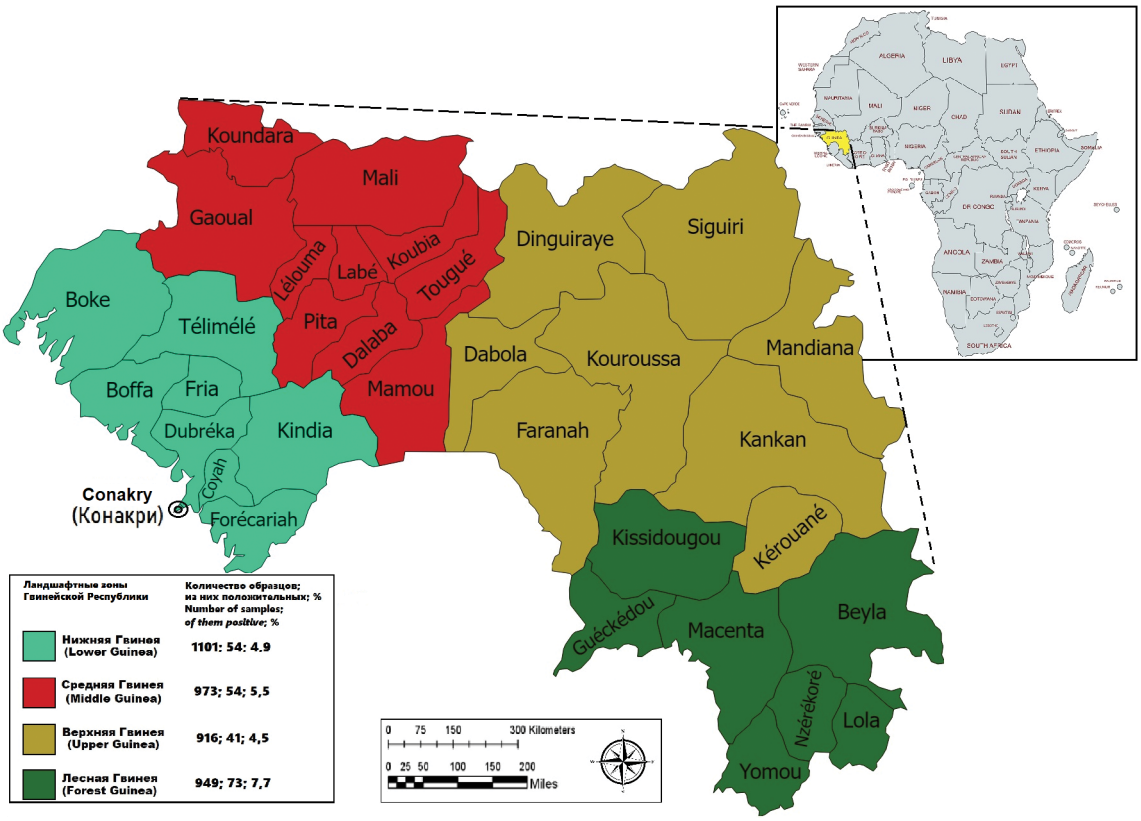


Рисунок. Результаты выявления антител класса IgG к вирусу Эбола у жителей различных ландшафтно-географических зон Гвинеи.

Figure. The results of the detection of IgG antibodies to Ebola virus in residents of various landscape-geographical zones of Guinea.

Обсуждение

Таким образом, в настоящем исследовании было показано, что высокий уровень постинфекционного иммунитета у людей после перенесенной БВВЭ (т.е. при разведении сыворотки крови в титре, превышающем 1 : 100) сохраняется непродолжительное время (в течение первых 6 мес), что соответствует данным, полученным и другими авторами [14], но не исключает возможность повторного заражения в будущем. И, конечно, при проведении исследований такого плана было бы интересно изучить и изменения клеточного иммунитета, что не всегда возможно в имеющихся условиях.

Полученные современные сведения о выявлении специфических антител класса IgG к возбудителю БВВЭ у практически здоровых жителей Гвинейской Республики подтверждают высказанные ранее предположения о распространении вируса Эбола на территории страны [22, 23]. Следует отметить, что наиболее высокий уровень иммунной прослойки населения регистрируется в Лесной Гвинее, и это достоверно выше среднестатистических значений по стране (табл. 2, рисунок). Данная территория географически относится к поясу тропических дождевых лесов, где, по наблюдениям многих авторов, циркуляция вируса Эбола является более активной [17]. Население в большинстве своем ведет оседлый образ жизни, занимается охотой и земледелием. Самый низкий уровень отмечен в Верхней Гвинее, бóльшая часть которой относится к зоне саванн, где местные жители, ведущие кочевой образ жизни, выпасают крупный и мелкий рогатый скот. Неоднородность иммунной прослойки можно объяснить различием климатических и экологических условий для проживания населения, а также отличающимися основными видами деятельности и методами ведения сельского хозяйства, что, безусловно, повышает риск контакта человека с возбудителем.

По данным ряда авторов, до 27,1% (95% ДИ 14,5–39,6%) случаев заражения вирусом Эбола протекает в виде бессимптомной инфекции [26, 27]. Эти сведения позволяют сделать предположение о более активной циркуляции возбудителя и постоянного контакта с ним у жителей Лесной Гвинеи, что периодически может приводить к эпидемиологическим осложнениям, о чем свидетельствуют события в 2021 г.

Заключение

Полученные в результате настоящей работы данные указывают на необходимость проводить дальнейшие исследования по изучению возможности циркуляции возбудителя БВВЭ на территории Гвинейской Республики, ориентируясь на конкретную местность. Одновременно необходимо продолжать и регулярный эпизоотологический мониторинг с целью выявления возможных видов теплокровных носителей вируса Эбола на территории разных ландшафтно-географических зон Гвинейской Республики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gonzalez J.P., Herbreteau V., Morvan J., Leroy E.M. Ebola virus circulation in Africa: a balance between clinical expression and epidemiological silence. *Bull. Soc. Pathol. Exot*. 2005; 98(3): 210–7.
2. Malvy D., McElroy A.K., de Clerck H., Günther S., van Griensven J. Ebola virus disease. *Lancet*. 2019; 393(10174): 936–48. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)33132-5
3. Keita A.K., Koundouno F.R., Faye M., Düx A., Hinzmann J., Diallo H., et al. Resurgence of Ebola virus in 2021 in Guinea suggests a new paradigm for outbreaks. *Nature*. 2021; 597(7877): 539–43. https://doi.org/10.1038/s41586-021-03901-9
4. Pare B.C., Camara A.M., Camara A., Kourouma M., Enogo K., Camara M.S., et al. Ebola outbreak in Guinea, 2021: Clinical care of patients with Ebola virus disease. *S. Afr. J. Infect. Dis*. 2023; 38(1): 454. https://doi.org/10.4102/sajid.v38i1.454
5. Kritsky A.A., Keita S., Magassouba N., Krasnov Ya.M., Safronov V.A., Naidenova E.V., et al. Ebola virus disease outbreak in the Republic of Guinea 2021: hypotheses of origin. *bioRxiv.* Preprint. 2021. https://doi.org/10.1101/2021.04.23.440924
6. Лопатин А.А., Найденова Е.В., Сафронов В.А., Раздорский А.С., Уткин Д.В., Касьян Ж.А. и др. Изучение сохранения вируса Эбола в биологических жидкостях пациента на поздних стадиях выздоровления. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; (3): 73–6. https://doi.org/10.21055/0370-1069-2015-3-73-76
7. Diallo B., Sissoko D., Loman N.J., Bah H.A., Bah H., Worrell M.C., et al. Resurgence of Ebola virus disease in Guinea linked to a survivor with virus persistence in seminal fluid for more than 500 days. *Clin. Infect. Dis*. 2016; 63(10): 1353–6. https://doi.org/10.1093/cid/ciw601
8. Geisbert T.W. Persistence of Ebola virus RNA in seminal fluid. *Lancet Glob. Health.* 2017; 5(1): e12–3. https://doi.org/10.1016/S2214-109X(16)30336-9
9. Mukadi-Bamuleka D., Edidi-Atani F., Morales-Betoulle M.E., Legand A., Nkuba-Ndaye A., Bulabula-Penge J., et al. Fatal meningoencephalitis associated with Ebola virus persistence in two survivors of Ebola virus disease in the Democratic Republic of the Congo: a case report study. *Lancet Microbe*. 2024; 5(10): 100905. https://doi.org/10.1016/S2666-5247(24)00137-X
10. Fallah M.P., Reilly C., Van Ryn C., Badio M., Camanor S.W., Kaler S.G., et al. Pregnancy, pregnancy outcomes, and infant growth and development after recovery from Ebola virus disease in Liberia: an observational cohort study. *Lancet Glob. Health*. 2023; 11(7): e1053–60. https://doi.org/10.1016/S2214-109X(23)00210-3
11. Baize S., Leroy E.M., Georges-Courbot M.C., Capron M., Lansoud-Soukate J., Debré P., et al. Defective humoral responses and extensive intravascular apoptosis are associated with fatal outcome in Ebola virus-infected patients. *Nat. Med*. 1999; 5(4): 423–6. https://doi.org/10.1038/7422
12. Natesan M., Jensen S.M., Keasey S.L., Kamata T., Kuehne A.I., Stonier S.W., et al. Human survivors of disease outbreaks caused by Ebola or Marburg virus exhibit cross-reactive and long-lived antibody responses. *Clin. Vaccine Immunol*. 2016; 23(8): 717–24. https://doi.org/10.1128/CVI.00107-16
13. Rimoin A.W., Lu K., Bramble M.S., Steffen I., Doshi R.H., Hoff N.A., et al. Ebola virus neutralizing antibodies detectable in survivors of the Yambuku, Zaire outbreak 40 years after infection. *J. Infect. Dis*. 2018; 217(2): 223–31. https://doi.org/10.1093/infdis/jix584
14. Diallo M.S.K., Ayouba A., Keita A.K., Thaurignac G., Sow M.S., Kpamou C., et al. Temporal evolution of the humoral antibody response after Ebola virus disease in Guinea: a 60-month observational prospective cohort study. *Lancet Microbe*. 2021; 2(12): e676–84. https://doi.org/10.1016/S2666-5247(21)00170-1
15. Gonzalez J.P., Josse R., Johnson E.D., Merlin M., Georges A.J., Abandja J., et al. Antibody prevalence against haemorrhagic fever viruses in randomized representative Central African populations. *Res. Virol*. 1989; 140(4): 319–31. https://doi.org/10.1016/s0923-2516(89)80112-8
16. Busico K.M., Marshall K.L., Ksiazek T.G., Roels T.H., Fleerackers Y., Feldmann H., et al. Prevalence of IgG antibodies to Ebola virus in individuals during an Ebola outbreak, Democratic Republic of the Congo, 1995. *J. Infect. Dis*. 1999; 179(Suppl. 1): S102–7. https://doi.org/10.1086/514309
17. Rowe A.K., Bertolli J., Khan A.S., Mukunu R., Muyembe-Tamfum J.J., Bressler D., et al. Clinical, virologic, and immunologic follow-up of convalescent Ebola hemorrhagic fever patients and their household contacts, Kikwit, Democratic Republic of the Congo. Commission de Lutte contre les Epidémies à Kikwit. *J. Infect. Dis*. 1999; 179(Suppl. 1): S28–35. https://doi.org/10.1086/514318
18. Becquart P., Wauquier N., Mahlakõiv T., Nkoghe D., Padilla C., Souris M., et al. High prevalence of both humoral and cellular immunity to Zaire ebolavirus among rural populations in Gabon. *PLoS One*. 2010; 5(2): e9126. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009126
19. Bouree P., Bergmann J.F. Ebola virus infection in man: a serological and epidemiological survey in the Cameroons. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 1983; 32(6): 1465–6. https://doi.org/10.4269/ajtmh.1983.32.1465
20. Gonzalez J.P., Nakoune E., Slenczka W., Vidal P., Morvan J.M. Ebola and Marburg virus antibody prevalence in selected populations of the Central African Republic. *Microbes Infect*. 2000; 2(1): 39–44. https://doi.org/10.1016/s1286-4579(00)00287-2
21. Bane S., Rosenke K., Maiga O., Feldmann F., Meade-White K., Callison J., et al. Ebola virus IgG seroprevalence in Southern Mali. *Emerg. Infect. Dis*. 2021; 27(6): 1681–4. https://doi.org/10.3201/eid2706.203510
22. Иванов А.П., Ткаченко Е.А. ван дер Гроен Г., Бутенко А.М., Константинов О.К. Непрямой иммуноферментный метод для лабораторной диагностики геморрагических лихорадок Ласса и Эбола. *Вопросы вирусологии*. 1986; 31(2): 186–90.
23. Бутенко А.М. Ретроспективные данные по изучению лихорадки Эбола в Африке. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2015; 20(1): 39–43. https://elibrary.ru/ttmbcv
24. Попова А.Ю., Смоленский В.Ю., Найденова Е.В., Щербакова С.А., Сафронов В.А., Коломоец Е.В. и др. Россия – Гвинея: исторические аспекты научного взаимодействия в области борьбы с опасными инфекционными болезнями. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; (3): 6–14. https://doi.org/10.21055/0370-1069-2024-3-6-14
25. Пьянков С.А., Пьянков О.В., Найденова Е.В., Агафонов А.П., Boiro M.Y., Солодкий В.В. и др. Опыт использования метода ИФА для выявления антител к вирусу Эбола при работе бригады СПЭБ в Гвинейской Республике. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; (3): 71–5. https://elibrary.ru/xantbd
26. Dean N.E., Halloran M.E., Yang Y., Longini I.M. Transmissibility and pathogenicity of Ebola virus: a systematic review and meta-analysis of household secondary attack rate and asymptomatic infection. *Clin. Infect. Dis*. 2016; 62(10): 1277–86. https://doi.org/10.1093/cid/ciw114
27. Bower H., Glynn J.R. A systematic review and meta-analysis of seroprevalence surveys of ebolavirus infection. *Sci. Data*. 2017; 4(1): 160133. https://doi.org/10.1038/sdata.2016.133

REFERENCES

1. Gonzalez J.P., Herbreteau V., Morvan J., Leroy E.M. Ebola virus circulation in Africa: a balance between clinical expression and epidemiological silence. *Bull. Soc. Pathol. Exot*. 2005; 98(3): 210–7.
2. Malvy D., McElroy A.K., de Clerck H., Günther S., van Griensven J. Ebola virus disease. *Lancet*. 2019; 393(10174): 936–48. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)33132-5
3. Keita A.K., Koundouno F.R., Faye M., Düx A., Hinzmann J., Diallo H., et al. Resurgence of Ebola virus in 2021 in Guinea suggests a new paradigm for outbreaks. *Nature*. 2021; 597(7877): 539–43. https://doi.org/10.1038/s41586-021-03901-9
4. Pare B.C., Camara A.M., Camara A., Kourouma M., Enogo K., Camara M.S., et al. Ebola outbreak in Guinea, 2021: Clinical care of patients with Ebola virus disease. *S. Afr. J. Infect. Dis*. 2023; 38(1): 454. https://doi.org/10.4102/sajid.v38i1.454
5. Kritsky A.A., Keita S., Magassouba N., Krasnov Ya.M., Safronov V.A., Naidenova E.V., et al. Ebola virus disease outbreak in the Republic of Guinea 2021: hypotheses of origin. *bioRxiv.* Preprint. 2021. https://doi.org/10.1101/2021.04.23.440924
6. Lopatin A.A., Naidenova E.V., Safronov V.A., Razdorsky A.S., Utkin D.V., Kas'Yan Zh.A., et al. Studies of Ebola Virus persistence in the Body Fluids of a Patient at Advanced Stages of Convalescence. *Problemy osobo opasnykh infektsii*. 2015; (3): 73–6. https://doi.org/10.21055/0370-1069-2015-3-73-76 (in Russian)
7. Diallo B., Sissoko D., Loman N.J., Bah H.A., Bah H., Worrell M.C., et al. Resurgence of Ebola virus disease in Guinea linked to a survivor

with virus persistence in seminal fluid for more than 500 days. *Clin. Infect. Dis*. 2016; 63(10): 1353–6. https://doi.org/10.1093/cid/ciw601
8. Geisbert T.W. Persistence of Ebola virus RNA in seminal fluid. *Lancet Glob. Health*. 2017; 5(1): e12–3. https://doi.org/10.1016/S2214-109X(16)30336-9
9. Mukadi-Bamuleka D., Edidi-Atani F., Morales-Betoulle M.E., Legand A., Nkuba-Ndaye A., Bulabula-Penge J., et al. Fatal meningoencephalitis associated with Ebola virus persistence in two survivors of Ebola virus disease in the Democratic Republic of the Congo: a case report study. *Lancet Microbe*. 2024; 5(10): 100905. https://doi.org/10.1016/S2666-5247(24)00137-X
10. Fallah M.P., Reilly C., Van Ryn C., Badio M., Camanor S.W., Kaler S.G., et al. Pregnancy, pregnancy outcomes, and infant growth and development after recovery from Ebola virus disease in Liberia: an observational cohort study. *Lancet Glob. Health*. 2023; 11(7): e1053–60. https://doi.org/10.1016/S2214-109X(23)00210-3
11. Baize S., Leroy E.M., Georges-Courbot M.C., Capron M., Lansoud-Soukate J., Debré P., et al. Defective humoral responses and extensive intravascular apoptosis are associated with fatal outcome in Ebola virus-infected patients. *Nat. Med*. 1999; 5(4): 423–6. https://doi.org/10.1038/7422
12. Natesan M., Jensen S.M., Keasey S.L., Kamata T., Kuehne A.I., Stonier S.W., et al. Human survivors of disease outbreaks caused by Ebola or Marburg virus exhibit cross-reactive and long-lived antibody responses. *Clin. Vaccine Immunol*. 2016; 23(8): 717–24. https://doi.org/10.1128/CVI.00107-16
13. Rimoin A.W., Lu K., Bramble M.S., Steffen I., Doshi R.H., Hoff N.A., et al. Ebola virus neutralizing antibodies detectable in survivors of the Yambuku, Zaire outbreak 40 years after infection. *J. Infect. Dis*. 2018; 217(2): 223–31. https://doi.org/10.1093/infdis/jix584
14. Diallo M.S.K., Ayouba A., Keita A.K., Thaurignac G., Sow M.S., Kpamou C., et al. Temporal evolution of the humoral antibody response after Ebola virus disease in Guinea: a 60-month observational prospective cohort study. *Lancet Microbe*. 2021; 2(12): e676–84. https://doi.org/10.1016/S2666-5247(21)00170-1
15. Gonzalez J.P., Josse R., Johnson E.D., Merlin M., Georges A.J., Abandja J., et al. Antibody prevalence against haemorrhagic fever viruses in randomized representative Central African populations. *Res. Virol*. 1989; 140(4): 319–31. https://doi.org/10.1016/s0923-2516(89)80112-8
16. Busico K.M., Marshall K.L., Ksiazek T.G., Roels T.H., Fleerackers Y., Feldmann H., et al. Prevalence of IgG antibodies to Ebola virus in individuals during an Ebola outbreak, Democratic Republic of the Congo, 1995. *J. Infect. Dis*. 1999; 179(Suppl. 1): S102–7. https://doi.org/10.1086/514309
17. Rowe A.K., Bertolli J., Khan A.S., Mukunu R., Muyembe-Tamfum J.J., Bressler D., et al. Clinical, virologic, and immunologic follow-up of convalescent Ebola hemorrhagic fever patients and their household contacts, Kikwit, Democratic Republic of the Congo. Commission de Lutte contre les Epidémies à Kikwit. *J. Infect. Dis*. 1999; 179(Suppl. 1): S28–35. https://doi.org/10.1086/514318
18. Becquart P., Wauquier N., Mahlakõiv T., Nkoghe D., Padilla C., Souris M., et al. High prevalence of both humoral and cellular immunity to Zaire ebolavirus among rural populations in Gabon. *PLoS One*. 2010; 5(2): e9126. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009126
19. Bouree P., Bergmann J.F. Ebola virus infection in man: a serological and epidemiological survey in the Cameroons. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 1983; 32(6): 1465–6. https://doi.org/10.4269/ajtmh.1983.32.1465
20. Gonzalez J.P., Nakoune E., Slenczka W., Vidal P., Morvan J.M. Ebola and Marburg virus antibody prevalence in selected populations of the Central African Republic. *Microbes Infect*. 2000; 2(1): 39–44. https://doi.org/10.1016/s1286-4579(00)00287-2
21. Bane S., Rosenke K., Maiga O., Feldmann F., Meade-White K., Callison J., et al. Ebola virus IgG seroprevalence in Southern Mali. *Emerg. Infect. Dis*. 2021; 27(6): 1681–4. https://doi.org/10.3201/eid2706.203510
22. Ivanov A.P., Tkachenko E.A., van der Groesen G., Butenko A.M., Konstantinov O.K. Indirect enzyme immunoassay for laboratory diagnosis of hemorrhagic Lassa fever and Ebola. *Voprosy virusologii*. 1986; 31(2): 186–90. (in Russian)
23. Butenko A.M. Retrospective data on the study of Ebola virus in Africa. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 2015; 20(1): 39–43. https://elibrary.ru/ttmbcv (in Russian)
24. Popova A.Yu., Smolensky V.Yu., Naidenova E.V., Shcherbakova S.A., Safronov V.A., Kolomoets E.V., et al. Russia – Guinea: Historical Aspects of Scientific Cooperation in the Fight against Dangerous Infectious Diseases. *Problemy osobo opasnykh infektsii*. 2024; (3): 6–14. https://doi.org/10.21055/0370-1069-2024-3-6-14 (in Russian)
25. P'yankov S.A., P'yankov O.V., Naydenova E.V., Agafonov A.P., Boiro M.Y., Solodkiy V.V., et al. Experience of application of the Elisa method for detection of antibodies to Ebola virus during the Saet team work in the Republic of Guinea. *Problemy osobo opasnykh infektsii*. 2016; (3): 71–5. https://elibrary.ru/xantbd (in Russian)
26. Dean N.E., Halloran M.E., Yang Y., Longini I.M. Transmissibility and pathogenicity of Ebola virus: a systematic review and meta-analysis of household secondary attack rate and asymptomatic infection. *Clin. Infect. Dis*. 2016; 62(10): 1277–86. https://doi.org/10.1093/cid/ciw114
27. Bower H., Glynn J.R. A systematic review and meta-analysis of seroprevalence surveys of ebolavirus infection. *Sci. Data*. 2017; 4(1): 160133. https://doi.org/10.1038/sdata.2016.133

Информация об авторах:

Найденова Екатерина Владимировна✉ – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела диагностики инфекционных болезней ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Россия. E-mail: katim2003@mail.ru; https://orcid.org/0000-0001-6474-3696

Карташов Михаил Юрьевич – канд. биол. наук, старший научный сотрудник отдела флавивирусных инфекций ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия. E-mail: Mikkartash@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0002-7857-6822

Шульгина Ирина Сергеевна – младший научный сотрудник отдела коллекции микроорганизмов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия. E-mail: Shuigina.is@vector.ru; https://orcid.org/0000-0002-6850-338X

Пьянков Степан Александрович – ведущий научный сотрудник отдела коллекции микроорганизмов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия. E-mail: pyanstep@gmail.ru; https://orcid.org/0000-0002-6593-6614

Кулагин Максим Андреевич – младший научный сотрудник отдела диагностики инфекционных болезней ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Россия. E-mail: rusrapi@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-6423-1460

Ба Мамадю Бандикура – научный сотрудник Исследовательского института прикладной биологии Гвинеи, Киндиа, Гвинейская Республика. E-mail: boundoukhourabah@gmail.ru; https://orcid.org/0000-0002-4565-269X

Нурдин Ибрагим – канд. биол. наук, научный сотрудник, директор лаборатории вирусных геморрагических лихорадок, Конакри, Гвинейская Республика. E-mail: Ibrahimndin@yahoo.fr; https://orcid.org/0000-0002-2970-9676

Кономy Виктор – главный врач госпиталя Научного клинико-диагностического центра эпидемиологии и микробиологии, Киндиа, Гвинейская Республика. E-mail: Saet-64@yandex.ru; https://orcid.org/0009-0007-5010-0041

Н'Фалли Магассуба – канд. биол. наук, научный консультант лаборатории вирусных геморрагических лихорадок, г. Конакри, Гвинейская Республика. E-mail: cmagassouba01@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-3760-6642

Траоре Мамед Заар – канд. биол. наук, Генеральный директор Исследовательского института прикладной биологии Гвинеи, Киндиа, Гвинейская Республика. E-mail: dg@irbag.edu.gn; https://orcid.org/0000-0002-3811-8675

Бумбали Санаба – канд. биол. наук, директор лаборатории вирусных геморрагических лихорадок, Конакри, Гвинейская Республика. E-mail: drboumbaly@yahoo.fr; https://orcid.org/0000-0002-4506-6033

Кутырев Владимир Викторович – академик РАН, д-р мед. наук, профессор, директор ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Россия. E-mail: rusrapi@mail.ru; https://orcid.org/0000-0003-3788-3452

Участие авторов: Найденова Е.В. – концепция, дизайн и проведение исследований, анализ данных, написание текста статьи, оформление результатов и сопроводительных документов; Карташов М.Ю. – проведение исследований, статистическая обработка данных; Шульгина И.С. – проведение исследований; Пьянков С.А. – проведение исследований; Кулагин М.А. – проведение исследований и подготовка иллюстраций; Ба М.Б. – сбор и доставка проб биологического материала, проведение исследований; Нурдин И. – сбор и доставка проб биологического материала, проведение исследований; Коному В. – сбор и доставка проб биологического материала; Н'Фалли М. – сбор и доставка проб биологического материала; Траоре М.З. – руководство отдельными этапами исследований; Бумбали С. – сбор и доставка проб биологического материала, руководство отдельными этапами исследований; Кутырев В.В. – общее руководство работой.

Поступила 14.01.2025
Принята в печать 11.03.2025
Опубликована 30.04.2025

Information about the authors:

Ekaterina V. Naidenova✉ – PhD (Biology), Leading Researcher at the Department of Diagnostics of Infectious Diseases, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe» of Rospotrebnadzor, Saratov, Russia. E-mail: katim2003@mail.ru; https://orcid.org/0000-0001-6474-3696,

Mikhail Yu. Kartashov – PhD (Biology), Senior Researcher at the Department of Flavivirus Infections of the Center of Virology and Biotechnology «Vector» of Rospotrebnadzor, Koltsovo village, Novosibirsk Region, Russia. E-mail: Mikkartash@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0002-7857-6822

Irina S. Shulgina – Junior Researcher at the Collection of Microorganisms Department of the Center of Virology and Biotechnology «Vector» of Rospotrebnadzor, Koltsovo village, Novosibirsk Region, Russia. E-mail: Shuigina.is@vector.ru; https://orcid.org/0000-0002-6850-338X

Stepan A. Pyankov – Senior Researcher at the Collection of Microorganisms Department of the Center of Virology and Biotechnology «Vector» of Rospotrebnadzor, Koltsovo district, Novosibirsk Region, Russia. E-mail: pyanstep@gmail.ru; https://orcid.org/0000-0002-6593-6614

Maxim A. Kulagin – Junior Researcher at the Department of Diagnostics of Infectious Diseases at the Russian Anti-Plague Institute «Microbe» of Rospotrebnadzor, Saratov, Russia. E-mail: rusrapi@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-6423-1460

Mamadou B. Bah – Researcher at the Research Institute of Applied Biology Guinea, Kindia, Republic of Guinea. E-mail: boundoukhourabah@gmail.ru; https://orcid.org/0000-0002-4565-269X

Ibrahim Nourdine – PhD (Biology), Researcher, Director of the Laboratory of Viral Hemorrhagic Fevers, Conakry, Republic of Guinea. E-mail: Ibrahimndin@yahoo.fr; https://orcid.org/0000-0002-2970-9676

Viktor Konomou – Chief Physician of the Hospital of the Scientific Clinical Diagnostic Center of Epidemiology and Microbiology, Kindia, Republic of Guinea. E-mail: Saet-64@yandex.ru; https://orcid.org/0009-0007-5010-0041

Magassouba N'Fally – PhD (Biology), Scientific Consultant, Laboratory of Viral Hemorrhagic Fevers, Conakry, Republic of Guinea. E-mail: cmagassouba01@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-3760-6642

Mohamed S. Traore – PhD (Biology), Director General of the Research Institute of Applied Biology of Guinea, Kindia, Republic of Guinea. E-mail: dg@irbag.edu.gn; https://orcid.org/0000-0002-3811-8675

Sanaba Boumbaly – PhD (Biology), Director of the Laboratory of Viral Hemorrhagic Fevers, Conakry, Republic of Guinea. E-mail: drboumbaly@yahoo.fr; https://orcid.org/0000-0002-4506-6033

Vladimir V. Kutyrev – Dr Sci (Medicine), Academician of the Russian Academy of Sciences, Professor, Director of the Russian Anti-Plague Institute «Microbe» of Rospotrebnadzor, Saratov, Russia. E-mail: rusrapi@mail.ru; https://orcid.org/0000-0003-3788-3452

Contribution: Naidenova E.V. – concept, design and conduct of research, data analysis, writing of the text of the article, registration of results and accompanying documents; Kartashov M.Yu. – conducting research, statistical data processing; Shulgina I.S. – conducting research; Pyankov S.A. – conducting research; Kulagin M.A. – conducting research and preparing illustrations; Bah M.B. – collecting and delivering samples of biological material, conducting research; Nourdin I. – collection and delivery of samples of biological material, conducting research; Konomou V. – collection and delivery of samples of biological material; N'Falli M. – collection and delivery of biological material samples; Traore M.S. – management of individual stages of research; Bali S. Boom – collection and delivery of samples of biological material, management of individual stages of research; Kutyrev V.V. – general management of the work.

