



Д.И.ИВАНОВСКИЙ

ВОПРОСЫ ВИРУСОЛОГИИ

PROBLEMS OF VIROLOGY

5

Том 70 • 2025

Volume 70 • Issue 5 • 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 K1, 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 международ-
ных базах данных и информаци-
онно-справочных системах: Russian
Science Citation Index, Abstract Jour-
nals, AIDS & Cancer Research, Biocon-
trol 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 En-
tomology, Thomson Reuters Biological
Abstracts, Thomson Reuters BIOSIS Pre-
views, 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 соответ-
ствии 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 29.10.2025.
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.

5

Том 70 • 2025

Редакционная коллегия

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

Зам. главного редактора: **Малеев В.В.** (д.м.н., проф., акад. РАН)

Ответственный секретарь: **Альховский С.В.** (д.б.н., член-корр. РАН)

Научный редактор: **Забережный А.Д.** (д.б.н., проф., акад. РАН)

Научный редактор перевода: **Кюрегян К.К.** (д.б.н., проф. 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)

Онищенко Г.Г. (д.м.н., проф., акад. РАН)

Попова А.Ю. (д.м.н., проф.)

Свитич О.А. (д.м.н., проф., акад. РАН)

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., член-
корр. РАН; пос. Краснообск,
Новосибирская обл., Россия)

Глунов 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., член-корр. РАН;
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)

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

Михайлов М.И. (д.м.н., проф.,
акад. 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.,
акад. РАН; Москва, Россия)

Чвала И.А. (к.в.н.; Владимир, Россия)

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

Яшкуллов 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)

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 October 29, 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

5

Volume 70 • 2025

EDITORIAL BOARD

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

Assistant editor in chief: **Maleev V.V., RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine)**

Executive secretary: **Alkhovskiy S.V., RAS Corr. Member, Dr. Sci. (Biology)**

Scientific editor: **Zaberezhny A.D., RAS Full Member, Professor,
Dr. Sci. (Biology)**

Scientific translation editor: **Kyuregyan K.K., Professor RAS, 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)

Onishchenko G.G. – RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine)

Popova A.Yu. – Professor, Dr. Sci. (Medicine)

Svitich O.A. – RAS Corr. Member, 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. – RAS Corr. Member, 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. – RAS Corr. Member, Professor, 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 Full 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 Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Moscow, Russia)

Chvala I.A. – PhD (Vladimir, Russia)

Chumakov P.M. – RAS Full 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. – RAS Corr. Member, 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)

Webby R. (PhD; Memphis, USA)

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

СОДЕРЖАНИЕ

РЕДАКЦИОННАЯ КОНЦЕПЦИЯ

Львов Д.К., Акимкин В.Г., Забережный А.Д., Борисевич С.В., Альховский С.В. Таксономия и мегатаксономия вирусов (домен <i>Vira</i>) – текущий статус*	401
---	-----

ОБЗОРЫ

Прохорова П.В., Власова Н.Н., Южаков А.Г., Гулюкин А.М. Современные подходы к конструированию и применению рекомбинантных вирусов*	417
--	-----

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Шеин Д.А., Рыжова Н.Н., Кунда М.С., Ермолова Е.И., Ожаровская Т.А., Попова О., Никитенко Н.А., Краснослободцев К.Г., Бурцева Е.И., Зубкова О.В., Воронина О.Л., Гинцбург А.Л. Генетическая характеристика изолята аденовируса человека 55-го генотипа (<i>Adenoviridae: Mastadenovirus</i>), впервые выделенного в Москве в 2022 г.*	431
--	-----

Чернорыж Я.Ю., Юрлов К.И., Гребенникова Т.В., Андреев С.М., Леснова Е.И., Симонов Р.А., Федорова Н.Е., Куш А.А. Устойчивость и восстановление чувствительности опухолевых клеток, инфицированных цитомегаловирусом человека, к доксорубину при сочетанном применении с дисперсным фуллереном dC_{60} *	444
--	-----

Malanda-Kiminou J.P., Got F.E.B., Malonga G.A. Серопревалентность вирусов гепатитов В и С и факторы риска среди медицинских работников (МР) в специализированных больницах в Браззавиле, Республика Конго*	455
--	-----

Olayiwola J.O., Akagbosu A.O., Samson O.J., Alaba A.E., Aponjolosun B.S., Soyemi S.A. Частота выявления антител класса IgG к вирусу Мрох и осведомленность о заболевании Мрох в Ибадане, юго-западная Нигерия*	463
--	-----

В ПОМОЩЬ ВИРУСОЛОГУ

Контаров Н.А., Погарская И.В., Долгова Е.И., Контарова Е.О., Помазанов В.В., Гафаров Р.Р., Марданлы С.Г., Юминова Н.В. Диагностика инфекционного и гемагглютинирующего титра вируса гриппа А/Маллард Пенсильвания/10218/84 (H5N2) по изменению микровязкости вирусной мембраны после взаимодействия с фосфолипидными модификаторами на примере бесхолестериновых липосом	471
--	-----

Новиков Д.В., Мелентьев Д.А., Талаев В.Ю., Новикова Н.А., Мохонова Е.В., Кашников А.Ю., Заиченко И.Е., Светлова М.В., Куркова Е.В., Бабайкина О.Н., Лапин В.А., Цыганова М.И., Зайцев Д.Е., Новиков В.В. Антитела против VP3 echovirus 30 (<i>Picornaviridae: Enterovirus: Enterovirus betacoxsackie</i>) нейтрализуют вирус <i>in vitro</i>	477
--	-----

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

CONTENTS

EDITORIAL CONCEPT

- Lvov D.K., Akimkin V.G., Zaberezhny A.D., Borisevich S.V., Alkhovsky S.V.**
Virus taxonomy and megataxonomy (Vira domain) – current status* 401

REVIEWS

- Prokhorova P.V., Vlasova N.N., Yuzhakov A.G., Gulyukin A.M.**
Modern approaches to the construction and use of recombinant viruses* 417

ORIGINAL RESEARCHES

- Shein D.A., Ryzhova N.N., Kunda M.S., Ermolova E.I., Ozharovskaia T.A., Popova O., Nikitenko N.A., Krasnoslobodtsev K.G., Burtseva E.I., Zubkova O.V., Voronina O.L., Gintsburg A.L.**
Genetic characteristics of the isolate of human adenovirus type 55 (*Adenoviridae: Mastadenovirus*), isolated in Moscow in 2022* 431

- Chernoryzh Ya.Yu., Yurlov K.I., Grebennikova T.V., Andreev S.M., Lesnova E.I., Simonov R.A., Fedorova N.E., Kushch A.A.**
Resistance and chemosensitivity restoration in human cytomegalovirus-infected tumor cells to doxorubicin through combined treatment with aqueous fullerene dC₆₀* 444

- Malanda-Kiminou J.P., Got F.E.B., Malonga G.A.**
Hepatitis B and C viruses seroprevalence and risk factors among health care workers (HCWs) in referral hospitals in Brazzaville, Republic of Congo* 455

- Olayiwola J.O., Akagbosu A.O., Samson O.J., Alaba A.E., Aponjolosun B.S., Soyemi S.A.**
Seroprevalence of anti-Mpox virus IgG antibody and awareness of Mpox disease in Ibadan, Southwest Nigeria* 463

TO VIROLOGIST'S AID

- Kontarov N.A., Pogarskaya I.V., Dolgova E.I., Kontarova E.O., Pomazanov V.V., Gafarov R.R., Mardanly S.G., Yuminova N.V.**
Method for determining infectious and hemagglutinating titer of influenza A/Mallard Pennsylvania/10218/84 (H5N2) virus by changing the microviscosity of the viral membrane after interaction with phospholipid modifiers using cholesterol free liposomes as an example. 471

- Novikov D.V., Melentev D.A., Talayev V.Yu., Novikova N.A., Mokhonova E.V., Kashnikov A.Yu., Zaichenko I.Ye., Svetlova M.V., Kurkova E.V., Babaykina O.N., Lapin V.A., Tsyganova M.I., Zaitsev D.E., Novikov V.V.**
Antibodies against VP3 protein of echovirus 30 (*Picornaviridae: Enterovirus: Enterovirus betacoxsackie*) neutralize virus *in vitro*. 477

РЕДАКЦИОННАЯ КОНЦЕПЦИЯ

РЕДАКЦИОННАЯ КОНЦЕПЦИЯ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-344>

© ЛЬВОВ Д.К., АКИМКИН В.Г., ЗАБЕРЕЖНЫЙ А.Д., БОРИСЕВИЧ С.В., АЛЬХОВСКИЙ С.В., 2025



Таксономия и мегатаксономия вирусов (домен Vira) – текущий статус

Львов Д.К.^{1,2✉}, Акимкин В.Г.², Забережный А.Д.³, Борисевич С.В.⁴, Альховский С.В.^{2,5}¹Институт вирусологии имени Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, Россия;²ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, 111123, г. Москва, Россия;³ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологический промышленности» Минсельхоза России, 141142, Московская область, г.о. Лосино-Островский, пос. БиокOMBината, Россия;⁴ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Минобороны России, 141306, Московская область, г-к Сергеев Посад-6, Россия;⁵Медико-биологический университет инноваций и непрерывного образования ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России, 123098, г. Москва, Россия

Резюме

Спустя 80 лет с момента открытия первого вируса нашим соотечественником Д.И. Ивановским установлено, что все организмы биосферы Земли являются природными хозяевами вирусов. Вирусы, объединенные в неформальный домен Vira, инфицируют все три домена биосферы: археи – *Archaea*, бактерии – *Bacteria*, эукариот – *Eucarya* (водоросли – *Algae*, грибы – *Fungi*, простейшие – *Protozoa*, растения – *Plantae*, беспозвоночные – *Invertebrata*, позвоночные – *Vertebrata*). Процесс формирования популяционных генофондов вирусов в результате взаимодействия с популяционными генофондами их хозяев происходил в условиях меняющейся среды обитания на протяжении 3,5 млрд лет и обеспечил огромное многообразие виросферы. Накопление данных о виросфере Земли, связанное с внедрением технологий массового параллельного секвенирования (NGS), привело к необходимости реконструкции подходов к классификации вирусов и реформированию, начиная с 2018 г., таксономии вирусов с введением новых высших рангов (мегатаксономия). На сентябрь 2025 г. для представителей виросферы Международным комитетом по таксономии вирусов (ICTV) приняты 15 таксономических рангов, основные из которых: надцарство (Realm) – 7, царство (Kingdom) – 11, тип (Phylum) – 22, класс (Class) – 49, отряд (Order) – 93, семейство (Family) – 368, род (Genus) – 3768, вид (Species) – 16 213. Дальнейший прогресс использования метагеномики, метатранскриптомики и глобальной экологии виросферы неминуемо приведет к дальнейшим изменениям в таксономии и мегатаксономии вирусов. Это будет иметь фундаментальное значение в понимании эволюции биосферы и прикладную значимость для разработки новых подходов обеспечения биологической безопасности и минимизации последствий чрезвычайных эпидемических событий, связанных с проблемой новых и возвращающихся (emerging and reemerging) инфекций.

Ключевые слова: таксономия вирусов; ICTV; глобальная экология вирусов; домен Vira; виросфера; мегатаксономия

Для цитирования: Львов Д.К., Акимкин В.Г., Забережный А.Д., Борисевич С.В., Альховский С.В. Таксономия и мегатаксономия вирусов (домен Vira) – текущий статус. *Вопросы вирусологии*. 2025; 70(5): 401–416. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-344> EDN: <https://elibrary.ru/atvgps>

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.

EDITORIAL

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-344>

Virus taxonomy and megataxonomy (Vira domain) – current status

Dmitry K. Lvov^{1,✉}, Vasily G. Akimkin², Alexey D. Zaberezhniy³, Sergey V. Borisevich⁴, Sergey V. Alkhovsky^{2,5}

¹D.I. Ivanovsky institute of virology of N.F. Gamaleya national research center on epidemiology and microbiology of Ministry of health of Russian Federation, 123098, Moscow, Russia;

²Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor, 111123, Moscow, Russia;

³All-Russian Scientific Research and Technological Institute of Biological Industry, 141142, Moscow Region, Losino-Ostrovsky District, Biocombinat, Russia;

⁴48 Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, 141306, Moscow Region, Sergiev Posad, Russia;

⁵Medical and Biological University of Innovation and Continuing Education of the Federal Medical Biophysical Center named after A.I. Burnazyan FMBA of Russia, 123098, Moscow, Russia

Abstract

For nearly 80 years since the discovery of the first virus by the Russian scientist D.I. Ivanovsky, it has been recognized that all organisms of Earth's biosphere serve as natural hosts for viruses. Viruses, grouped within the informal domain *Vira*, infect all three domains of cellular life: archaea – *Archaea*, bacteria – *Bacteria*, and eukaryotes – *Eucarya* (algae, fungi, protozoa, plants, invertebrates, and vertebrates). The formation of viral population gene pools through interactions with the gene pools of their hosts has taken place under changing environmental conditions over 3.5 billion years, giving rise to the vast diversity of the virosphere. The accumulation of data on the Earth's virosphere, facilitated by the advent of high-throughput sequencing technologies (NGS), has necessitated a reassessment of approaches to virus classification and, since 2018, has led to a reform of viral taxonomy through the introduction of higher taxonomic ranks (megataxonomy). As of September 2025, the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) recognizes 15 taxonomic ranks for viruses, the most significant being: realm – 7, kingdom – 11, phylum – 23, class – 49, order – 93, family – 368, genus – 3769, and species – 16,215. Ongoing advances in metagenomics, metatranscriptomics, and the global ecology of the virosphere will inevitably drive further changes in viral taxonomy and megataxonomy. These developments are of fundamental importance for understanding the evolution of the biosphere and of practical relevance for developing new strategies to strengthen biological security and to mitigate the consequences of epidemic emergencies associated with emerging and reemerging infections.

Keywords: *virus taxonomy; ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses); global virosphere ecology; domain Vira; virosphere; megataxonomy*

For citation: Lvov D.K., Akimkin V.G., Zaberezhniy A.D., Borisevich S.V., Alkhovsky S.V. Virus taxonomy and megataxonomy (Vira domain) – current status. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2025; 70(5): 401–416. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-344> EDN: <https://elibrary.ru/atvgps>

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

Вирусы представляют собой форму внеклеточной жизни и подчиняются всем законам популяционной генетики, эволюции и экологии. Вирусы определяют как мобильные генетические элементы, кодирующие как минимум один структурный белок вириона (капсида), в который на определенном этапе жизненного цикла вируса упакована вирусная геномная РНК или ДНК. В этом отношении вирусы можно охарактеризовать как капсид-кодирующие организмы, в противоположность клеточным организмам. Все вирусы объединены в отдельный неформальный домен *Vira* наряду с тремя другими (клеточными) доменами биосферы: археи – *Archaea*, бактерии – *Bacteria* (прокариоты – *Prokarya*), эукариоты – *Eukarya*.