Received 14 January 2025
Accepted 11 March 2025
Published 30 April 2025

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-294
© ФАДЕЕВ А.В., ИВАНОВ Я.В., ПЕТРОВА П.А., ПЕРЕДЕРИЙ А.А., ПИСАРЕВА М.М., МОШКИН А.Д., КОМИССАРОВ А.Б., ДАНИЛЕНКО Д.М., ЛИОЗНОВ Д.А., 2025

Генетическое разнообразие метапневмовируса человека (Pneumoviridae: *Metapneumovirus*) в России: результаты молекулярного анализа

Фадеев А.В.[1], Иванов Я.В.[1], Петрова П.А.[1], Передерий А.А.[1], Писарева М.М.[1], Мошкин А.Д.[2], Комиссаров А.Б.[1]✉, Даниленко Д.М.[1], Лиознов Д.А.[1]

[1]ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, 197376, г. Санкт-Петербург, Россия;
[2]Научно-исследовательский институт вирусологии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», 630060, г. Новосибирск, Россия

Резюме
Актуальность. Метапневмовирус человека (*Human metapneumovirus*, hMPV) имеет большое эпидемиологическое значение, являясь доминирующей причиной инфекций нижних дыхательных путей у детей младше 2 лет и лиц старше 65 лет. Возможно многократное инфицирование hMPV в течение жизни человека ввиду антигенной и генетической изменчивости возбудителя. При этом генетическая изменчивость hMPV, циркулирующих в России, остается неизученной.
Цель работы. Апробация протокола полногеномного секвенирования hMPV для оценки генетического разнообразия метапневмовирусов, циркулирующих в отдельных субъектах России.
Материалы и методы. Исследовали назофарингеальные мазки от пациентов разного возраста с острыми респираторными вирусными инфекциями, положительные в полимеразной цепной реакции на hMPV. Из части образцов вирус выделяли на клеточной культуре. На платформе Illumina MiSeq проведено полногеномное секвенирование вирусов hMPV из мазков и изолятов с последующим филогенетическим анализом.
Результаты. Впервые в России проведено полногеномное секвенирование 44 hMPV, циркулировавших в период с 2017 по 2024 г., описана их принадлежность к генетическим группам, показано доминирование клайда A2b2. Подтверждено, что наибольшее разнообразие в генах, кодирующих поверхностные белки вируса, отмечено для гена *G*, в то время как в гене *F* в изучаемый период изменения были минимальны.
Заключение. Проведенное исследование дает представление о генетическом разнообразии вирусов hMPV, циркулирующих в отдельных субъектах Российской Федерации. Изучение генетической изменчивости hMPV имеет решающее значение для понимания вирусной эволюции, динамики передачи и механизмов иммунного ускользания, которые влияют на разработку вакцин и противовирусных препаратов.

Ключевые слова: *метапневмовирус человека; полногеномное секвенирование; генетическая изменчивость; ген F; ген G; дупликации*

Для цитирования: Фадеев А.В., Иванов Я.В., Петрова П.А., Передерий А.А., Писарева М.М., Мошкин А.Д., Комиссаров А.Б., Даниленко Д.М., Лиознов Д.А. Генетическое разнообразие метапневмовируса человека (Pneumoviridae: *Metapneumovirus*) в России: результаты молекулярного анализа. *Вопросы вирусологии*. 2025; 70(2): 164–176. DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-294 EDN: https://elibrary.ru/vfpkwg
Источник финансирования. Работа выполнена в рамках реализации задач государственного задания TVKQ-2025-0005 «Генетические и антигенные детерминанты изменчивости современных пневмовирусов человека, циркулирующих на территории Российской Федерации» Министерства здравоохранения Российской Федерации.
Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.
Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» (протоколы № 215 от 31.01.2024, № 194 от 12.12.2022, № 178 от 10.01.2022, № 161 от 14.12.2020, № 149 от 18.12.2019, № 136 от 21.12.2018, № 3120 от 18.12.2017).

ORIGINAL STUDY ARTICLE
DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-294

Genetic diversity of human metapneumovirus (Pneumoviridae: *Metapneumovirus*) in Russia: results of molecular analysis

Artem V. Fadeev[1], Yan V. Ivanov[1], Polina A. Petrova[1], Alexander A. Perederiy[1], Maria M. Pisareva[1], Alexey D. Moshkin[2], Andrey B. Komissarov[1]✉, Daria M. Danilenko[1], Dmitriy A. Lioznov[1]

[1]A.A. Smorodintsev Research Institute of Influenza, Ministry of Health of the Russian Federation, 197376, St. Petersburg, Russia;
[2]Research Institute of Virology, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, 630060, Novosibirsk, Russia

Abstract
Introduction. Human metapneumovirus (hMPV) holds significant epidemiological importance, being a dominant cause of lower respiratory tract infections in children under two years of age and individuals over 65. Multiple infections with hMPV throughout a person's life are possible due to the antigenic and genetic variability of the virus. However, the genetic variability of hMPV circulating in Russia remains unexplored.
Aim of the study. The aim of this study was to test a protocol for whole-genome sequencing of hMPV to assess the genetic diversity of metapneumoviruses circulating in certain regions of Russia.
Materials and methods. Nasopharyngeal swabs were collected from patients of different ages with acute respiratory viral infections (ARVI) tested positive for hMPV using polymerase chain reaction (PCR). From some of the samples, viral isolates were obtained in cell culture. Whole-genome sequencing was performed on both swabs and isolates using the MiSeq Illumina platform, followed by phylogenetic analysis.
Results. For the first time in Russia, whole-genome sequencing of 44 hMPV strains circulating from 2017 to 2024 was conducted. Their genetic group affiliation was described, with the A2b2 clade shown to dominate. It was confirmed that the greatest variability among genes encoding viral surface proteins was observed in the G gene, while changes in the F gene were minimal during the studied period.
Conclusion. The study provides insights into the genetic diversity of hMPV strains circulating in various regions of the Russian Federation. Understanding the genetic variability of hMPV is crucial for comprehending viral evolution, transmission dynamics, and mechanisms of immune evasion, which influence the development of vaccines and antiviral drugs.

Keywords: *human metapneumovirus; whole-genome sequencing; genetic variability; gene F; gene G; duplications*

For citation: Fadeev A.V., Ivanov Ya.V., Petrova P.A., Perederiy A.A., Pisareva M.M., Moshkin A.D., Komissarov A.B., Danilenko D.M., Lioznov D.A. Genetic diversity of human metapneumovirus (Pneumoviridae: *Metapneumovirus*) in Russia: results of molecular analysis. *Problems of Virology* (*Voprosy Virusologii*). 2025; 70(2): 164–176. DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-294 EDN: https://elibrary.ru/vfpkwg

Funding. The study was carried out as part of the State Assignment TVKQ-2025-0005: Genetic and antigenic determinants of variability in contemporary human pneumoviruses circulating within the Russian Federation by the Ministry of Health of the Russian Federation.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.
Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of Smorodintsev Research Institute of Influenza (Protocols No. 215 dated 31.01.2024, No. 194 dated 12.12.2022, No. 178 dated 10.01.2022, No. 161 dated 14.12.2020, No. 149 dated 18.12.2019, No. 136 dated 21.12.2018, No. 3120 dated 18.12.2017).

Введение

Метапневмовирус человека (Orthornavirae: Pneumoviridae: *Metapneumovirus: Metapneumovirus hominis* (ICTV 2024), hMPV) впервые идентифицирован в Голландии в 2001 г. [1]. Геном вируса представлен одноцепочечной РНК с отрицательной полярностью. Ближайшим родственником метапневмовируса человека является респираторно-синцитиальный вирус человека (*Orthopneumovirus hominis*, hRSV), который также относится к семейству Pneumoviridae [2]. Оба вируса обладают рядом общих характеристик, таких как структура генома и пути передачи, однако различаются по специфическим особенностям взаимодействия с клетками хозяина и патогенетическим механизмам. Изучение эволюционных связей и генетических особенностей hMPV является важным для понимания механизмов патогенности и разработки эффективных методов профилактики и лечения.

Геном hMPV, длина которого составляет около 13 000 нуклеотидов, состоит из 8 генов, кодирующих 9 белков: нуклеопротеин (N), фосфопротеин (P), матричный белок (M), белок слияния (F), матричные белки 2 (M2-1 и M2-2), малый гидрофобный (SH) белок, гликопротеин (G) и большой (L) полимеразный

белок [3, 4]. Среди них ключевую роль играют два поверхностных гликопротеина: белок слияния (F) и белок прикрепления (G) [4, 5]. Эти молекулы обеспечивают проникновение вируса в клетки хозяина и способствуют уклонению от иммунного ответа [6]. G-белок опосредует прикрепление вируса к клеточной поверхности, а F-белок отвечает за процессы слияния мембран, что делает эти белки важными мишенями для изучения и разработки терапевтических подходов [7]. Вирус обладает тропизмом к эпителиальным клеткам дыхательных путей, где вызывает выраженные цитопатические эффекты [8]. Одним из наиболее характерных проявлений патоморфологического процесса является формирование гигантских многоядерных эпителиальных клеток – синцития, что способствует распространению вируса в тканях и усиливает его патогенность [9].

Метапневмовирус человека классифицируется на две основные генетические линии – A и B, которые дополнительно подразделяются на соответствующие сублинии A1, A2, B1 и B2 [10, 11], учитывая генетическое разнообразие вируса [12]. Повторное заражение hMPV связано с антигенной изменчивостью поверхностных белков вируса, что затрудняет формирование стойкого иммунитета [12, 13]. Наиболее генетически близким пневмовирусом к hMPV является метапневмовирус птиц типа C. Согласно расчетам, ближайший общий предок этих вирусов мог существовать 215–268 лет назад [14, 15]. В настоящее время случаи зоонозной передачи метапневмовирусов неизвестны, а эксперименты по заражению птиц hMPV не приводили к продуктивной инфекции [16]. Предположительно, разделение типов метапневмовирусов человека могло произойти менее 100 лет назад [14].

В большинстве стран систематический надзор за этим вирусом отсутствовал, и на протяжении долгого времени молекулярная эпидемиология hMPV оставалась недостаточно изученной [6, 17]. Однако в последние годы в связи с возросшим интересом к изучению респираторно-синцитиального вируса увеличилось и количество исследований, посвященных метапневмовирусу[1]. В условиях глобализации и растущей мобильности населения антигенная и молекулярная характеристика современных изолятов hMPV приобрела критическое значение для понимания его глобального распространения и динамики эволюции [11, 13].

С эпидемиологической точки зрения hMPV является одной из ведущих причин острых респираторных инфекций негриппозной этиологии во всем мире [9, 18]. В первую очередь он поражает новорожденных и детей до 2 лет, людей старше 65 лет и пациентов с ослабленным иммунитетом, сезонные пики обычно приходятся на конец зимы и весну [10, 19]. Передача возбудителя происходит преимущественно воздушно-капельным путем, возможен контактно-бытовой путь, инкубационный период оценивается в 4–6 сутки [4, 12, 20–22]. Клинические проявления варьируют от легких симптомов поражения верхних дыхательных путей до тяжелого течения инфекции нижних дыхательных путей, включая бронхиолит и пневмонию [23, 24]. Эпидемиологические исследования показывают, что серопревалентность среди населения превышает 90% по достижении 5-летнего возраста, что предполагает почти всеобщее раннее инфицирование (как и для hRSV) [25].

В настоящее время в средствах массовой информации активно обсуждается рост заболеваемости метапневмовирусной инфекцией в северных провинциях Китайской Народной Республики и в ряде других стран[1]. Вместе с тем, учитывая ярко-выраженную сезонность циркуляции, необходимо отметить, что увеличение числа случаев метапневмовирусной инфекции является закономерным для данного времени года [4, 12, 20]. По официальной информации, размещенной на сайте Всемирной организации здравоохранения, «согласно последним данным эпиднадзора за острыми респираторными инфекциями, предоставленным Центром по контролю и профилактике заболеваний Китая по состоянию на 29 декабря 2024 года, наблюдается тенденция к росту распространенных острых респираторных инфекций, в том числе вызванных сезонными вирусами гриппа, RSV и hMPV, как и ожидалось для этого времени года (зимы) в Северном полушарии»[1].

Несмотря на то что hMPV известен более 20 лет, его генетическое разнообразие охарактеризовано недостаточно как в мире, так и в России [1, 4, 24]. Помимо этого, несмотря на важную роль пневмовирусов в этиологической структуре респираторных инфекций, сведения о распространенности hMPV в разных регионах отрывочны, а характер его циркуляции практически не изучен [19, 26]. Таким образом, исследование закономерностей эволюции пневмовирусов, в частности hMPV, является необходимым и актуальным, учитывая сохраняющееся бремя пневмовирусных инфекций, особенно среди детей младших возрастных групп.

Цель работы заключалась в изучении генетического разнообразия метапневмовирусов человека, выявленных на территории России, на основе анализа генетических вариаций белков слияния (F) и прикрепления (G).

Материалы и методы

Клинические образцы. В исследование были включены образцы назофарингеальных мазков от госпитализированных больных с респираторными симптомами, собранные в период 2017–2024 гг. в основном в Санкт-Петербурге и Ленинградской области в рамках госпитального надзора за острыми респираторными вирусными инфекциями (ОРВИ). Экстракцию общей РНК проводили с использованием набора для выделения РНК NAmagP 2000 (ООО «Биолабмикс», Россия). Детекцию РНК метапневмовируса в клини-

[1]World Health Organization: Disease Outbreak News; Trends of acute respiratory infection, including human metapneumovirus, in the Northern Hemisphere 2025 [7 January 2025]. Доступно по: https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2025-DON550

ческом материале осуществляли с помощью набора реагентов «АмплиСенс ОРВИ-скрин-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с обратной транскрипцией в режиме реального времени.

Клеточные линии. Для выделения hMPV была использована клеточная линия LLC-MK2 (почка обезьяны *Macaca mulatta*), полученная из коллекции ATCC (American Type Culture Collection, США). Для культивирования монослоя клеток использовали питательную среду DMEM (ООО «Биолот», Россия) с добавлением 10% фетальной эмбриональной бычьей сыворотки (ООО «Биолот», Россия), 1% смеси антибиотиков пенициллина G и стрептомицина (50 000 ед/фл и 50 г/фл соответственно) (ООО «Биолот», Россия). Пересев клеточной культуры осуществляли на 7-е сутки. Посевная концентрация составляла 2,5–5,0 × 10^5 кл/мл. Клетки выращивали при температуре 37 °C в инкубаторе с 5% CO_2.

Среды. **Поддерживающая среда для вирусологических опытов на культуре клеток LLC-MK2.** На 100 мл среды DMEM вносили 2,6 мл сывороточного альбумина V фракции (Sigma, Германия), 1,6 мл буфера HEPES (Sigma, Германия), 100 мкл раствора гентамицина для клеточных культур (ООО «Биолот», Россия), 100 мкл раствора ТРСК-трипсина (2 мкг/мл) (Sigma, Германия). **Среда для отмывания клеток.** На 100 мл среды DMEM вносили 100 мкл раствора гентамицина для клеточных культур, 100 мкл раствора ТРСК – трипсина (2 мкг/мл).

Культивирование метапневмовируса. Суточный монослой клеток LLC-MK2, находящийся в специальных пластиковых пробирках со скошенным дном (Nunc, Дания), двукратно промывали средой для отмывания клеток по 2 мл. ПЦР-положительные материалы от больных вносили по 0,2 мл в 2 флакона с культурой клеток и после инкубации 40–60 мин при 36 °C добавляли 1,8 мл поддерживающей среды. После этого флаконы инкубировали при 36 °C, ежедневно контролируя состояние монослоя в инвертированный микроскоп. При отсутствии выраженного цитопатического действия (ЦПД) пробы выдерживали при 36 °C вплоть до 14 сут. При отсутствии ЦПД на 14-е сутки клетки разрушали замораживанием/оттаиванием, подготавливали объединенные пулы культуральной жидкости (из 2 флаконов от каждого образца) и проводили следующий пассаж в 2 флаконах с суточным монослоем клеток LLC-MK2 с регистрацией репродукции по ЦПД. Для каждой пробы проводили три последовательных пассажа. При наличии начального или выраженного ЦПД присутствие вируса дополнительно подтверждали с помощью ПЦР-тест-системы с детекцией результатов в реальном времени. Серия праймеров и условия проведения реакции описаны в работе S. Sugimoto и соавт. [27].

Полногеномную амплификацию проводили по протоколу K. Groen и соавт. [28] с модификациями. Секвенирование полноразмерного генома hMPV осуществляли с помощью набора реагентов DNA Prep компании Illumina (США). Очистку комплементарной ДНК производили на магнитных частицах. Геномные библиотеки секвенировали на платформе MiSeq Illumina с использованием MiSeq Reagent Kit v3 600-cycle. Для выравнивания полученных прочтений на референсную последовательность использовали алгоритм BWA. Для получения консенсусных последовательностей применяли инструменты Samtools и Ivar.

Сравнительный филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей проводили методом максимального правдоподобия (maximum likelihood) с использованием алгоритма RAxML и модели нуклеотидных замен GTRGAMMA. Статистическую поддержку ветвей дерева определяли методом быстрого бутстрепа (rapid bootstrap) с 1000 репликаций. Филогенетическое дерево укореняли на среднюю точку (midpoint rooting). Реконструкцию предковых последовательностей проводили с использованием алгоритма PAML в Treesub[2]. Визуализацию и аннотацию филогенетических деревьев проводили с использованием инструментов Figtree и Inkscape [28]. Для визуализации полногеномного филогенетического дерева использовали библиотеку ggtree в R. Для анализа был использован глобальный датасет полных геномов метапневмовирусов человека, доступный на платформе Nextstrain (https://nextstrain.org/hmpv) – 682 генома, депонированных в базе данных GenBank. Фильтрацию набора данных осуществляли с помощью инструмента Nextclade [31]. В качестве критерия использовали количество несеквенированных позиций (totalMissing < 1500) и показатель качества по наличию уникальных мутаций (qc.privateMutations.status не равно «bad»). Определение филогенетического сигнала в полногеномных последовательностях hMPV осуществляли с помощью программы TempEst. Анализ внешнего домена белка G hMPV проводили инструментом Chi-Score.

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» (протоколы № 215 от 31.01.2024, № 194 от 12.12.2022, № 178 от 10.01.2022, № 161 от 14.12.2020, № 149 от 18.12.2019, № 136 от 21.12.2018, № 3120 от 18.12.2017).

Результаты

По данным ПЦР-диагностики, в течение эпидемических сезонов 2016–2024 гг. циркуляция метапневмовируса в Санкт-Петербурге и Ленинградской области была нестабильной и низкой, составляя в среднем 9,7% от всех положительных на вирусные патогены случаев, исключая возбудители гриппа и COVID-19 (**рис. 1**). Доля положительных случаев метапневмовирусной инфекции была относительно высокой только в сезон 2020–2021 гг. и состави-

[2]Treesub: annotating ancestral substitutions on a tree [1 February 2025]. Доступно по: https://github.com/tamuri/treesub.

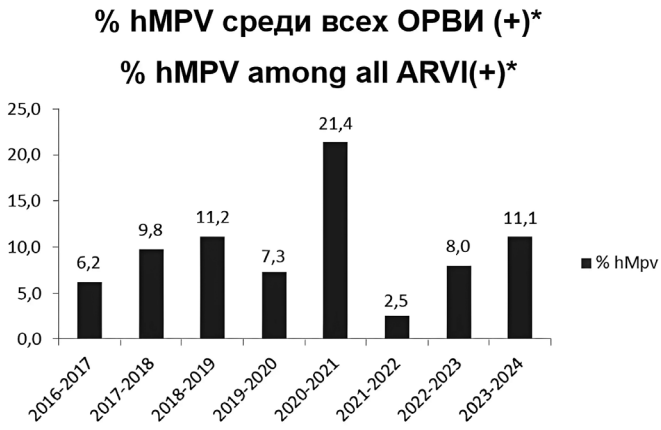


Рис. 1. Доля положительных на метапневмовирус образцов в структуре ОРВИ по сезонам 2016–2024 гг.

* – образцы положительны только на респираторные вирусы (рино-, адено-, бока-, метапневмо-, коронавирусы, вирусы парагриппа и респираторно-синцитиальный вирус человека) исключая вирусы гриппа и SARS-CoV-2.

Fig. 1. The percentage of samples positive for metapneumovirus in the structure of acute respiratory viral infections by seasons 2016–2024.

* – samples are positive only for respiratory viruses (rhino-, adeno-, boca-, metapneumo-, coronavirus, parainfluenza viruses and human respiratory syncytial virus) excluding influenza viruses and SARS-CoV-2.

Таблица 1. Принадлежность метапневмовирусов человека к генетическим линиям в эпидемические сезоны 2017–2024 гг.

Table 1. Genetic lineages of human metapneumoviruses in the epidemic seasons of 2017–2024

Эпидемический сезон Epidemic season	Всего Total	A2b1	A2b2	B2
2017–2018	8	0	6	2
2018–2019	3	0	3	0
2022–2023	10	0	10	0
2023–2024	23	1	21	1

ла 21,4%. В следующем сезоне 2021–2022 гг. вклад hMPV был минимальным (2,5%), для сравнения — доля лабораторно подтвержденной риновирусной инфекции в этот сезон составила 49,2%.

В результате проведенного секвенирования были получены 44 полногеномные последовательности метапневмовирусов, выделенных от больных из Санкт-Петербурга и Ленинградской области (43) и Ямало-Ненецкого автономного округа (1) в период 4 эпидемических сезонов 2018–2024 гг. Из них 11 циркулировали до пандемии (эпидемические сезоны 2017–2018 и 2018–2019 гг.), и 33 – в эпидемические сезоны 2022–2023 и 2023–2024 гг. Несмотря на высокую долю hMPV в циркуляции в сезоне 2020–2021 гг., полногеномных последовательностей вируса из первичных образцов получить не удалось. Вирусовыделение также оказалось неудачным, что может быть связано со средой для забора образцов на пике пандемии, не предназначенной для выделения вирусов. По данным филогенетического анализа, большинство секвенированных метапневмовирусов относилось к генетическому клайду A2b2 (40 из 44), 1 вирус был идентифицирован как принадлежащий к клайду A2b1 и 3 – к клайду B2 (**рис. 2, табл. 1**). По результатам анализа глобального набора данных, доля клайда A2b2 составляла в разные годы от 27 до 100%.

Вирусы hMPV генетической линии A2b2 из отдельных субъектов России по данным полногеномного анализа формировали три филогенетических кластера, близких вирусам из Швейцарии, США и Австралии 2021–2024 гг. Интересно отметить, что в каждый из кластеров входили вирусы, собранные в разные эпидемические сезоны. Это может объясняться слабым временны́м сигналом (temporal signal [30]) или невысокой скоростью эволюции данного патогена в сочетании с глобальным распространением и многочисленными переносами вируса из одних географических регионов в другие и обратно. Для проверки уровня временно́го сигнала в полногеномных последовательностях hMPV использовали программу TempEst.

Проведенный анализ продемонстрировал значительную корреляцию ($r > 0{,}9$, $R^2 > 0{,}8$) между генетической дистанцией и временем сбора образцов, что свидетельствует о наличии временно́го сигнала в данных hMPV разных субтипов (**рис. 3**). Таким образом, объединение геномов hMPV 2018–2024 гг. в кластеры может свидетельствовать о том, что за период 5–6 лет в геноме не происходит достаточных эволюционных изменений для надежной дифференциации вирусов разных эпидемических сезонов. При этом на более длительных временны́х промежутках такая дифференциация становится возможной (рис. 2), что видно по тому, как группируются вирусы разных лет на цветовой шкале.

По результатам анализа генов *F* и *G* показаны минимальные генетические изменения в гене *F* и значительная генетическая вариабельность гликопротеина G (**рис. 4–7**). Метапневмовирусы клайда A2b2, собранные в 2017–2024 гг., за исключением двух вирусов, образуют единую группу на филогенетическом дереве (рис. 4). Интересно отметить, что генетическая линия A2b2 не имеет характерных отличительных аминокислотных замен в F.

Большинство обнаруженных аминокислотных полиморфизмов локализовались в субъединице F1 белка слияния F. Аминокислотных замен, приводящих к изменению профиля N-гликозилирования, в белке F обоих подтипов hMPV не выявлено (рис. 4, 6).

Ген *G* является высоковариабельным и кодирует муцин-подобный гликопротеин неупорядоченной структуры с большим количеством потенциальных сайтов O-гликозилирования. Кодирующую последовательность гена *G* можно разделить на интравирионный (1–30 аа), трансмембранный (31–51 аа) и внешний домены. Интравирионный и трансмембранный домены hMPV разных субтипов имеют высокую степень сходства: 36 аминокислотных остатков (а.о.) из 51 (более 70%), консервативны у 99–100% вирусов субтипов A2 и B2. Для внешнего домена этот показатель снижается до уровня шума (менее 30%). Ин-

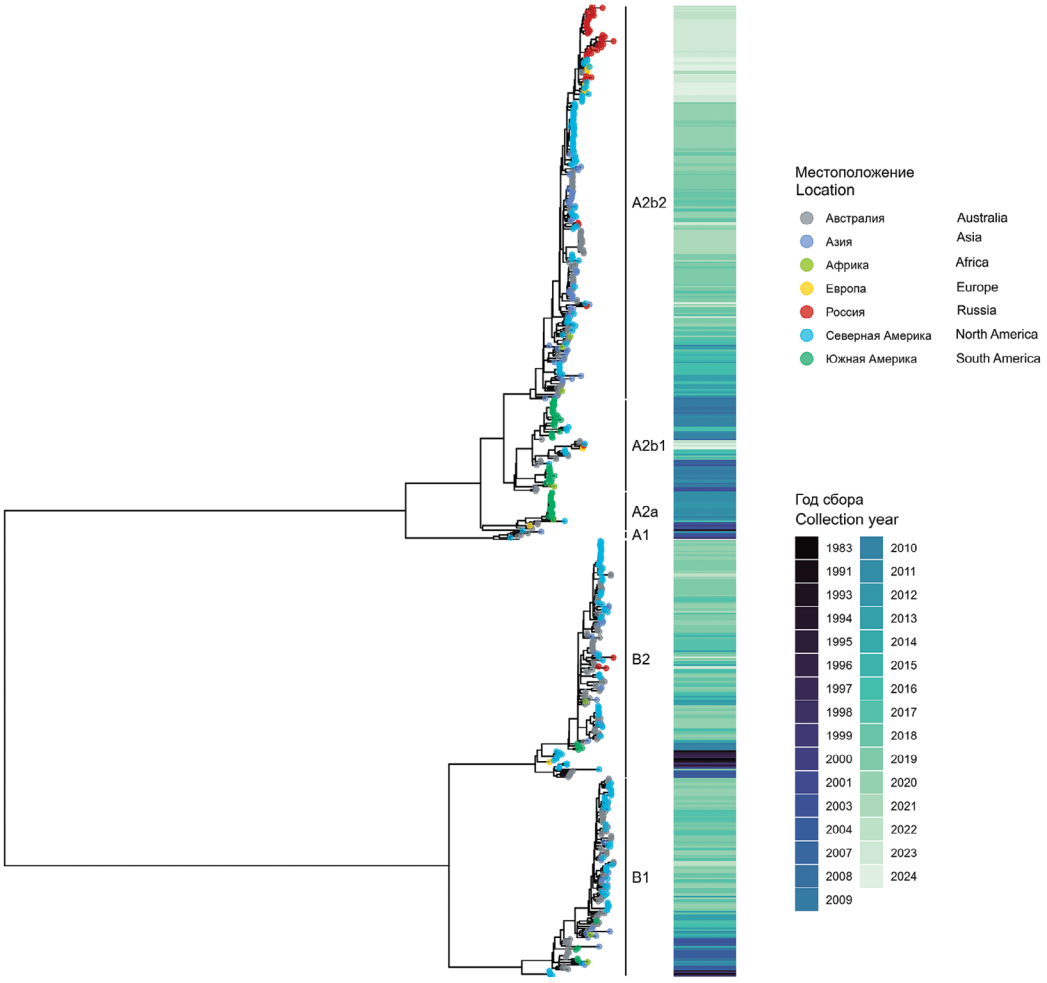


Рис. 2. Глобальное разнообразие метапневмовирусов человека по данным полногеномного секвенирования.
Красным отмечены изоляты из Российской Федерации.

Fig. 2. Global diversity of human metapneumoviruses based on whole-genome sequencing data.
Isolates from the Russian Federation are marked in red.

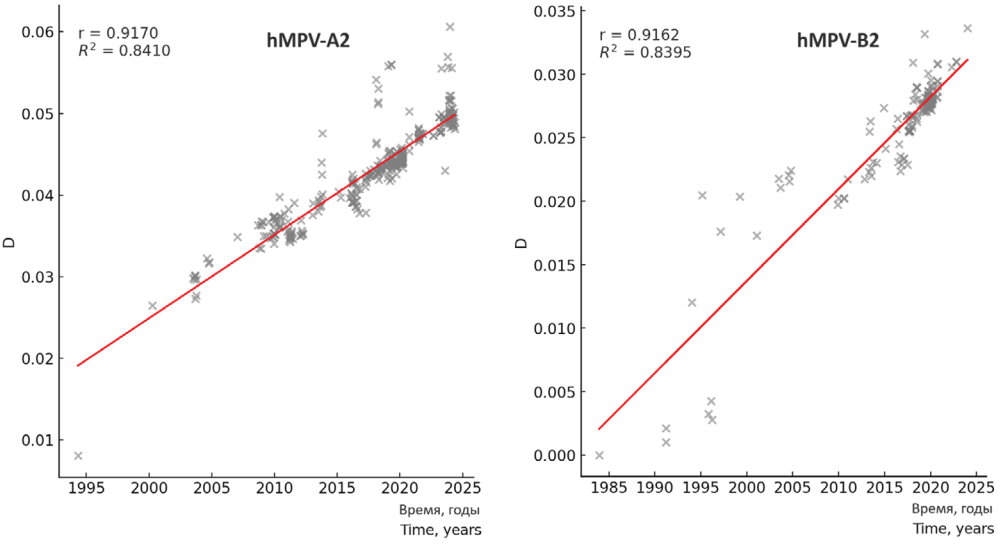


Рис. 3. Определение временнóго сигнала в полногеномных последовательностях hMPV.
Субтип A2 (слева), субтип B2 (справа). D – генетическая дистанция от корня до листьев филогенетического дерева (root-to-tip divergence).

Fig. 3. Temporal signal in whole genome sequences of hMPV.
Subtype A2 (left), subtype B2 (right). D – genetic distance of root-to-tip divergence.

Рис. 4. Филогенетическое дерево по гену *F* метапневмовируса человека подтипа А2.

Красным цветом отмечены вирусы, выявленные в трех регионах Российской Федерации.

Fig. 4. *F* gene phylogenetic tree of subtype A2 human metapneumovirus.

Viruses identified in three regions of the Russian Federation are marked in red.

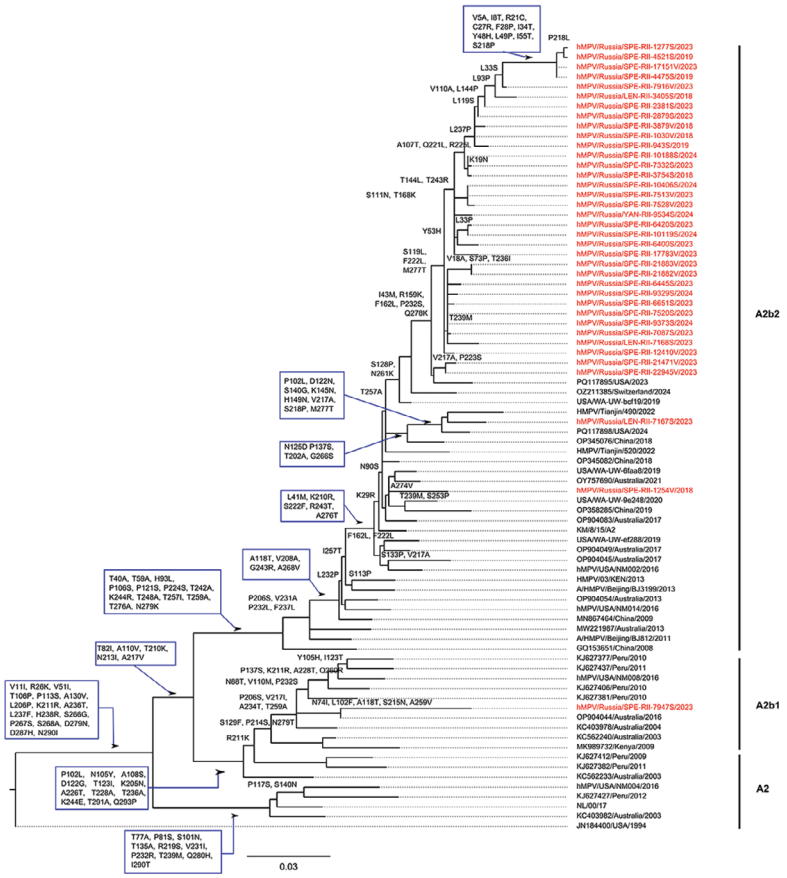


Рис. 5. Филогенетическое дерево по гену *G* метапневмовируса человека подтипа А2.

Красным цветом отмечены вирусы, выявленные в трех регионах Российской Федерации.

Fig. 5. *G* gene phylogenetic tree of subtype A2 human metapneumovirus.

Viruses identified in three regions of the Russian Federation are marked in red.

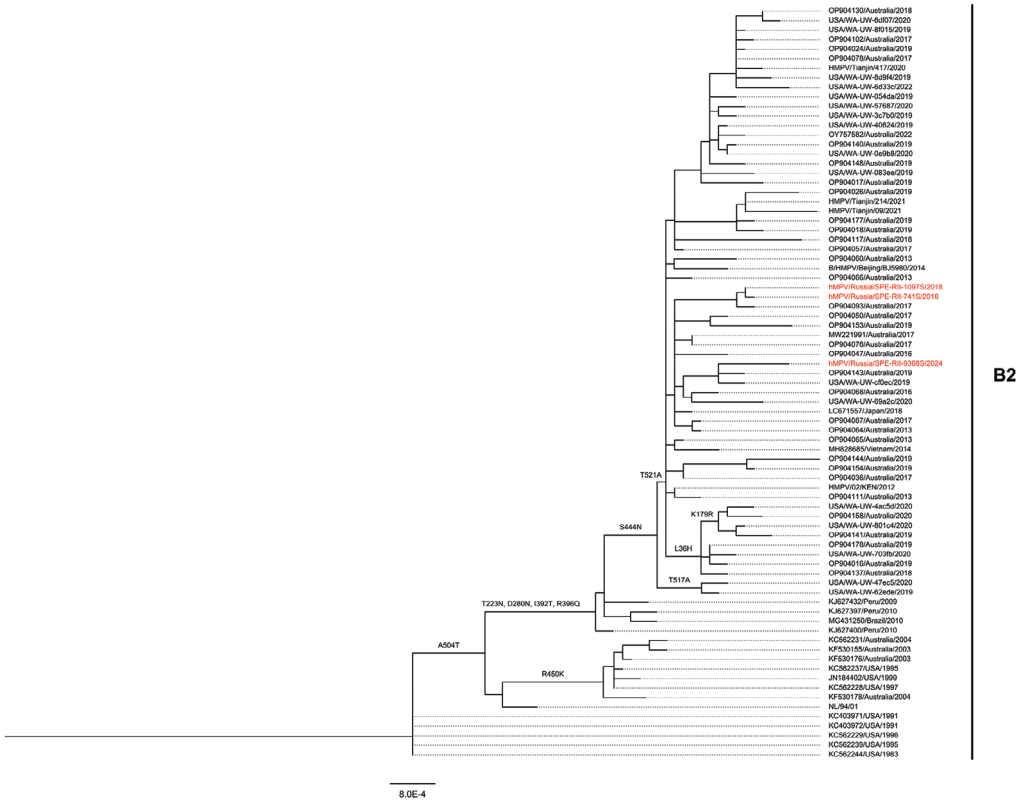


Рис. 6. Филогенетическое дерево по гену *F* метапневмовируса человека подтипа B2.

Красным цветом отмечены вирусы, выявленные в Санкт-Петербурге.

Fig. 6. *F* gene phylogenetic tree of subtype B2 human metapneumovirus.

Viruses identified in Saint Petersburg are marked in red.

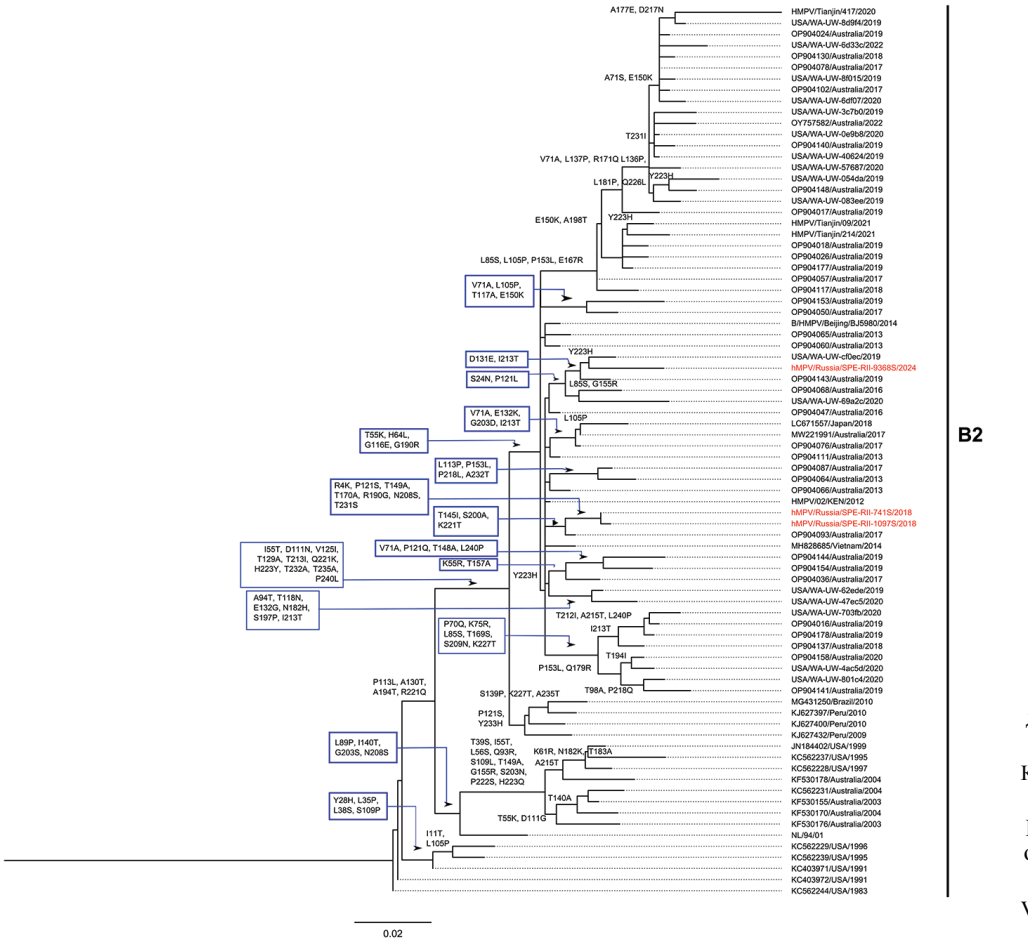


Рис. 7. Филогенетическое дерево по гену *G* метапневмовируса человека подтипа B2.

Красным цветом отмечены вирусы, выявленные в Санкт-Петербурге.

Fig. 7. G gene phylogenetic tree of subtype B2 human metapneumovirus.

Viruses identified in Saint Petersburg are marked in red.

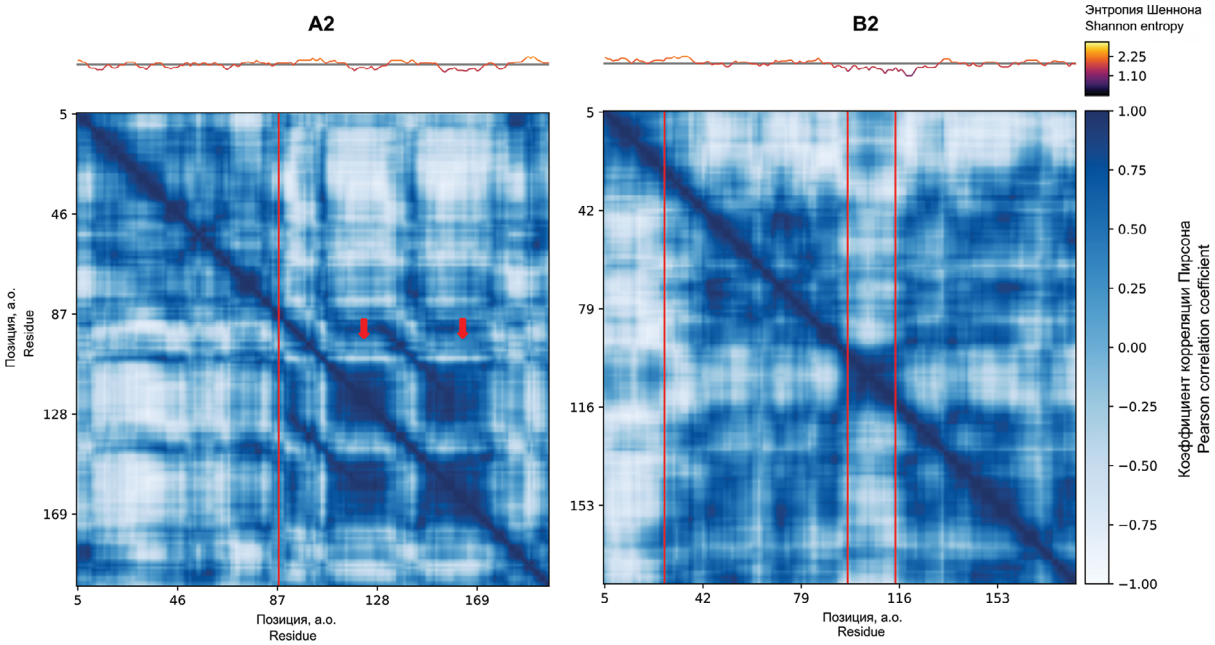


Рис. 8. Тепловая карта внешних доменов белка G вирусов hMPV подтипов A2 (слева) и B2 (справа) по данным инструмента Chi-Score (Brendan S. и соавт., 2023 [31]).

Красными стрелками отмечены участки протяженных дупликаций.

Fig. 8. Heat map of G protein external domains of hMPV subtypes A2 (left) and B2 (right) based on Chi-Score data (Brendan S, et al., 2023 [31]).

Red arrows indicate regions of extended duplications.

тересно отметить, что для hMPV субтипа A2 характерно возникновение протяженных дупликаций: так, в гене *G* 36 из 37 метапневмовирусов субтипа A2 из всех трех регионов России выявлен участок с дупликацией длиной 111 нуклеотидов. В гене *G* субтипа B2 протяженные дупликации выявлены не были.

Показано, что неупорядоченные участки белков могут иметь неслучайную организацию и возможно их разделение на модули с помощью теста χ^2 на гомогенность [31]. С помощью инструмента Chi-Score нами был проведен анализ внешнего домена белка G hMPV подтипов A2 и B2 (**рис. 8**).

Было показано, что внешний домен белка G hMPV подтипа A2 может быть разделен на два модуля – модуль 1 (52–139 а.о.) и модуль 2 (140 а.о. – С-конец белка), причем для модуля 2 характерны протяженные дупликации (длиной до 37 а.о.). Повторы состоят из участков *S1*, *L1*, *S2*, *L2*, разделенных консервативными спейсерными последовательностями RTSSA (**рис. 9**). Следует отметить, что повторяющиеся участки не на 100% гомологичны и могут содержать замены в разных положениях.

Около 57% метапневмовирусов субтипа A2, взятых в анализ, содержали только участки *S1* и *L2* (в том числе 1 вирус линии A2b1 (hMPV/Russia/SPE-RII-7947S/2023), 41% – дополнительно содержали участок *L1* (в том числе 36 российских вирусов линии A2b2) и лишь менее 2% вирусов содержали все повторы (**табл. 2**).

Внешний домен белка G hMPV субтипа B2 может быть разделен на четыре модуля – модуль 1, модули 2 и 4, являющиеся муцин-подобными доменами, и модуль 3 между ними, представляющий собой Glu-Lys-богатый спейсер 14–18 а.о.

Обсуждение

Метапневмовирус человека представляет собой один из респираторных патогенов, которые оказывают значительное влияние на здоровье, прежде всего детей и пожилых людей. Проведенное исследование позволило выявить важные аспекты циркуляции и генетической изменчивости hMPV в трех регионах Российской Федерации, что способствует пониманию динамики вирусной эволюции.

Одним из ключевых результатов работы стало установление доминирования генетического клайда A2b2 в российских изолятах hMPV в период с 2017 по 2024 г.

Проведенный филогенетический анализ показал высокую степень сходства между российскими изолятами hMPV и изолятами, циркулирующими в Европе и Азии, что подчеркивает важность трансграничного эпидемиологического мониторинга.

Сравнение результатов филогенетического анализа по полным геномам и по кодирующим поверхностные антигенам последовательностям показывает одинаковое разделение на клайды для всех исследованных вирусов, что позволяет предполагать низкую вероятность рекомбинации между разными штаммами hMPV.

В гене *G* 84% российских изолятов, относящихся к линии A2b, были выявлены дупликации размером 54 и 111 нуклеотидов. В исследовании P. Parida и соавт. обнаружена 180-нуклеотидная дупликация в гене *G* hMPV линии A2c [32]. Аналогичные резуль-

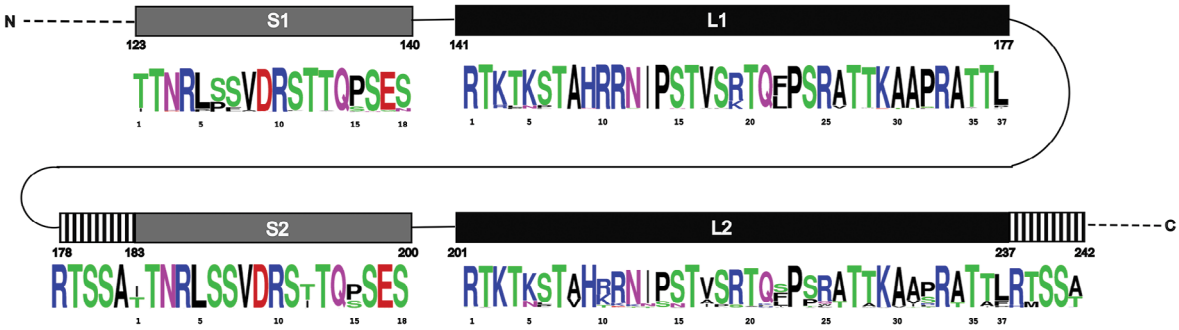


Рис. 9. Структура последовательности с повторами внешнего домена белка G hMPV подтипа A2.
Fig. 9. Structure of the duplication sequences in the G protein external domain of the hMPV subtype A2.

Таблица 2. Различные комбинации повторов последовательностей внешнего домена белка G подтипа A2 у исследованных вирусов hMPV
Table 2. Different combinations of duplications in the G protein external domain of the studied hMPV subtype A2

Наличие повторов Duplications				Количество изолятов, содержащих данную комбинацию/N секвенированных Number of isolates containing this combination/ Number of sequenced isolates	Примечание Note
S1	*L1*	*S2*	L2	6/338	Нет российских изолятов No isolates from Russia
S1	*L1*	–	*L2*	140/338	36 российских изолятов линии A2b2 36 subtype A2b2 isolates from Russia
S1	–	–	*L2*	192/338	1 российский изолят линии A2b1 1 subtype A2b1 isolate from Russia

таты были получены в более ранних исследованиях в Испании между 2014 и 2016 гг. [33], в Хорватии между 2014 и 2017 гг. [34] и в Японии в 2014 г. [35]. Также в тот же период времени более 50% изолятов hMPV имели дупликации 111 нуклеотидов (Япония, 2014–2016 гг. [36], Хорватия, 2014–2017 гг. [34], Китай, 2017 г. [37]). В исследовании, проведенном M. Pinana и соавт. в Испании, было выдвинуто предположение, что сублиния A2c может заменить сублинии A2a и A2b, а штаммы A2c с дупликациями могут вскоре заменить дикий тип A2c из-за лучшего механизма уклонения от иммунного ответа, возникающего в результате дупликации [33]. Наличие дупликаций в гене *G* у большинства российских изолятов указывает на возможное формирование новых антигенных вариантов, которые могут иметь эпидемиологическое значение. Эти изменения требуют дальнейшего изучения, поскольку они потенциально могут повлиять на эффективность вакцинных препаратов.

Заключение

В работе изучена молекулярная структура метапневмовируса человека, циркулировавшего в 2017–2024 гг. в отдельных субъектах России, что позволило получить уникальные данные о его генетическом разнообразии. Результаты исследования подчеркивают значимость комплексного подхода к изучению вируса, включающего мониторинг циркуляции, определение генетической изменчивости и оценку эволюции вирусов. Проведенное исследование закладывает фундамент для дальнейшего анализа эволюционных процессов вируса hMPV и оценки его влияния на здоровье населения, что имеет практическое и научное значение для совершенствования методов молекулярной диагностики, оценки риска распространения новых генотипов, эпидемиологического мониторинга, стратегий контроля за острыми респираторными инфекциями и создания вакцин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Uddin S., Thomas M. *Human Metapneumovirus. StatPearls.* StatPearls Publishing LLC; 2025.
2. Sanz-Munoz I., Sanchez-de Prada L., Castrodeza-Sanz J., Eiros J.M. Microbiological and epidemiological features of respiratory syncytial virus. *Rev. Esp. Quimioter.* 2024; 37(3): 209–20. https://doi.org/10.37201/req/006.2024
3. Cifuentes-Munoz N., Branttie J., Slaughter K.B., Dutch R.E. Human metapneumovirus induces formation of inclusion bodies for efficient genome replication and transcription. *J. Virol.* 2017; 91(24): e01282-17. https://doi.org/10.1128/JVI.01282-17
4. Shafagati N., Williams J. Human metapneumovirus – what we know now. *F1000Res.* 2018; 7: 135. https://doi.org/10.12688/f1000research.12625.1
5. Leyrat C., Paesen G.C., Charleston J., Renner M., Grimes J.M. Structural insights into the human metapneumovirus glycoprotein ectodomain. *J. Virol.* 2014; 88(19): 11611–6. https://doi.org/10.1128/JVI.01726-14
6. Jesse S.T., Ludlow M., Osterhaus A.D.M.E. Zoonotic origins of human metapneumovirus: a journey from birds to humans. *Viruses.* 2022; 14(4): 677. https://doi.org/10.3390/v14040677
7. Chang A., Masante C., Buchholz U.J., Dutch R.E. Human metapneumovirus (HMPV) binding and infection are mediated by interactions between the HMPV fusion protein and heparan sulfate. *J. Virol.* 2012; 86(6): 3230–43. https://doi.org/10.1128/JVI.06706-11
8. Ribo-Molina P., van Nieuwkoop S., Mykytyn A.Z., van Run P., Lamers M.M., Haagmans B.L., et al. Human metapneumovirus infection of organoid-derived human bronchial epithelium represents cell tropism and cytopathology as observed in in vivo models. *mSphere.* 2024; 9(2): e0074323. https://doi.org/10.1128/msphere.00743-23

9. Kinder J.T., Moncman C.L., Barrett C., Jin H., Kallewaard N., Dutch R.E. Respiratory syncytial virus and human metapneumovirus infections in three-dimensional human airway tissues expose an interesting dichotomy in viral replication, spread, and inhibition by neutralizing antibodies. *J. Virol.* 2020; 94(20): e01068-20. https://doi.org/10.1128/JVI.01068-20
10. Herfst S., de Graaf M., Schickli J.H., Tang R.S., Kaur J., Yang C.F., et al. Recovery of human metapneumovirus genetic lineages a and B from cloned cDNA. *J. Virol.* 2004; 78(15): 8264–70. https://doi.org/10.1128/JVI.78.15.8264-8270.2004
11. Groen K., van Nieuwkoop S., Meijer A., van der Veer B., van Kampen J.J.A., Fraaij P.L., et al. Emergence and Potential extinction of genetic lineages of human metapneumovirus between 2005 and 2021. *mBio.* 2023; 14(1): e0228022. https://doi.org/10.1128/mbio.02280-22
12. Kahn J.S. Epidemiology of human metapneumovirus. *Clin. Microbiol. Rev.* 2006; 19(3): 546–57. https://doi.org/10.1128/CMR.00014-06
13. van den Hoogen B.G., Herfst S., Sprong L., Cane P.A., Forleo-Neto E., de Swart R.L., et al. Antigenic and genetic variability of human metapneumoviruses. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(4): 658–66. https://doi.org/10.3201/eid1004.030393
14. Yang C.F., Wang C.K., Tollefson S.J., Piyaratna R., Lintao L.D., Chu M., et al. Genetic diversity and evolution of human metapneumovirus fusion protein over twenty years. *Virol. J.* 2009; 6: 138. https://doi.org/10.1186/1743-422X-6-138
15. Yang C.F., Wang C.K., Tollefson S.J., Lintao L.D., Liem A., Chu M., et al. Human metapneumovirus G protein is highly conserved within but not between genetic lineages. *Arch. Virol.* 2013; 158(6): 1245–52. https://doi.org/10.1007/s00705-013-1622-x
16. van den Hoogen B.G., de Jong J.C., Groen J., Kuiken T., de Groot R., Fouchier R.A., et al. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat. Med.* 2001; 7(6): 719–24. https://doi.org/10.1038/89098
17. Feng Y., He T., Zhang B., Yuan H., Zhou Y. Epidemiology and diagnosis technologies of human metapneumovirus in China: a mini review. *Virol. J.* 2024; 21(1): 59. https://doi.org/10.1186/s12985-024-02327-9
18. Esposito S., Mastrolia M.V. Metapneumovirus infections and respiratory complications. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2016; 37(4): 512–21. https://doi.org/10.1055/s-0036-1584800
19. Hamelin M.E., Abed Y., Boivin G. Human metapneumovirus: a new player among respiratory viruses. *Clin. Infect. Dis.* 2004; 38(7): 983–90. https://doi.org/10.1086/382536
20. Yi L., Zou L., Peng J., Yu J., Song Y., Liang L., et al. Epidemiology, evolution and transmission of human metapneumovirus in Guangzhou China, 2013–2017. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 14022. https://doi.org/10.1038/s41598-019-50340-8
21. Matsuzaki Y., Itagaki T., Ikeda T., Aoki Y., Abiko C., Mizuta K. Human metapneumovirus infection among family members. *Epidemiol. Infect.* 2013; 141(4): 827–32. https://doi.org/10.1017/S095026881200129X
22. Hacker K., Kuan G., Vydiswaran N., Chowell-Puente G., Patel M., Sanchez N., et al. Pediatric burden and seasonality of human metapneumovirus over 5 years in Managua, Nicaragua. *Influenza Other Respir. Viruses.* 2022; 16(6): 1112–21. https://doi.org/10.1111/irv.13034
23. Howard L.M., Edwards K.M., Zhu Y., Griffin M.R., Weinberg G.A., Szilagyi P.G., et al. Clinical features of human metapneumovirus infection in ambulatory children aged 5-13 years. *J. Pediatric Infect. Dis. Soc.* 2018; 7(2): 165–8. https://doi.org/10.1093/jpids/pix012
24. Шарипова Е.В., Бабаченко И.В., Орлова Е.Д. Метапневмовирусная инфекция у детей. *Педиатр.* 2020; 11(5): 13–9. https://doi.org/10.17816/PED11513-19 https://elibrary.ru/xqnxgf
25. Lu G., Gonzalez R., Guo L., Wu C., Wu J., Vernet G., et al. Large-scale seroprevalence analysis of human metapneumovirus and human respiratory syncytial virus infections in Beijing, China. *Virol. J.* 2011; 8: 62. https://doi.org/10.1186/1743-422X-8-62
26. Яцышина СБ. Пневмовирусы в инфекционной патологии человека. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2017; 94(6): 95–105. https://doi.org/10.36233/0372-9311-2017-6-95-105 https://elibrary.ru/zaddtv
27. Sugimoto S., Kawase M., Suwa R., Kakizaki M., Kume Y., Chishiki M., et al. Development of a duplex real-time RT-PCR assay for the detection and identification of two subgroups of human metapneumovirus in a single tube. *J. Virol. Methods.* 2023; 322: 114812. https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2023.114812
28. Groen K., van Nieuwkoop S., Bestebroer T.M., Fraaij P.L., Fouchier R.A.M., van den Hoogen B.G. Whole genome sequencing of human metapneumoviruses from clinical specimens using MinION nanopore technology. *Virus Res.* 2021; 302: 198490. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2021.198490
29. Aksamentov I., Roemer C., Hodcroft E., Neher R. Nextclade: clade assignment, mutation calling and quality control for viral genomes. *J. Open Source Softw*. 2021; 6(67): 3773. https://doi.org/10.21105/joss.03773
30. Rambaut A., Lam T.T., Max Carvalho L., Pybus O.G. Exploring the temporal structure of heterochronous sequences using TempEst (formerly Path-O-Gen). *Virus Evol.* 2016; 2(1): vew007. https://doi.org/10.1093/ve/vew007
31. McConnell B.S., Parker M.W. Protein intrinsically disordered regions have a non-random, modular architecture. *Bioinformatics*. 2023; 39(12): btad732. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btad732
32. Parida P., Sudheesh N., Sanjay E.R., Jagadesh A., Marate S., Govindakaranavar A. The emergence of human metapneumovirus G gene duplication in hospitalized patients with respiratory tract infection, India, 2016–2018. *Mol. Biol. Rep.* 2023; 50(2): 1109–16. https://doi.org/10.1007/s11033-022-08092-8
33. Piñana M., Vila J., Maldonado C., Galano-Frutos J.J., Valls M., Sancho J., et al. Insights into immune evasion of human metapneumovirus: novel 180- and 111-nucleotide duplications within viral G gene throughout 2014–2017 seasons in Barcelona, Spain. *J. Clin. Virol.* 2020; 132: 104590. https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104590
34. Jagusic M., Slovic A., Ivancic-Jelecki J., Ljubin-Sternak S., Vilibić-Čavlek T., Tabain I., et al. Molecular epidemiology of human respiratory syncytial virus and human metapneumovirus in hospitalized children with acute respiratory infections in Croatia, 2014–2017. *Infect. Genet. Evol.* 2019; 76: 104039. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.104039
35. Saikusa M., Kawakami C., Nao N., Takeda M., Usuku S., Sasao T., et al. 180-nucleotide duplication in the G gene of human metapneumovirus A2b subgroup strains circulating in Yokohama city, Japan, since 2014. *Front. Microbiol.* 2017; 8: 402. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00402
36. Saikusa M., Nao N., Kawakami C., Usuku S., Sasao T., Toyozawa T., et al. A novel 111-nucleotide duplication in the G gene of human metapneumovirus. *Microbiol. Immunol.* 2017; 61(11): 507–12. https://doi.org/10.1111/1348-0421.12543
37. Yi L., Zou L., Peng J., Yu J., Song Y., Liang L., et al. Epidemiology, evolution and transmission of human metapneumovirus in Guangzhou China, 2013–2017. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 14022. https://doi.org/10.1038/s41598-019-50340-8