Единую систему классификации и номенклатуры вирусов разрабатывает и утверждает международный научный орган – Международный комитет по таксономии вирусов (ICTV, *International Committee on Taxonomy of Viruses*), который действует под эгидой Отделения вирусологии Международного союза микробиологических обществ (IUMS). Комитет определяет таксоны (от царства до вида), устанавливает правила именования, рассматривает предложения по изменениям и публикует официальные отчеты и базы данных по вирусной таксономии на своем официальном сайте: <https://ictv.global>

Вид вируса определяют как группу вирусов с единым защищенным генофондом, формирующих монофилетическую группу, которая может быть отделена от других групп (*видов*) на основе принятых параме-

тров, таких как общая эволюционная история (генетическая и фенотипическая схожесть), репликативные свойства, общая экологическая ниша (круг хозяев и переносчиков). Виды обладают единым популяционным генофондом, формирование и эволюция которого происходит в результате взаимодействия с популяционными генофондами хозяина и переносчика в условиях постоянно меняющейся среды обитания [1]. Генетические изменения популяционного генофонда определяют эволюцию вирусов, а в ряде случаев и их хозяев: как прокариот (бактерии, археи), так и эукариот (водоросли, растения, грибы, простейшие, беспозвоночные и позвоночные животные, включая человека).

В последние годы в результате развития технологий массового параллельного секвенирования (next-generation sequencing, NGS) произошел огромный качественный и количественный скачок в области накопления генетических данных и описания новых видов, родов и семейств вирусов. В результате классификация вирусов внутри известных семейств была значительно изменена, а также добавлено множество новых семейств. Введены новые таксономические ранги для объединения семейств в отряды (Order), классы (Class), типы (Phylum), царства (Kingdom) и надцарства (Realm) (табл. 1).

Основы антигенной классификации вирусов

Открытие вирусов эукариот (растений) – 1892 г. [2, 3], животных – 1897 г. [4], человека – 1901 г. [5], прокариот (бактерий – 1917 г. [6, 7], архей – 1974 г. [8, 9])

(рисунки) заняло порядка 80 лет. Тогда с накоплением числа выделенных вирусов остро встал вопрос о стандартизации методов их идентификации и классификации. Доступные в то время методы и подходы были основаны на использовании серологических реакций. На основе принятых критериев (4-кратная разница в титре гомологичной иммунной сыворотки, при котором фиксируется положительный результат) была разработана первая система определения родства между вирусами и объединения их в антигенные группы. Первые антигенные группы были описаны для передаваемых комарами и клещами арбовирусов: группы A, B, C, D, которые легли в основу формирования родов и семейств вирусов: *Alphavirus*, *Flavivirus*, и *Bunyavirus* соответственно [10, 11]. В дальнейшем антигенные группы или входили в состав образованных родов и семейств, или формировали собственные. Тем не менее антигенная группа (или серокомплекс) долгое время оставались базовой таксономической единицей внутриродовой классификации вирусов. Антигенная классификация не утратила своего значения и в настоящее время практически полностью совпадает с классификацией вирусов внутри рода на основе филогенетического анализа.

Основы таксономии вирусов и работа Международного комитета по таксономии вирусов (ICTV)

С развитием молекулярно-генетических методов и электронной микроскопии таксономия вирусов

Таблица 1. Число видов, родов, семейств, отрядов, принятых ICTV к 2005 г.

Table 1. The number of species, genera, families, and orders accepted by ICTV by 2005

Отчет Report	Ссылка Reference	Отчет ICTV о работе Международного конгресса по вирусологии, состоявшегося в: Reporting ICTV Proceedings at the International Congress of Virology held in:	Содержание Content
Первый First	Wildy (1971)	Хельсинки, 1968 Helsinki, 1968	43 семейства и группы 43 families and groups
Второй Second	Fenner (1976)	Будапешт, 1971, и Мадрид 1975 Budapest, 1971, and Madrid, 1975	47 семейств и групп 47 families and groups
Третий Third	Matthews (1979)	Гаага, 1978 The Hague, 1978	50 семейств и групп 50 families and groups
Четвертый Fourth	Matthews (1982)	Страсбург, 1981 Strasbourg, 1981	54 семейства и группы 54 families and groups
Пятый Fifth	Francki et al. (1991)	Сендай, 1984, Эдмонтон, 1987, и Берлин 1990 Sendai, 1984, Edmonton, 1987, and Berlin, 1990	2420 вирусов, принадлежащих к 73 семействам и группам 2420 viruses belonging to 73 families or groups
Шестой Sixth	Murphy et al. (1995)	Глазго, 1993 Glasgow, 1993	1 отряд, 50 семейств, 9 подсемейств, 164 рода и более 3600 видов вирусов 1 order, 50 families, 9 subfamilies, 164 genera and more than 3600 virus species
Седьмой Seventh	van Regenmortel et al. (2000)	Иерусалим, 1996 Jerusalem, 1996	3 отряда, 63 семейства, 9 подсемейств, 240 родов, 1550 видов 3 orders, 63 families, 9 subfamilies, 240 genera, 1550 species
Восьмой Eighth	Fauquet et al. (2005)	Сидней, 1999, и Париж, 2002 Sydney, 1999, and Paris, 2002	3 отряда, 73 семейства, 11 подсемейств, 289 родов и 1898 видов 3 orders, 73 families, 11 subfamilies, 289 genera and 1898 species

					
Дмитрий Иосифович Ивановский (Dmitriy Iosifovich Ivanovsky) 1864–1920 1892 – вирусы растений, plant-based viruses (табачной мозаики, <i>Tobacco mosaic virus</i>)	Фридрих Леффлер (F. Loeffler) 1852–1915 1897 – вирусы животных animal viruses (ящур, Foot-and-mouth disease)	Вальтер Рид (Walter Reed) 1851–1902 1901 – вирусы человека human viruses (желтой лихорад- ки, <i>Yellow fever virus</i>)	Фредерик Творт (Frederik Twort) 1877–1950 1915 – вирусы бактерий bacterial viruses (бактериофаг, bacteriophage)	Феликс д'Эрель (Felix d'Herelles) 1893–1949 1917 – вирусы бактерий bacterial viruses (бактериофаг дизентерийной бациллы, bacterio- phage of dysentery bacillus)	Карл Везе (Carl Woese) 1928–2012 1977 – описание архей как отдельного домена биосферы, descrip- tion of archaea as a separate domain of the biosphere Терье Торсвик (Terje Torsvik): 1974 г. – вирусы архей archaea virus (бактериофаг <i>Halobacterium salinarium</i> Bacteriophage of <i>Halobacterium salinarium</i>)
Эукариоты (<i>Eucarya</i>)			Прокариоты (<i>Procarya</i>)		
Водоросли (<i>Algae</i>) Грибы (<i>Fungi</i>) Простейшие (<i>Protozoa</i>) Растения (<i>Plantae</i>) Беспозвоочные (<i>Invertebrates</i>) Позвоночные (<i>Vertebrates</i>)			Бактерии (<i>Bacteria</i>)		Археи (<i>Archaea</i>)

Рис. Первооткрыватели вирусов (неформальный домен Vira), инфицирующих представителей всех доменов биосферы Земли.

Fig. Virus discoverers (informally the Vira domain), infecting representatives of all domains of Earth's biosphere.

получила возможность помимо антигенных связей опираться и на физико-химические характеристики, такие как морфология вириона, тип нуклеиновой кислоты, наличие или отсутствие липидной оболочки и т.д. Это привело к формированию большого числа «классических» вирусных родов и семейств, которые объединили большинство самых актуальных возбудителей инфекций человека и животных. В этот период возникла необходимость разработки официальных стандартизированных критериев для номенклатуры и классификации вирусов, что в итоге привело к созданию Международного комитета по номенклатуре вирусов (ICNV).

ICNV, который позднее был переименован в International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV), был основан 22 июля 1966 г. в Москве во время 9-го Конгресса Международной ассоциации микробиологических обществ (IUMS) по инициативе Виктора Михайловича Жданова. Временный руководящий комитет, созданный тремя годами ранее, пригласил от каждой страны – члена Национального микробиологического общества представителя-вирусолога. Назначен-

ные представители стали учредительными членами ICTV. Исполнительный комитет (ИК), избранный ими для надзора за деятельностью ICTV, разработал набор правил, которые были одобрены национальными членами на последующем заседании в ходе того же конгресса. Важные решения этих учредительных заседаний заключались в том, что ICTV создаст универсальную систему классификации и номенклатуры вирусов (т.е. одну для всех вирусов независимо от хозяина), что бактериальный кодекс номенклатуры не будет применяться к вирусам и что правило приоритета публикации не будет соблюдаться. Эти принципы установили систему, в которой решения ICTV будут определять как создание, так и наименование таксонов, таким образом отделяя вирусную таксономию от большинства биологической таксономии (ботанической, зоологической и т.д.), поскольку международные коды регулируют только названия, используемые в биологии. На учредительном заседании ICTV также была поставлена задача о движении в направлении внедрении латинизированной биномиальной номенклатуры вирусов.

ИК создал четыре подкомитета на основе классификации по типу хозяина, которого инфицируют вирусы. Члены подкомитетов предложили роды и семейства для известных вирусов насекомых, позвоночных животных, растений и бактерий. Каждый подкомитет, возглавляемый членом ИК, состоял из специалистов, представляющих основную группу вирусов в пределах своей компетенции. Эти специалисты, в свою очередь, возглавляли рабочие группы (Study Group), предлагавшие классификацию и номенклатуру в пределах рассматриваемых семейств. Таксономия, предложенная рабочими группами, обсуждалась соответствующим подкомитетом и ИК и после достижения согласия должна была получить окончательное утверждение от всего состава ICTV. Та же базовая схема сохраняется и по сей день – большинство таксонов и наименований таксонов возникают в предложениях, сделанных специализированными рабочими группами, чья работа координируется и контролируется ИК. Основная работа по выработке таксономических критериев, формирование новых видов и родов, предложения по наименованиям видов (биномиальным, нелатинизированным) и т.д. проводится в соответствующих рабочих группах. Причем эти критерии вырабатываются для каждого отдельного семейства независимо. Рабочие группы принимают решения путем голосования, при этом предложить изменения или дополнения в текущий статус могут не только члены рабочей группы, но и любой вирусолог-специалист (или коллектив специалистов).

Начиная с первого отчета работы ICTV, основными таксономическими рангами, с которыми работали рабочие группы, были род и семейство. Первый отчет по работе ICTV вышел в 1971 г. и включал в себя описание всего 290 вирусов, объединенных в 19 родов, два семейства (*Papovaviridae* и *Picornaviridae*) и 24 группы, которые еще не были таксономически формализованы (табл. 1). Для каждой группы был выбран «типичный представитель» – часто возбудитель инфекции человека, по названию которого группа, род или семейство получали соответствующее название. Также был приведен список вирусов, входящих в группу, с использованием устоявшегося наименования вируса. Необходимо отметить, что речь идет именно о вирусах и их авторских или исторических названиях, поскольку концепция *вида* вируса постепенно вводилась позднее. Для каждой группы также приводился список вирусов, которые, возможно, также являются членами данной группы и в будущем будут включены в нее.

Концепция вида вирусов. Введение понятия *вида* вируса происходило постепенно, с последующей эволюцией, и формально было принято ICTV в 1991 г. [12, 13]. В последующих отчетах рабочие группы начали классифицировать разные вирусы по видам, однако само понятие вида вируса претерпевало изменения. В отчете 1991 г. вид вируса определялся как «политетическая группа вирусов, составляющая реплицирующуюся линию и занимающая определенную экологическую нишу» [12]. К 2013 г. это понятие

было изменено на следующее определение: «Вид является низшим уровнем таксономической иерархии, утвержденным ICTV. Вид представляет собой монофилетическую группу вирусов, свойства которых могут быть дифференцированы от тех, что принадлежат другим видам, с использованием множества критериев». Или, в более современном варианте, вид – это «монофилетическая группа вирусов, которая может быть отделена от других групп (*видов*) на основе принятых критериев». Для наименования видов введены биномиальные нелатинизированные наименования, где первое слово соответствует наименованию рода, а второе является специализированным, часто сформированным на основе латинизированной транслитерации исторического наименования типового вируса или вызываемой нозологии.

В настоящее время основным критерием детерминация *видов, родов и семейств* является генетическая дистанция между вирусами или группами вирусов, определяемая при попарном сравнении геномных последовательностей. Значения генетической дистанции, которые позволяют дифференцировать вирусы внутри семейств на иерархическом уровне, определяются соответствующими рабочими группами, как правило, с применением специализированных биоинформационных подходов (например DEmARC [14, 15]). Используются нуклеотидные и аминокислотные последовательности консервативных вирусных белков (например белка полимеразы RdRp или нуклеокапсида) где критерием дифференциации может быть установленный порог 90–93% идентичности аминокислотной последовательности. Официально принятые ICTV характеристики родов, семейств, отрядов и более высоких таксономических рангов периодически публикуются в разделе «ICTV Taxonomy Profiles» журнала *Journal of General Virology* (<https://www.microbiologyresearch.org/content/ictv-virus-taxonomy-profiles>)

Таксономические ранги выше семейства. Как указывалось выше, основными таксономическими единицами, которыми вначале оперировал ICTV, являлись роды и семейства, с постепенным внедрением самого низкого ранга – вида. Но также проводились попытки объединять семейства в более высокие таксономические ранги – отряды (Orders), на основе общих характерных свойств в стратегии генома, морфологии вириона и наличия филогенетических связей по самым консервативным белкам и мотивам. К 8-му отчету ICTV (2005 г.) были выделены три отряда, объединяющие хвостатые фаги (*Caudovirales*), вирусы с одноклеточным крупным (+)РНК-геномом (*Nidovirales*), вирусы с одноклеточным крупным (–)РНК-геномом (*Mononegavirales*). Вследствие полифилетического происхождения и высокой степени генетической дивергенции установить эволюционные связи на более высоком уровне считалось невозможным. В этой связи особое значение имела классификация Балтимора, предложенная в 1971 г. как попытка объединить вирусы в более крупные группы на основе типа их генома и стратегии репликации. В классификации

Балтимора вирусы были разделены на 7 групп (I–VII) в зависимости от типа их генома (ДНК или РНК, одноцепочечная или двухцепочечная, положительной или отрицательной полярности, наличие обратной транскриптазы и т.д.). Однако важно подчеркнуть, что данная система не отражает эволюционные связи внутри или между группами вирусов. Вирусы, относящиеся к одной группе, могут быть эволюционно не связанными, но использовать сходные механизмы репликации. Таким образом, данная классификация принципиально отличается от таксономии, разрабатываемой ICTV, которая направлена на отображение эволюционных линий разных групп вирусов [16].