REFERENCES

1. Uddin S., Thomas M. *Human Metapneumovirus. StatPearls*. StatPearls Publishing LLC; 2025.
2. Sanz-Munoz I., Sanchez-de Prada L., Castrodeza-Sanz J., Eiros J.M. Microbiological and epidemiological features of respiratory syncytial virus. *Rev. Esp. Quimioter.* 2024; 37(3): 209–20. https://doi.org/10.37201/req/006.2024
3. Cifuentes-Munoz N., Branttie J., Slaughter K.B., Dutch R.E. Human metapneumovirus induces formation of inclusion bodies for efficient genome replication and transcription. *J. Virol.* 2017; 91(24): e01282-17. https://doi.org/10.1128/JVI.01282-17
4. Shafagati N., Williams J. Human metapneumovirus – what we know now. *F1000Res.* 2018; 7: 135. https://doi.org/10.12688/f1000research.12625.1
5. Leyrat C., Paesen G.C., Charleston J., Renner M., Grimes J.M. Structural insights into the human metapneumovirus glycoprotein ectodomain. *J. Virol.* 2014; 88(19): 11611–6. https://doi.org/10.1128/JVI.01726-14
6. Jesse S.T., Ludlow M., Osterhaus A.D.M.E. Zoonotic origins of human metapneumovirus: a journey from birds to humans. *Viruses*. 2022; 14(4): 677. https://doi.org/10.3390/v14040677
7. Chang A., Masante C., Buchholz U.J., Dutch R.E. Human metapneumovirus (HMPV) binding and infection are mediated by interactions between the HMPV fusion protein and heparan sulfate. *J. Virol.* 2012; 86(6): 3230–43. https://doi.org/10.1128/JVI.06706-11

8. Ribo-Molina P., van Nieuwkoop S., Mykytyn A.Z., van Run P., Lamers M.M., Haagmans B.L., et al. Human metapneumovirus infection of organoid-derived human bronchial epithelium represents cell tropism and cytopathology as observed in in vivo models. *mSphere*. 2024; 9(2): e0074323. https://doi.org/10.1128/msphere.00743-23
9. Kinder J.T., Moncman C.L., Barrett C., Jin H., Kallewaard N., Dutch R.E. Respiratory syncytial virus and human metapneumovirus infections in three-dimensional human airway tissues expose an interesting dichotomy in viral replication, spread, and inhibition by neutralizing antibodies. *J. Virol.* 2020; 94(20): e01068-20. https://doi.org/10.1128/JVI.01068-20
10. Herfst S., de Graaf M., Schickli J.H., Tang R.S., Kaur J., Yang C.F., et al. Recovery of human metapneumovirus genetic lineages a and B from cloned cDNA. *J. Virol.* 2004; 78(15): 8264–70. https://doi.org/10.1128/JVI.78.15.8264-8270.2004
11. Groen K., van Nieuwkoop S., Meijer A., van der Veer B., van Kampen J.J.A., Fraaij P.L., et al. Emergence and Potential extinction of genetic lineages of human metapneumovirus between 2005 and 2021. *mBio*. 2023; 14(1): e0228022. https://doi.org/10.1128/mbio.02280-22
12. Kahn J.S. Epidemiology of human metapneumovirus. *Clin. Microbiol. Rev.* 2006; 19(3): 546–57. https://doi.org/10.1128/CMR.00014-06
13. van den Hoogen B.G., Herfst S., Sprong L., Cane P.A., Forleo-Neto E., de Swart R.L., et al. Antigenic and genetic variability of human metapneumoviruses. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(4): 658–66. https://doi.org/10.3201/eid1004.030393
14. Yang C.F., Wang C.K., Tollefson S.J., Piyaratna R., Lintao L.D., Chu M., et al. Genetic diversity and evolution of human metapneumovirus fusion protein over twenty years. *Virol. J.* 2009; 6: 138. https://doi.org/10.1186/1743-422X-6-138
15. Yang C.F., Wang C.K., Tollefson S.J., Lintao L.D., Liem A., Chu M., et al. Human metapneumovirus G protein is highly conserved within but not between genetic lineages. *Arch. Virol.* 2013; 158(6): 1245–52. https://doi.org/10.1007/s00705-013-1622-x
16. van den Hoogen B.G., de Jong J.C., Groen J., Kuiken T., de Groot R., Fouchier R.A., et al. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat. Med.* 2001; 7(6): 719–24. https://doi.org/10.1038/89098
17. Feng Y., He T., Zhang B., Yuan H., Zhou Y. Epidemiology and diagnosis technologies of human metapneumovirus in China: a mini review. *Virol. J.* 2024; 21(1): 59. https://doi.org/10.1186/s12985-024-02327-9
18. Esposito S., Mastrolia M.V. Metapneumovirus infections and respiratory complications. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2016; 37(4): 512–21. https://doi.org/10.1055/s-0036-1584800
19. Hamelin M.E., Abed Y., Boivin G. Human metapneumovirus: a new player among respiratory viruses. *Clin. Infect. Dis.* 2004; 38(7): 983–90. https://doi.org/10.1086/382536
20. Yi L., Zou L., Peng J., Yu J., Song Y., Liang L., et al. Epidemiology, evolution and transmission of human metapneumovirus in Guangzhou China, 2013–2017. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 14022. https://doi.org/10.1038/s41598-019-50340-8
21. Matsuzaki Y., Itagaki T., Ikeda T., Aoki Y., Abiko C., Mizuta K. Human metapneumovirus infection among family members. *Epidemiol. Infect.* 2013; 141(4): 827–32. https://doi.org/10.1017/S095026881200129X
22. Hacker K., Kuan G., Vydiswaran N., Chowell-Puente G., Patel M., Sanchez N., et al. Pediatric burden and seasonality of human metapneumovirus over 5 years in Managua, Nicaragua. *Influenza Other Respir. Viruses*. 2022; 16(6): 1112–21. https://doi.org/10.1111/irv.13034
23. Howard L.M., Edwards K.M., Zhu Y., Griffin M.R., Weinberg G.A., Szilagyi P.G., et al. Clinical features of human metapneumovirus infection in ambulatory children aged 5-13 years. *J. Pediatric Infect. Dis. Soc.* 2018; 7(2): 165–8. https://doi.org/10.1093/jpids/pix012
24. Sharipova E.V., Babachenko I.V., Orlova E.D. Metapneumovirus infection in children. *Pediatr.* 2020; 11(5): 13–9. https://doi.org/10.17816/PED11513-19 https://elibrary.ru/xqnxgf (in Russian)
25. Lu G., Gonzalez R., Guo L., Wu C., Wu J., Vernet G., et al. Large-scale seroprevalence analysis of human metapneumovirus and human respiratory syncytial virus infections in Beijing, China. *Virol. J.* 2011; 8: 62. https://doi.org/10.1186/1743-422X-8-62
26. Yatsyshina S.B. Pneumoviruses in human infectious diseases. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2017; 94(6): 95–105. https://doi.org/10.36233/0372-9311-2017-6-95-105 https://elibrary.ru/zaddtv (in Russian)
27. Sugimoto S., Kawase M., Suwa R., Kakizaki M., Kume Y., Chishiki M., et al. Development of a duplex real-time RT-PCR assay for the detection and identification of two subgroups of human metapneumovirus in a single tube. *J. Virol. Methods.* 2023; 322: 114812. https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2023.114812
28. Groen K., van Nieuwkoop S., Bestebroer T.M., Fraaij P.L., Fouchier R.A.M., van den Hoogen B.G. Whole genome sequencing of human metapneumoviruses from clinical specimens using MinION nanopore technology. *Virus Res.* 2021; 302: 198490. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2021.198490
29. Aksamentov I., Roemer C., Hodcroft E., Neher R. Nextclade: clade assignment, mutation calling and quality control for viral genomes. *J. Open Source Softw.* 2021; 6(67): 3773. https://doi.org/10.21105/joss.03773
30. Rambaut A., Lam T.T., Max Carvalho L., Pybus O.G. Exploring the temporal structure of heterochronous sequences using TempEst (formerly Path-O-Gen). *Virus Evol.* 2016; 2(1): vew007. https://doi.org/10.1093/ve/vew007
31. McConnell B.S., Parker M.W. Protein intrinsically disordered regions have a non-random, modular architecture. *Bioinformatics.* 2023; 39(12): btad732. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btad732
32. Parida P., Sudheesh N., Sanjay E.R., Jagadesh A., Marate S., Govindakaranavar A. The emergence of human metapneumovirus G gene duplication in hospitalized patients with respiratory tract infection, India, 2016–2018. *Mol. Biol. Rep.* 2023; 50(2): 1109–16. https://doi.org/10.1007/s11033-022-08092-8
33. Piñana M., Vila J., Maldonado C., Galano-Frutos J.J., Valls M., Sancho J., et al. Insights into immune evasion of human metapneumovirus: novel 180- and 111-nucleotide duplications within viral G gene throughout 2014–2017 seasons in Barcelona, Spain. *J. Clin. Virol.* 2020; 132: 104590. https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104590
34. Jagusic M., Slovic A., Ivancic-Jelecki J., Ljubin-Sternak S., Vilibić-Čavlek T., Tabain I., et al. Molecular epidemiology of human respiratory syncytial virus and human metapneumovirus in hospitalized children with acute respiratory infections in Croatia, 2014–2017. *Infect. Genet. Evol.* 2019; 76: 104039. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.104039
35. Saikusa M., Kawakami C., Nao N., Takeda M., Usuku S., Sasao T., et al. 180-nucleotide duplication in the G gene of human metapneumovirus A2b subgroup strains circulating in Yokohama city, Japan, since 2014. *Front. Microbiol.* 2017; 8: 402. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00402
36. Saikusa M., Nao N., Kawakami C., Usuku S., Sasao T., Toyozawa T., et al. A novel 111-nucleotide duplication in the G gene of human metapneumovirus. *Microbiol. Immunol.* 2017; 61(11): 507–12. https://doi.org/10.1111/1348-0421.12543
37. Yi L., Zou L., Peng J., Yu J., Song Y., Liang L., et al. Epidemiology, evolution and transmission of human metapneumovirus in Guangzhou China, 2013–2017. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 14022. https://doi.org/10.1038/s41598-019-50340-8

Информация об авторах:

Фадеев Артём Викторович – старший научный сотрудник лаборатории молекулярной вирусологии ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: artem.fadeev@influenza.spb.ru; https://orcid.org/0000-0003-3558-3261

Иванов Ян Владимирович – аспирант 2-го года обучения лаборатории молекулярной вирусологии ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: ivanov.yan.vladimirovich@yandex.ru; https://orcid.org/0009-0006-0187-4000

Петрова Полина Александровна – научный сотрудник лаборатории эволюционной изменчивости вирусов гриппа ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: suddenkovapolina@gmail.com; https://orcid.org/0000-0001-8527-7946

Передерий Александр Александрович – лаборант-исследователь лаборатории молекулярной вирусологии ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: gilagalex@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-5961-1856

Писарева Мария Михайловна – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной вирусологии ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: maria.pisareva@influenza.spb.ru; https://orcid.org/0000-0002-1499-9957

Мошкин Алексей Дмитриевич – младший научный сотрудник НИИ вирусологии ФИЦ ФТМ, Новосибирск, Россия. E-mail: alex.moshkin727@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-1182-8247

Комиссаров Андрей Борисович✉ – заведующий лабораторией молекулярной вирусологии ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: andrey.komissarov@influenza.spb.ru; https://orcid.org/0000-0003-1733-1255

Даниленко Дарья Михайловна – канд. биол. наук, заместитель директора по научной работе ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: daria.danilenko@influenza.spb.ru; https://orcid.org/0000-0001-6174-0836

Лиознов Дмитрий Анатольевич – д-р мед. наук, профессор, директор ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: dmitry.lioznov@influenza.spb.ru; https://orcid.org/0000-0003-3643-7354

Участие авторов: Фадеев А.В., Комиссаров А.Б. – концепция и дизайн исследования; Фадеев А.В., Иванов Я.В., Петрова П.А., Передерий А.А. – экспериментальная работа, полногеномное секвенирование, сравнительный и филогенетический анализ, интерпретация данных; Комиссаров А.Б., Писарева М.М., Мошкин А.Д. – подготовка рукописи, рецензирование текста и полученных результатов, оформление текста; Даниленко Д.М., Лиознов Д.А. – администрирование, координация, финальное редактирование рукописи.

Поступила 04.02.2025
Принята в печать 31.03.2025
Опубликована 30.04.2025

Information about the authors:

Artem V. Fadeev – Senior Researcher, Laboratory of Molecular Virology, Smorodintsev Research Institute of Influenza, Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia. E-mail: artem.fadeev@influenza.spb.ru; https://orcid.org/0000-0003-3558-3261

Yan V. Ivanov – 2nd year PhD student, Laboratory of Molecular Virology, Smorodintsev Research Institute of Influenza, Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia. E-mail: ivanov.yan.vladimirovich@yandex.ru; https://orcid.org/0009-0006-0187-4000

Polina A. Petrova – Researcher, Laboratory of influenza viruses' evolutionary variability, Smorodintsev Research Institute of Influenza, Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia. E-mail: suddenkovapolina@gmail.com. https://orcid.org/0000-0001-8527-7946

Alexander A. Perederiy – Laboratory research assistant, Laboratory of Molecular Virology, Smorodintsev Research Institute of Influenza, Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia. E-mail: gilagalex@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-5961-1856

Maria M. Pisareva – PhD in biology, leading researcher, Laboratory of Molecular Virology, Smorodintsev Research Institute of Influenza, Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia. E-mail: maria.pisareva@influenza.spb.ru; https://orcid.org/0000-0002-1499-9957

Alexey D. Moshkin – researcher at the Research Institute of Virology, FRC FTM, Novosibirsk, Russia. E-mail: alex.moshkin727@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-1182-8247

Andrey B. Komissarov✉ – Head of the Laboratory of Molecular Virology, Smorodintsev Research Institute of Influenza, Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia. E-mail: andrey.komissarov@influenza.spb.ru; https://orcid.org/0000-0003-1733-1255

Daria M. Danilenko – PhD in biology, Deputy Director for Research, Smorodintsev Research Institute of Influenza, Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia. E-mail: daria.danilenko@influenza.spb.ru; https://orcid.org/0000-0001-6174-0836

Dmitriy A. Lioznov – Doctor of Medicine Sciences, Professor, Director of the Smorodintsev Research Institute of Influenza, Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia. E-mail: dmitry.lioznov@influenza.spb.ru; https://orcid.org/0000-0003-3643-7354

Contribution: Fadeev A.V., Komissarov A.B. – concept and design of the study; Fadeev A.V., Ivanov Ya.V., Petrova P.A., Perederiy A.A. – experimental work, whole-genome sequencing, comparative and phylogenetic analysis, data interpretation; Komissarov A.B., Pisareva M.M., Moshkin A.D. – manuscript preparation, reviewing the text and the results obtained, text design; Danilenko D.M., Lioznov D.A. – administration, coordination, final editing of the manuscript.

Received 04 February 2025
Accepted 31 March 2025
Published 30 April 2025

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-303
© СИНЮГИНА А.А., ЛЫЧЕВА Н.А., САПРЫКИНА А.А., КРЫШЕНЬ К.Л., АПОЛОХОВ В.Д., ЧЕРНАВЦЕВА А.Д., КОВПАК А.А., ИВИН Ю.Ю., ПИНЯЕВА А.Н., МАКАРОВА М.Н., МАКАРОВ В.Г., ИШМУХАМЕТОВ А.А., 2025

Влияние инактивированной цельновирионной концентрированной очищенной вакцины для профилактики COVID-19 на клинические и биохимические параметры крови неполовозрелых крыс

Синюгина А.А.[1], Лычева Н.А.[1]✉, Сапрыкина А.А.[2], Крышень К.Л.[2], Аполохов В.Д.[1], Чернавцева А.Д.[1], Ковпак А.А.[1], Ивин Ю.Ю.[1], Пиняева А.Н.[1], Макарова М.Н.[2], Макаров В.Г.[2], Ишмухаметов А.А.[1]

[1]ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов имени М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), 108819, п. Московский, г. Москва, Россия;
[2]АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», 188663, г.п. Кузьмоловский, Всеволожский район, Ленинградская область, Россия

Резюме
Введение. С 2021 по 2022 г. распространение новой коронавирусной инфекции (COVID-19) в детской популяции составляло 9,5%, регистрировались летальные исходы. В 2022–2023 гг. доля детей, заразившихся COVID-19, выросла до 18%. Таким образом, разработка вакцины для педиатрической популяции является актуальной задачей. Необходимо отметить общую недостаточность публикаций результатов исследований безопасности, выполненных на доклиническом этапе.
Цель исследования – изучение влияния вакцины против COVID-19 на параметры общего и биохимического анализа крови у неполовозрелых крыс.
Материалы и методы. Исследование выполнено на 112 неполовозрелых крысах (60 самок, 52 самца) линии Wistar. Животных рандомизировали на группы, получившие вакцину «КовиВак» в дозах 0,125, 0,25 и 0,5 мл/животное или плацебо в объеме 0,5 мл/животное, 4-кратно внутримышечно в 1, 15, 29 и 43-й дни эксперимента, начиная с 3-го дня от рождения животного. В ходе исследования дважды (на 57-й и 71-й дни) проводили общий и биохимический анализы крови.
Результаты. У самцов зарегистрировали олигоцитемию (0,25 и 0,5 мл/животное, $p < 0,05$), лейкоцитоз и тромбоцитопению (0,5 мл/животное, $p < 0,05$). У самок установили моноцитопению (0,5 мл/животное, $p < 0,05$) и лейкоцитопению (0,25 мл/животное, $p < 0,05$). У самцов выявили увеличение количества глобулинов и общего белка (0,5 мл/животное), снижение соотношения A/G (0,25 и 0,5 мл/животное), снижение уровня холестерина (0,125 мл/животное). У самок зафиксировали увеличение количества альбумина и общего белка (0,5 мл/животное, $p < 0,05$), снижение уровня триглицеридов (0,125, 0,25, 0,5 мл/животное, плацебо, $p < 0,05$), снижение уровня триглицеридов и мочевины (0,25 мл/животное, $p < 0,05$).
Заключение. Все зарегистрированные значения находились в пределах внутрилабораторных норм. Таким образом, показана безопасность вакцины «КовиВак» в отношении клинических и биохимических параметров крови.

Ключевые слова: *COVID-19; новая коронавирусная инфекция; безопасность; вакцина; «КовиВак»; неполовозрелые крысы*

Для цитирования: Синюгина А.А., Лычева Н.А., Сапрыкина А.А., Крышень К.Л., Аполохов В.Д., Чернавцева А.Д., Ковпак А.А., Ивин Ю.Ю., Пиняева А.Н., Макарова М.Н., Макаров В.Г., Ишмухаметов А.А. Влияние инактивированной цельновирионной концентрированной очищенной вакцины для профилактики COVID-19 на клинические и биохимические параметры крови неполовозрелых крыс. *Вопросы вирусологии*. 2025; 70(2): 177–188. DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-303 EDN: https://elibrary.ru/sbaerc

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.
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 Биоэтической комиссией АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» (протокол № 3.4/22 от 18.02.2022).

ORIGINAL STUDY ARTICLE
DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-303

Effect of inactivated whole-virion concentrated purified vaccine for the prevention of COVID-19 on clinical and biochemical blood parameters of immature rats

Aleksandra A. Siniugina[1], Natalya A. Lycheva[1]✉, Anastasia A. Saprykina[2], Kirill L. Kryshen'[2], Vasiliy D. Apolokhov[1], Anastasiya D. Chernavtseva[1], Anastasiya A. Kovpak[1], Yuriy Yu. Ivin[1], Anastasia N. Piniaeva[1], Marina N. Makarova[2], Valery G. Makarov[2], Aidar A. Ishmukhametov[1]

[1]Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences (Institute of Poliomyelitis), Village of Institute of Poliomyelitis, Settlement Moskovskiy, 108819, Moscow, Russia;
[2]Research-and-manufacturing company «HOME OF PHARMACY» Joint Stock company, 188663, urban settlement Kuzmolovsky, Vsevolozhsky district, Leningrad region, Russia

Abstract
Introduction. The prevalence of new coronavirus infection (COVID-19) in 2021-2022 in the pediatric population was 9.5%, and fatal outcomes began to be recorded. In 2022–2023, the proportion of children infected with COVID-19 increased to 18%. Developing a vaccine for the pediatric population is an urgent task.
The aim of the study is to explore the effect of the vaccine on the parameters of general and biochemical blood tests in immature rats.
Materials and methods. The study was performed on 112 immature rats (60 females, 52 males) of the Wistar line. Animals were randomized into groups that received the CoviVac vaccine at doses of 0.125, 0.25 and 0.5 mL/animal or placebo (0.5 mL/animal), intramuscularly on days 1, 15, 29 and 43 of the experiment. General and biochemical blood tests were performed twice, on the 57th and 71st days.
Results. Oligocythemia (0.25 and 0.5 mL/animal, $p < 0.05$), leukocytosis and thrombocytopenia (0.5 mL/animal, $p < 0.05$) were recorded in males. Monocytopenia (0.5 mL/animal, $p < 0.05$) and leukopenia (0.25 mL/animal, $p < 0.05$) were established in females. In males, an increase in the amount of globulins and total protein (0.5 mL/animal), a decrease in the A/G ratio (doses 0.25 and 0.5 mL/animal), a decrease in the cholesterol level (0.125 mL/animal) were detected. In females, an increase in the amount of albumin and total protein (0.5 mL/animal, $p < 0.05$), a decrease in the level of triglycerides (0.125, 0.25, 0.5 mL/animal, placebo, $p < 0.05$), a decrease in the level of lactate dehydrogenase, triglycerides and urea (0.25 mL/animal, $p < 0.05$) were recorded.
Conclusion. The safety of the CociVac vaccine in relation to clinical and biochemical blood parameters has been demonstrated.

Keywords: *COVID-19; new coronavirus infection; safety; vaccine; CociVac; immature rats*

For citation: Sinjugina A.A., Lycheva N.A., Saprykina A.A., Kryshen' K.L., Apolohov V.D., Chernavceva A.D., Kovpak A.A., Ivin Yu.Yu., Piniaeva A.N., Makarova M.N., Makarov V.G., Ishmuhametov A.A. Effect of inactivated whole-virion concentrated purified vaccine for the prevention of COVID-19 on clinical and biochemical blood parameters of immature rats. *Problems of Virology* (*Voprosy Virusologii*). 2025; 70(2): 177–188 (In Russ.). DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-303 EDN: https://elibrary.ru/sbaerc

Funding. This study was not supported by any external sources of funding.
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 Bioethics commission of JSC «NPO «DOM PHARMATII» (Protocol No. 3.4/22 dated 18.02.2022).

Введение

Пандемия новой коронавирусной инфекции (COVID-19) вызвала социальный и экономический кризис в мире и до настоящего времени представляет серьезную глобальную угрозу здоровью. В течение 2021 г. и в начале 2022 г. распространение COVID-19 в детской популяции составило 9,5%, увеличилась частота госпитализаций детей и подростков, стали регистрироваться летальные исходы. А в 2022–2023 гг. доля детей, заразившихся COVID-19, выросла до 18% [1].

Исследования первого года пандемии показали, что преобладающим направлением была передача вируса от взрослого к ребенку, а не от ребенка к взрослому. В семейных кластерах наиболее частым источником инфекции были родители (56%) [2].

Одним из перспективных способов предотвращения распространения вирусных инфекций является использование вакцин. Поскольку, по результатам исследований, дети и подростки, так же как и другие возрастные категории людей, подвержены риску заражения новой коронавирусной инфекцией и так же

могут быть источником ее дальнейшего распространения [3], разработка вакцины для педиатрической популяции является актуальной задачей.

Одной из первых зарегистрированных вакцин на территории России является вакцина коронавирусная инактивированная цельновирионная концентрированная очищенная «КовиВак», разработанная ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Поскольку, согласно современным требованиям, разработка безопасной и эффективной вакцины для детей требует проведения доклинических исследований на неполовозрелых животных, а затем клинических исследований с участием несовершеннолетних[1,2], **целью** настоящего исследования явилось изучение влияния вакцины на параметры общего и биохимического анализа крови у неполовозрелых крыс.

Материалы и методы

Проведение эксперимента было одобрено на заседании биоэтической комиссии АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» (протокол заседания № 3.4/22). Животных содержали в стандартных условиях в соответствии с Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных[3] и Директивой 2010/63/EU[4].

Состав вакцины и плацебо

Состав вакцины «КовиВак» на одну дозу (0,5 мл): действующее вещество – антиген инактивированного коронавируса SARS-CoV-2 (антиген очищенного вируса SARS-CoV-2, полученного путем репродукции в перевиваемой культуре клеток линии Vero и инактивированного β-пропиолактоном) не менее 3 мкг; вспомогательные вещества – алюминия гидроксид 0,3–0,5 мг; буферный раствор (фосфатный) (динатрия фосфат дигидрат, натрия дигидрофосфата дигидрат, натрия хлорид, вода для инъекций) до 0,5 мл.

Состав плацебо на одну дозу (0,5 мл): алюминия гидроксид 0,3–0,5 мг; буферный раствор (фосфатный) (динатрия фосфат дигидрат, натрия дигидрофосфата дигидрат, натрия хлорид, вода для инъекций) до 0,5 мл.