Особенности современной таксономии и мегатаксономии вирусов

В начале второго десятилетия XXI в. с развитием технологии NGS стал накапливаться массив генетических данных, демонстрирующих огромное разнообразие и ubicuitарное распространение вирусов в биосфере. Углубленный анализ эволюционных связей между разными группами вирусов и их коэволюции с клеточной формой жизни изменил оценки значения вирусного мира в становлении и эволюции жизни на Земле [17, 18]. Эти данные потребовали пересмотра ранее принятых критериев таксономии вирусов, опирающихся в том числе на фенотип и экологию вирусов. В этой связи в 2016 г. ICTV утвердил возможность включения в официальную таксономию вирусов, известных исключительно по данным их геномных последовательностей. Согласно этому положению, формирование новых видов и других таксономических единиц может производиться без предварительного определения фенотипических характеристик вируса (спектра хозяев, патогенности), без его выделения в культуре клеток или модельных животных, а также без морфологической визуализации вирионов [19, 20]. В последующем были разработаны и опубликованы принципы, определяющие минимальные стандарты для данных о вирусных геномах. Эти стандарты предусматривают, что вирусы, включаемые в таксономию ICTV, должны быть представлены полными или кодирующими полными геномными последовательностями, которые точно собраны и лишены артефактов (ошибок) секвенирования [21–23]. Принятие такого подхода способствовало значительному расширению официальной таксономии за счет включения большого числа новых таксонов, главным образом на основе данных, полученных в результате масштабных метагеномных исследований [24]. Вместе с тем продолжается дискуссия о целесообразности применения различных критериев для таксономической классификации отдельных групп вирусов. В частности, для вирусов, инфицирующих животных и растения, традиционно сохраняется акцент на биологических свойствах, тогда как для вирусов прокариот в большинстве случаев используются генетические характеристики на уровнях от вида до отряда.

С другой стороны, возможности структурного анализа вирусных белков – сигнатур (Hallmark genes),

таких как тип РНК/ДНК-полимеразы или тип укладки белка нуклеокапсида в вирионе, и даже выявление определенных паттернов в их составе позволили объединить в «супергруппы» вирусы, эволюционная связь между которыми не может быть прослежена путем анализа на основе сравнения генов и геномов [25–27]. Одним из таких характерных для вирусов структурных мотивов является особая укладка в капсидных белках, образованная восьмью антипараллельными β-цепями, организованными в два β-листа, которые плотно упакованы друг к другу. По своему виду с определенного ракурса данная укладка напоминает рулет с джемом (или с желе), вследствие чего данный тип укладки аминокислотной цепи получил широко используемое в настоящее время название «single jelly-roll» (SJR) [28]. Такая архитектура придает капсиду устойчивость и встречается у многих ДНК-вирусов. В вирусных капсидах часто встречается структура, состоящая из двух последовательно соединенных SJR-доменов, в этом случае ее обозначают как двойная «jelly-roll» укладка (double jelly-roll, DJR), которая также служит важным таксономическим признаком.

К 2017 г. на основе большого массива таких работ были сформированы более высокие таксономические ранги (мегатаксономия): *Класс, Тун, Царство, Надцарство* (с промежуточными рангами). В 2018 и 2019 гг. эти изменения были приняты ICTV [29]. Таким образом, в настоящее время классификация вирусов внутри неформального домена *Vira* включает 15 официально признанных ICTV таксономических рангов от вида до надцарства (Realm) (табл. 2 и 3).

Надцарство *Riboviria* объединяет практически все известные РНК-содержащие вирусы, геном которых может быть представлен разными формами РНК: сегментированной или несегментированной одноцепочечной РНК положительной (ss(+)RNA) или отрицательной (ss(–)RNA) полярности, двухцепочечной РНК. К этому надцарству также отнесены вирусы со стадией обратной транскрипции в цикле репликации с РНК- или ДНК-геномом. Все вирусы этой группы кодируют РНК-зависимую РНК-полимеразу (RdRp) или обратную транскриптазу [30].

К надцарству *Monodnaviria* отнесены одноцепочечные ДНК-вирусы (ssDNA), а также мелкие двухцепочечные ДНК-вирусы (dsDNA) с кольцевой формой генома длиной, как правило, 2–10 тыс. пар нуклеотидов. Характерной особенностью представителей надцарства является наличие вирусного гена-сигнатуры, кодирующего эндонуклеазу (HUN), которая запускает репликацию генома по механизму «катящегося кольца» («rolling-circle»). В зависимости от типа вириона (икосаэдрической, филаментозной или плеоморфной формы) и круга хозяев (археи, бактерии, эукариоты) мононавирусы разделены на 4 царства.

Надцарство *Varidnaviria* представлено разнообразными dsDNA вирусами, для которых характерна икосаэдрическая морфология капсида и двойная вертикальная «double jelly-roll» (DJR) укладка в главном капсидном белке (MCP). Вирусы данного надцарства инфицируют представителей всех доменов биосферы [31].

Таблица 2. Иерархия домена Vira (таксономические ранги, принятый ICTV¹ для классификации вирусов)**Table 2.** Vira Domain Hierarchy (taxonomic ranks accepted by the ICTV for virus classification)

Таксономический ранг Taxonomy ranks	Суффикс Suffix	Основные критерии и характеристики Main criteria and characteristics	Количество (на июль 2025 г.) Number (July 2025)
Realm (Надцарство)	-viria	Высший таксономический ранг, объединяющий вирусы на основе фундаментальных биологических характеристик, таких как тип нуклеиновой кислоты, тип репликации генома, наличие определенных вирусных генов-сигнатур The highest taxonomic rank that unites viruses based on fundamental biological characteristics such as nucleic acid type, genome replication type, and the presence of certain signature viral genes	7
Kingdom (Царство)	-virae	Мегатаксон, объединяющий <i>Типы</i> на основе общих вирусных генов-сигнатур или их отдельных мотивов на структурном уровне A megataxon that unites <i>Phyla</i> based on shared viral signature genes or their individual motifs at the structural level	11
Phylum (<i>Tun</i>)	-viricota	Мегатаксон, объединяющий <i>Классы</i> на основе общей эволюционной истории, проявляющейся через тип генома и наличие/схожести вирусных генов-сигнатур (viral hallmark genes, VHGs), часто на структурном уровне, таких как РНК-, ДНК-полимеразы, белки капсида и способ их сборки A megataxon, uniting <i>Classes</i> based on a shared evolutionary history manifested thru genome type and the presence/similarity of viral hallmark genes (VHGs), often at a structural level, such as RNA and DNA polymerases, capsid proteins, and their assembly method	22
Class (<i>Класс</i>)	-viricetes	Объединяет отряды в крупные эволюционные ветви на основе общих высококонсервативных характеристик (репликативный модуль, стратегия генома, характерные структуры капсида). Является промежуточным рангом между «классической» таксономией вирусов и «мегатаксономией» Unites <i>Orders</i> into major evolutionary branches based on shared highly conserved characteristics (replicative module, genome strategy, characteristic capsid structures). It is an intermediate rank between classical virus taxonomy and megataxonomy	49
Order (<i>Отряд</i>)	-virales	Объединяет <i>Семейства</i> на основе общих структурных признаков: схожая форма вириона, сопоставимые размеры и организация генома, схожесть стратегии репликации и экспрессии генома (субгеномные РНК, способ созревания полипротеина, и т.д.). Филогенетическая схожесть по консервативным доменам ключевых белков репликативного комплекса (РНК-, ДНК-полимеразы, репликативные факторы) Groups <i>Families</i> based on common structural features: similar virion shape, comparable size and genome organization, and similarities in replication and genome expression strategy (subgenomic RNAs, polyprotein maturation method, etc.). Phylogenetic similarity in the conserved domains of key proteins of the replication complex (RNA and DNA polymerases, replication factors)	93
Family (Семейство)	-viridae	Объединяет <i>Роды</i> вирусов со схожей организацией генома (тип, размер, структура) и морфологией вириона. Внутри семейства роды обладают филогенетической близостью при сравнении аминокислотных последовательностей консервативных вирусных белков It unites viral <i>Genera</i> with similar genome organization (type, size, structure) and virion morphology. Within the family, genera exhibit phylogenetic proximity when comparing the amino acid sequences of conserved viral proteins	368
Genus (<i>Род</i>)	-virus	Монофилетическая группа видов, объединенных на основе общей эволюционной истории и выраженной генетической и филогенетической близости A monophyletic group of species united based on a shared evolutionary history and expressed by genetic and phylogenetic proximity	3769
Species (<i>Вид</i>)	—	Монофилетическая группа вирусов, отделенная от других групп вирусов внутри рода на основе генетических, биологических, экологических критериев A monophyletic group of viruses, separated from other groups of viruses within the genus based on genetic, biological, and ecological criteria	16215

¹International Committee on Taxonomy of Viruses

Надцарство *Duplodnaviria* объединяет dsDNA вирусы, которые кодируют 4 вирусных гена-сигнатуры: главный белок капсида с НК97-подобной укладкой, белок портала, протеазу, необходимую для созревания капсида, и АТФазу-нуклеазу, необходимую для упаковки ДНК в капсид. К этому надцарству принадлежат хвостатые двухцепочечные ДНК-вирусы бактерий и архей (*Caudoviricetes*), которые

рассматриваются как одни из наиболее многочисленных вирусов на Земле, а также вирусы разнообразных одноклеточных эукариот и вирусы герпеса животных [32].

Надцарство *Adnaviria* объединяет вирусы с dsDNA геномом, который упакован в капсид в виде А-формы ДНК (правозакрученная). Аднавирусы найдены только у термофильных архей. Другой особенностью над-

Таблица 3. Надцарства домена Vira

Table 3. Realms of domain Vira

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Надцарство Realm	Тип генома, стратегии репликации Genome type, Replication strategies	Число членов Number of members					Ареал в Биосфере Areal in Biosphere								
		Царство Kingdom	Тип Phylum	Класс Class	Отряд Order	Семейство Family	Архей Archaea	Бактерии Bacteria	Водоросли Algae	Грибы Fungi	Растения Plantae	Простейшие Protozoa	Беспозвоночные Invertebrate	Позвоночные Vertebrate	Человек Human
							Прокариоты (Procarya)		Эукариоты (Eucarya)						
Adnaviria	dsDNA, линейная ДНК в виде А-формы, главный белок капсида (MCP) имеет структуру (укладку) типа SIRV2 dsDNA, linear A-form DNA, the main capsid protein (MCP) has a SIRV2-type structure (fold)	1	1	1	3	6	+	–	–	–	–	–	–	–	–
Singelaviria	dsDNA, главный (MCP) и минорный (mCP) капсидные протеины имеют укладку по типу single jelly-roll (SJР) dsDNA, the major (MCP) and minor (mCP) capsid proteins have a single jelly-roll (SJР) fold	1	1	1	1	3	+	–	–	–	–	–	–	–	–
Duplodnaviria	dsDNA, линейная ДНК, главный белок капсида (MCP) имеет структуру (укладку) HK97-подобного типа dsDNA, linear DNA, the main capsid protein (MCP) has an HK97-like structure (fold)	1	2	2	12	108	+	+	–	+	–	–	+	+	+
Monodnaviria	ssDNA и dsDNA, кольцевая форма; репликация проходит по типу катящегося кольца (rolling-circle). ssDNA and dsDNA, circular form; replication occurs via a rolling circle mechanism.	4	7	10	22	35	+	+	+	+	+	–	+	+	+
Varidnaviria	dsDNA, линейная форма, белки капсида имеют структуру (укладку) по типу вертикального double jelly-roll (DJR) dsDNA, linear form, capsid proteins have a vertical double jelly-roll (DJR) structure (fold)	2	3	10	18	35	+	+	+	–	+	+	–	+	+
Riboviria	РНК-геном, включая ss(+)RNA, ss(–) RNA, dsRNA, сегментированные и несегментированные формы; также включает ретровирусы и мобильные геномные ретроэлементы RNA genome, including ss(+)RNA, ss(–)RNA, dsRNA, segmented and non-segmented forms; also includes retroviruses and mobile genomic retro-elements	2	8	24	36	150	–	+	+	+	+	+	+	+	+
Ribozyviria	ssRNA в циркулярной форме, при репликации используется самосплайсинг с использованием рибозима ssRNA in a circular form, self-splicing using a ribozyme is used during replication	–	–	–	–	1	–	–	–	–	–	–	–	+	+
	Неклассифицированные классы и семейства Unclassified classes and families				1	1	30								

царства является уникальная α -спиральная структура (укладка) главного белка капсида [33].

Надцарство *Ribozyviria* включает единственное семейство – *Kolmioviridae*. К этому семейству принадлежат вирусы гепатита D человека (1–8 генотипы, род *Deltavirus*) и родственные ему вирусы, инфицирующие позвоночных и беспозвоночных животных. Эти вирусы являются виридоподобными кольцевыми РНК-репликационными, кодирующими нуклеокапсидный белок (δ -антиген). Подобно вириодам, рибозивирисы используют клеточные транскрипционные механизмы для репликации генома и зависят от других вирусов для формирования инфекционных оболочечных частиц (например, от вируса гепатита В) [34, 35].

Надцарство *Singelaviria* объединяет вирусы архей и бактерий с ДНК-геномом (dsDNA) в линейной или кольцевой форме. Вирусы, входящие в надцарство, кодируют два главных белка капсида (MCP и mCP), оба из которых характеризуются «jelly-roll» укладкой (SJR), а также АТФазу, необходимую для упаковки ДНК в нуклеокапсид.

Таксономия вирусов, инфицирующих человека и позвоночных животных

Вирусы, инфицирующие человека и позвоночных животных, входят в состав не менее 45 семейств и 25 отрядов и представлены всеми типами РНК- и ДНК-геномов (табл. 4). Большая часть вирусов человека и позвоночных животных являются РНК-содержащими вирусами (*Riboviria*) (31 семейство, 15 отрядов). Изменения в таксономии вирусов человека и позвоночных животных в последние годы были в основном связаны с реорганизацией «классических» семейств путем повышения их ранга до отрядов и классов с соответствующим пересмотром статуса и расширением числа входящих в них родов и видов.

Вирусы с ss(–)RNA-геномом объединены в тип *Negarnaviricota* (*Riboviria*: *Orthornavirae*). Внутри *Negarnaviricota* сформированы 4 класса на основе типа геномной РНК. Вирусы с одноцепочечным не-сегментированным РНК-геномом отнесены к классу *Monjiviricetes*, к которому принадлежит отряд *Mononegavirales*, включающий важные семейства патогенных вирусов (*Paramyxoviridae*, *Pneumoviridae*, *Filoviridae*, *Rhabdoviridae* и др.). Вирусы с сегментированным ss(–)RNA-геномом (2–3 сегмента) отнесены к классу *Bunyaviricetes*, включающий отряды *Elliovirales* и *Hareavirales*. В отряд *Elliovirales* вошли в качестве самостоятельных семейств хантавирусы (*Hantaviridae*) и ортобуньявирусы (*Peribunyaviridae*). В отряд *Hareavirales* вошли аренавирусы (*Arenaviridae*), флебовирусы (*Phenuiviridae*) и наировирусы (*Nairoviridae*). Таким образом, современное таксономическое положение таких важных патогенов, как возбудители геморрагической лихорадки с почечным синдромом (вирус Хантаан) и Крымской-Конго геморрагической лихорадки, следующее: *Bunyaviricetes*: *Elliovirales*: *Hantaviridae*: *Mammantavirinae*: *Orthohantavirus*: *Orthohantavirus hantaanense* и *Bunyaviricetes*: *Hareavirales*: *Nairoviridae*: *Orthonairovirus*

haemorrhagiae, соответственно. Вирусы с сегментированным ss(–)RNA-геномом (6–10 сегментов) отнесены к классу *Insthoviricetes*, включая семейство *Orthomyxoviridae* (отряд *Articulavirales*), к которому принадлежат вирусы гриппа А (*Alphainfluenzavirus influenzae*) и В [36–38].

Вирусы с ss(+)RNA-геномом отнесены к двум типам – *Kirtinoviricota* и *Pisuviricota*. *Kirtinoviricota* включает важные семейства патогенных вирусов *Flaviviridae* (класс *Flasuviricetes*, отряд *Amarillovirales*) и *Togaviridae* (класс *Alsuviricetes*, отряд *Martellivirales*). Таким образом, таксономическое положение важного патогена – вируса гепатита С – следующее: *Flasuviricetes*: *Amarillovirales*: *Flaviviridae*: *Hepacivirus*: *Hepacivirus hominis*. На основе семейства *Hepeviridae* организован отряд *Hepelivirales* (*Kirtinoviricota*: *Alsuviricetes*), в который также вошло семейство *Matonaviridae*, к которому принадлежит вирус краснухи (*Alsuviricetes*: *Hepelivirales*: *Matonaviridae*: *Rubivirus*: *Rubivirus rubellae*).

Вирусы с сегментированным dsRNA-геномом отнесены к типу *Duplornaviricota*, классу *Resentoviricetes*, отряду *Reovirales*, которые был сформирован на основе семейства *Reoviridae* с повышением ранга входящих в него подсемейств до семейств *Sedoreoviridae* и *Spinareoviridae* и реорганизацией числа и структуры входящих в них родов и видов. Семейство *Sedoreoviridae* включает возбудителей кишечных инфекций – ротавирусы (*Reovirales*: *Sedoreoviridae*: *Rotavirus*) и род орбивирусов (*Reovirales*: *Sedoreoviridae*: *Orbivirus*) – арбовирусов, в который входят возбудители заболеваний животных (вирус болезни синего языка (*Orbivirus caerulilinguae*) и эпизоотической геморрагической болезни (*Orbivirus ruminantium*) и человека (вирусы группы лихорадки Кемерово *Orbivirus magninsulae*).

Несколько приведенных выше примеров демонстрируют принципы, по которым, начиная с 2018 г., таксономия вирусов была расширена и дополнена как введением биномиальных наименований видов, так и формированием более высоких таксономических рангов. Информация по принятым и ратифицированным ICTV изменениям в таксономии различных групп периодически публикуются в разделе «ICTV Virus Taxonomy Summaries» в журнале *Journal of General Virology* (<https://www.microbiologyresearch.org/content/ictv-virus-taxonomy-summaries>).

Заключение

Последние достижения в области метагеномики и метатранскриптомики существенно расширили знания о разнообразии вирусов и их роли в эволюции жизни. Можно с уверенностью утверждать, что вирусы являются наиболее многочисленными и разнообразными представителями жизни на Земле. Общее число вирусных частиц, существующих на Земле в любое время, оценивается в $\sim 10^{30}$ – 10^{31} [39, 40]. Таксономия вирусов динамично развивается более 50 лет и сегодня представляет собой реконструкцию эволюции основных групп вирусов от видов и родов до эво-

Таблица 4. Мегатаксономия патогенных для позвоночных вирусов и их ареал среди домена Эукариотов
Table 4. Megataxonomy of pathogenic for vertebrates viruses and their areal among domen Eucarya

Вирусы (Viruses)						Ареал в биосфере (Эукариоты) Areal in Biosphere (Eucarya)															
Надцарство (Realm)	Царство (Kingdom)	Тип (Phylum)	Класс (Class)	Отряд (Order)	Семейство (Family)	Тип генома (Type of genome)	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19			
Adnaviria	Zilligvirae	Taleaviricota	Tokiviricetes	Ligamenvirales	6 семейств вирусов архей 6 families of archaeal viruses																
				Maximovirales																	
				Primavirales																	
Singelaviria	Helvetiavirae	Dividoviricota	Laserviricetes	Halopanivirales	3 семейства вирусов архей 3 families of archaeal viruses																
Duplodnaviria	Heunggongvirae	Peploviricota	Herviviricetes	Herpesvirales	Alloherpesviridae	dsDNA						x			x						
					Malacoherpesviridae																
					Orthoherpesviridae																
Monodnaviria	Shotokuvirae	Commensaviricota	Cardeaviricetes	Sanitavirales	Anelloviridae	ssDNA							x			x	x	x			
			Cossaviricota	Papovaviricetes	Sepolyvirales		Polyomaviridae														
				Quintoviricetes	Zurhausenvirales		Papillomaviridae														
		Cressnaviricota	Arfviricetes	Piccovirales	Parvoviridae																
					Circoviridae																
					Cycloviridae																
					Endolinaviridae																
					Vilyaviridae				x												
					Redondoviridae																
Varidnaviria	Bamfordvirae	Nucleocyotoviricota	Pokkesviricetes	Asfarvirales	Asfarviridae	dsDNA															
				Chitovirales	Poxviridae																
				Megaviricetes	Pimascovirales		Iridoviridae														
Riboviria	Orthornavirae	Preplasmiviricota	Pharingeaviricetes	Rowavirales	Adenoviridae	dsRNA сегм. (segmented)						x	x	x	x	x	x	x			
				Resentoviricetes	Sedoreoviridae																
				Duplomaviricota	Reovirales		Spinareoviridae														
			Vidaverviricetes	Mindivirales	Cystoviridae (bacteriophages)		x			x		x		x	x	x	x				

Вирусы (Viruses)					Ареал в биосфере (Эукариоты) Areal in Biosphere (Eucarya)																	
Надцарство (Realm)	Царство (Kingdom)	Тип (Phylum)	Класс (Class)	Отряд (Order)	Семейство (Family)	Тип генома (Type of genome)	Грибы (Fungi)	Простейшие (Protozoa)	Водоросли (Algae)	Растения (Plant)	Членистоногие (Arthropoda)	Мягкотелые (molluscs)	Пресмыкающиеся (Reptilia)	Земноводные (Amphibia)	Рыбы (Ichta)	Птицы (Aves)	Млекопитающие (Mammalia)	Человек (Human)				
		Kitrinoviricota	Alsuviricetes	Hepelivirales	Alphatetraviridae	ss(+)/RNA					x											
					Benyviridae					x												
					Heperviridae											x	x	x	x			
					Matonaviridae											x		x	x			
					Mycodaphnaviridae		x															
					Bromoviridae					x												
				Martellivirales	Closteroviridae									x								
					Endornaviridae									x								
					Kitaviridae									x	x							
					Mayoviridae									x								
					Togaviridae									x	x				x	x	x	x
					Virgaviridae									x								
					Flaviviridae										x				x	x	x	x
		Negarnaviricota	Monjiviricetes	Amarillovirales Mononegavirales	Artoviridae							x	x									
					Bornaviridae											x		x	x	x	x	
					Filoviridae												x		x		x	x
					Lispiviridae										x							
					Mymonaviridae																	
					Nyamiviridae										x	x						
					Paramyxoviridae																	
					Pneumoviridae																	
					Rhabdoviridae																	
					Surviridae																	
					Ximoviridae																	

Продолжение таблицы см. на стр. 412.

Вирусы (Viruses)						Ареал в биосфере (Эукариоты) Areal in Biosphere (Eucarya)															
Надцарство (Realm)	Царство (Kingdom)	Тип (Phylum)	Класс (Class)	Отряд (Order)	Семейство (Family)	Тип генома (Type of genome)	Грибы (Fungi)	Простейшие (Protozoa)	Водоросли (Algae)	Растения (Plant)	Членистоногие (Arthropoda)	Мягкотелые (molluscs)	Пресмыкающиеся (Reptilia)	Земноводные (Amphibia)	Рыбы (Ichtha)	Птицы (Aves)	Млекопитающие (Mammalia)	Человек (Human)			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19			
			Bunyaviricetes	Elliovirales	Culiviridae	ss(-)RNA сегм. (segmented)					x										
					Fimoviridae					x	x										
					Hantaviridae								x		x		x				
					Peribunyaviridae						x				x	x	x				
					Phasmaviridae																
					Tospoviridae					x	x										
					Tulasviridae		x														
					Arenaviridae						x		x		x		x				
					Discoviridae		x														
					Konkoviridae						x										
				Leishbuviridae						x											
				Mypoviridae											x						
				Nairoviridae											x						
				Phenuiviridae										x	x						
				Tosoviridae							x										
				Wupedeviridae																	
			Annooviridae																		
			Orthomyxoviridae											x							
	Pisuviricota		Duploviricetes	Durnavirales	Amalgaviridae	dsRNA сегм. (segmented)					x										
					Curvulaviridae		x														
					Fusariviridae		x														
					Hypoviridae		x														
					Partitiviridae		x	x		x											
					Picobimaviridae		x														
					Soropartitiviridae																
					Pisoniviricetes		Nidovirales	Abyssoviridae (плоские черви, планарии) (flatworms, planarians)	x												
			Arteriviridae																		x
			Cremegaviridae															x			
			Gresnaviridae															x			
			Olfioviridae																		
			Coronaviridae																		

люционных группы самых высоких рангов. Очевидно фундаментальное значение таксономии вирусов как в теоретическом, так и в прикладном качестве на фоне убиквитарного распространения вирусов на земле среди всех представителей трех доменов (*Archaea*, *Bacteria*, *Eucarya*) биосферы. Все организмы на Земле являются хозяевами разнообразных вирусов. Дальнейший прогресс в изучении виросферы будет достигаться с использованием подходов мегатаксономии и глобальной экологии вирусов

К настоящему времени домен *Vira* включает 7 надцарств (realm) вирусов, которые сформированы на основе фундаментальных биологических свойств вирусов, таких как тип репликация генома и тип белков, формирующих вирусный капсид. И если основные критерии формирования видов, родов, семейств и отрядов можно рассматривать как окончательно сформированные, продолжающиеся исследования показывают, что структура мегатаксономических рангов может быть пересмотрена [41].