Вид и возраст животных в эксперименте

Для проведения эксперимента были выбраны крысы линии Wistar (АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ») как стандартный модельный объект для проведения токсикологических исследований[5,6]. Для получения необходимого числа неполовозрелых животных на подготовительном этапе исследования была проведена садка 15 половозрелых самцов и 30 половозрелых самок крыс. Для основного этапа исследования использовали полученное потомство – 60 самцов и 52 самок крыс в возрасте 3 дней. Количество экспериментальных животных было минимально достаточным для статистической оценки полученных данных и оптимальным с точки зрения соблюдения принципа 3R. Экспериментальные группы были сформированы методом стратификации. До 28-дневного возраста крысята содержались с матерями. После отсадки были разделены на группы сиблингов одного пола.

Дизайн эксперимента

В исследовании выполнили 4-кратное введение вакцины с интервалом 2 нед. Первое введение было осуществлено животным в 3-дневном возрасте, что соответствовало периоду новорожденности у человека. Далее вакцину или плацебо вводили на 17, 31 и 45-й дни после рождения. Данная схема введения позволила охватить значительный период онтогенеза вплоть до достижения ранней половой зрелости (включая подростковый период) и охватить этапы формирования основных систем органов: иммунной, нервной, выделительной и репродуктивной[7].

Выбор доз и объемов введения

Вакцину «КовиВак» в клинической практике вводят внутримышечно в терапевтической дозе 0,5 мл. В настоящем исследовании в качестве максимальной дозы была изучена полная эквивалентная доза для взрослого человека – 0,5 мл/животное (профилактическая доза) без учета массы тела животного согласно рекомендациям WHO Guidelines on nonclinical evaluation of vaccines, 2005[8]. Также оценивали влияние доз кратно ниже – 0,125 и 0,25 мл/животное. Поскольку первое введение исследуемых объектов крысятам необходимо было осуществить в 3-дневном возрасте, объемы введения были снижены и разделены на обе тазовые конечности в связи с массой тела животных.

Исходя из вышеописанных данных, в эксперименте в качестве максимального объема введения были использованы дозы, представленные в **табл. 1**.

Выбранная схема дозирования с учетом средней массы тела животных и ребенка [4] в изучаемые возрастные периоды многократно превышала прививочную дозу для человека (**табл. 2**) [5].

---

[1]Федеральный закон от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (с изменениями и дополнениями). URL: http://ivo.garant.ru/#/document/12174909/paragraph/25019:0

[2]Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 31.07.2018 № 13 «Об отборе образцов (проб) для проведения исследований (испытаний) и измерений пищевой продукции при применении и исполнении требований Технических регламентов Евразийского экономического союза». Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2018;3: 12–12.

[3]Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных. 8-е изд. Пер. с англ. Под ред. И.В. Белозерцевой, Д.В. Блинова, М.С. Красильщиковой. М.: ИРБИС; 2017.

[4]Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях.

[5]Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К; 2012.

[6]ICH guideline S11 on nonclinical safety testing in support of development of paediatric pharmaceuticals EMA/CHMP/ICH/616110/2018.

[7]ICH guideline S11 on nonclinical safety testing in support of development of paediatric pharmaceuticals EMA/CHMP/ICH/616110/2018.

[8]WHO Guidelines on nonclinical evaluation of vaccines. Geneva: WHO; 2005.

Таблица 1. Кратность и объем внутримышечных введений животным
Table 1. Frequency and volume of intramuscular injections into animals

День введения Day of introduction	№ группы Group No.	Исследуемый объект Object under study	Объем за одно введение/количество введений Volume per injection/number of injections	Доза, мл/жив. Dose, mL/animal
1-й 1st	2	Плацебо Placebo	0,01 мл/животное, в правую и левую тазовую конечности, интервал между введениями 1 ч, всего 4 введения 0.01 mL/animal, into the right and left pelvic limbs, interval between injections 1 hour, total of 4 injections	0,04
	3	Вакцина «КовиВак» Vaccine CoviVac		0,04
	4			0,04
	5			0,04
15-й 15th	2	Плацебо Placebo	По 0,1 мл в правую и левую тазовую конечности, всего 2 введения 0.1 mL each into the right and left pelvic limbs, for a total of 2 injections	0,2
	3	Вакцина «КовиВак» Vaccine CoviVac	Двумя частями (0,05 мл + 0,075 мл) в правую и левую тазовую конечности, однократно в каждую конечность Two parts (0.05 mL + 0.075 mL) into the right and left pelvic limbs, once into each limb	0,125
	4		По 0,1 мл в правую и левую тазовую конечности, всего 2 введения 0.1 mL each into the right and left pelvic limbs, for a total of 2 injections	0,2
	5			0,2
29-й 29th	2	Плацебо Placebo	Двумя частями (0,250 мл + 0,250 мл) в правую и левую тазовую конечности, с разделением на несколько участков мышцы бедра, однократно в каждую конечность In two parts (0.250 mL + 0.250 mL) into the right and left pelvic limbs, divided into several sections of the thigh muscle, once into each limb	0,5
	3	Вакцина «КовиВак» Vaccine CoviVac	Двумя частями (0,05 мл + 0,075 мл) в правую и левую тазовую конечности, однократно в каждую конечность Two parts (0.05 mL + 0.075 mL) into the right and left pelvic limbs, once into each limb	0,125
	4		Двумя частями (0,125 мл + 0,125 мл) в правую и левую тазовую конечности, однократно в каждую конечность. In two parts (0.125 mL + 0.125 mL) into the right and left pelvic limbs, once in each limb	0,25
	5		Двумя частями (0,250 мл + 0,250 мл) в правую и левую тазовую конечности, с разделением на несколько участков мышцы бедра, однократно в каждую конечность. In two parts (0.250 mL + 0.250 mL) into the right and left pelvic limbs, divided into several sections of the thigh muscle, once into each limb	0,5
43-й 43rd	2	Плацебо Placebo	Двумя частями (0,250 мл + 0,250 мл) в правую и левую тазовую конечности, с разделением на несколько участков мышцы бедра, однократно в каждую конечность. In two parts (0.250 mL + 0.250 mL) into the right and left pelvic limbs, divided into several sections of the thigh muscle, once into each limb	0,5
	3	Вакцина «КовиВак» Vaccine CoviVac	Двумя частями (0,05 мл + 0,075 мл) в правую и левую тазовую конечности, однократно в каждую конечность. Two parts (0.05 mL + 0.075 mL) into the right and left pelvic limbs, once into each limb	0,125
	4		Двумя частями (0,125 мл + 0,125 мл) в правую и левую тазовую конечности, однократно в каждую конечность In two parts (0.125 mL +0.125 mL) into the right and left pelvic limbs, once in each limb	0,25
	5		Двумя частями (0,250 мл + 0,250 мл) в правую и левую тазовую конечности, с разделением на несколько участков мышцы бедра, однократно в каждую конечность In two parts (0.250 mL + 0.250 mL) into the right and left pelvic limbs, divided into several sections of the thigh muscle, once into each limb	0,5

Таблица 2. Пересчет профилактической дозы тестируемой вакцины в прививочную дозу для человека на крыс с учетом возрастных периодов и массы тела в исследуемый период [6]

Table 2. Conversion of the therapeutic dose of the tested vaccine to a human inoculation dose for rats, taking into account age periods and body weight during the study period [6]

Возраст человека Age of the person	3 мес 3 months	17 мес 17 months	6 лет 6 years	12 лет 12 years
Средняя масса, кг Average weight, kg	6	12	21	41
Доза, мл/кг Dose, mL/kg	0,08	0,04	0,02	0,01
Возраст крыс, сут Age of rats, days	3	17	31	45
Средняя масса, г Average weight, g	10	31	90	140
Доза, мл/кг Dose, mL/kg	50	16,1	5,6	3,6
Количество прививочных доз, абс. Number of vaccination doses, abs.	625	403	280	360

Оцениваемые параметры

В ходе исследования дважды, на 57-й и 71-й дни, проводили общий и биохимический анализы крови. Общий анализ крови выполняли на гематологическом анализаторе Mythic 18 Vet (Orphee, Швейцария). Биохимические показатели крови исследовались на биохимическом анализаторе Random Access A-25 (Biosystem, Испания).

Эвтаназия

Эвтаназию животных осуществляли в два этапа: с применением CO_2 и последующим обескровливанием полостей сердца, по 50% крыс обоего пола из каждой группы. Первую эвтаназию проводил через 2 нед после окончания введения вакцины или плацебо (57-й день), вторую – по окончании периода отсроченного наблюдения, через 28 дней после прекращения введения (71-й день).

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 Биоэтической комиссией АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» (протокол № 3.4/22 от 18.02.2022).

Статистический анализ

Статистический анализ выполняли с помощью лицензированного программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft, США). Данные проверяли на соответствие закону нормального распределения с помощью критерия Шапиро–Уилка. Данные, не подчиняющиеся закону нормального распределения, представлены в виде медианы (Me) и 25-го и 75-го процентилей (Q_{25}; Q_{75}). Для анализа данных использовали критерий Краскела–Уоллиса. Различия определяли при уровне значимости $p \leq 0,05$. Расчет размера выборки осуществляли с использованием онлайн калькулятора размера выборки (https://www.stat.ubc.ca/~rollin/stats/ssize/n2.html).

Результаты и обсуждение

Данные и результаты статистической обработки показателей крови самцов представлены в **табл. 3**.

На 57-й день эксперимента выявлено статистически значимое снижение гематокрита у самцов, иммунизированных вакциной «КовиВак» в дозах 0,25 или 0,5 мл/животное в сравнении с интактной группой. На 71-й день установили значимое повышение количества лейкоцитов у самцов, получивших «КовиВак» в дозе 0,5 мл/животное относительно животных, получивших плацебо. Зарегистрировали значимое снижение количества тромбоцитов у самцов, получивших «КовиВак» в дозе 0,5 мл/животное относительно интактной группы.

Данные и результаты статистической обработки показателей крови самок представлены в **табл. 4**.

На 57-й день исследования установили значимое снижение количества моноцитов у самок, получавших «КовиВак» в дозе 0,5 мл/животное, относительно группы плацебо. Изменения этого показателя не выходили за пределы референсных интервалов.

На 71-й день исследования было установлено значимое снижение количества лейкоцитов у самок, получавших вакцину в дозе 0,25 мл/животное, относительно интактной группы ($p > 0,05$).

Данные и результаты статистической обработки биохимических параметров крови самцов представлены в **табл. 5**.

На 57-й день исследования выявили значимое увеличение количества глобулинов у самцов, получивших «КовиВак» в дозе 0,5 мл/животное, относительно интактной группы. Изменения этого показателя не выходили за пределы референсных интервалов. Также было установлено значимое снижение уровня соотношения A/G у самцов, получавших плацебо в дозе 0,5 мл/животное, относительно интактной группы. Изменения этого показателя не выходили за пределы референсных интервалов лаборатории.

На 71-й день исследования у самцов крыс зарегистрировали значимое увеличение количества общего

Таблица 3. Гематологические показатели самцов крыс, 57-й/71-й дни эксперимента
Table 3. Hematological parameters of male rats, 57th/71st days of the experiment

Показатель Parameter	Норма Norms	Интактная группа Intact	Плацебо, 0,5 мл/жив. Placebo, 0.5 mL/animal	Вакцина «КовиВак», мл/жив. Vaccine CoviVac, mL/animal		
				0,125	0,25	0,5
		n = 6	*n* = 6	*n* = 6	*n* = 6	*n* = 6
Лейкоциты, 10^9/л Leukocytes, 10^9/L	3,8–16,0	10,0 (9,5; 4,8)/ 11,50 (11,20; 13,40)	10,85 (10,35; 12,22)/ 10,20 (9,40; 11,20)	15,75 (14,80; 21,20)/ 12,35 (11,28; 14,93)	10,10 (8,50; 11,20)/ 9,70 (9,23; 11,60)	15,70 (14,95; 20,58)/ 13,70 (13,10; 17,15)**
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	62–89	82,00 (72,20; 82,80)/ 81,9 (80,50; 84,10)	80,25 (76,78; 83,75)/ 80,60 (77,55; 81,95)	73,00 (72,25; 73,68)/ 78,30 (75,03; 80,90)	82,50 (74,70; 84,40)/ 79,35 (68,98; 80,80)	79,55 (78,43; 80,45)/ 77,90 (71,83; 81,43)
Моноциты, % Monocytes, %	1,9–7,4	4,00 (3,50; 4,20)/ 4,00 (3,55; 4,20)	3,90 (3,60; 4,53)/ 3,60 (3,55; 4,15)	4,45 (4,33; 4,58)/ 4,25 (3,85; 4,73)	4,00 (3,70; 4,40)/ 4,30 (3,58; 4,88)	3,40 (3,33; 3,55)/ 4,30 (3,58; 4,88)
Гранулоциты, % Granulocytes, %	0,84–30,0	14,00 (18,60; 13,70)/ 14,10 (12,05; 15,85)	15,20 (12,65; 18,05)/ 15,00 (14,05; 19,35)	22,55 (22,10; 23,23)/ 17,50 (15,63; 19,45)	13,80 (11,60; 19,40)/ 16,80 (15,08; 26,40)	17,20 (16,03; 18,00)/ 18,25 (14,23; 23,55)
Эритроциты, 10^{12}/л Erythrocytes, 10^{12}/L	7,7–10,0	7,80 (7,58; 7,83)/ 7,49 (6,89; 7,83)	7,86 (7,78; 7,90)/ 8,38 (7,87; 8,49)	7,65 (7,43; 8,14)/ 7,64 (7,63; 8,15)	7,55 (7,43; 7,63)/ 7,82 (7,78; 8,10)	7,43 (7,13; 7,68)/ 7,85 (7,58; 8,06)
Гемоглобин, г/л Hemoglobin, g/L	150–200	155,00 (150,00; 158,00)/ 155,00 (136,00; 155,50)	154,50 (152,00; 159,00)/ 159,00 (157,00; 160,50)	152,50 (144,25; 157,75)/ 156,00 (152,00; 160,00)	148,00 (145,00; 149,00)/ 153,00 (152,25; 153,75)	144,00 (140,25; 147,00)/ 149,00 (144,00; 154,75)
Гематокрит, % Hematocrit, %	36–54	40,40 (39,30; 41,60)/ 39,00 (34,30; 39,35)	40,25 (39,43; 40,93)/ 40,10 (39,40; 41,85)	39,05 (38,03; 39,85)/ 39,60 (38,60; 40,23)	38,10 (37,40; 38,20)*/ 38,50 (38,18; 39,58)	37,45 (36,50; 38,33)*/ 512,00 (462,50; 529,25)
Тромбоциты, 10^9/л Thrombocytes, 10^9/L	512–1011	556,00 (507,00; 576,00)/ 562,00 (536,00; 579,50)	609,00 (573,25; 657,00)/ 494,00 (469,00; 516,00)	616,50 (563,75; 655,00)/ 625,50 (592,25; 649,00)	539,00 (523,00; 600,00)/ 512,00 (462,50; 529,25)	574,50 (559,75; 605,00)/ 465,50 (454,25; 490,25)#

Примечание. Данные представлены в виде медианы (Me) и нижнего и верхнего квартиля (Q_1; Q_3); * – статистически значимые отличия от интактной группы при сравнении на 57-й день; # – статистически значимые отличия от интактной группы при сравнении на 71-й день; ** – статистически значимые отличия от группы плацебо при сравнении на 71-й день.

Note. Data are presented as median (Me) and lower and upper quartiles (Q1; Q3); * – statistically significant differences from the intact group when compared on day 57; # – statistically significant differences from the intact group when compared on day 71; ** – statistically significant differences from the placebo group when compared on day 71.

белка в группах, получавших «КовиВак» в дозах 0,5 или 0,25 мл/животное, относительно интактной группы. Изменение данного показателя не выходило за пределы референсных интервалов лаборатории.

Установлено значимое увеличение количества глобулинов у самцов, получавших «КовиВак» в дозах 0,5 или 0,25 мл/животное, относительно интактной группы. Изменения этого показателя не выходили за пределы референсных интервалов лаборатории. Установлено значимое снижение уровня соотношения A/G у самцов, получавших «КовиВак» в дозах 0,5 или 0,25 мл/животное, относительно интактной группы. Изменение этого показателя не выходило за пределы референсных интервалов лаборатории. Установлено значимое снижение уровня холестерина у самцов, получавших «КовиВак» в дозе 0,125 мл/животное, относительно интактной группы и группы плацебо.

Данные и результаты статистической обработки биохимических параметров крови самок представлены в **табл. 6**.

На 57-й день установлено значимое увеличение количества альбумина у самок, получавших вакцину «КовиВак» в дозе 0,5 мл/животное, относительно группы плацебо. Изменение этого показателя не выходило за пределы референсных интервалов лаборатории. Установлено значимое увеличение количества общего белка у самок, получавших вакцину «КовиВак» в дозе 0,5 мл/животное, относительно интактной группы и группы плацебо, в дозе 0,25 мл/животное относительно интактной группы. Зафиксировали значимое снижение уровня триглицеридов у самок, получавших вакцину «КовиВак» во всех дозах и в группе плацебо, относительно интактной группы.

Таблица 4. Гематологические показатели самок крыс, 57-й/71-й дни эксперимента
Table 4. Hematological parameters of female rats, 57th/71st days of the experiment

Показатель Parameter	Норма Norm	Интактная группа Intact	Плацебо, 0,5 мл/жив. Placebo, 0.5 mL/animal	Вакцина «КовиВак», мл/жив. Vaccine CoviVac, mL/animal		
				0,125	0,25	0,5
		n = 6	*n* = 6	*n* = 5	*n* = 6	*n* = 6
Лейкоциты, 10^9/л Leukocytes, 10^9/L	3,9–15,0	12,85 (10,15; 14,50)/ 12,45 (11,35; 14,45)	13,45 (10,00; 14,85)/ 8,20 (8,20; 10,70)	9,30 (8,80; 10,00)	8,50 (5,90; 11,40)/ 6,95 (6,05; 8,68)*	10,50 (9,90; 12,00)/ 10,10 (9,48; 11,25)
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	51–97	87,75 (85,75; 89,45)/ 77,65 (75,05; 79,13)	80,60 (77,65; 83,53)/ 77,30 (74,30; 79,50)	85,00 (84,10; 85,70)	81,80 (76,20; 82,90)/ 77,85 (76,48; 80,20)	83,30 (80,60; 85,90)/ 85,15 (78,15; 86,38)
Моноциты, % Monocytes, %	1,1–8,7	3,15 (2,65; 3,58)/ 3,45 (3,33; 3,65)	4,55 (3,83; 4,78)/ 3,50 (3,40; 3,70)	3,90 (3,60; 4,10)	4,10 (4,00; 4,20)/ 4,25 (3,95; 4,70)	2,80 (2,80; 3,10)#/ 3,25 (2,55; 4,03)
Гранулоциты, % Granulocytes, %	0,87–40,0	9,20 (7,80; 10,68)/ 18,75 (17,58; 21,35)	14,25 (12,90; 17,80)/ 18,80 (17,20; 22,20)	11,40 (11,10; 12,30)	15,20 (13,00; 19,80)/ 17,50 (15,65; 19,35)	13,90 (11,60; 16,60)/ 11,70 (10,93; 17,88)
Эритроциты, 10^{12}/л Erythrocytes, 10^{12}/L	7,6–9,5	7,51 (7,36; 7,79)/ 7,31 (6,73; 7,60)	7,67 (7,27; 8,12)/ 7,52 (7,10; 7,62)	7,26 (7,21; 7,49)	7,81 (7,00; 7,90)/ 7,69 (7,48; 7,75)	7,35 (7,15; 7,54)/ 7,73 (7,39; 7,96)
Гемоглобин, г/л Hemoglobin, g/L	150–180	155,50 (150,75; 158,00)/ 144,50 (138,00; 148,75)	156,00 (148,00; 164,00)/ 145,00 (144,00; 150,00)	153,00 (151,00; 157,00)	153,00 (149,00; 155,00)/ 149,50 (147,50; 151,50)	148,00 (147,00; 151,00)/ 149,50 (148,00; 152,50)
Гематокрит, % Hematocrit, %	35–50	37,55 (36,68; 38,95)/ 36,75 (34,18; 37,60)	39,05 (37,15; 41,08)/ 37,30 (36,20; 37,70)	38,50 (37,10; 39,00)	37,70 (37,20; 39,20)/ 37,70 (36,90; 37,90)	37,00 (36,90; 37,70)/ 38,55 (36,80; 39,03)
Тромбоциты, 10^9/л Thrombocytes, 10^9/L	449–1015	636,00 (588,50; 661,00)/ 593,00 (583,50; 603,25)	561,50 (550,75; 570,75)/ 591,00 (581,00; 595,00)	589,00 (559,00; 620,00)	513,00 (513,00; 591,00)/ 518,00 (478,75; 594,75)	497,00 (384,00; 678,00)/ 521,50 (468,75; 616,25)

Примечание. Данные представлены в виде медианы (Me) и нижнего и верхнего квартиля (Q_1; Q_3); не представлены данные на 71-й день для самок, получавших вакцину «КовиВак» в дозе 0,125 мл/животное, т.к. все животные (*n* = 5) были эвтаназированы на 57-й день; * – статистически значимые отличия от интактной группы; # – статистически значимые отличия от группы плацебо.

Note. Data are presented as median (Me) and lower and upper quartiles (Q1; Q3); data on day 71 are not presented for females receiving the CoviVac vaccine at a dose of 0,125 ml/animal, since all animals (*n* = 5) were euthanized on day 57; * – statistically significant differences from the intact group; # – statistically significant differences from the placebo group.

На 71-й день выявлено значимое снижение уровня холестерина у самок, получавших вакцину «КовиВак» в дозе 0,5 мл/животное, относительно интактной группы. Зарегистрировали значимое снижение уровня триглицеридов у самок, получавших вакцину «КовиВак» в дозе 0,25 мл/животное, относительно интактной группы. Выявили значимое снижение уровня мочевины у самок, получавших вакцину «КовиВак» в дозе 0,25 мл/животное, относительно интактной группы.

Обсуждение

Несмотря на то что вирус SARS-CoV-2, как правило, проявляется респираторными симптомами, он также оказывает системное воздействие, распространяясь на сердце, почки и головной мозг [7]. Возникающее в результате состояние, известное как «длительный COVID», представляет собой мультисистемный синдром, поражающий как взрослых, так и детей, причем значительная часть – от 50 до 70% – испытывает постоянные или возникающие симптомы в течение месяцев после первичного заражения [8, 9].

Длительные симптомы COVID-19 связаны с устойчивыми гематологическими отклонениями, наблюдаемыми после выздоровления. В частности, это распространяется на гематологические биомаркеры, такие как повышенный ферритин, сниженный гемоглобин и повышенная скорость оседания эритроцитов, наряду с наблюдаемыми фенотипическими изменениями в клетках крови, сохраняющимися в течение месяцев после заражения [10]. Таким образом, очевидно, что

Таблица 5. Биохимические показатели крови самцов крыс, 57-й/71-й дни эксперимента
Table 5. Biochemical parameters of blood of male rats, 57th/71st days of the experiment

Показатель Parameter	Норма Norm	Интактная группа Intact	Плацебо, 0,5 мл/жив. Placebo, 0.5 mL/animal	Вакцина «КовиВак», мл/жив. Vaccine CoviVac, mL/animal		
				0,125	0,25	0,5
		n = 6	*n* = 6	*n* = 6	*n* = 6	*n* = 6
Общий белок, г/л Total protein, g/L	60–81	66,45 (64,95; 68,18)/ 67,55 (71,08; 69,70)	69,40 (65,05; 73,30)/ 72,45 (71,08; 73,98)	67,00 (64,93; 68,55)/ 70,20 (69,35; 70,98)	67,70 (66,28; 69,43)/ 74,15 (71,65; 75,83)*	75,10 (72,70; 75,55)/ 73,65 (71,00; 75,78)*
Глобулины (G), г/л Globulins (G), g/L	28–48	35,10 (33,35; 36,48)/ 35,30 (37,15; 36,35)	38,20 (36,25; 41,95)/ 37,45 (37,15; 37,68)	35,80 (35,05; 36,33)/ 36,55 (35,53; 37,58)	35,60 (34,35; 36,40)/ 39,80 (38,20; 40,50)*	41,40 (40,40; 42,18)*/ 40,60 (38,48; 42,80)*
Отношение A/G A/G ratio	0,62–1,1	0,93 (0,85; 0,97)/ 0,92 (0,91; 1,06)	0,80 (0,77; 0,82)*/ 0,93 (0,91; 0,97)	0,87 (0,84; 0,89)/ 0,95 (0,87; 0,96)	0,90 (0,87; 0,94)/ 0,87 (0,84; 0,90)*	0,80 (0,78; 0,82)/ 0,80 (0,77; 0,83)*#
Щелочная фосфатаза, Ед/л Alkaline phosphatase, U/L	72–408	250,00 (218,25; 349,25)/ 354,50 (348,50; 387,00)	363,00 (345,25; 381,50)/ 354,00 (348,50; 367,00)	338,00 (258,25; 390,00)/ 341,50 (273,75; 366,50)	472,00 (349,25; 516,00)/ 378,50 (321,00; 442,00)	391,00 (330,75; 407,75)/ 345,50 (333,75; 363,25)
АЛТ, Ед/л ALT, U/L	34–101	64,95 (56,75; 66,55)/ 57,65 (61,83; 68,75)	65,80 (62,80; 70,53)/ 63,90 (61,83; 66,43)	50,95 (42,60; 65,75)/ 61,45 (55,35; 70,55)	75,40 (68,28; 77,35)/ 63,25 (60,08; 72,13)	61,55 (60,88; 67,10)/ 67,15 (55,75; 78,25)
АСТ, Ед/л AST, U/L	80–237	134,95 (122,23; 143,85)/ 110,40 (107,63; 132,85)	127,40 (109,65; 151,23)/ 113,80 (107,63; 118,55)	116,30 (113,85; 149,35)/ 104,35 (94,40; 120,68)	133,30 (122,18; 139,10)/ 115,45 (110,05; 135,63)	139,05 (133,55; 145,90)/ 132,20 (118,25; 146,83)
Холестерин, ммоль/л Cholesterol, mmol/L	1,3–2,7	1,63 (1,53; 1,83)/ 1,70 (1,66; 1,75)	1,92 (1,77; 2,01)/ 1,82 (1,66; 1,98)	1,68 (1,41; 1,78)/ 1,14 (0,99; 1,17)*#	1,74 (1,39; 1,95)/ 11,19 (1,16; 1,61)	1,91 (1,76; 1,97)/ 1,19 (1,09; 1,30)
Креатинин, мкмоль/л Creatinine, μmol/L	44–84	58,70 (56,58; 59,63)/ 55,45 (52,13; 57,85)	64,60 (57,43; 66,90)/ 58,85 (52,13; 70,30)	65,25 (62,63; 65,85)/ 60,55 (53,95; 74,95)	60,70 (55,43; 64,93)/ 61,75 (55,75; 67,83)	62,90 (55,95; 64,23)/ 61,00 (59,78; 67,18)
Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/L	0,3–1,3	3,81 (2,84; 4,76)/ 6,01 (7,38; 6,85)	5,66 (4,79; 6,68)/ 7,61 (7,38; 8,02)	6,43 (5,19; 7,93)/ 7,91 (7,15; 9,24)	5,04 (4,85; 5,10)/ 7,92 (7,58; 8,20)	5,00 (4,90; 5,22)/ 6,80 (6,51; 7,05)
Триглицериды, ммоль/л Triglycerides, mmol/L	3,5–8,8	0,56 (0,49; 0,60)/ 0,43 (0,37; 0,53)	0,37 (0,36; 0,52)/ 0,44 (0,37; 0,47)	0,43 (0,34; 0,45)/ 0,27 (0,22; 0,34)	0,61 (0,43; 0,77)/ 0,32 (0,31; 0,33)	0,39 (0,36; 0,47)/ 0,43 (0,33; 0,78)
Мочевина, ммоль/л Urea, mmol/L	0,82–4,6	4,96 (3,92; 5,24)/ 5,91 (5,60; 6,41)	4,44 (4,17; 4,91)/ 5,65 (5,60; 6,06)	5,30 (5,01; 5,69)/ 4,80 (4,19; 5,78)	4,82 (3,95; 5,47)/ 5,67 (5,18; 6,04)	4,88 (4,42; 5,17)/ 5,00 (4,65; 5,34)
Билирубин общий, мкмоль/л Total bilirubin, μmol/L	4,2–13	3,66 (2,37; 5,67)/ 3,00 (2,64; 3,51)	2,49 (2,03; 2,72)/ 2,66 (2,64; 2,90)	2,80 (2,19; 3,02)/ 3,03 (2,93; 3,10)	3,00 (2,01; 4,46)/ 3,32 (3,04; 4,10)	2,59 (1,93; 2,88)/ 2,90 (2,60; 3,10)

Примечание. Данные представлены в виде медианы (Me) и нижнего и верхнего квартиля (Q_1; Q_3); * – статистически значимые отличия от интактной группы; # – статистически значимые отличия от группы плацебо. АЛТ – аланинаминотрансфераза; АСТ – аспартатаминотрансфераза.