ЛИТЕРАТУРА

1. Львов Д.К., Гулюкин М.И., Забережный А.Д., Гулюкин А.М. Формирование популяционного генофонда потенциально угрожающих биобезопасности зоонозных вирусов. *Вопросы вирусологии*. 2020; 65(5): 243–58. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-5-1> <https://elibrary.ru/kprmam>
2. Iwanowski D. Über die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze. *Bulletin Scientifique Publié Par l'Académie Impériale Des Sciences de Saint-Petersbourg*. 1892; 35: 67–70.
3. Ивановский Д.И. Мозаичная болезнь табака. *Труды Варшавского Университета*. 1892; 6: 49–72.
4. Loeffler F., Frosch P. Summarischer Bericht über die Ergebnisse der Untersuchungen der Commission zur Erforschung der Maul- und Klauenseuche. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 1897; 23(39): 617. <https://doi.org/10.1055/S-0029-1205172>
5. Reed W. Recent researches concerning the etiology, propagation, and prevention of yellow fever, by the United States Army Commission. *J. Hyg. (Lond.)*. 1902; 2(2): 101–19. <https://doi.org/10.1017/s0022172400001856>
6. d'Hérèlles F. An invisible microbe that is antagonistic to the dysentery bacillus. *Comptes Rendus*. 1917; 165: 373–5. (in French)
7. Twort F.W. An investigation on the nature of ultra-microscopic viruses. *Lancet*. 1915; 186(4814): 1241–3. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)20383-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)20383-3)
8. Torsvik T., Dundas I.D. Bacteriophage of *Halobacterium salinarum*. *Nature*. 1974; 248: 680–1. <https://doi.org/10.1038/248680A0>
9. Woese C.R., Fox G.E. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1977; 74(11): 5088–90. <https://doi.org/10.1073/PNAS.74.11.5088>
10. Casals J., Whitman L. Group C, a new serological group of hitherto undescribed arthropod-borne viruses. *Immunological studies. Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1961; 10: 250–8. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1961.10.250>
11. Casals J. New developments in the classification of arthropod-borne animal viruses. *Ann. Microbiol.* 1963; 11: 13.
12. Van Regenmortel M.H.V. Applying the species concept to plant viruses. *Arch. Virol.* 1989; 104(1-2): 1–17. <https://doi.org/10.1007/BF01313804>
13. Pringle C.R. The 20th meeting of the executive committee of the international committee on virus taxonomy. *Arch. Virol.* 1991; 119: 303–4. <https://doi.org/10.1007/BF01310680>
14. Lauber C., Gorbalenya A.E. Toward genetics-based virus taxonomy: comparative analysis of a genetics-based classification and the taxonomy of picornaviruses. *J. Virol.* 2012; 86(7): 3905–15. <https://doi.org/10.1128/jvi.07174-11>
15. Lauber C., Gorbalenya A.E. Partitioning the genetic diversity of a virus family: approach and evaluation through a case study of picornaviruses. *J. Virol.* 2012; 86(7): 3890–904. <https://doi.org/10.1128/JVI.07173-11>
16. Koonin E.V., Krupovic M., Agol V.I. The Baltimore classification of viruses 50 years later: how does it stand in the light of virus evolution? *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2021; 85(3): e0005321. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00053-21>
17. Koonin E.V., Dolja V.V. Virus world as an evolutionary network of viruses and capsidless selfish elements. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2014; 78(2): 278–303. <https://doi.org/10.1128/mmbr.00049-13>
18. Koonin E.V., Dolja V.V., Krupovic M. Origins and evolution of viruses of eukaryotes: The ultimate modularity. *Virology*. 2015; 479–480: 2–25. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.02.039>
19. Simmonds P., Adams M.J., Benk M., Breitbart M., Brister J.R., Carstens E.B., et al. Consensus statement: Virus taxonomy in the age of metagenomics. *Nat. Rev. Microbiol.* 2017; 15(3): 161–8. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.177>
20. Simmonds P., Adriaenssens E.M., Murilo Zerbini F., Abrescia N.G.A., Aiewsakun P., Alfenas-Zerbini P., et al. Four principles to establish a universal virus taxonomy. *PLoS Biol.* 2023; 21(2): e3001922. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001922>
21. Roux S., Adriaenssens E.M., Dutilh B.E., Koonin E.V., Kropinski A.M., Krupovic M., et al. Minimum Information about an Uncultivated Virus Genome (MIUViG). *Nat. Biotechnol.* 2018; 37(1): 29–37. <https://doi.org/10.1038/nbt.4306>
22. Dutilh B.E., Varsani A., Tong Y., Simmonds P., Sabanadzovic S., Rubino L., et al. Perspective on taxonomic classification of uncultivated viruses. *Curr. Opin. Virol.* 2021; 51: 207–15. <https://doi.org/10.1016/J.COVIRO.2021.10.011>
23. Mayne R., Simmonds P., Smith D.B., Adriaenssens E.M., Lefkowitz E.J., Oksanen H.M., et al. Virus taxonomy proposal summaries: a searchable and citable resource to disseminate virus taxonomy advances. *J. Gen. Virol.* 2025; 106(7): 002079. <https://doi.org/10.1099/JGV.0.002079>
24. 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>
25. Gorbalenya A.E., Pringle F.M., Zeddam J.L., Luke B.T., Cameron C.E., Kalkmakoff J., et al. The palm subdomain-based active site is internally permuted in viral RNA-dependent RNA polymerases of an ancient lineage. *J. Mol. Biol.* 2002; 324(1): 47–62. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(02\)01033-1](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(02)01033-1)
26. Iyer L.M., Aravind L., Koonin E.V. Common origin of four diverse families of large eukaryotic DNA viruses. *J. Virol.* 2001; 75(23): 11720–34. <https://doi.org/10.1128/jvi.75.23.11720-11734.2001>
27. Koonin E.V., Dolja V.V., Krupovic M., Varsani A., Wolf Y.I., Yutin N., et al. Global organization and proposed megataxonomy of the virus world. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2020; 84(2): e00061-19. <https://doi.org/10.1128/mmbr.00061-19>
28. Richardson J.S. The anatomy and taxonomy of protein structure. *Adv. Protein Chem.* 1981; 34: 167–339. [https://doi.org/10.1016/s0065-3233\(08\)60520-3](https://doi.org/10.1016/s0065-3233(08)60520-3)
29. Gorbalenya A.E., Krupovic M., Mushegian A., Kropinski A.M., Siddell S.G., Varsani A., et al. The new scope of virus taxonomy: partitioning the virosphere into 15 hierarchical ranks. *Nat. Microbiol.* 2020; 5(5): 668–74. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0709-x>
30. Wolf Y.I., Kazlauskas D., Iranzo J., Lucia-Sanz A., Kuhn J.H., Krupovic M., et al. Origins and evolution of the global RNA virome. *mBio*. 2018; 9(6): e02329-18. <https://doi.org/10.1128/mbio.02329-18>
31. Queiroz V.F., Carvalho J.V.R.P., de Souza F.G., Lima M.T., Santos J.D., Rocha K.L.S., et al. Analysis of the genomic features and evolutionary history of pithovirus-like isolates reveals two major divergent groups of viruses. *J. Virol.* 2023; 97(7): e0041123. <https://doi.org/10.1128/jvi.00411-23>
32. Liu Y., Demina T.A., Roux S., Aiewsakun P., Kazlauskas D., Simmonds P., et al. Diversity, taxonomy, and evolution of archaeal viruses of the class Caudoviricetes. *PLoS Biol.* 2021; 19(11): e3001442. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.3001442>
33. Krupovic M., Kuhn J.H., Wang F., Baquero D.P., Dolja V.V., Egelman E.H., et al. Adnaviria: a new realm for archaeal filamentous viruses with linear a-form double-stranded DNA genomes. *J. Virol.* 2021; 95(15): e0067321. <https://doi.org/10.1128/jvi.00673-21>
34. Chang W.S., Pettersson J.H.O., Le Lay C., Shi M., Lo N., Wille M., et al. Novel hepatitis D-like agents in vertebrates and invertebrates. *Virus Evol.* 2019; 5(2): vez021. <https://doi.org/10.1093/ve/vez021>

35. Khalfi P., Kennedy P.T., Majzoub K., Asselah T. Hepatitis D virus: Improving virological knowledge to develop new treatments. *Antiviral Res.* 2023; 209: 105461. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2022.105461>
36. Maes P., Alkhovsky S.V., Bào Y., Beer M., Birkhead M., Briese T., et al. Taxonomy of the family Arenaviridae and the order Bunyavirales: update 2018. *Arch. Virol.* 2018; 163(8): 2295–310. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3843-5>
37. Kuhn J.H., Adkins S., Alkhovsky S.V., An W., Avšič-Županc T., Ayllón M.A., et al. Annual (2024) taxonomic update of RNA-directed RNA polymerase-encoding negative-sense RNA viruses (realm Riboviria: kingdom Orthornavirae: phylum Negarnaviricota). *J. Gen. Virol.* 2025; 106(6): 002077. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.002077>
38. Kuhn J.H., Adkins S., Alkhovsky S.V., Avšič-Županc T., Ayllón M.A., Bahl J., et al. 2022 taxonomic update of phylum Negarnaviricota (Riboviria: Orthornavirae), including the large orders Bunyavirales and Mononegavirales. *Arch. Virol.* 2022; 167(12): 2857–906. <https://doi.org/10.1007/s00705-022-05546-z>
39. Mushegian A.R. Are there 10³¹ virus particles on earth, or more, or fewer? *J. Bacteriol.* 2020; 202(9): e00052-20. <https://doi.org/10.1128/jb.00052-20>
40. López-García P., Gutiérrez-Preciado A., Krupovic M., Ciobanu M., Deschamps P., Jardillier L., et al. Metagenome-derived virus-microbe ratios across ecosystems. *ISME J.* 2023; 17(10): 1552–63. <https://doi.org/10.1038/s41396-023-01431-y>
41. Koonin E.V., Kuhn J.H., Dolja V.V., Krupovic M. Megataxonomy and global ecology of the virosphere. *ISME J.* 2024; 18(1): wrad042. <https://doi.org/10.1093/ismejo/wrad042>
15. Lauber C., Gorbalenya A.E. Partitioning the genetic diversity of a virus family: approach and evaluation through a case study of picornaviruses. *J. Virol.* 2012; 86(7): 3890–904. <https://doi.org/10.1128/JVI.07173-11>
16. Koonin E.V., Krupovic M., Agol V.I. The Baltimore classification of viruses 50 years later: how does it stand in the light of virus evolution? *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2021; 85(3): e0005321. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00053-21>
17. Koonin E.V., Dolja V.V. Virus world as an evolutionary network of viruses and capsidless selfish elements. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2014; 78(2): 278–303. <https://doi.org/10.1128/mmbr.00049-13>
18. Koonin E.V., Dolja V.V., Krupovic M. Origins and evolution of viruses of eukaryotes: The ultimate modularity. *Virology.* 2015; 479–480: 2–25. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.02.039>
19. Simmonds P., Adams M.J., Benk M., Breitbart M., Brister J.R., Carstens E.B., et al. Consensus statement: Virus taxonomy in the age of metagenomics. *Nat. Rev. Microbiol.* 2017; 15(3): 161–8. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.177>
20. Simmonds P., Adriaenssens E.M., Murilo Zerbini F., Abrescia N.G.A., Aiewsakun P., Alfenas-Zerbini P., et al. Four principles to establish a universal virus taxonomy. *PLoS Biol.* 2023; 21(2): e3001922. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001922>
21. Roux S., Adriaenssens E.M., Dutilh B.E., Koonin E.V., Kropinski A.M., Krupovic M., et al. Minimum Information about an Uncultivated Virus Genome (MIUViG). *Nat. Biotechnol.* 2018; 37(1): 29–37. <https://doi.org/10.1038/nbt.4306>
22. Dutilh B.E., Varsani A., Tong Y., Simmonds P., Sabanadzovic S., Rubino L., et al. Perspective on taxonomic classification of uncultivated viruses. *Curr. Opin. Virol.* 2021; 51: 207–15. <https://doi.org/10.1016/J.COVIRO.2021.10.011>
23. Mayne R., Simmonds P., Smith D.B., Adriaenssens E.M., Lefkowitz E.J., Oksanen H.M., et al. Virus taxonomy proposal summaries: a searchable and citable resource to disseminate virus taxonomy advances. *J. Gen. Virol.* 2025; 106(7): 002079. <https://doi.org/10.1099/JGV.0.002079>
24. 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>
25. Gorbalenya A.E., Pringle F.M., Zeddam J.L., Luke B.T., Cameron C.E., Kalmakoff J., et al. The palm subdomain-based active site is internally permuted in viral RNA-dependent RNA polymerases of an ancient lineage. *J. Mol. Biol.* 2002; 324(1): 47–62. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(02\)01033-1](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(02)01033-1)
26. Iyer L.M., Aravind L., Koonin E.V. Common origin of four diverse families of large eukaryotic DNA viruses. *J. Virol.* 2001; 75(23): 11720–34. <https://doi.org/10.1128/jvi.75.23.11720-11734.2001>
27. Koonin E.V., Dolja V.V., Krupovic M., Varsani A., Wolf Y.I., Yutin N., et al. Global organization and proposed megataxonomy of the virus world. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2020; 84(2): e00061-19. <https://doi.org/10.1128/mmbr.00061-19>
28. Richardson J.S. The anatomy and taxonomy of protein structure. *Adv. Protein Chem.* 1981; 34: 167–339. [https://doi.org/10.1016/s0065-3233\(08\)60520-3](https://doi.org/10.1016/s0065-3233(08)60520-3)
29. Gorbalenya A.E., Krupovic M., Mushegian A., Kropinski A.M., Siddell S.G., Varsani A., et al. The new scope of virus taxonomy: partitioning the virosphere into 15 hierarchical ranks. *Nat. Microbiol.* 2020; 5(5): 668–74. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0709-x>
30. Wolf Y.I., Kazlauskas D., Iranzo J., Lucia-Sanz A., Kuhn J.H., Krupovic M., et al. Origins and evolution of the global RNA virome. *mBio.* 2018; 9(6): e02329-18. <https://doi.org/10.1128/mbio.02329-18>
31. Queiroz V.F., Carvalho J.V.R.P., de Souza F.G., Lima M.T., Santos J.D., Rocha K.L.S., et al. Analysis of the genomic features and evolutionary history of pithovirus-like isolates reveals two major divergent groups of viruses. *J. Virol.* 2023; 97(7): e0041123. <https://doi.org/10.1128/jvi.00411-23>
32. Liu Y., Demina T.A., Roux S., Aiewsakun P., Kazlauskas D., Simmonds P., et al. Diversity, taxonomy, and evolution of archaeal viruses of the class Caudoviricetes. *PLoS Biol.* 2021; 19(11): e3001442. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.3001442>
33. Krupovic M., Kuhn J.H., Wang F., Baquero D.P., Dolja V.V., Egelman E.H., et al. Adnaviria: a new realm for archaeal filamentous viruses with linear a-form double-stranded DNA genomes. *J. Virol.* 2021; 95(15): e0067321. <https://doi.org/10.1128/jvi.00673-21>

REFERENCES

1. Lvov D.K., Gulyukin M.I., Zaberezhniy A.D., Gulyukin A.M. Formation of population gene pools of zoonotic viruses, potentially threatening biosafety. *Voprosy virusologii.* 2020; 65(5): 243–58. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-5-1> <https://elibrary.ru/kprmmam> (in Russian)
2. Iwanowski D. Über die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze. *Bulletin Scientifique Publié Par L'Académie Impériale Des Sciences de Saint-Petersbourg.* 1892; 35: 67–70.
3. Ivanovskii D.I. Mosaic tobacco disease. *Trudy Varshavskogo Universiteta.* 1892; 6: 49–72. (in Russian)
4. Loeffler F., Frosch P. Summarischer Bericht über die Ergebnisse der Untersuchungen der Commission zur Erforschung der Maul- und Klauenseuche. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 1897; 23(39): 617. <https://doi.org/10.1055/S-0029-1205172>
5. Reed W. Recent researches concerning the etiology, propagation, and prevention of yellow fever, by the United States Army Commission. *J. Hyg. (Lond.)* 1902; 2(2): 101–19. <https://doi.org/10.1017/s0022172400001856>
6. d'Hérèlles F. An invisible microbe that is antagonistic to the dysentery bacillus. *Comptes Rendus.* 1917; 165: 373–5. (in French)
7. Twort F.W. An investigation on the nature of ultra-microscopic viruses. *Lancet.* 1915; 186(4814): 1241–3. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)20383-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)20383-3)
8. Torsvik T., Dundas I.D. Bacteriophage of Halobacterium salinarum. *Nature.* 1974; 248: 680–1. <https://doi.org/10.1038/248680A0>
9. Woese C.R., Fox G.E. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1977; 74(11): 5088–90. <https://doi.org/10.1073/PNAS.74.11.5088>
10. Casals J., Whitman L. Group C, a new serological group of hitherto undescribed arthropod-borne viruses. Immunological studies. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1961; 10: 250–8. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1961.10.250>
11. Casals J. New developments in the classification of arthropod-borne animal viruses. *Ann. Microbiol.* 1963; 11: 13.
12. Van Regenmortel M.H.V. Applying the species concept to plant viruses. *Arch. Virol.* 1989; 104(1-2): 1–17. <https://doi.org/10.1007/BF01313804>
13. Pringle C.R. The 20th meeting of the executive committee of the international committee on virus taxonomy. *Arch. Virol.* 1991; 119: 303–4. <https://doi.org/10.1007/BF01310680>
14. Lauber C., Gorbalenya A.E. Toward genetics-based virus taxonomy: comparative analysis of a genetics-based classification and the taxonomy of picornaviruses. *J. Virol.* 2012; 86(7): 3905–15. <https://doi.org/10.1128/jvi.07174-11>

34. Chang W.S., Pettersson J.H.O., Le Lay C., Shi M., Lo N., Wille M., et al. Novel hepatitis D-like agents in vertebrates and invertebrates. *Virus Evol.* 2019; 5(2): vez021. <https://doi.org/10.1093/ve/vez021>
35. Khalfi P., Kennedy P.T., Majzoub K., Asselah T. Hepatitis D virus: Improving virological knowledge to develop new treatments. *Antiviral Res.* 2023; 209: 105461. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2022.105461>
36. Maes P., Alkhovsky S.V., Bao Y., Beer M., Birkhead M., Briese T., et al. Taxonomy of the family Arenaviridae and the order Bunyavirales: update 2018. *Arch. Virol.* 2018; 163(8): 2295–310. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3843-5>
37. Kuhn J.H., Adkins S., Alkhovsky S.V., An W., Avšič-Županc T., Ayllón M.A., et al. Annual (2024) taxonomic update of RNA-directed RNA polymerase-encoding negative-sense RNA viruses (realm Riboviria: kingdom Orthornavirae: phylum Negarnaviricota). *J. Gen. Virol.* 2025; 106(6): 002077. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.002077>
38. Kuhn J.H., Adkins S., Alkhovsky S.V., Avšič-Županc T., Ayllón M.A., Bahl J., et al. 2022 taxonomic update of phylum Negarnaviricota (Riboviria: Orthornavirae), including the large orders Bunyavirales and Mononegavirales. *Arch. Virol.* 2022; 167(12): 2857–906. <https://doi.org/10.1007/s00705-022-05546-z>
39. Mushegian A.R. Are there 10^{31} virus particles on earth, or more, or fewer? *J. Bacteriol.* 2020; 202(9): e00052-20. <https://doi.org/10.1128/jb.00052-20>
40. López-García P., Gutiérrez-Preciado A., Krupovic M., Ciobanu M., Deschamps P., Jardillier L., et al. Metagenome-derived virus-microbe ratios across ecosystems. *ISME J.* 2023; 17(10): 1552–63. <https://doi.org/10.1038/s41396-023-01431-y>
41. Koonin E.V., Kuhn J.H., Dolja V.V., Krupovic M. Megataxonomy and global ecology of the virosphere. *ISME J.* 2024; 18(1): wrad042. <https://doi.org/10.1093/ismejo/wrad042>

Информация об авторах:

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

Акимкин Василий Геннадьевич — д-р мед. наук, профессор, академик РАН, директор ФБУН «ЦНИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия. E-mail: crie@pcr.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8139-0247>

Забережный Алексей Дмитриевич — д-р биол. наук, профессор, академик РАН, директор ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологический промышленности» Минсельхоза России, Московская область, г.о. Лосино-Островский, пос. Биокombината, Россия. E-mail: zaberezhny@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7635-2596>

Борисевич Сергей Владимирович — д-р биол. наук, профессор, академик РАН, начальник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, Сергиев Посад, Россия. E-mail: 48cnii@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

Альховский Сергей Владимирович — д-р биол. наук, член-корреспондент РАН, советник директора по научной работе в области природно-очаговых и новых инфекций ФБУН «ЦНИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия. E-mail: salkh@ya.ru; alkhovsky@cmd.su; <https://orcid.org/0000-0001-6913-5841>

Участие авторов: Львов Д.К. — критический анализ данных, синтез данных, написание статьи; Акимкин В.Г. — анализ данных, написание статьи; Забережный А.Д. — анализ данных, написание статьи; Борисевич С.В. — анализ данных, написание статьи; Альховский С.В. — критический анализ данных, синтез данных, написание статьи.

Поступила 02.09.2025
Принята в печать 16.10.2025
Опубликована 30.10.2025

Information about the authors:

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

Vasily G. Akimkin — RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director, Central Research Institute for Epidemiology of the Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russia. E-mail: crie@pcr.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8139-0247>

Alexey D. Zaberezhny — RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Biology), Director of All-Russian Research and Technological Institute of Biological Industry of Ministry of Agriculture, Losino-Ostrovsky district, Biokombinat settlement, Moscow region, Russia. E-mail: zaberezhny@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7635-2596>

Sergey V. Borisevich — RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Biology), Head of Central Scientific Research Institute No. 48 of the Ministry of Defence, Sergiev Posad, Russia. E-mail: 48cnii@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

Sergey V. Alkhovsky — corresponding member of RAS, Dr. Sci. (Biology), Advisor to the Director for Research in the Field of Natural Focal and Emerging Infections, Central Research Institute for Epidemiology of the Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russia. E-mail: salkh@ya.ru; alkhovsky@cmd.su; <https://orcid.org/0000-0001-6913-5841>

Contribution: Lvov D.K. — critical data analysis, data synthesis, article writing; Akimkin V.G. — data analysis, article writing; Zaberezhny A.D. — data analysis, article writing; Borisevich S.V. — data analysis, article writing; Alkhovsky S.V. — critical data analysis, data synthesis, article writing.

Received 02 September 2025
Accepted 16 October 2025
Published 30 October 2025

ОБЗОРЫ

НАУЧНЫЙ ОБЗОР

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-323>

© ПРОХОРОВА П.В., ВЛАСОВА Н.Н., ЮЖАКОВ А.Г., ГУЛЮКИН А.М., 2025



Современные подходы к конструированию и применению рекомбинантных вирусов

Прохорова П.В.✉, Власова Н.Н., Южаков А.Г., Гулюкин А.М.

ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук», 109428, г. Москва, Россия

Резюме

В обзоре описан ряд вирусных векторов и рассмотрены различные методы конструирования рекомбинантных вирусов, особое внимание уделено системе гомологичной рекомбинации и CRISPR/Cas9, описана возможность использования разных клонирующих векторов (виды плазмид, ВАС). Также в обзоре представлен сравнительный анализ эффективности и безопасности применения вирусных векторов как для создания рекомбинантных вакцин, так и для получения онколитических вирусов, препаратов для генной терапии.

Ключевые слова: *рекомбинантный вирус; CRISPR/Cas9; гомологичная рекомбинация; клонирующий вектор; плазида; вирусный вектор; рекомбинантная вакцина; обзор*

Для цитирования: Прохорова П.В., Власова Н.Н., Южаков А.Г., Гулюкин А.М. Современные подходы к конструированию и применению рекомбинантных вирусов. *Вопросы вирусологии*. 2025; 70(5): 417–430. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-323> EDN: <https://elibrary.ru/cuxdyq>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания FGUG-2025-0007.

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

REVIEW

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-323>

Modern approaches to the construction and use of recombinant viruses

Polina V. Prokhorova✉, Natalia N. Vlasova, Anton G. Yuzhakov, Alexey M. Gulyukin

Federal Scientific Center – All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Skryabin and Ya.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences, 109428, Moscow, Russia

Abstract

The review describes certain viral vectors and considers various methods for constructing recombinant viruses with special attention paid to the homologous recombination and CRISPR/Cas9 system, and also describes the capabilities of using various cloning vectors (different plasmids, BAC etc.). The review also presents a comparative analysis of the effectiveness and safety of using various viral vectors, both for creating recombinant vaccines and for obtaining oncolytic viruses, as well as medicines for gene therapy.

Keywords: *recombinant virus; CRISPR/Cas9; homologous recombination; cloning vector; plasmid; viral vector; recombinant vaccine; review*

For citation: Prokhorova P.V., Vlasova N.N., Yuzhakov A.G., Gulyukin A.M. Modern approaches to the construction and use of recombinant viruses. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2025; 70(5): 417–430. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-323> EDN: <https://elibrary.ru/cuxdyq>

Financing. The study was carried out within the framework of the state task FGUG-2025-0007.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Введение

Вакцинация является экономичным и эффективным способом борьбы с распространением инфекционных заболеваний. Начиная 1796 г. (первая вакцинация, проведенная Э. Дженнером) использовались живые ослабленные, далее инаktivированные и впоследствии субъединичные вакцины [1–3]. На начальном этапе создания рекомбинантных вакцин в основном использовали лишь поксвирусные, герпесвирусные и аденовирусные векторы, в настоящее время создано значительное количество рекомбинантных вакцин основе ДНК- и РНК-содержащих рекомбинантных вирусов [4], однако в России на практике используется только вакцина «Гам-КОВИД-Вак».

На настоящий момент к современным модификациям препаратов специфической профилактики относятся вакцины на основе рекомбинантных вирусов, вирусоподобных частиц, а также ДНК- и мРНК-вакцины, что позволяет значительно повысить безопасность и эффективность вакцинации, решить ряд проблем, возникающих при использовании традиционных живых аттенуированных видов вакцин. Также рекомбинантные вирусы используются для создания препаратов для лечения онкологических и генетических заболеваний [1, 3, 5–8].

Как правило, рекомбинантные векторные вирусные вакцины разрабатываются на основе использования апатогенного гетерологичного вирусного вектора в качестве продуцента целевых антигенов (рис. 1), поскольку применение гомологичного вируса в качестве вектора предопределяет возможность реверсии его вирулентности при рекомбинации с исходным вирулентным возбудителем [3, 9]. Вакцинные рекомбинантные вирусы содержат модифицированный геном с промотором перед сайтами клонирования для встройки одного или нескольких чужеродных генов, кодирующих целевые протективные антигены [10]. При применении векторных вакцин происходит экс-

прессия антигена, аналогичная таковой при естественной инфекции, создается возможность доставки целевых антигенов в определенные клетки и ткани [1, 11, 12]. Гетерологичные векторные вакцины разрабатываются на основе двух и более вирусных векторов, кодирующих одни и те же или разные целевые антигены. При двукратной схеме вакцинации формируется более выраженный и длительный иммунный ответ по сравнению с однократной или двукратной вакцинацией одновекторной вакциной [1, 13].

Максимально высокий уровень безопасности достигается использованием вакцин «одного цикла» или «одного вирусного поколения». Это вакцинные рекомбинантные вирусы, из генома которых удален белок, необходимый для вирусной репликации (как правило, это белок, участвующий в сборке вириона). Параллельно с конструированием рекомбинантного вируса для репликации данного модифицированного агента создается специализированная линия клеток, в которой синтезируется белок, необходимый для вирусной репликации. В результате дефектный рекомбинантный вирус реплицируется в модифицированной культуре клеток и нарабатываются его препаративные количества. Однако в макроорганизме этот вирус при синтезе основных протективных белков теряет возможность к продуктивной инфекции и полноценной сборке вирионов. При введении такого рекомбинантного вируса активируются обе ветви иммунной защиты: гуморальная и клеточная, а его контагиозность и способность к персистенции утрачиваются [14, 15].

Для рекомбинантных вакцин с целью усиления иммунного ответа и увеличения его длительности необходимо использование адъюванта, хотя формирование защиты возможно и без него [1, 3]. При пероральном или интраназальном введении рекомбинантная вирусная вакцина способствует выработке как общего иммунного ответа, так и местной реакции организма в зависимости от способа введения [1, 10].

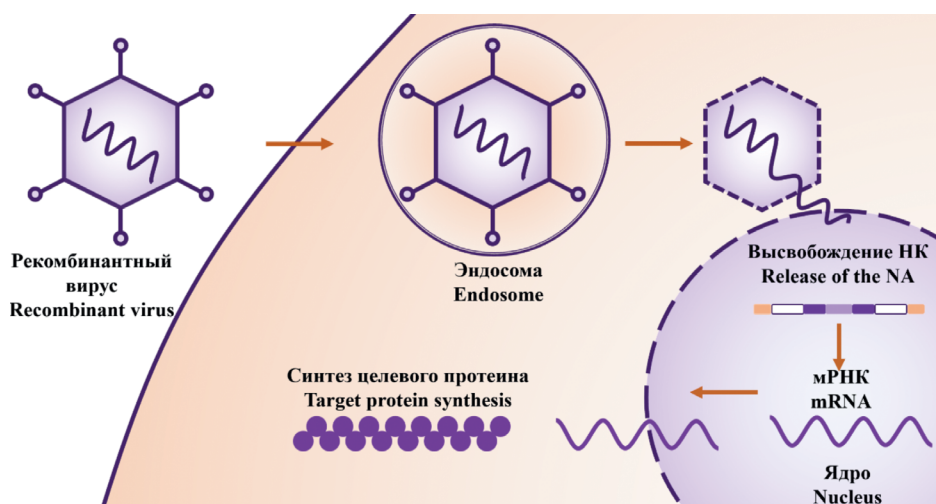


Рис. 1. Синтез целевого протеина рибосомами клетки.

Fig. 1. Synthesis of the target protein by cellular ribosomes.

Методы конструирования рекомбинантных вирусов

Для конструирования рекомбинантных вирусов разработан ряд методов: гомологичная рекомбинация (ГР) [16], транспозон-опосредованный инсерционный мутагенез [17], нуклеазные методы ZFN [18], TALEN [19], а также подходы обратной генетики [20, 21] и др.

Обратная генетика позволяет получить измененный биологически активный вирус путем трансфекции инфицированных вирусным вектором линий клеток плазмидами, которые содержат гены, кодирующие целевые белки. Внося изменения путем введения мутаций в различные целевые гены, можно снижать вирулентность и менять антигенные свойства как самого вектора, так и клонируемых вирусных генов [22].

Как правило, для создания рекомбинантного вируса необходимы вирусный реципиентный вектор и донорный плазмидный (или синтетический) носитель целевого гена. Для вирусных ДНК-векторов подготовительный этап на этом заканчивается. Для генетической модификации РНК-вирусов необходим предварительный этап получения комплементарной ДНК (кДНК) [16]. Однако синтезу полноразмерных кДНК может препятствовать ряд причин, таких как токсичность для бактерий (что решается методом СРЕС (Circular polymerase extension reaction), при котором происходит последовательная сборка вектора из ампликонов при полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией), образование шпилек и др. [21]. Дальнейшие процессы получения рекомбинантных РНК-содержащих вирусов также имеют ряд отличий, которые зависят от типа вирусной РНК: геном «+», геном «-», интегрированный геном, сегментированный геном или двухцепочечный геном. Например, для рекомбинантных РНК-содержащих вирусов с геномом «+» необходима эффективная доставка (чаще всего используют лимпосомы) вновь синтезированной РНК в цитоплазму клетки, в то время как для рекомбинант-

ных РНК-содержащих вирусов с геномом «-» требуется вирус-помощник или даже встройка измененной полноразмерной кДНК в крупный ДНК-содержащий вирусный вектор, аналогично тому, как была получена маркированная рекомбинантная вакцина против чумы крупного рогатого скота (КРС) [23].

Относительно ретровирусных рекомбинантов известно, что конечным продуктом полимеразной реакции является двухцепочечный ДНК-провирус, содержащий все вирусные гены и фланкированный 3'- и 5'-LTR (long terminal repeat, длинные концевые повторы). Провирусная ДНК, интегразы (IN), отдельные вирусные и клеточные белки образуют вирусный преинтеграционный комплекс, который импортируется внутрь ядра, а IN катализирует вставку вирусной ДНК в геном клетки [24]. Однако на современном этапе созданы лентивирусные векторы с дефектом интегразы (IDLV), которые уже после однократной иммунизации стимулируют длительный иммунный ответ и обладают высоким уровнем безопасности [25, 26].