Note. Data are presented as median (Me) and lower and upper quartiles (Q1; Q3); * – statistically significant differences from the intact group; # – statistically significant differences from the placebo group. ALT – alanine aminotransferase; AST – aspartateaminotransferase.

Таблица 6. Биохимические показатели крови самок крыс, 57-й/71-й дни эксперимента
Table 6. Biochemical parameters of blood of female rats, 57th/71st days of the experiment

Показатель Parameter	Норма Norms	Интактная группа Intact	Плацебо, 0,5 мл/жив. Placebo, 0.5 mL/animal	Вакцина «КовиВак», мл/жив. Vaccine CoviVac, mL/animal		
				0,125	0,25	0,5
		n = 6	*n* = 6	*n* = 6	*n* = 6	*n* = 6
Общий белок, г/л Total protein, g/L	58–80	64,00 (62,95; 64,45)/ 71,70 (71,25; 72,30)	66,05 (65,23; 67,40)/ 73,60 (70,70; 73,90)	66,00 (64,40; 66,50)	70,10 (68,73; 72,38)*/ 70,80 (68,98; 72,03)	73,15 (72,08; 74,75)*#/ 75,20 (73,05; 76,75)
Глобулины (G), г/л Globulins (G), g/L	29–48	30,60 (28,30; 33,50)/ 36,75 (36,03; 37,10)	34,95 (34,13; 36,60)*/ 37,60 (36,50; 40,50)	32,40 (32,00; 34,80)	37,65 (36,83; 39,15)*/ 36,70 (34,80; 38,00)	39,45 (37,75; 39,80)*/ 41,15 (39,53; 41,88)
Отношение A/G A/G ratio	0,70–1,2	1,09 (0,98; 1,20)/ 0,95 (0,94; 0,96)	0,89 (0,84; 0,92)*/ 0,94 (0,89; 0,94)	0,99 (0,91; 1,03)	0,85 (0,85; 0,88)*/ 0,94 (0,87; 1,00)	0,87 (0,87; 0,92)/ 0,86 (0,82; 0,89)
Щелочная фосфатаза, Ед/л Alkaline phosphatase, U/L	67–366	236,50 (212,25; 293,75)/ 343,50 (299,00; 407,50)	258,50 (227,75; 369,50)/ 271,00 (239,00; 333,00)	179,00 (179,00; 256,00)	230,50 (182,75; 271,50)/ 246,00 (231,50; 310,00)	313,50 (285,25; 374,00)/ 277,50 (234,75; 351,75)
АЛТ, Ед/л ALT, U/L	34–101	58,05 (51,10; 64,63)/ 56,85 (56,15; 70,68)	64,00 (59,75; 75,53)/ 61,00 (60,00; 63,20)	58,00 (49,30; 62,50)	55,35 (46,70; 63,48)/ 61,00 (54,45; 65,08)	63,75 (55,83; 71,15)/ 78,45 (65,85; 81,83)
АСТ, Ед/л AST, U/L	99–295	164,10 (141,53; 174,68)/ 167,10 (158,43; 199,85)	181,60 (173,00; 191,10)/ 187,30 (163,80; 191,40)	149,90 (142,10; 161,80)	126,85 (123,75; 132,20)/ 120,45 (104,45; 140,13)	149,80 (137,20; 171,48)/ 150,45 (132,20; 162,10)
Холестерин, ммоль/л Cholesterol, mmol/L	1,1–2,7	1,68 (1,51; 1,74)/ 2,16 (1,95; 2,36)	1,50 (1,09; 1,84)/ 1,04 (0,80; 1,56)	1,14 (0,82; 1,25)	1,97 (1,81; 2,05)/ 1,91 (1,55; 2,21)	1,79 (1,48; 1,95)/ 0,85 (0,79; 1,63)*
Креатинин, мкмоль/л Creatinine, μmol/L	47–85	59,85 (58,30; 60,88)/ 61,45 (60,08; 63,05)	61,40 (57,50; 63,13)/ 75,30 (54,10; 78,10)	59,20 (56,70; 60,20)	58,80 (52,48; 59,80)/ 62,65 (50,20; 70,08)	58,85 (57,70; 62,25)/ 68,35 (64,63; 75,45)
Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/L	0,14–1,2	6,06 (5,91; 6,39)/ 6,05 (5,77; 6,75)	5,02 (4,49; 5,37)/ 6,51 (6,00; 6,81)	5,40 (5,37; 5,85)	5,49 (5,20; 6,50)/ 6,19 (5,39; 6,51)	5,87 (5,33; 6,36)/ 6,66 (6,17; 7,57)
Триглицериды, ммоль/л Triglycerides, mmol/L	3,1–7,2	0,78 (0,74; 0,90)/ 0,80 (0,71; 0,89)	0,50 (0,46; 0,52)*/ 0,57 (0,45; 0,62)	0,40 (0,39; 0,55)*	0,46 (0,41; 0,56)*/ 0,43 (0,42; 0,46)*	0,56 (0,50; 0,59)*/ 0,58 (0,51; 0,89)
Мочевина, ммоль/л Urea, mmol/L	1,0–4,6	6,06 (5,83; 6,39)/ 7,06 (5,98; 7,30)	4,39 (4,14; 4,79)/ 6,39 (6,02; 6,60)	5,45 (5,12; 7,18)	3,18 (2,88; 3,93)/ 4,91 (4,38; 5,18)*	4,39 (3,98; 4,86)/ 5,88 (5,48; 6,25)
Билирубин общий, мкмоль/л Total bilirubin, μmol/L	4,2–13,0	2,71 (2,52; 3,66)/ 3,50 (3,22; 3,64)	2,24 (1,99; 2,50)/ 2,84 (2,81; 3,27)	1,24 (0,96; 1,36)	3,16 (1,83; 4,31)/ 3,06 (2,65; 3,71)	2,25 (2,17; 2,36)/ 3,03 (2,71; 3,55)

Примечание. Данные представлены в виде медианы (Me) и нижнего и верхнего квартиля (Q_1; Q_3); * – статистически значимые отличия от интактной группы; # – статистически значимые отличия от группы плацебо. АЛТ – аланинаминотрансфераза; АСТ – аспартатаминотрансфераза.

Note. Data are presented as median (Me) and lower and upper quartiles (Q1; Q3); * – statistically significant differences from the intact group; # – statistically significant differences from the placebo group. ALT – alanine aminotransferase; AST – aspartateaminotransferase.

постоянная постинфекционная симптоматика требует более точного и обширного внимания к гематологическим проявлениям. Более того, инфекция SARS-CoV-2 связана с гемолитическими осложнениями, включая тромбоцитопению и анемию [11]. Кроме того, связывание гема с вирусными и хозяйскими белками, такими как белок 7a, Spike (S) и ACE2, предполагает роль эритроцитов в системном распространении вируса [12–15].

Разработка вакцин против SARS-CoV-2 является приоритетом для многих фармацевтических компаний и академических организаций по всему миру. В настоящее время разрабатываются различные вакцины против SARS-CoV-2, такие как белковые субъединицы [16], реплицирующиеся или нереплицирующиеся вирусные векторы [17–19], инактивированные вирусы [20], живые ослабленные вирусы [21, 22], вирусоподобные частицы (VLP) [23, 24] и вакцины на основе РНК [25, 26] и ДНК [27–29]. Традиционные вакцины в сравнении с вакцинами на основе белков или пептидов или вакцинами на основе РНК/ДНК имеют ряд преимуществ, т.к. они не вызывают вакциноассоциированных заболеваний; индуцируют гуморальный и клеточный иммунитет. Введение вакцины является важным фактором, повышающим эффективность иммунной защиты организма.

Заключение

Таким образом, полученные в настоящем исследовании результаты представляют интерес для научного сообщества ввиду их оригинальности и ограниченности публикаций по исследованиям безопасности вакцин на неполовозрелых животных. Показано, что 4-кратные инъекции коронавирусной инактивированной цельновирионной концентрированной очищенной вакцины «КовиВак» во всех испытанных дозах не вызывали системной токсичности у неполовозрелых крыс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мусаелян О.А. *Особенности течения и воспалительные маркеры у детей с коронавирусной инфекцией COVID-19:* Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Ставрополь; 2024.
2. Елкина Т.Н., Грибанова О.А., Пирожкова Н.И., ЛихановаМ.Г., Кузнецова А.С. Сравнительная характеристика течения четвертой и пятой волн новой коронавирусной инфекции у детей. *Мать и дитя в Кузбассе.* 2023; (1): 30–7. https://doi.org/10.24412/2686-7338-2023-1-30-37 https://elibrary.ru/kqnshp
3. Чепель Т.В. COVID-19 и педиатрическая практика. В кн.: *Актуальные вопросы здоровья детей и подростков: Материалы научно-практической конференции*. Хабаровск;2020:26–31. https://elibrary.ru/exsvfz
4. Васильева Е.И. *Физическое развитие детей: учебно-методическое пособие для иностранных студентов.* Иркутск; 2013.
5. Yuansheng S., Gruber M., Matsumoto M. Overview of global regulatory toxicology requirements for vaccines and adjuvants. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*. 2012; 65(2): 49–57. https://doi.org/10.1016/j.vascn.2012.01.002
6. Маркова И.В. *Фармакологическое изучение возрастных особенностей в действии лекарственных средств, предлагаемых для клинического изучения в педиатрической практике: Методические рекомендации.* М.; 1988.
7. Raveendran A.V., Jayadevan R., Sashidharan S. Long COVID: An overview. *Diabetes Metab. Syndr.* 2021; 15(3): 869–75. https://doi.org/10.1016/j.dsx.2021.04.007
8. Davis H.E., McCorkell L., Vogel J.M., Topol E.J. Long COVID: major findings, mechanisms and recommendations. *Nat. Rev. Microbiol.* 2023; 21(3): 133–46. https://doi.org/10.1038/s41579-022-00846-2
9. Lopez-Leon S., Wegman-Ostrosky T., Ayuzo del Valle N.C., Perelman C., Sepulveda R., Rebolledo P.A., et al. Long-COVID in children and adolescents: a systematic review and meta-analyses. *Sci. Rep.* 2022; 12(1): 9950. https://doi.org/10.1038/s41598-022-13495-5
10. Korompoki E., Gavriatopoulou M., Fotiou D., Ntanasis-Stathopoulos I., Dimopoulos M.A., Terpos E. Late-onset hematological complications post COVID-19: an emerging medical problem for the hematologist. *Am. J. Hematol.* 2022; 97(1): 119–28. https://doi.org/10.1002/ajh.26384
11. Sahu K.K., Borogovac A., Cerny J. COVID-19 related immune hemolysis and thrombocytopenia. *J. Med. Virol.* 2021; 93(2): 1164–70. https://doi.org/10.1002/jmv.26402
12. Hopp M.T., Rathod D.C., Imhof D. Host and viral proteins involved in SARS-CoV-2 infection differentially bind heme. *Protein Sci.* 2022; 31(11): e4451. https://doi.org/10.1002/pro.4451
13. Lechuga G.C., Souza-Silva F., Sacramento C.Q., Trugilho M.R.O., Valente R.H., Napoleão-Pêgo P., et al. SARS-CoV-2 proteins bind to hemoglobin and its metabolites. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(16): 9035. https://doi.org/10.3390/ijms22169035
14. Rosa A., Pye V.E., Graham C., Muir L., Seow J., Ng K.W., et al. SARS-CoV-2 can recruit a heme metabolite to evade antibody immunity. *Sci. Adv.* 2021; 7(22): eabg7607. https://doi.org/10.1126/sciadv.abg7607
15. Freeman S.L., Oliveira A.S.F., Gallio A.E., Rosa A., Simitakou M.K., Arthur C.J., et al. Heme binding to the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *J. Biol. Chem.* 2023; 299(8): 105014. https://doi.org/10.1016/j.jbc.2023.105014
16. Dai L., Zheng T., Xu K., Han Y., Xu L., Huang E., et al. A universal design of betacoronavirus vaccines against COVID-19, MERS, and SARS. *Cell*. 2020; 182(3): 722–33.e11. https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.06.035
17. Dieterle M.E., Haslwanter D., Bortz R.H. 3rd, Wirchnianski A.S., Lasso G., Vergnolle O., et al. A replication-competent vesicular stomatitis virus for studies of SARS-CoV-2 spike-mediated cell entry and its inhibition. *Cell Host Microbe.* 2020; 28(3): 486–96.e6. https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.06.020
18. Zhu F.C., Guan X.H., Li Y.H., Huang J.Y., Jiang T., Hou L.H., et al. Immunogenicity and safety of a recombinant adenovirus type-5-vectored COVID-19 vaccine in healthy adults aged 18 years or older: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet*. 2020; 396(10249): 479–88. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)31605-6
19. Zhu F.C., Li Y.H., Guan X.H., Hou L.H., Wang W.J., Li J.X., et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. *Lancet*. 2020; 395(10240): 1845–54. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)31208-3
20. Palacios R., Patiño E.G., de Oliveira Piorelli R., Conde M.T.R.P., Batista A.P., Zeng G., et al. Double-blind, randomized, placebo-controlled phase III clinical trial to evaluate the efficacy and safety of treating healthcare professionals with the adsorbed COVID-19 (inactivated) vaccine manufactured by Sinovac – PROFISCOV: a structured summary of a study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2020; 21(1): 853. https://doi.org/10.1186/s13063-020-04775-4
21. Armengaud J., Delaunay-Moisan A., Thuret J.Y., van Anken E., Acosta-Alvear D., Aragón T., et al. The importance of naturally attenuated SARS-CoV-2 in the fight against COVID-19. *Environ. Microbiol.* 2020; 22(6): 1997–2000. https://doi.org/10.1111/1462-2920.15039
22. Fidel P.L. Jr, Noverr M.C. Could an unrelated live attenuated vaccine serve as a preventive measure to dampen septic inflammation associated with COVID-19 infection? *mBio.* 2020; 11(3): e00907–20. https://doi.org/10.1128/mbio.00907-20
23. Ghorbani A., Zare F., Sazegari S., Afsharifar A., Eskandari M.H., Pormohammad A. Development of a novel platform of virus-like particle (VLP)-based vaccine against COVID-19 by exposing epitopes: an immunoinformatics approach. *New Microbes New Infect.* 2020; 38: 100786. https://doi.org/10.1016/j.nmni.2020.100786
24. Pushko P., Tretyakova I. Influenza virus like particles (VLPs): opportunities for H7N9 vaccine development. *Viruses*. 2020; 12(5): 518. https://doi.org/10.3390/v12050518
25. Anderson E.J., Rouphael N.G., Widge A.T., Jackson L.A., Roberts P.C., Makhene M., et al. Safety and immunogenicity of SARS-CoV-2 mRNA-1273 vaccine in older adults. *N. Engl. J. Med.* 2020; 383(25): 2427–38. https://doi.org/10.1056/nejmoa2028436
26. Jackson L.A., Anderson E.J., Rouphael N.G., Roberts P.C., Makhene M., Coler R.N., et al. An mRNA vaccine against SARS-CoV-2 – preliminary report. *N. Engl. J. Med.* 2020; 383(20): 1920–31. https://doi.org/10.1056/nejmoa2022483
27. Hayashi H., Sun J., Yanagida Y., Otera T., Kubota-Koketsu R., Shioda T., et al. Preclinical study of DNA vaccines targeting SARS-CoV-2. *Curr. Res. Transl. Med.* 2022; 70(4): 103348. https://doi.org/10.1016/j.retram.2022.103348

28. Smith T.R.F., Patel A., Ramos S., Elwood D., Zhu X., Yan J., et al. Immunogenicity of a DNA vaccine candidate for COVID-19. *Nat. Commun.* 2020; 11(1): 2601. https://doi.org/10.1038/s41467-020-16505-0
29. Yu J., Tostanoski L.H., Peter L., Mercado N.B., McMahan K., Mahrokhian S.H., et al. DNA vaccine protection against SARS-CoV-2 in rhesus macaques. *Science*. 2020; 369(6505): 806–11. https://doi.org/10.1126/science.abc6284

REFERENCES

1. Musaelyan O.A. *Features of the course and inflammatory markers in children with coronavirus infection COVID-19:* Diss. Stavropol'; 2024. (in Russian)
2. Elkina T.N., Gribanova O.A., Pirozhkova N.I., Likhanova M.G., Kuznetsova A.S. The comparative characteristics of the fourth and the fifth waves of the new coronavirus infection in children. *Mat' i ditya v Kuzbasse.* 2023; (1): 30–7. https://doi.org/10.24412/2686-7338-2023-1-30-37 https://elibrary.ru/kqnshp (in Russian)
3. Chepel' T.V. COVID-19 and pediatric practice. In: *Current Issues of Children and Adolescents Health: Proceedings of the Scientific and Practical Conference [Aktual'nye voprosy zdorov'ya detei i podrostkov: Materialy nauchno-prakticheskoi konferentsii]*. Khabarovsk;2020:26–31. https://elibrary.ru/exsvfz (in Russian)
4. Vasil'eva E.I. *Physical Development of Children: An Educational and Methodological Guide for Foreign Students [Fizicheskoe razvitie detei: uchebno-metodicheskoe posobie dlya inostrannykh studentov]*. Irkutsk; 2013. (in Russian)
5. Yuansheng S., Gruber M., Matsumoto M. Overview of global regulatory toxicology requirements for vaccines and adjuvants. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*. 2012; 65(2): 49–57. https://doi.org/10.1016/j.vascn.2012.01.002
6. Markova I.V. *Pharmacological study of age-related features in the action of medicines offered for clinical study in pediatric practice: Methodological recommendations.* Moscow; 1988. (in Russian)
7. Raveendran A.V., Jayadevan R., Sashidharan S. Long COVID: An overview. *Diabetes Metab. Syndr.* 2021; 15(3): 869–75. https://doi.org/10.1016/j.dsx.2021.04.007
8. Davis H.E., McCorkell L., Vogel J.M., Topol E.J. Long COVID: major findings, mechanisms and recommendations. *Nat. Rev. Microbiol.* 2023; 21(3): 133–46. https://doi.org/10.1038/s41579-022-00846-2
9. Lopez-Leon S., Wegman-Ostrosky T., Ayuzo del Valle N.C., Perelman C., Sepulveda R., Rebolledo P.A., et al. Long-COVID in children and adolescents: a systematic review and meta-analyses. *Sci. Rep.* 2022; 12(1): 9950. https://doi.org/10.1038/s41598-022-13495-5
10. Korompoki E., Gavriatopoulou M., Fotiou D., Ntanasis-Stathopoulos I., Dimopoulos M.A., Terpos E. Late-onset hematological complications post COVID-19: an emerging medical problem for the hematologist. *Am. J. Hematol.* 2022; 97(1): 119–28. https://doi.org/10.1002/ajh.26384
11. Sahu K.K., Borogovac A., Cerny J. COVID-19 related immune hemolysis and thrombocytopenia. *J. Med. Virol.* 2021; 93(2): 1164–70. https://doi.org/10.1002/jmv.26402
12. Hopp M.T., Rathod D.C., Imhof D. Host and viral proteins involved in SARS-CoV-2 infection differentially bind heme. *Protein Sci.* 2022; 31(11): e4451. https://doi.org/10.1002/pro.4451
13. Lechuga G.C., Souza-Silva F., Sacramento C.Q., Trugilho M.R.O., Valente R.H., Napoleão-Pêgo P., et al. SARS-CoV-2 proteins bind to hemoglobin and its metabolites. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(16): 9035. https://doi.org/10.3390/ijms22169035
14. Rosa A., Pye V.E., Graham C., Muir L., Seow J., Ng K.W., et al. SARS-CoV-2 can recruit a heme metabolite to evade antibody immunity. *Sci. Adv.* 2021; 7(22): eabg7607. https://doi.org/10.1126/sciadv.abg7607
15. Freeman S.L., Oliveira A.S.F., Gallio A.E., Rosa A., Simitakou M.K., Arthur C.J., et al. Heme binding to the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *J. Biol. Chem.* 2023; 299(8): 105014. https://doi.org/10.1016/j.jbc.2023.105014
16. Dai L., Zheng T., Xu K., Han Y., Xu L., Huang E., et al. A universal design of betacoronavirus vaccines against COVID-19, MERS, and SARS. *Cell*. 2020; 182(3): 722–33.e11. https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.06.035
17. Dieterle M.E., Haslwanter D., Bortz R.H. 3rd, Wirchnianski A.S., Lasso G., Vergnolle O., et al. A replication-competent vesicular stomatitis virus for studies of SARS-CoV-2 spike-mediated cell entry and its inhibition. *Cell Host Microbe.* 2020; 28(3): 486–96.e6. https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.06.020
18. Zhu F.C., Guan X.H., Li Y.H., Huang J.Y., Jiang T., Hou L.H., et al. Immunogenicity and safety of a recombinant adenovirus type-5-vectored COVID-19 vaccine in healthy adults aged 18 years or older: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet*. 2020; 396(10249): 479–88. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)31605-6
19. Zhu F.C., Li Y.H., Guan X.H., Hou L.H., Wang W.J., Li J.X., et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. *Lancet*. 2020; 395(10240): 1845–54. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)31208-3
20. Palacios R., Patiño E.G., de Oliveira Piorelli R., Conde M.T.R.P., Batista A.P., Zeng G., et al. Double-blind, randomized, placebo-controlled phase III clinical trial to evaluate the efficacy and safety of treating healthcare professionals with the adsorbed COVID-19 (inactivated) vaccine manufactured by Sinovac – PROFISCOV: a structured summary of a study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2020; 21(1): 853. https://doi.org/10.1186/s13063-020-04775-4
21. Armengaud J., Delaunay-Moisan A., Thuret J.Y., van Anken E., Acosta-Alvear D., Aragón T., et al. The importance of naturally attenuated SARS-CoV-2 in the fight against COVID-19. *Environ. Microbiol.* 2020; 22(6): 1997–2000. https://doi.org/10.1111/1462-2920.15039
22. Fidel P.L. Jr, Noverr M.C. Could an unrelated live attenuated vaccine serve as a preventive measure to dampen septic inflammation associated with COVID-19 infection? *mBio.* 2020; 11(3): e00907–20. https://doi.org/10.1128/mbio.00907-20
23. Ghorbani A., Zare F., Sazegari S., Afsharifar A., Eskandari M.H., Pormohammad A. Development of a novel platform of virus-like particle (VLP)-based vaccine against COVID-19 by exposing epitopes: an immunoinformatics approach. *New Microbes New Infect.* 2020; 38: 100786. https://doi.org/10.1016/j.nmni.2020.100786
24. Pushko P., Tretyakova I. Influenza virus like particles (VLPs): opportunities for H7N9 vaccine development. *Viruses*. 2020; 12(5): 518. https://doi.org/10.3390/v12050518
25. Anderson E.J., Rouphael N.G., Widge A.T., Jackson L.A., Roberts P.C., Makhene M., et al. Safety and immunogenicity of SARS-CoV-2 mRNA-1273 vaccine in older adults. *N. Engl. J. Med.* 2020; 383(25): 2427–38. https://doi.org/10.1056/nejmoa2028436
26. Jackson L.A., Anderson E.J., Rouphael N.G., Roberts P.C., Makhene M., Coler R.N., et al. An mRNA vaccine against SARS-CoV-2 – preliminary report. *N. Engl. J. Med.* 2020; 383(20): 1920–31. https://doi.org/10.1056/nejmoa2022483
27. Hayashi H., Sun J., Yanagida Y., Otera T., Kubota-Koketsu R., Shioda T., et al. Preclinical study of DNA vaccines targeting SARS-CoV-2. *Curr. Res. Transl. Med.* 2022; 70(4): 103348. https://doi.org/10.1016/j.retram.2022.103348
28. Smith T.R.F., Patel A., Ramos S., Elwood D., Zhu X., Yan J., et al. Immunogenicity of a DNA vaccine candidate for COVID-19. *Nat. Commun.* 2020; 11(1): 2601. https://doi.org/10.1038/s41467-020-16505-0
29. Yu J., Tostanoski L.H., Peter L., Mercado N.B., McMahan K., Mahrokhian S.H., et al. DNA vaccine protection against SARS-CoV-2 in rhesus macaques. *Science*. 2020; 369(6505): 806–11. https://doi.org/10.1126/science.abc6284

Информация об авторах:

Синюгина Александра Александровна – канд. мед. наук, руководитель направления по качеству и инновационным разработкам ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), Москва, Россия. E-mail: sinyugina@chumakovs.su; https://orcid.org/0000-0002-7251-6570

Лычева Наталья Александровна✉ – канд. биол. наук, заместитель начальника управления разработки и внедрения полупромышленных технологий по доклиническим исследованиям ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), Москва, Россия. E-mail: Lycheva_na@chumakovs.su; https://orcid.org/0000-0002-5842-5728

Сапрыкина Анастасия Александровна – младший научный сотрудник АО НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», г.п. Кузьмоловский, Ленинградская область, Россия. E-mail: saprykina.aa@doclinika.ru; https://orcid.org/0000-0002-7588-3982

Крышень Кирилл Леонидович – канд. биол. наук, руководитель отдела специфической токсикологии и микробиологии АО НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», г.п. Кузьмоловский, Ленинградская область, Россия. E-mail: kryshen.kl@doclinika.ru; https://orcid.org/0000-0003-1451-7716

Аполохов Василий Даниилович – научный сотрудник ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), Москва, Россия. E-mail: apolohov_vd@chumakovs.su; https://orcid.org/0000-0002-9978-222X

Чернавцева Анастасия Дмитриевна – вирусолог отдела доклинических исследований и диагностических препаратов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), Москва, Россия. E-mail: chernavtseva_ad@chumakovs.su; https://orcid.org/0009-0009-6232-7512,

Ковпак Анастасия Александровна – руководитель группы процессов очистки и формуляции готовых лекарственных форм ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), Москва, Россия. E-mail: kovpak_aa@chumakovs.su; https://orcid.org/0000-0003-3200-763X

Ивин Юрий Юрьевич – канд. биол. наук, начальник управления разработки и внедрения инновационных и полупромышленных технологий ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), Москва, Россия. E-mail: ivin_uu@chumakovs.su; https://orcid.org/0000-0003-0995-7944

Пиняева Анастасия Николаевна – канд. биол. наук, главный технолог ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), Москва, Россия. E-mail: pinyaeva_an@chumakovs.su; https://orcid.org/0000-0001-5381-2393

Макарова Марина Николаевна – д-р мед. наук, директор АО НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», г.п. Кузьмоловский, Ленинградская область, Россия. E-mail: makarova.mn@doclinika.ru; https://orcid.org/0000-0003-3176-6386

Макаров Валерий Геннадьевич – д-р мед. наук, научный руководитель АО НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», г.п. Кузьмоловский, Ленинградская область, Россия. E-mail: makarov.vg@doclinika.ru; https://orcid.org/0000-0002-2447-7888

Ишмухаметов Айдар Айратович – д-р мед. наук, проф., акад. РАН, генеральный директор ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), Москва, Россия. E-mail: ishmukhametov@chumakovs.su; https://orcid.org/0000-0001-6130-4145

Участие авторов: Синюгина А.А. – концепция и дизайн исследования; Лычева Н.А. – подготовка текста; Сапрыкина А.А. – подготовка текста, проведение экспериментов, сбор и обработка материала; Крышень К.Л. – подготовка текста, проведение экспериментов, сбор и обработка материала; Аполохов В.Д. – проведение экспериментов, сбор и обработка материала; Чернавцева А.Д. – проведение экспериментов, сбор и обработка материала; Ковпак А.А. – статистическая обработка данных; Ивин Ю.Ю. – статистическая обработка данных; Пиняева А.Н. – статистическая обработка данных; Макарова М.Н. – концепция и дизайн исследования; Макаров В.Г. – концепция и дизайн исследования; Ишмухаметов А.А. – концепция и дизайн исследования.