Для создания рекомбинантного вируса используется хорошо воспроизводимый метод ГР (рис. 2 а). Для получения рекомбинантного вируса при ГР конструируют плазмидный вектор с фланкирующими целевой ген последовательностями, гомологичными месту встройки в геноме векторного вируса [16]. ДНК плазмидного вектора вводится в инфицированные вирусом клетки или котрансфицируется с геномной ДНК вируса. В трансфицированных клетках происходит обмен последовательностями между плазмидной и вирусной ДНК, содержащими гомологичные участки. Поскольку вирусный вектор должен иметь какой-либо селективный маркер, то рекомбинантные вирусы отбирают клонированием на основе разницы репликации исходного и имеющего маркер рекомбинантного вируса [27].

На настоящий момент наиболее эффективным и универсальным методом редактирования вирусного генома является технология CRISPR/Cas 9 (рис. 2 б)

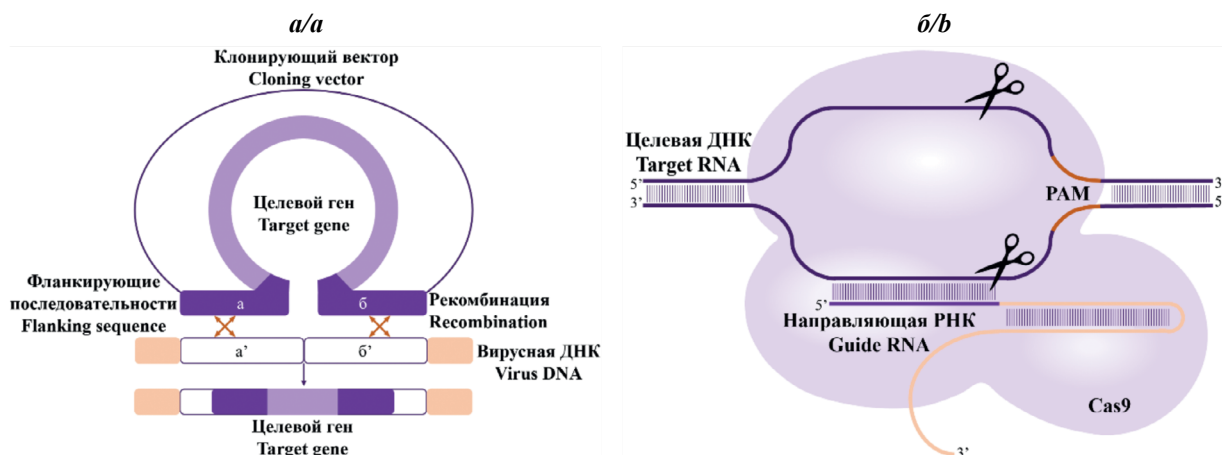


Рис. 2. Основные методы создания рекомбинантных вирусов.

а – гомологичная рекомбинация; б – система CRISPR/Cas9.

Fig. 2. The main methods for creating recombinant viruses.

a – homologous recombination; b – CRISPR/Cas9 system.

[19, 28]. Она характеризуется высокой корректностью редактирования ДНК-мишеней и низкой активностью расщепления вне мишеней, относительно простым использованием, поэтому система CRISPR/Cas 9 вытеснила предшествующие ей ZFN и TALEN [29, 30]. Технология CRISPR/Cas9 основана на том, что для распознавания целевой последовательности используются не белки (как у ZFN и TALEN), а небольшие молекулы направляющей РНК (нРНК, guide-RNA). Система редактирования генома CRISPR/Cas9 состоит из ДНК-связывающего домена, отвечающего за распознавание и связывание определенной последовательности ДНК, и эффекторного домена, обеспечивающего расщепление ДНК [29]. Редактирование проходит в 2 этапа: расщепления ДНК и последующей репарации [28], которая происходит либо посредством негомологичного соединения концов (non-homologous end joining, NHEJ), либо гомологичного восстановления (homology-directed repair, HDR). Для повышения эффективности и точности вводимых изменений используются методы, подавляющие NHEJ и усиливающие HDR, которые основаны на химической модуляции, синхронизированной экспрессии перекрывающихся гомологичных участков [31]. Преимуществом CRISPR/Cas9 являются легкость и скорость создания нРНК, возможность модификации нескольких целевых генов. Тем не менее CRISPR/Cas9 имеет ограничения, связанные с разницей в скорости расщепления ДНК по сравнению со скоростью репликации вируса, необходимостью повышения эффективности восстановления [28].

Широко востребованные технологии редактирования генома быстро и успешно развиваются. Так, недавно разработанная CRISPR/Cas9-система вытесняется новым методом NICER, основанным на использовании никазы Cas9, создающей лишь односторонние разрывы, которые восстанавливаются без опасности возникновения мутаций, что расширяет возможности для коррекции генетических нарушений, ассоциированных с определенными заболеваниями [32].

Клонирующие векторы

Плазмидные векторы имеют обязательную минимальную структуру, включающую точку начала репликации (*ori*), селективный маркер устойчивости к антибиотикам и множественный сайт клонирования (MCS) [33]. В качестве векторов переноса используют и другие разновидности плазмид: фосмиды, основанные на бактериальной F-плазмиде; космиды, содержащие ДНК фага лямбда с *cos*-участком, дрожжевые плазмиды из штаммов *Saccharomyces* [34], линейные плазмиды *Streptomyces* и др. [35]. Однако накопление и выделение плазмид из дрожжей является более сложным, трудоемким и дорогостоящим процессом по сравнению с *Escherichia coli* [36].

ВАС (Bacterial artificial chromosome) – низкокопийные векторы с высокой емкостью (до 300 kb) по сравнению с плазмидными векторами (до 10 kb), используется для клонирования больших вирусных геномов

[27, 33, 37, 38]. Преимуществами ВАС являются высокая точность репликации, отсутствие селективного давления на вирусный геном в *E. coli*, отсутствие токсического эффекта для бактерий [27].

Наиболее популярным методом получения клонирующих векторов является рестриктазно-лигазный метод, также существует ряд альтернативных технологий: MCS и бактериальная сборка *in vivo* [39], FastCloning [40], рекомбинационное клонирование GATEWAY [41], SLiCE [42], Golden Gate [43]; независимые от лигирования ELIC [44], SLIC [45], HAC [46], One-step SLIC [47] и In-fusion [48].

Вирусные векторы

Аденовирусы часто используются в качестве вектора, обладают широким тропизмом, высокой эффективностью трансдукции, отсутствием интеграции в геном хозяина [1, 49]. В качестве векторов на основе аденовируса выбирают как способные к репликации варианты, так и с ее дефектом: в зависимости от того, содержат они всю область ранних генов, ответственных за модификацию экспрессии генов хозяина и синтеза вирусного белка, или только ее часть [1, 50, 51]. Для эффективного иммунного ответа выбор аденовирусного вектора основывается на использовании малораспространенных серотипов, чтобы избежать антителозависимой ингибции его репликации [49]. Аденовирус 5-го типа (Ad5) ранее являлся стандартным выбором в качестве вектора, однако на данный момент его применению препятствует высокая серопревалентность среди людей, которая достигает 90%, поэтому для решения данной проблемы использовались другие, более редкие типы аденовирусов для человека (Ad26, Ad35, Ad11) и аденовирусы животных [1, 52]. Высокая серопревалентность приводит к снижению иммунного ответа, как было продемонстрировано во время испытания вакцины-кандидата STEP против ВИЧ: у вакцинированных наступало повышение восприимчивости к ВИЧ [53]. Для защиты от SARS-CoV-2 созданы в том числе одобренные для массового применения вакцины как на основе Ad5 [54–57], Ad26 [1, 54, 56, 58, 59], так и на их комбинации [54]. Также против лихорадки Эбола были разработаны вакцины с использованием Ad5 [60, 61] и Ad26 [62].

Различные серотипы аденовируса шимпанзе (ChAd) и, в частности, ChAdOx1 (вектор с дефектом репликации) были использованы для создания векторных вакцин-кандидатов против вируса бешенства (RABV), MERS, SARS-CoV-2 и др. [1]. Несмотря на то что вакцину-кандидата ChAdOx1 nCoV-19 признали безопасной, у вакцинированных был обнаружен высокий уровень аутоантител к тромбоцитарному фактору 4 (PF4), что объясняется образованием комплекса PF4 и аденовирусов (в том числе и Ad5, Ad26) [1, 63–65]. Аденовирус шимпанзе был использован в качестве вирусного вектора при разработке вакцин-кандидатов ChAd3-EBO-Z против вируса Эбола [66], ChAdOx1-GnGc против лихорадки долины Рифт [67].

Векторы на основе аденоассоциированных вирусов (AAV) являются популярными для генной терапии и доставки терапевтических антител [11]. Несмотря на распространенный иммунитет к AAV, некоторые вакцины на их основе формируют более высокий и устойчивый иммунный ответ по сравнению с другими типами вакцин [1]. Первым был создан рекомбинант AAV с вирусом простого герпеса 2-го типа [68], а далее разработан гAAV-B11-Fc, экспрессирующий антитела с нейтрализующей активностью против ботулотоксина типа А [69], а также вакцина-кандидат гAAV-COVID-19 [70]. Для генной терапии разработан и одобрен ряд препаратов: Onasemnogene Aporavovect на основе AAV9 для лечения спинально-мышечной атрофии у детей [5, 6], Valoctocogene Roxaparvovect и Etranacogene Dezaparvovect на основе AAV5 для лечения гемофилии А и В [7, 71], Voretigene neparvovect на основе AAV2 для лечения амавроза Лебера [8]. Однако применение гAAV, особенно в высоких дозах, может быть ограничено из-за реакций иммунной системы, которые приводят к возникновению токсических эффектов. Иммуносупрессия, применяемая для подавления иммунных реакций на AAV-вектор, во многих случаях неэффективна. Причиной возникновения токсических эффектов являются реакции адаптивного иммунитета на антигены капсида AAV, а также чрезмерная активация системы комплемента. К побочным эффектам применения AAV-векторов относятся: тромботическая микроангиопатия, нарушение кровообращения печени (молниеносная гепатотоксичность), токсичность в отношении задних корешков спинномозговых нервов, миокардит и аллергическая реакция. На развитие токсических эффектов после введения AAV-вектора влияет: дозировка, серотип AAV, способ введения, индивидуальные особенности пациентов (возраст, наличие определенных заболеваний) [72].

Поксвирусные векторы характеризуются высокой иммуногенностью и способностью вызывать устойчивый и быстро формирующийся иммунный ответ, который может усиливаться при комбинации 2 векторов [1, 73]. Преимуществом поксвирусных векторов является наибольшая (~ 25 т.п.о.) емкость, что позволяет конструировать мультиантигенные вакцины [1, 74]. Чаще других используются ослабленные ортопоксвирусы: MVA и NYVAC. Однако при введении большой дозы (свыше 10^8 БОЕ) возможны серьезные побочные эффекты. Также недостатком вакцин на основе поксвирусов является возможное снижение иммуногенности у лиц, ранее привитых вакциной против натуральной оспы [75]. На основе MVA были получены рекомбинантные вакцины-кандидаты SARS-CoV ADS-MVA [76], MVA-MERS-S против MERS-CoV [9], на основе вируса оспы канареек создан рекомбинант против цитомегаловирусной инфекции (ALVAC-gB) [77], для конструирования LIVP-hIFN α и LIVP-mIFN α использовали вирус оспы коров, данные рекомбинантные вирусы были разработаны в России, они характеризуются высокой онко-селективностью и онколитической активностью [78].

В РФ в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН В.А. Рихтером и соавт. на основе вируса осповакцины штамма VV-GMCSF-Lact был создан онколитический вирус для борьбы с раком молочной железы, на данный момент проведены клинические испытания I фазы [79, 80]. Для получения VV-GMCSF-Lact использовали родительский штамм LIVP вируса осповакцины, было проведено удаление фрагмента генов тимидинкиназы и ростового фактора, встроены гены индуктора противоопухолевого иммунного ответа цитокина ГМ-КСФ (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор) и однокислотного белка лактапина [79]. Также в России были проведены сравнительные исследования онколитической активности рекомбинантных штаммов вируса осповакцины LIVP-RFP и MVA-RFP с инактивированным геном тимидинкиназы в отношении солидных опухолей [81].

В качестве вирусного вектора для создания препаратов для генной терапии и лечения онкологических заболеваний используется вирус простого герпеса 1-го типа (HSV-1). HSV-1 обладает большой емкостью, а также проявляет высокую активность относительно деструкции опухолей [82, 83]. Тем не менее существуют проблемы с обеспечением безопасного и высокопродуктивного производства таких препаратов. Преимущественный тропизм белков HSV-1 к поверхностными рецепторам клеток нервной ткани и возможность делеции гена *Us3*, вызывающего активацию и синтез фосфатидилнозитол-3-киназы, обладающей сигнальной функцией в процессах пролиферации и апоптоза опухолевых клеток, делают HSV-1 эффективным инструментом для лечения опухолей центральной нервной системы. Основным недостатком использования HSV-1 в качестве векторного вируса для генной терапии является токсичность, связанная с особенностями вектора, а также индукция воспаления. Поэтому целью модификации HSV-1 является снижение нейротоксичности и увеличение способности вируса поражать клетки глиомы, а также создание возможности экспрессировать различные трансгены, усиливающие собственный противоопухолевый иммунитет [84]. Противоопухолевые свойства описанных рекомбинантных онколитических герпесвирусов испытаны как *in vitro*, так и на моделях *in vivo*. Например, штамм HSV1716 прошел три клинических испытания I фазы [85].

На данный момент существуют уже одобренные Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств (FDA, США) препараты: Imlygic для лечения злокачественной меланомы [86], Vyjuvek для терапии дистрофического буллезного эпидермолиза [87].

Из РНК вирусных конструкций, выделяют векторы на основе вируса везикулярного стоматита (VSV), которые обладают высоким уровнем репродукции и характеризуются низкой превалентностью антител у людей [1, 88, 89], широким тропизмом [89], высокой иммуногенностью при однократном введении

и пролонгированным иммунным ответом. Их иммуногенность по сравнению с вакцинами на основе RABV с дефектом репликации гораздо выше [10]. К недостаткам VSV-векторов относится: низкая эффективность при повторном введении, слабо выраженный тропизм к раковым клеткам по сравнению с другими онколитическими вирусами [89]. VSV-вектор использовался для уже одобренной вакцины против вируса Эбола (rVSV-ZEBOV) [1, 88]; а также для вакцин-кандидатов для профилактики геморрагической лихорадки Марбург [90], лихорадки Ласса [91] и др.