Поступила 12.03.2025
Принята в печать 23.04.04.2025
Опубликована 30.04.2025

Information about the authors:

Aleksandra A. Siniugina – Cand. Sci. (Med.), Head of Quality and Innovation Development Chumakov FSC R&D IBP RAS (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia. E-mail: sinyugina@chumakovs.su; https://orcid.org/0000-0002-7251-6570

Natalya A. Lycheva✉ – Cand. Sci. (Biol.), Deputy Head of the Department for Preclinical Research Chumakov FSC R&D IBP RAS (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia. E-mail: lycheva_na@chumakovs.su; https://orcid.org/0000-0002-5842-5728

Anastasia A. Saprykina – Junior Research Fellow Research-and-manufacturing company «HOME OF PHARMACY» Joint Stock company, settlement Kuzmolovsky, Leningrad region, Russia. E-mail: saprykina.aa@doclinika.ru; https://orcid.org/0000-0002-7588-3982

Kirill L. Kryshen' – Cand. Sci. (Biol.), Head of the Department of Specific Toxicology and Microbiology Research-and-manufacturing company «HOME OF PHARMACY» Joint Stock company, settlement Kuzmolovsky, Leningrad region, Russia. E-mail: kryshen.kl@doclinika.ru; https://orcid.org/0000-0003-1451-7716

Vasiliy D. Apolokhov – Researcher, Chumakov FSC R&D IBP RAS (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia. E-mail: apolohov_vd@chumakovs.su; https://orcid.org/0000-0002-9978-222X

Anastasiya D. Chernavtseva – Virologist of the department of preclinical studies and diagnostic drugs Chumakov FSC R&D IBP RAS (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia. E-mail: chernavtseva_ad@chumakovs.su; https://orcid.org/0009-0009-6232-7512

Anastasiya A. Kovpak – Head of the group of purification processes and formulation of finished dosage forms Chumakov FSC R&D IBP RAS (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia. E-mail: kovpak_aa@chumakovs.su; https://orcid.org/0000-0003-3200-763X

Yuriy Yu. Ivin – Head of the Department for Development and Implementation of Innovative and Semi-Industrial Technologies Chumakov FSC R&D IBP RAS (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia. E-mail: ivin_uu@chumakovs.su; https://orcid.org/0000-0003-0995-7944

Anastasia N. Piniaeva – Cand. Sci. (Biol.), Chief technologist Chumakov FSC R&D IBP RAS (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia. E-mail: pinyaeva_an@chumakovs.su; https://orcid.org/0000-0001-5381-2393

Marina N. Makarova – D. Sci. (Med.), Director Research-and-manufacturing company «HOME OF PHARMACY» Joint Stock company, settlement Kuzmolovsky, Leningrad region, Russia. E-mail: makarova.mn@doclinika.ru; https://orcid.org/0000-0003-3176-6386

Valery G. Makarov – D. Sci. (Med.), Scientific supervisor Research-and-manufacturing company «HOME OF PHARMACY» Joint Stock company, settlement Kuzmolovsky, Leningrad regionturban, Russia. E-mail: makarov.vg@doclinika.ru; https://orcid.org/0000-0002-2447-7888

Aidar A. Ishmukhametov – D. Sci. (Med.), Prof., Academician of the Russian Academy of Sciences,General manager Chumakov FSC R&D IBP RAS (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia. E-mail: ishmukhametov@chumakovs.su; https://orcid.org/0000-0001-6130-4145

Contribution: Sinyugina A.A. – study concept and design; Lycheva N.A. – text preparation; Saprykina A.A. – text preparation, experiments, collection and processing of material; Kryshen K.L. – text preparation, experiments, collection and processing of material; Apolokhov V.D. – experiments, collection and processing of material; Chernavtseva A.D. – experiments, collection and processing of material; Kovpak A.A. – statistical data processing; Ivin Yu.Yu. – statistical data processing, Pinyaeva A.N. – statistical data processing; Makarova M.N. – study concept and design; Makarov V.G. – study concept and design; Ishmukhametov A.A. – study concept and design.

Received 12 March 2025
Accepted 23 April 2025
Published 30 April 2025

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-311

© МЕЛЕНТЬЕВ Д.А., НОВИКОВ Д.В., МОХОНОВА Е.В., НОВИКОВА Н.А., КАШНИКОВ А.Ю., СЕЛИВАНОВА С.Г., ГОЛИЦЫНА Л.Н., ЛАПИН В.А., ЦЫГАНОВА М.И., ЗАЙЦЕВ Д.Е., НОВИКОВ В.В., 2025

Иммунологические свойства химерного белка, содержащего основной капсидный белок echovirus 30 (Picornaviridae: *Enterovirus: Enterovirus betacoxsackie*)

Мелентьев Д.А.✉, Новиков Д.В., Мохонова Е.В., Новикова Н.А., Кашников А.Ю., Селиванова С.Г., Голицына Л.Н., Лапин В.А., Цыганова М.И., Зайцев Д.Е., Новиков В.В.

ФБУН «Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор), 603950, г. Нижний Новгород, Россия

Резюме

Введение. Энтеровирусная инфекция, широко распространенная в мире и в России, характеризуется разнообразием клинических форм, одной из которых является серозный менингит. Наиболее частой причиной энтеровирусного менингита у детей является вирус echovirus 30 (E30). Ранее нами получен химерный белок, состоящий из S-домена белка VP1 норовируса (S_N), слитого в одну молекулу с VP1 E30 (S_N-$VP1_{E30}$), который в перспективе может быть использован для разработки вакцины для профилактики энтеровирусного менингита, вызванного вирусом E30.

Целью настоящей работы явилось изучение иммунологических свойств белка S_N-$VP1_{E30}$.

Материалы и методы. Мышей линии Balb/c и морскую свинку иммунизировали белком S_N-$VP1_{E30}$. Продукцию антител класса G (IgG) и M (IgM) исследовали методом иммуноферментного анализа. Взаимодействие антител против S_N-$VP1_{E30}$ с вирионами энтеровирусов E30 разных генотипов изучали методом электронной микроскопии. Реакцию нейтрализации E30 антителами проводили в культуре клеток RD.

Результаты. У мышей, иммунизированных S_N-$VP1_{E30}$ без адъюванта, средние титры суммарных антител против VP1 E30 составили 1 : 19 000. Использование адъюванта повышало средний титр антител в 3 раза. Уровень IgM был значительно ниже и составил в среднем 1 : 1500. С помощью иммуноэлектронной микроскопии показано, что антитела морской свинки против химерного S_N-$VP1_{E30}$ способны связывать вирионы E30 генотипов h и eC2. Антитела мышей и морской свинки способны нейтрализовать E30 в культуре клеток RD. У мышей титры нейтрализующих антител варьировали от 20 до 40, у морской свинки составили 40.

Заключение. Иммуногенность S_N-$VP1_{E30}$ у двух видов животных и способность антител связывать и нейтрализовать энтеровирус E30 позволяет предложить его в качестве антигена в составе вакцины для профилактики заболеваний, вызванных E30.

Ключевые слова: *вирусоподобные частицы; VP1 норовируса; VP1 echovirus 30; химерные белки; вакцины*

Для цитирования: Мелентьев Д.А., Новиков Д.В., Мохонова Е.В., Новикова Н.А., Кашников А.Ю., Селиванова С.Г., Голицына Л.Н., Лапин В.А., Цыганова М.И., Зайцев Д.Е., Новиков В.В. Иммунологические свойства химерного белка, содержащего основной капсидный белок echovirus 30 (Picornaviridae: *Enterovirus: Enterovirus betacoxsackie*). *Вопросы вирусологии.* 2025; 70(2): 189–198. DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-311 EDN: https://elibrary.ru/peagdt

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

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 Этическим комитетом ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора (Протокол № 5 от 25.11.2021).

ORIGINAL STUDY ARTICLE
DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-311

Immunological properties of a chimeric protein containing the major capsid protein of echovirus 30 (Picornaviridae: *Enterovirus: Enterovirus betacoxsackie*)

Dmitry A. Melentev✉, Dmitry V. Novikov, Ekaterina V. Mokhonova, Nadezhda A. Novikova, Alexander Yu. Kashnikov, Svetlana G. Selivanova, Lyudmila N. Golitsyna, Vladislav A. Lapin, Maria I. Tsyganova, Dmitry E. Zaitsev, Viktor V. Novikov

Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare (Rospotrebnadzor), 603950, Nizhny Novgorod, Russia

Abstract

Introduction. Enterovirus infection, widespread in the world and in Russia, is characterized by a variety of clinical forms, one of which is serous meningitis. The most common cause of enterovirus meningitis in children is echovirus 30 (E30). Previously, we obtained a chimeric protein consisting of the S domain of norovirus VP1 protein(S_N), fused into one molecule with VP1 protein of E30 (S_N-$VP1_{E30}$), which in the future can be used to develop a vaccine for the prevention of enterovirus meningitis caused by the E30 virus.

The aim of this work was to study the immunological properties of the S_N-$VP1_{E30}$ protein.

Materials and methods. Balb/c mice and a guinea pig were immunized with the S_N-$VP1_{E30}$ protein. The production of IgG and IgM antibodies was studied by ELISA. The interaction of antibodies against S_N-$VP1_{E30}$ with virions of enteroviruses E30 of different genotypes was studied by electron microscopy. The reaction of neutralization of E30 by antibodies was carried out *in vitro* in RD cells.

Results. In mice immunized with S_N-$VP1_{E30}$ without adjuvant, the average titers of total antibodies against E30 VP1 protein were 1 : 19,000. The use of adjuvant increased the average titer of antibodies by 3 times. The level of IgM antibodies was significantly lower and amounted to, on average, 1 : 1500. Using immunoelectron microscopy, it was shown that guinea pig antibodies against chimeric S_N-$VP1_{E30}$ are able to bind virions of E30 genotypes h and eC2. Mouse and guinea pig antibodies were able to neutralize E30 in RD cell line. Neutralizing antibody titers in mice varied from 20 to 40, and were 40 in guinea pigs.

Conclusion. The immunogenicity of S_N-$VP1_{E30}$ in two animal species and the ability of antibodies to bind and neutralize enterovirus E30 allows us to propose it as an antigen in a vaccine for the prevention of diseases caused by E30.

Keywords: *virus-like particles; norovirus VP1; echovirus 30 VP1; chimeric proteins; vaccines*

For citation: Melentev D.A., Novikov D.V., Mokhonova E.V., Novikova N.A., Kashnikov A.Yu., Selivanova S.G., Golitsyna L.N., Lapin V.A., Tsyganova M.I., Zaitsev D.E., Novikov V.V. Immunological properties of a chimeric protein containing the major capsid protein of echovirus 30 (Picornaviridae: *Enterovirus: Enterovirus betacoxsackie*). *Problems of Virology* (*Voprosy Virusologii*). 2025; 70(2): 189–198 (In Russ.). DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-311 EDN: https://elibrary.ru/peagdt

Funding. This study was not supported by any external sources of funding.

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 FSBI «Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology» (Protocol No. 5 dated 25 November 2021).

Введение

Echovirus 30 (E30, ECHO30; сем. Picornaviridae, род *Enterovirus*, вид *Enterovirus betacoxsackie*) и другие представители вида *E. betacoxsackie* являются доминирующими возбудителями энтеровирусного менингита (ЭВМ) во многих странах. В РФ ежегодно регистрируется от одного до нескольких тысяч случаев заболевания ЭВМ. В периоды с высокой заболеваемостью ЭВМ вирус E30 чаще других энтеровирусов обнаруживается у больных. В возрастной структуре заболевших ЭВМ более 90% приходится на долю детского населения. В последние годы в РФ зафиксирован рост заболеваемости энтеровирусной инфекцией. В возрастной структуре заболевших ЭВМ на территории РФ в 2023 г. доля детского населения составила 91,2%. Чаще других энтеровирусов у больных ЭВМ обнаруживался вирус E30 (32,39%) [1]. Для успешного выздоровления больного от энтеровирусной инфекции требуется эффективный иммунный ответ. Подобный иммунный ответ включает в себя активацию клеток врожденной иммунной системы и продукцию

высоких титров антител плазматическими клетками. При энтеровирусной инфекции особенно важен именно антительный ответ, который развивается при инфицировании и способен предотвратить повторное заражение [2, 3]. Наиболее эффективным способом сформировать гуморальный ответ является профилактическая вакцинация, однако вакцины против большинства энтеровирусов, включая вирус E30, отсутствуют.

Поверхность капсида энтеровирусов сформирована белками VP1, VP2 и VP3. Среди них VP1 является основным структурным белком капсида E30. У многих энтеровирусов в составе VP1 обнаружены линейные и конформационные эпитопы, связывание антител с которыми приводит к нейтрализации вируса [4]. На данный момент существует множество исследований, направленных на создание вакцин против энтеровирусов с использованием белка VP1 или пептидов, входящих в его состав. Однако рекомбинантные белки VP1 обычно проявляли меньшую иммуногенность у мышей по сравнению с иммунизацией инактивированными энтеровирусами. Среди подходов, используемых для повышения иммуногенности рекомбинантных белков, применяется конструирование химерных вирусоподобных частиц (англ. virus-like particles, VLP, ВпЧ). ВпЧ в своем строении имитируют размеры и структуру вирусных патогенов, а их поверхность может быть декорирована различными гетерологичными антигенами. Показано, что вакцины, использующие в качестве антигена ВпЧ, обладают высокой иммуногенностью [5–7].

В предыдущем исследовании нами был получен химерный белок, состоящий из S-домена белка VP1 норовируса (S_N), слитого в одну молекулу с белком VP1 E30 (S_N-$VP1_{E30}$). Химерный белок был способен образовывать ВпЧ [8]. В настоящей работе проведено изучение иммуногенных свойств белка S_N-$VP1_{E30}$.

Материалы и методы

Получение рекомбинантных белков

Рекомбинантные белки S_N (S-домен капсидного белка VP1 норовируса), $VP1_{E30}$ (полноразмерный капсидный белок VP1 энтеровируса E30) и S_N-$VP1_{E30}$ (рекомбинантный химерный белок) в составе плазмид pET22b экспрессировали в *Escherichia coli* Rosetta 2 (DE3), очищали методом аффинной хроматографии в денатурирующих условиях и ренатурировали, как описано ранее [8–10].

Получение антисывороток

Для исследования иммуногенности S_N-$VP1_{E30}$ использовали самок мышей (n = 30) линии Balb/c (возраст 8 нед, масса 18–20 г). Мышей иммунизировали внутрибрюшинно дважды с интервалом в 2 нед. Для одной инъекции использовали 10 мкг S_N-$VP1_{E30}$ в 500 мкл растворителя (50 мМ трис-HCl, 150 мМ NaCl и 20% глюкозы, pH 7,4). Для иммунизации с адъювантом 10 мкг рекомбинантного белка смешивали с 100 мкг $Al(OH)_3$ («ИмБио», Россия), инкубировали в течение 12 ч при 4 °C, доводили объем до 500 мкл растворителем. В качестве отрицательного контроля мышей иммунизировали только растворителем. Через 19 сут после второй иммунизации производили забор крови, из которой готовили сыворотку крови стандартным методом.

Для исследования взаимодействия антител против S_N-$VP1_{E30}$ с вирусом E30 самку морской свинки (*Cavia porcellus*) иммунизировали подкожно в двух повторах с интервалом в 2 нед. Для одной инъекции использовали 500 мкг S_N-$VP1_{E30}$ в смеси с 5 мг $Al(OH)_3$ в 5 мл растворителя (50 мМ трис-HCl, 150 мМ NaCl и 20% глюкозы, pH 7,4). Через 21 сут после бустерной иммунизации проводили забор крови и получали сыворотку. Для приготовления суммарной фракции IgG-антител к сыворотке крови добавляли сульфат аммония до 33%, инкубировали в течение ночи при 4 °C и центрифугировали при 14 000 об/мин в микроцентрифуге Minispin (Eppendorf). Осадок растворяли в буфере (50 мМ трис-HCl, 150 мМ NaCl и 10% глицерина, pH 7,4) и проводили диализ против того же буфера.

Иммуноферментный анализ (ИФА)

Очищенные рекомбинантные белки $VP1_{E30}$ или S_N разводили физиологическим раствором до концентрации 1 мкг/мл и сорбировали в лунках 96-луночных планшетов в течение 24 ч при 4 °C. Для определения титра антител готовили серийные разведения сыворотки крови в ФСБ-Т (0,01 М натрий-фосфатный буферный раствор, 0,9% NaCl и 0,1% Твин-20, pH 7,4, 5% осветленного лизата клеток *E. coli* Rosetta 2) в диапазоне от 100 до 164 025 раз. В качестве вторых антител применяли антитела козы к суммарным иммуноглобулинам (Ig) мыши, конъюгированные с пероксидазой хрена (ИМТЕК, Россия), антитела против мышиных иммуноглобулинов класса M (IgM) (Elabscience, Китай) или белок A, меченный пероксидазой хрена, для обнаружения антител морской свинки. Для визуализации реакции в лунки планшетов вносили по 100 мкл 0,04% тетраметилбензидина и 0,02% перекиси водорода в натрий-цитратном буферном растворе, pH 5,0. Реакцию останавливали 1N серной кислотой и измеряли величину оптической плотности (ОП) на спектрофотометре Infinite M200 Pro (Tecan, Австрия) в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения 680 нм.

Для определения авидности антител образцы анализировали в дублях иммуноферментным методом с описанными ниже модификациями. Перед добавлением конъюгата в одну из двух лунок каждого из образцов вносили 100 мкл раствора 8М мочевины в ФСБ-Т, инкубировали в течение 3 мин, отмывали 5 раз и проводили ИФА, как описано выше. Индекс авидности рассчитывали как отношение величины ОП в лунках с 8М мочевиной к величине ОП в лунках без мочевины, полученной для одного образца сыворотки крови, выраженной в процентах.

Реакция нейтрализации

Вируснейтрализующие свойства антител исследовали с помощью реакции нейтрализации вируса E30 в культуре клеток эмбриональной рабдомиосаркомы – RD («Биолот», Россия). Клетки выращивали в среде DMEM, содержащей 2% витаминов для среды RPMI-1640, 2% аминокислот, заменимых для MEM, 2% L-глутамина 200 мМ, пенициллина-стрептомицина («ПанЭко», Россия), 10% эмбриональной телячьей сыворотки («Biosera», Франция). Для заражения использовали вирусы E30 с генотипом eC2 (изолят 2045/23) и генотипом h (изолят 2700/16), ранее выделенные с использованием клеток RD от больных с подтвержденным методом полимеразной цепной реакции диагнозом «энтеровирусный менингит» [11]. Сыворотку крови иммунизированных лабораторных животных прогревали в течение 30 мин при 56 °C. Далее в 4 повторах проводили последовательные 10-кратные разведения сыворотки полной питательной средой, содержащей 100 50% тканевых цитопатических доз ($ТЦД_{50}$) E30, и инкубировали в течение 1 ч при 37 °C. Из лунок 96-луночного планшета, содержащих 100% монослой клеток RD, удаляли ростовую среду и вносили разведения сыворотки крови иммунизированных животных. В качестве контролей использовали сыворотку крови неиммунизированных мышей, питательную среду, не содержащую вирус, и питательную среду, содержащую 100 $ТЦД_{50}$ E30. Клетки инкубировали в течение 4 сут при 37 °C и 5% CO_2. Результаты оценивали с использованием колориметрического теста для оценки метаболической активности клеток (МТТ-тест). Для этого в каждую лунку добавляли 10 мкл 0,0005% метилтиазолилтетразолия бромида, растворенного в DMEM, инкубировали в течение 2 ч при 37 °C и 5% CO_2, вносили 100 мкл растворителя (40% ДМСО, 16% SDS и 2% уксусной кислоты, pH 4,7) и перемешивали до полного растворения кристаллов формазана. Учет результатов проводили спектрофотометрически при ОП 570 нм с учетом фоновых значений при 620 нм. Нейтрализующий титр определяли по последнему разведению сыворотки, в которой средний показатель ОП был равен или превышал пороговое значение, рассчитанное как половина разницы между ОП в лунках с незараженными клетками и ОП в лунках с клетками, зараженными вирусом E30.

Электронная микроскопия

Способность антител против S_N-$VP1_{E30}$, полученных из сыворотки морской свинки, взаимодействовать с вирионами энтеровируса E30 разных генотипов изучали методом электронной микроскопии (ЭМ). Использовали фекалии двух пациентов, в которых были обнаружены E30 с генотипом eC2 (E30-eC2 1194/24) и h (E30-h 2671/17). В качестве контрольного образца использовали фекалии, в которых был обнаружен Norovirus GII.4 130/24. Готовили 10% суспензию вируссодержащих фекалий в физиологическом растворе, центрифугировали при 5000 об/мин в течение 10 мин, супернатант последовательно фильтровали через мембранные фильтры PES Female Luer Lok/Male Luer slip с размером пор 0,45 мкм, а затем 0,22 мкм (Membrane Solutions LLC (MS), Китай) и использовали в работе.

Для проведения иммуноэлектронной микроскопии на медную сетку для ЭМ, покрытую парлодиевой пленкой-подложкой, сорбировали фракцию иммуноглобулинов морской свинки, содержащую антитела класса G (IgG) против S_N-$VP1_{E30}$, в течение 60 мин при комнатной температуре. Избыток иммуноглобулинов отмывали водой, сетку помещали на каплю вирусной суспензии и инкубировали в течение 60 мин при 37 °C. Препараты окрашивали водным раствором 2% уранилацетата (pH 4,5). В качестве контроля использовали сетку без сорбированных антител.

Для исследования возможности формирования иммунных комплексов к 20 мкл вирусной суспензии добавляли 20 мкл антител морской свинки и инкубировали в течение 30 мин при 37 °C, затем в течение 12 ч при 4 °C. После инкубации препараты центрифугировали в течение 30 мин при 10 000 об/мин. Полученные осадки разводили в 20 мкл воды и наносили на электронно-микроскопическую сетку, покрытую парлодиевой пленкой, контрастировали в водном растворе 2% фосфорно-вольфрамовой кислоты. Результаты визуализировали с помощью электронного микроскопа просвечивающего типа HT7700 (Hitachi, Япония).

Результаты

Иммуногенность S_N-$VP1_{E30}$

На первом этапе работы сравнивали титры антител к белку $VP1_{E30}$ у мышей, иммунизированных слитым белком S_N-$VP1_{E30}$ с адъювантом и без. Поскольку $VP1_{E30}$ растворялся только в 4М мочевине, он использовался только в качестве антигена для выявления антител методом ИФА. В контрольных образцах сыворотки крови мышей, иммунизированных только буфером для растворения белков, антитела к рекомбинантным белкам $VP1_{E30}$ и S_N норовируса не выявлены. Титры суммарных антител против $VP1_{E30,}$ иммунизированных S_N-$VP1_{E30}$, в среднем достигали 1 : 19 000 (**рис. 1** *а*). Использование адъюванта повышало средний титр антител в 3 раза ($p = 0,0471$). Для того чтобы определить, какая из частей химерного белка обладала большей иммуногенностью, проводили исследование титров антител против норовирусной части (S_N) химерного белка. Установлено, что титры антител против $VP1_{E30}$ были значительно выше, чем титры против S_N (рис. 1 *а*) как при использовании адъюванта ($p = 0,0078$), так и без него ($p = 0,0078$). Уровни IgM-антител не отличались между группами мышей, иммунизированных с адъювантом и без него (рис. 1 *б*).

Установлено, что в среднем индекс авидности суммарных антител против $VP1_{E30}$ составил 47% и использование адъюванта не влияло на этот показатель (**рис. 2** *а*). В то же время авидность антител против $VP1_{E30}$ была выше, чем авидность антител против S_N ($p = 0,044$), использование адъюванта сглаживало данный эффект. Индекс авидности IgM-антител к белку $VP1_{E30}$ не отличался от показателя

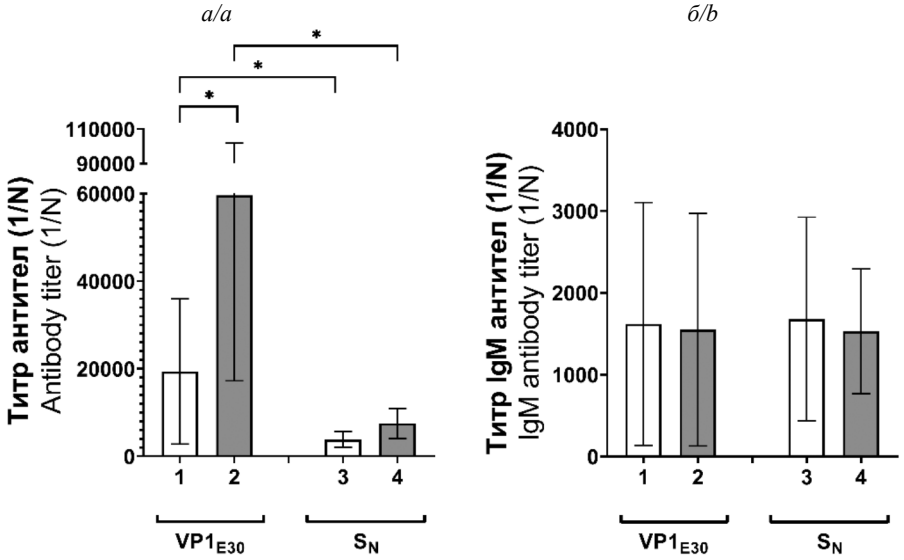


Рис. 1. Сравнение титров антител к белкам $VP1_{E30}$ и S_N после иммунизации мышей химерным белком S_N-$VP1_{E30}$.

а – титры суммарных антител (n = 10); *б* – титры IgM-антител (n = 10). 1 – титр антител против $VP1_{E30}$ при иммунизации без адъюванта, 2 – титр антител против $VP1_{E30}$ при иммунизации с адъювантом, 3 – титр антител против S_N при иммунизации без адъюванта, 4 – титр антител против S_N в смеси с адъювантом. * – $p \leq 0{,}05$.

Fig. 1. Comparison of antibody titers to $VP1_{E30}$ and S_N proteins after immunization of mice with the chimeric S_N-$VP1_{E30}$ protein.

a – total antibody titers (n = 10); *b* – IgM antibody titers (n = 10). 1 – titer of antibodies against $VP1_{E30}$ upon immunization without adjuvant, 2 – titer of antibodies against $VP1_{E30}$ upon immunization with adjuvant, 3 – titer of antibodies against S_N upon immunization without adjuvant, 4 – titer of antibodies against S_N in a mixture with adjuvant. * – $p \leq 0.05$.

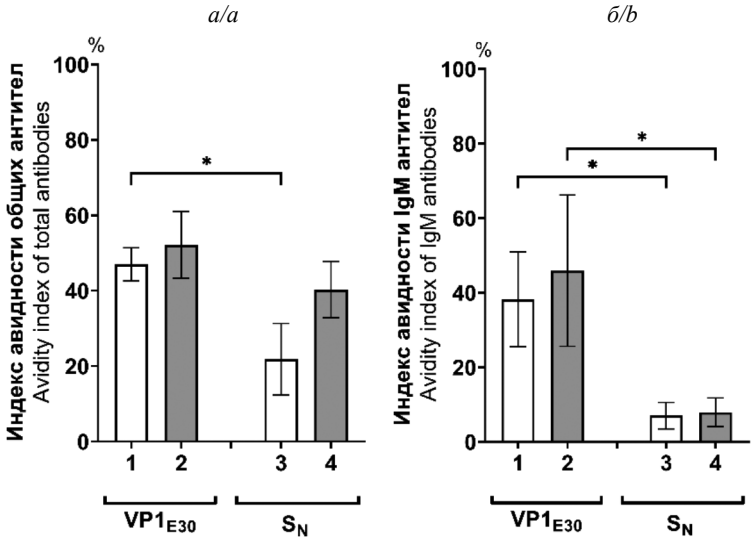


Рис. 2. Сравнение индексов авидности антител против $VP1_{E30}$ и S_N после иммунизации мышей химерным белком S_N-$VP1_{E30}$.

а – индекс авидности суммарных иммуноглобулинов (n = 10); *б* – индекс авидности IgM-антител (n = 10). 1 – индекс авидности антител против $VP1_{E30}$ после иммунизации мышей S_N-$VP1_{E30}$ без адъюванта, 2 – индекс авидности антител против $VP1_{E30}$ после иммунизации мышей S_N-$VP1_{E30}$ в смеси с адъювантом, 3 – индекс авидности антител против S_N после иммунизации мышей S_N-$VP1_{E30}$ без адъюванта, 4 – индекс авидности антител против S_N после иммунизации мышей в смеси с адъювантом. * – $p \leq 0{,}05$.

Fig. 2. Comparison of the avidity indices of antibodies against $VP1_{E30}$ and S_N after immunization of mice with the chimeric protein S_N-$VP1_{E30}$.

a – avidity index of total immunoglobulins (n = 10); *b* – avidity index of IgM antibodies (n = 10). 1 – avidity index of antibodies against $VP1_{E30}$ after immunization of mice with S_N-$VP1_{E30}$ without adjuvant, 2 – avidity index of antibodies against $VP1_{E30}$ after immunization of mice with S_N-$VP1_{E30}$ mixed with adjuvant, 3 – avidity index of antibodies against S_N after immunization of mice with S_N-$VP1_{E30}$ without adjuvant, 4 – avidity index of antibodies against S_N after immunization of mice mixed with adjuvant. * – $p \leq 0.05$.

у суммарных антител и был выше, чем аналогичный показатель у IgM против S_N вне зависимости от того, использовали адъювант (p = 0,033) или нет (p = 0,015) (рис. 2 *б*).

Взаимодействие антител против S_N-$VP1_{E30}$ с E30

Способность антител к S_N-$VP1_{E30}$ взаимодействовать с вирионами E30 исследовали с помощью ЭМ.

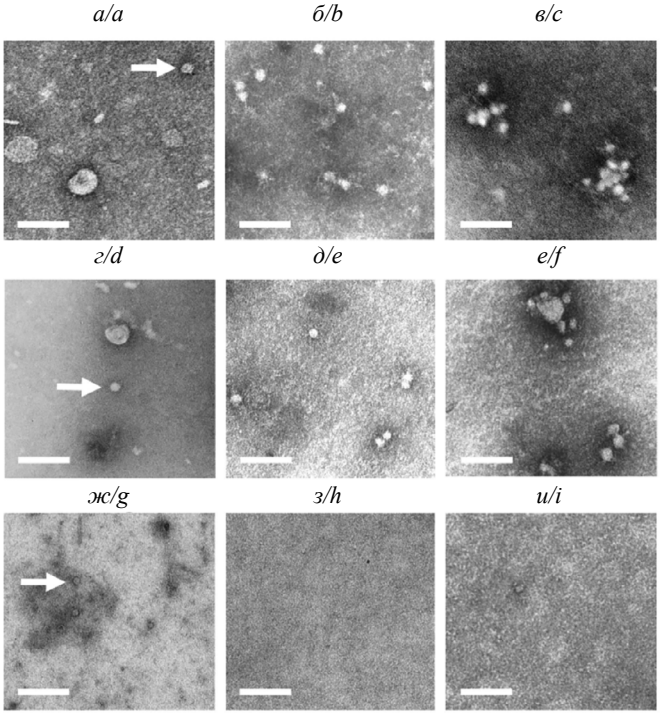


Рис. 3. Электронные микрофотографии иммунокомплексов. Цена деления – 100 нм.

а – исходный препарат E30-eC2 1194/24; *б* – взаимодействие антител против S_N-$VP1_{E30}$ и энтеровируса E30-eC2; *в* – образования иммунных комплексов с E30-eC2; *г* – исходный препарат E30-h 2671/17; *д* – взаимодействия антител против S_N-$VP1_{E30}$ и энтеровируса E30-h; *е* – образования иммунных комплексов с E30-h; *ж* – исходный препарат Norovirus GII.4 130/24; *з* – взаимодействия антител против S_N-$VP1_{E30}$ и Norovirus GII.4; *и* – образования иммунных комплексов с Norovirus GII.4.

Fig. 3. Electron micrographs of immune complexes. The bar represents 100 nm.

a – original preparation E30-eC2 1194/24; *b* – interactions of antibodies against S_N-$VP1_{E30}$ and enterovirus E30-eC2; *c* – formation of immune complexes with E30-eC2; *d* – original preparation E30-h 2671/17; *e* – interactions of antibodies against S_N-$VP1_{E30}$ and enterovirus E30-h; *f* – formation of immune complexes with E30-h; *g* – original preparation Norovirus GII.4 130/24; *h* – interactions of antibodies against S_N-$VP1_{E30}$ and Norovirus GII.4; *i* – formation of immune complexes with Norovirus GII.4.

На первом этапе подтверждали присутствие в исследуемом препарате вирусных частиц E30 и норовируса (**рис. 3** *а, г, ж*). Далее с использованием сеток, на поверхности которых сорбированы иммуноглобулины против S_N-$VP1_{E30}$, было показано, что исследуемые антитела способны связывать вирусные частицы E30 генотипов h и eC2 (рис. 3 *б, д*), что проявилось в увеличении количества наблюдаемых вирионов. Норовирус не выявлялся с использованием сеток, покрытых антителами против S_N-$VP1_{E30}$ (рис. 3 *з*). Исследование образования иммунокомплексов антител против S_N-$VP1_{E30}$ с вирусными частицами показало сходные результаты. Добавление к препаратам вирусов E30-eC2 и E30-h антител против S_N-$VP1_{E30}$ приводило к появлению агрегатов вирусных частиц (рис. 3 *в, е*), которых не наблюдалось с вирионами норовируса (рис. 3 *и*).

В реакции нейтрализации вируса E30 в культуре клеток были исследованы сыворотки крови 3 мышей, иммунизированных S_N-$VP1_{E30}$ без адъюванта, 3 мышей, иммунизированных S_N-$VP1_{E30}$ с адъювантом, и сыворотка морской свинки, иммунизированной S_N-$VP1_{E30}$ с адъювантом. Установлено, что антитела мыши и морской свинки были способны нейтрализовать E30 генотипов h и eC2. У мышей титры нейтрализующих антител варьировали от 20 до 40, а у морской свинки составили 40.

Обсуждение

Многолетний опыт применения вакцин против полиомиелита показывает, что аттенуированные штаммы энтеровирусов способны к быстрому восстановлению вирулентности, а производство инактивированной вакцины сопряжено с биологическими рисками [12]. В связи с этим исследования направлены на разработку альтернативных вакцин, в которых присутствие генетического материала энтеровирусов сведено к минимуму. Субъединичные вакцины показали низкую иммуногенность. Например, при использовании гена VP1 EV-A71 в составе ДНК-вакцины была показана индукция специфичного, но низкого антительного ответа против VP1 EV-A71 у мышей [13]. В другом исследовании при иммунизации короткими пептидами SP55 и SP70 из области VP1 EV-A71 титры антител против них были ниже, чем против инактивированного вируса EV-A71 [14]. Для повышения иммуногенности энтеровирусных белков широкое распространение получили ВпЧ [15]. Полученный в нашем исследовании путем генетического слияния с S-доменом белка VP1 норовируса и VP1 E30 химерный белок S_N-$VP1_{E30}$ образовывал полые сферические ВпЧ диаметром 30–50 нм [8]. Иммунизация мышей раствором S_N-$VP1_{E30}$ без адъю-

ванта, приводила к продукции высоких титров антител против $VP1_{E30}$ с авидностью, превышающей 50%. Титры антител против $VP1_{E30}$ были сопоставимы с титрами антител против VP1 EV-A71, полученными другими авторами при иммунизации мышей инактивированным вирусом [16, 17].

Следует отметить, что титры антител против $VP1_{E30}$ были намного выше, чем титры антител против S_N. Индекс авидности к белку $VP1_{E30}$ также был выше (p = 0,044), чем к норовирусному S_N, при иммунизации без адъюванта, что свидетельствует о развитии гуморального иммунного ответа преимущественно на антиген, расположенный на поверхности химерных ВпЧ. В аналогичном исследовании иммуногенных свойств ВпЧ, состоящих из S_N и белка VP8 ротавируса, были получены сходные результаты, титры антител к VP8 были выше, чем к S_N [18].

Особый интерес представляет продукция антител IgM против химерного белка, которые сохранялись на 33-и сутки после иммунизации в титрах, в среднем составляющих 1 : 1500. Ранее W. Zhu и соавт. показали, что небольшие дозы моноклональных IgM M20 против VP1 энтеровируса EV-A71 нейтрализовали EV-A71 *in vitro* и *in vivo* более эффективно, чем IgG. Кроме того, IgM были способны нейтрализовать другие энтеровирусы (CVA6, CVA10 и CVA16), в отличие от IgG [19, 20].

Последние 10 лет в генотиповой структуре российских штаммов вируса E30 преобладали 2 генотипа: h и eC2 [1, 21]. Для того чтобы понять, как антитела против химерного белка S_N-$VP1_{E30}$ взаимодействуют с разными генотипами E30, проводили иммунную ЭМ. Показано, что антитела способны связывать вирионы E30 генотипов h и eC2 как при сорбции антител на подложке микроскопической сетки, так и в свободном виде, с образованием агрегатов вирусных частиц. Данные результаты свидетельствуют о сохранении антигенных детерминант в составе химерного белка, антитела против которых способны связывать вирионы E30 разных генотипов. Полученные нами результаты совпадали с описанными ранее для EV70. D. Chen и соавт. показали, что антитела против VP1 EV70 также вызывали иммунопреципитацию разных генотипов вируса [22]. Кроме того, после иммунизации двух видов животных антитела против S_N-$VP1_{E30}$ нейтрализовали разные генотипы E30 *in vitro*, что свидетельствует о перспективности использования S_N-$VP1_{E30}$ в качестве антигена в составе вакцины.

Следует отметить, что в ответ на иммунизацию S_N-$VP1_{E30}$ образовывались антитела против S-части белка VP1 норовируса. Однако эти антитела не были способны связывать вирионы норовируса. Данное наблюдение объясняется структурной организацией вириона норовируса, VP1 которого состоит из P- и S-доменов. При этом P-домен формирует поверхность капсида и стерически экранирует доступ антител к S-домену, который расположен внутри капсида [23].

Заключение

Таким образом, иммунизация двух видов лабораторных животных с использованием S_N-$VP1_{E30}$ показала сильный антительный ответ на VP1 E30. Антитела против VP1 E30 были способны связывать и нейтрализовать *in vitro* разные генотипы E30. Представленные данные свидетельствуют о том, что химерный белок S_N-$VP1_{E30}$ может быть предложен в качестве антигена в составе вакцины для профилактики заболеваний, вызванных E30.

ЛИТЕРАТУРА

1. Голицына Л.Н., Кашникова А.Д., Полянина А.В., Зайцева Н.Н., Михайлова Ю.М., Черепанова Е.А. Энтеровирусная (неполио) инфекция в Российской Федерации в 2023 г. В кн.: *Заболеваемость, этиологическая структура и вопросы профилактики энтеровирусной (неполио) инфекции: Информационный бюллетень № 11*. Нижний Новгород; 2024: 3–8. Available at: https://nniiem.ru/file/razrabotki/2024/nniiem-inf-byulleten-n-11-po-eviza-2023-dlya-sayta-korr-oformlenie-novikova-na.pdf
2. Wallace G.S., Curns A.T., Weldon W.C., Oberste M.S. Seroprevalence of poliovirus antibodies in the United States population, 2009–2010. *BMC Public Health.* 2016; 16: 721. https://doi.org/10.1186/s12889-016-3386-1
3. Zhu R., Cheng T., Yin Z., Liu D., Xu L., Li Y., et al. Serological survey of neutralizing antibodies to eight major enteroviruses among healthy population. *Emerg. Microbes Infect.* 2018; 7(1): 2. https://doi.org/10.1038/s41426-017-0003-z
4. Huang K.A. Structural basis for neutralization of enterovirus. *Curr. Opin. Virol.* 2021; 51: 199–206. https://doi.org/10.1016/j.coviro.2021.10.006
5. Al-Barwani F., Donaldson B., Pelham S.J., Young S.L., Ward V.K. Antigen delivery by virus-like particles for immunotherapeutic vaccination. *Ther. Deliv.* 2014; 5(11): 1223–40. https://doi.org/10.4155/tde.14.74
6. Chroboczek J., Szurgot I., Szolajska E. Virus-like particles as vaccine. *Acta Biochim. Pol.* 2014; 61(3): 531–9.
7. Ye X., Ku Z., Liu Q., Wang X., Shi J., Zhang Y., et al. Chimeric virus-like particle vaccines displaying conserved enterovirus 71 epitopes elicit protective neutralizing antibodies in mice through divergent mechanisms. *J. Virol.* 2014; 88(1): 72–81. https://doi.org/10.1128/JVI.01848-13
8. Новиков Д.В., Мелентьев Д.А., Мохонов В.В., Кашников А.Ю., Новикова Н.А., Лапин В.А. и др. Получение вирусоподобных частиц норовируса (Caliciviridae: Norovirus), содержащих белок VP1 энтеровируса Echovirus 30 (Picornaviridae: Enterovirus: Enterovirus B). *Вопросы вирусологии*. 2021; 66(5): 383–9. https://doi.org/10.36233/0507-4088-79 https://elibrary.ru/mkbqet
9. Лапин В.А., Новиков Д.В., Мохонова Е.В., Мелентьев Д.А., Цыганова М.И., Зайцев Д.Е. и др. Получение рекомбинантного белка VP1 норовируса и его антигенные и иммуногенные свойства. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2024; 101(5): 661–7. https://doi.org/10.36233/0372-9311-552 https://elibrary.ru/ubmktf
10. Мелентьев Д.А., Новиков Д.В., Лапин В.А., Мохонова Е.В., Цыганова М.И., Манакова Э.А. и др. Антитела к поверхностным белкам Echovirus 30 (Enterovirus, Picornaviridae) в крови жителей Нижегородской области. *Инфекция и иммунитет*. 2024; 14(6): 1179–86. https://doi.org/10.15789/2220-7619-BAC-16103 https://elibrary.ru/exbfif
11. Nix W.A., Oberste M.S., Pallansch M.A. Sensitive, seminested PCR amplification of VP1 sequences for direct identification of all enterovirus serotypes from original clinical specimens. *J. Clin. Microbiol*. 2006; 44(8): 2698–704. https://doi.org/10.1128/JCM.00542-06
12. Muslin C., Kain A.M., Bessaud M., Blondel B., Delpeyroux F. Recombination in enteroviruses, a multi-step modular evolutionary process. *Viruses.* 2019; 11(9): 859. https://doi.org/10.3390/v11090859
13. Yuan J., Tang X., Yin K., Tian J., Rui K., Ma J., et al. GITRL as a genetic adjuvant enhances enterovirus 71 VP1 DNA vaccine immunogenicity. *Immunol. Res.* 2015; 62(1): 81–8. https://doi.org/10.1007/s12026-015-8637-1
14. Foo D.G., Alonso S., Phoon M.C., Ramachandran N.P., Chow V.T., Poh C.L. Identification of neutralizing linear epitopes from the VP1

capsid protein of Enterovirus 71 using synthetic peptides. *Virus Res*. 2007; 125(1): 61–8. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2006.12.005
15. Collins K.A., Snaith R., Cottingham M.G., Gilbert S.C., Hill A.V.S. Enhancing protective immunity to malaria with a highly immunogenic virus-like particle vaccine. *Sci. Rep*. 2017; 7: 46621. https://doi.org/10.1038/srep46621
16. Wu C.N., Lin Y.C., Fann C., Liao N.S., Shih S.R., Ho M.S. Protection against lethal enterovirus 71 infection in newborn mice by passive immunization with subunit VP1 vaccines and inactivated virus. *Vaccine*. 2001; 20(5-6): 895–904. https://doi.org/10.1016/s0264-410x(01)00385-1
17. Zhou S.L., Ying X.L., Han X., Sun X.X., Jin Q., Yang F. Characterization of the enterovirus 71 VP1 protein as a vaccine candidate. *J. Med. Virol*. 2015; 87(2): 256–62. https://doi.org/10.1002/jmv.24018
18. Xia M., Huang P., Sun C., Han L., Vago F.S., Li K., et al. Bioengineered Norovirus S60 nanoparticles as a multifunctional vaccine platform. *ACS Nano*. 2018; 12(11): 10665–82. https://doi.org/10.1021/acsnano.8b02776
19. Zhu W., Liu Z., Zheng X., Li J., Lu K., Jiang X., et al. A broad and potent IgM antibody against tetra-EV-As induced by EVA71 and CVA16 co-immunization. *Vaccine*. 2021; 39(44): 6510–9. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.09.056
20. Zhu W., Li J., Wu Z., Li H., Zhang Z., Zhu X., et al. Dual blockages of a broad and potent neutralizing IgM antibody targeting GH loop of EV-As. *Immunology*. 2023; 169(3): 292–308. https://doi.org/10.1111/imm.13629
21. Голицына Л.Н., Зверев В.В., Епифанова Н.В., Сашина Т.А., Кашников А.Ю., Созонов Д.В. и др. Энтеровирусная (неполио) инфекция в Российской Федерации в 2017 г. В кн.: *Заболеваемость, этиологическая структура и вопросы профилактики энтеровирусной (неполио) инфекции: Информационный бюллетень № 5*. Нижний Новгород; 2018: 5–12. Available at: https://nniiem.ru/file/razrabotki/2018/byulleten-evi-2017-n5-may-18-1.pdf
22. Chen D., Duggan C., Texada D.E., Reden T.B., Kooragayala L.M., Langford M.P. Immunogenicity of enterovirus 70 capsid protein VP1 and its non-overlapping N- and C-terminal fragments. *Antiviral Res*. 2005; 66(2-3): 111–7. https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2005.02.004.
23. Prasad B.V., Hardy M.E., Dokland T., Bella J., Rossmann M.G., Estes M.K. X-ray crystallographic structure of the Norwalk virus capsid. *Science*. 1999; 286(5438): 287–90. https://doi.org/10.1126/science.286.5438.287

REFERENCES

1. Golitsyna L.N., Kashnikova A.D., Polyanina A.V., Zaitseva N.N., Mikhailova Yu.M., Cherepanova E.A. Enterovirus (non-polio) infection in the Russian Federation in 2023. In: *Incidence, Etiological Structure and Prevention Issues of Enterovirus (Non-Polio) Infection: Electronic Resource [Zabolevaemost', etiologicheskaya struktura i voprosy profilaktiki enterovirusnoi (nepolio) infektsii: Informatsionnyi byulleten']*. Nizhnii Novgorod; 2024: 3–8. Available at: https://www.nniiem.ru/file/razrabotki/2024/nniiem-inf-byulleten-n-11-po-evi-za-2023-dlya-sayta-korr-oformlenie-novikova-na.pdf (in Russian)
2. Wallace G.S., Curns A.T., Weldon W.C., Oberste M.S. Seroprevalence of poliovirus antibodies in the United States population, 2009–2010. *BMC Public Health*. 2016; 16: 721. https://doi.org/10.1186/s12889-016-3386-1
3. Zhu R., Cheng T., Yin Z., Liu D., Xu L., Li Y., et al. Serological survey of neutralizing antibodies to eight major enteroviruses among healthy population. *Emerg. Microbes Infect*. 2018; 7(1): 2. https://doi.org/10.1038/s41426-017-0003-z
4. Huang K.A. Structural basis for neutralization of enterovirus. *Curr. Opin. Virol*. 2021; 51: 199–206. https://doi.org/10.1016/j.coviro.2021.10.006
5. Al-Barwani F., Donaldson B., Pelham S.J., Young S.L., Ward V.K. Antigen delivery by virus-like particles for immunotherapeutic vaccination. *Ther. Deliv*. 2014; 5(11): 1223–40. https://doi.org/10.4155/tde.14.74
6. Chroboczek J., Szurgot I., Szolajska E. Virus-like particles as vaccine. *Acta Biochim. Pol*. 2014; 61(3): 531–9.
7. Ye X., Ku Z., Liu Q., Wang X., Shi J., Zhang Y., et al. Chimeric virus-like particle vaccines displaying conserved enterovirus 71 epitopes elicit protective neutralizing antibodies in mice through divergent mechanisms. *J. Virol*. 2014; 88(1): 72–81. https://doi.org/10.1128/JVI.01848-13
8. Novikov D.V., Melentev D.A., Mokhonov V.V., Kashnikov A.Yu., Novikova N.A., Lapin V.A., et al. Construction of Norovirus (Caliciviridae: Norovirus) virus-like particles containing VP1 of the Echovirus 30 (Picornaviridae: Enterovirus: Enterovirus B). *Voprosy virusologii*. 2021; 66(5): 383–9. https://doi.org/10.36233/0507-4088-79 https://elibrary.ru/mkbqet (in Russian)
9. Lapin V.A., Novikov D.V., Mokhonova E.V., Melentyev D.A., Tsyganova M.I., Zaitsev D.E., et al. Production of recombinant norovirus VP1 protein and its antigenic and immunogenic properties. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2024; 101(5): 661–7. https://doi.org/10.36233/0372-9311-552 https://elibrary.ru/ubmktf (in Russian)
10. Melentev D.A., Novikov D.V., Lapin V.A., Mokhonova E.V., Tsiganova M.I., Manakova E.A., et al. Blood anti-surface proteins Echovirus 30 (Enterovirus, Picornaviridae) antibodies in residents of the Nizhny Novgorod region. *Infektsiya i immunitet*. 2024; 14(6): 1179–86. https://doi.org/10.15789/2220-7619-BAC-16103 https://elibrary.ru/exbfif (in Russian)
11. Nix W.A., Oberste M.S., Pallansch M.A. Sensitive, seminested PCR amplification of VP1 sequences for direct identification of all enterovirus serotypes from original clinical specimens. *J. Clin. Microbiol*. 2006; 44(8): 2698–704. https://doi.org/10.1128/JCM.00542-06
12. Muslin C., Kain A.M., Bessaud M., Blondel B., Delpeyroux F. Recombination in enteroviruses, a multi-step modular evolutionary process. *Viruses*. 2019; 11(9): 859. https://doi.org/10.3390/v11090859
13. Yuan J., Tang X., Yin K., Tian J., Rui K., Ma J., et al. GITRL as a genetic adjuvant enhances enterovirus 71 VP1 DNA vaccine immunogenicity. *Immunol. Res*. 2015; 62(1): 81–8. https://doi.org/10.1007/s12026-015-8637-1
14. Foo D.G., Alonso S., Phoon M.C., Ramachandran N.P., Chow V.T., Poh C.L. Identification of neutralizing linear epitopes from the VP1 capsid protein of Enterovirus 71 using synthetic peptides. *Virus Res*. 2007; 125(1): 61–8. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2006.12.005
15. Collins K.A., Snaith R., Cottingham M.G., Gilbert S.C., Hill A.V.S. Enhancing protective immunity to malaria with a highly immunogenic virus-like particle vaccine. *Sci. Rep*. 2017; 7: 46621. https://doi.org/10.1038/srep46621
16. Wu C.N., Lin Y.C., Fann C., Liao N.S., Shih S.R., Ho M.S. Protection against lethal enterovirus 71 infection in newborn mice by passive immunization with subunit VP1 vaccines and inactivated virus. *Vaccine*. 2001; 20(5-6): 895–904. https://doi.org/10.1016/s0264-410x(01)00385-1
17. Zhou S.L., Ying X.L., Han X., Sun X.X., Jin Q., Yang F. Characterization of the enterovirus 71 VP1 protein as a vaccine candidate. *J. Med. Virol*. 2015; 87(2): 256–62. https://doi.org/10.1002/jmv.24018
18. Xia M., Huang P., Sun C., Han L., Vago F.S., Li K., et al. Bioengineered Norovirus S60 nanoparticles as a multifunctional vaccine platform. *ACS Nano*. 2018; 12(11): 10665–82. https://doi.org/10.1021/acsnano.8b02776
19. Zhu W., Liu Z., Zheng X., Li J., Lu K., Jiang X., et al. A broad and potent IgM antibody against tetra-EV-As induced by EVA71 and CVA16 co-immunization. *Vaccine*. 2021; 39(44): 6510–9. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.09.056
20. Zhu W., Li J., Wu Z., Li H., Zhang Z., Zhu X., et al. Dual blockages of a broad and potent neutralizing IgM antibody targeting GH loop of EV-As. *Immunology*. 2023; 169(3): 292–308. https://doi.org/10.1111/imm.13629
21. Golitsyna L.N., Zverev V.V., Epifanova N.V., Sashina T.A., Kashnikov A.Yu., Sozonov D.V., et al. Enterovirus (non-polio) infection in the Russian Federation in 2017. In: *Incidence, Etiological Structure and Prevention Issues of Enterovirus (Non-Polio) Infection: Electronic Resource [Zabolevaemost', etiologicheskaya struktura i voprosy profilaktiki enterovirusnoi (nepolio) infektsii: Informatsionnyi byulleten']*. Nizhnii Novgorod; 2024: 3–8. Available at: https://nniiem.ru/file/razrabotki/2018/byulleten-evi-2017-n5-may-18-1.pdf (in Russian)
22. Chen D., Duggan C., Texada D.E., Reden T.B., Kooragayala L.M., Langford M.P. Immunogenicity of enterovirus 70 capsid protein VP1 and itsnon-overlapping N- and C-terminal fragments. *Antiviral Research*. 2005; 66: 111–117. https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2005.02.004.
23. Prasad B.V., Hardy M.E., Dokland T., Bella J., Rossmann M.G., Estes M.K. X-ray crystallographic structure of the Norwalk virus capsid. *Science*. 1999; 286(5438): 287–90. https://doi.org/10.1126/science.286.5438.287

Информация об авторах:

Мелентьев Дмитрий Александрович✉ – младший научный сотрудник лаборатории иммунохимии Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия. E-mail: dim-melente@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0002-2441-6874

Новиков Дмитрий Викторович – канд. биол. наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия. E-mail: novikov.dv75@mail.ru; https://orcid.org/0000-0001-7049-6935

Мохонова Екатерина Валерьевна – научный сотрудник лаборатории иммунохимии Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия. E-mail: ekaterinamohonova@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0002-9742-7646

Новикова Надежда Алексеевна – д-р биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия. E-mail: novikova_na@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-3710-6648

Кашников Александр Юрьевич – научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия. E-mail: mevirfc@mail.ru; https://orcid.org/0000-0003-1033-7347

Селиванова Светлана Григорьевна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия. E-mail: svetafor22@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-6610-1774

Голицына Людмила Николаевна – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия. E-mail: lyudmila_galitzina@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-8064-4476

Лапин Владислав Александрович – младший научный сотрудник лаборатории иммунохимии Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия. E-mail: fridens.95@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0002-5905-5722

Цыганова Мария Игоревна – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия. E-mail: maria_che@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-2811-6844

Зайцев Дмитрий Евгеньевич – старший лаборант лаборатории иммунохимии Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия. E-mail: mitya.zaitseff@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0002-7663-6924

Новиков Виктор Владимирович – д-р биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией иммунохимии Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия. E-mail: mbre@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-2449-7213

Участие авторов: Мелентьев Д.А., Новиков Д.В. – планирование и проведение экспериментальных работ, написание текста; Мохонова Е.В. – проведение экспериментальных работ; Новикова Н.А. – проведение экспериментальных работ, написание текста; Кашников А.Ю., Селиванова С.Г., Голицына Л.Н., Лапин В.А., Цыганова М.И., Зайцев Д.Е. – проведение экспериментальных работ; Новиков В.В. – проведение экспериментальных работ, написание текста.

Поступила 14.03.2025
Принята в печать 24.04.2025
Опубликована 30.04.2025

Information about the authors:

Dmitry A. Melentev✉ – Junior Researcher, laboratory of immunochemistry I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: dim-melente@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0002-2441-6874

Dmitry V. Novikov – PhD, Leading Researcher, laboratory of immunochemistry I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: novikov.dv75@mail.ru; https://orcid.org/0000-0001-7049-6935

Ekaterina V. Mokhonova – researcher, laboratory of immunochemistry I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: ekaterinamohonova@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0002-9742-7646

Nadezhda A. Novikova – Dr. Sci., Professor, Leading Researcher, Head of the laboratory of molecular epidemiology of viral infections I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: novikova_na@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-3710-6648

Alexander Yu. Kashnikov – Researcher, laboratory of molecular epidemiology of viral infections I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: mevirfc@mail.ru; https://orcid.org/0000-0003-1033-7347

Svetlana G. Selivanova – PhD, Senior researcher, laboratory of molecular epidemiology of viral infections I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: svetafor22@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-6610-1774

Lyudmila N. Golitsyna – PhD, Leading Researcher, laboratory of molecular epidemiology of viral infections I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: lyudmila_galitzina@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-8064-4476

Vladislav A. Lapin – Junior Researcher, laboratory of immunochemistry I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: fridens.95@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0002-5905-5722

Maria I. Tsyganova – PhD, Leading Researcher, laboratory of immunochemistry I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: e-mail: maria_che@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-2811-6844

Dmitry E. Zaitsev – Senior Lab Assistant, laboratory of immunochemistry I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: mitya.zaitseff@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0002-7663-6924

Viktor V. Novikov – Dr. Sci., Professor, Leading Researcher, Head of the laboratory of immunochemistry I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: mbre@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-2449-7213

Contribution: Melentev D.A., Novikov D.V. – performing experiments, writing the text; Mokhonova V.V. – performing experiments; Novikova N.A. – performing experiments, writing the text; Kashnikov A.Yu., Selivanova S.G., Golitsyna L.N., Lapin V.A., Tsyganova M.I., Zaitsev D.E. – performing experiments; Novikov V.V. – performing experiments, writing the text.

Received 14 March 2025
Accepted 24 April 2025
Published 30 April 2025

Problems
of Virology

Voprosy
Virusologii

ISSN 0507-4088. Вопр. вирусологии. 2025. Т. 70. № 2. 99–198.