Вакцины на основе лентивируса с дефектом интегразы (IDLV) стимулируют интенсивный и длительный иммунный ответ после однократной иммунизации, обладают высоким уровнем безопасности [1, 25, 26]. IDLV получены из ВИЧ или вируса иммунодефицита обезьян путем удаления из генома области, отвечающей за репликацию вируса, и мутацией длинных концевых повторов сигнала упаковки и гена интегразы [1, 10]. Однако IDLV характеризуется значительно более низким уровнем экспрессии по сравнению с интегрирующимся лентивирусом [92, 93], а также более низким уровнем риска инсерционного мутагенеза [94]. На основе IDLV созданы рекомбинантные вирусы для повышения эффективности трансдукции дендритных клеток [95], также IDLV использовался для доставки антигенов вируса гриппа H1N1 [96, 97].

Благодаря высокой геномной стабильности в качестве вектора используют вирус парагриппа PIV серотипов 1, 2, 3 и 5, а также В/НPIV3 – химерный вирус парагриппа КРС и человека. Установлено существование возможного расширения тропизма и повышения патогенности при использовании PIV5 [98]. На основе PIV сконструированы вакцины-кандидаты для профилактики парагриппа человека 2-го типа, COVID-19 [99], респираторно-синцитиальной вирусной инфекции [100], лихорадки Эбола [101].

Принято считать, что вакцинный вирус кори MeV штаммов Schwarz и Moraten является безопасным вирусным вектором [10]. MeV позволяет создавать поливалентные рекомбинантные вакцины. Предварительная вакцинация против кори обычно не снижает иммуногенности вакцин с применением MeV в качестве вирусного вектора, также MeV отличается высокой стабильностью [102]. Однако было выявлено, что ранее сформированный иммунитет к кори может влиять на эффективность иммунизации в зависимости от выбранного антигена [103]. На основе MeV были разработаны вакцины-кандидаты для профилактики лихорадки Западного Нила [104], лихорадки Чикунгунья [105], лихорадки Зика [106].

Иногда используют и вирусный вектор на основе вируса болезни Ньюкасла (NDV) с низкой вирулентностью (NDV LaSota, B1), поскольку введение NDV повышает индукцию интерферона, а его белки обладают адъювантными свойствами [10, 107]. Важно учитывать, что человек может быть подвержен NDV, при этом обычно течение заболевания легкое и не вы-

зывает осложнений [108], однако недавно были зафиксированы 2 смертельных случая после заражения людей с иммуносупрессией [109]. Эффективность повторной вакцинации с применением NDV в качестве вектора может снижаться из-за наличия антител к нему, что ограничивает возможность его постоянного использования [4]. На основе NDV были разработаны вакцины-кандидаты против COVID-19 [110], лихорадки Эбола [111].

Характеристика вирусных векторов представлена в **таблице**.

Заключение

В современных подходах к иммунизации людей и животных все чаще используют рекомбинантные вирусные вакцины. Применение рекомбинантных вакцин на основе гомологичного реплицирующегося вектора имеет высокий риск восстановления его патогенных свойств [1, 3, 9]. С целью избежать реверсии вирулентности возбудителя, был разработан альтернативный вариант с более высоким уровнем безопасности – вакцины на основе гетерологичных векторов и векторов с дефектом репликации – «одного вирусного поколения» [3].

Создание и применение рекомбинантных вирусов для вакцинопрофилактики, терапии онкологических заболеваний, генной терапии, изучения вирусного генома значимо улучшают арсенал защитных средств в современной медицине, ветеринарии и биологии, в целом. В настоящее время методология получения рекомбинантных вакцин на основе CRISPR/Cas9, гомологичной рекомбинации и т.д., повысили их безопасность и эффективность вакцинации, сделали возможным создание новых методов лечения онкологических и генетических заболеваний, а исследования в данной области остаются одним из ключевых направлений в современной вирусологии.

Однако применение рекомбинантных вирусов в качестве вакцинных препаратов до настоящего времени относится к малоизученным направлениям как в эпидемиологии, так и в эпизоотологии. В ветеринарии создано и успешно применяются большое количество рекомбинантных вакцин, что вполне оправданно, поскольку их использование на животных дает статистически значимый для медицинских исследователей материал при анализе эффективности и безопасности рекомбинантных вакцин. Распространение вирусов в целевой популяции всегда предполагает возможный контакт вирусного вектора с его вирулентным аналогом, создавая предпосылки к частичному или полному восстановлению патогенных свойств. Кроме того, следует учитывать и скорость изменчивости вирусов, которая для РНК-содержащих вирусов составляет приблизительно 10^{-2} – 10^{-4} нуклеотидных замен на сайт в год, а для ДНК-содержащих вирусов – 10^{-5} – 10^{-6} нуклеотидных замен на сайт в год [117, 118]. Следовательно, вопрос о применении рекомбинантных вирус-вакцин должен решаться на основе совместных исследований эпидемиологов, эпизоотологов, вирусологов и молекулярных биологов.

Таблица. Сравнительная характеристика вирусных векторов [52, 55, 83, 84, 88, 98, 102, 108, 112–116]
Table. Comparative characteristics of viral vectors [52, 55, 83, 84, 88, 98, 102, 108, 112–116]

Семейство, размер генома Family, genome size	Вирусный вектор Viral vector	Емкость вектора Vector capacity	Достоинства Advantages	Недостатки Disadvantages
<i>ДНК-содержащие вирусы</i> <i>DNA viruses</i>				
<i>Adenoviridae</i> 30–45 т.п.о./kb	Ad5, Ad26, ChAd, ChAdOx1	6–15 т.п.о./kb	Широкий тропизм, эффективная трандукция, отсутствие интеграции в геном хозяина Broad tropism, efficient transduction, lack of integration into the host genome	Риск тромбозов. Ad5: высокий уровень превалентно- сти антител у людей Risk of thrombosis. Ad5: high antibody prevalence in humans
<i>Parvoviridae</i> 4,7 т.п.о./kb	AAV	4,5 т.п.о./kb	Высокий и устойчивый иммунный ответ A strong and sustained immune response	Риск тяжелых токсических эффектов Risk of severe toxic effects
<i>Poxviridae</i> 200–300 т.п.о./kb	MVA, NYVAC, VOV	25 т.п.о./kb	Высокая иммуногенность, длительный иммунный ответ, большая емкость. High immunogenicity, long-lasting immune response, high capacity	Высокие дозы повышают побочных эффектов, низкая иммуногенность, у привитых осповакциной High doses increase side effects, low immunogenicity in smallpox vaccinees
<i>Herpesviridae</i> 152 т.п.о./kb	HSV-1	15–25 т.п.о./kb	Большая емкость, высокая онколитическая активность High capacity, high oncolytic activity	Обеспечение безопасности на производстве, токсичность вектора Ensuring safety in production, vector toxicity
<i>РНК-содержащие вирусы</i> <i>RNA viruses</i>				
<i>Rhabdoviridae</i> 11 т.п.о./kb	VSV	До 6 т.п.о. Up to 6 kb	Низкая превалентность антител у людей, высокая иммуногенность Low antibody prevalence in humans, high immunogenicity	Невозможность повторного введения, низкая селективная онколитическая активность Inability to re-administer, low selective oncolytic activity
<i>Retroviridae</i> 10,7 т.п.о./kb	IDLV	До 10 т.п.о. Up to 10 kb	Высокий уровень безопасности, длитель- ный иммунный ответ, сниженный риск инсерционного мутагенеза High level of safety, long-lasting immune response, reduced risk of insertional muta- genesis	Низкий уровень экспрессии генов Low gene expression level
	PIV1, PIV2, PIV3, PIV5, B/HPIV3	1,5–2,5 т.п.о./kb	Высокая геномная стабильность High genomic stability	Возможное расширение тропизма и патогенности Possible expansion of tropism and pathogenicity
<i>Paramyxoviridae</i> 15 т.п.о./kb	MeV	5 т.п.о./kb	Стабильность, возможность создания поливалентных вакцин Stability, the possibility of creating polyva- lent vaccines	Редко: негативное влияние иммунизации от кори на иммуноген- ность рекомбинантных вакцин Rarely: the negative impact of measles immunization on the immunogenicity of recombinant vaccines
	NDV	4,5 т.п.о./kb	Высокая иммуногенность, адъювантные свойства High immunogenicity, adjuvant properties	Снижение эффективности при повторном введении Decreased effectiveness upon repeated administration

ЛИТЕРАТУРА

- Travieso T., Li J., Mahesh S., Mello J.D.F.R.E., Blasi M. The use of viral vectors in vaccine development. *NPJ Vaccines*. 2022; 7(1): 75. <https://doi.org/10.1038/s41541-022-00503-y>
- Jogi H.R., Smaraki N., Rajak K.K., Yadav A.K., Bhatt M., Einstien C., et al. Revolutionizing Veterinary Health with Viral Vector-Based Vaccines. *Indian J. Microbiol.* 2024; 64(3): 867–78. <https://doi.org/10.1007/s12088-024-01341-3>
- Brisse M., Vrba S.M., Kirk N., Liang Y., Ly H. Emerging concepts and technologies in vaccine development. *Front. Immunol.* 2020; 11: 583077. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.583077>
- Choi K.S. Newcastle disease virus vectored vaccines as bivalent or antigen delivery vaccines. *Clin. Exp. Vaccine Res.* 2017; 6(2): 72. <https://doi.org/10.7774/cevr.2017.6.2.72>
- Mendell J.R., Al-Zaidy S., Shell R., Arnold W.D., Rodino-Klapac L.R., Prior T.W., et al. Single-dose gene-replacement therapy for spinal muscular atrophy. *N. Engl. J. Med.* 2017; 377(18): 1713–22. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1706198>
- Ogbonmide T., Rathore R., Rangrej S.B., Hutchinson S., Lewis M., Ojilere S., et al. Gene Therapy for Spinal Muscular Atrophy (SMA): a review of current challenges and safety considerations for onasemnogene abeparvovec (zolgensma). *Cureus*. 2023; 15(3): e36197. <https://doi.org/10.7759/cureus.36197>

7. Ozelo M.C., Mahlangu J., Pasi K.J., Giermasz A., Leavitt A.D., Laffan M., et al. Valoctocogene roxaparvovec gene therapy for hemophilia A. *N. Engl. J. Med.* 2022; 386(11): 1013–25. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2113708>
8. Testa F., Bacci G., Falsini B., Iarossi G., Melillo P., Mucciolo D.P., et al. Voretigene neparvovec for inherited retinal dystrophy due to RPE65 mutations: a scoping review of eligibility and treatment challenges from clinical trials to real practice. *Eye (Lond.)*. 2024; 38(13): 2504–15. <https://doi.org/10.1038/s41433-024-03065-6>
9. Link E.K., Tscherne A., Sutter G., Smith E.R., Gurwith M., Chen R.T., et al. A Brighton collaboration standardized template with key considerations for a benefit/risk assessment for a viral vector vaccine based on a non-replicating modified vaccinia virus Ankara viral vector. *Vaccine*. 2025; 43(Pt. 1): 126521. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2024.126521>
10. Wang S., Liang B., Wang W., Li L., Feng N., Zhao Y., et al. Viral vectored vaccines: design, development, preventive and therapeutic applications in human diseases. *Signal Transduct. Target Ther.* 2023; 8(1): 149. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01408-5>
11. Zhan W., Muhuri M., Tai P.W.L., Gao G. Vectored immunotherapeutics for infectious diseases: can rAAVs be the game changers for fighting transmissible pathogens? *Front. Immunol.* 2021; 12: 673699. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.673699>
12. Nascimento I.P., Leite L.C.C. Recombinant vaccines and the development of new vaccine strategies. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2012; 45(12): 1102–11. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2012007500142>
13. Tukhvatulin A.I., Dolzhikova I.V., Dzharullaeva A.S., Grousova D.M., Kovyshina A.V., Zubkova O.V., et al. Safety and immunogenicity of rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine against SARS-CoV-2 in healthy adolescents: an open-label, non-randomized, multicenter, phase 1/2, dose-escalation study. *Front. Immunol.* 2023; 14: 1228461. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1228461>
14. de Pinho Favaro M.T., Atienza-Garriga J., Martínez-Torró C., Parladé E., Vázquez E., Corchero J.L., et al. Recombinant vaccines in 2022: a perspective from the cell factory. *Microb. Cell Fact.* 2022; 21(1): 203. <https://doi.org/10.1186/s12934-022-01929-8>
15. Valencia S., Gill R.B., Dowdell K.C., Wang Y., Hornung R., Bowman J.J., et al. Comparison of vaccination with rhesus CMV (RhCMV) soluble gB with a RhCMV replication-defective virus deleted for MHC class I immune evasion genes in a RhCMV challenge model. *Vaccine*. 2019; 37(2): 333–42. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.08.043>
16. Rasmussen T.B., Risager P.C., Fahnøe U., Friis M.B., Belsham G.J., Höper D., et al. Efficient generation of recombinant RNA viruses using targeted recombination-mediated mutagenesis of bacterial artificial chromosomes containing full-length cDNA. *BMC Genomics*. 2013; 14: 819. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-819>
17. Zhan X., Lee M., Xiao J., Liu F. Construction and characterization of murine cytomegaloviruses that contain transposon insertions at open reading frames m09 and M83. *J. Virol.* 2000; 74(16): 7411–21. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-819>
18. Urnov F.D., Miller J.C., Lee Y.L., Beausejour C.M., Rock J.M., Augustus S., et al. Highly efficient endogenous human gene correction using designed zinc-finger nucleases. *Nature*. 2005; 435(7042): 646–51. <https://doi.org/10.1038/nature03556>
19. Sakuma T., Hosoi S., Woltjen K., Suzuki K.I., Kashiwagi K., Wada H., et al. Efficient TALEN construction and evaluation methods for human cell and animal applications. *Genes Cells*. 2013; 18(4): 315–26. <https://doi.org/10.1111/gtc.12037>
20. Kuo L., Godeke G.J., Raamsman M.J., Masters P.S., Rottier P.J. Retargeting of coronavirus by substitution of the spike glycoprotein ectodomain: crossing the host cell species barrier. *J. Virol.* 2000; 74(3): 1393–406. <https://doi.org/10.1128/jvi.74.3.1393-1406.2000>
21. Edmonds J., van Grinsven E., Prow N., Bosco-Lauth A., Brault A.C., Bowen R.A., et al. A novel bacterium-free method for generation of flavivirus infectious DNA by circular polymerase extension reaction allows accurate recapitulation of viral heterogeneity. *J. Virol.* 2013; 87(4): 2367–72. <https://doi.org/10.1128/JVI.03162-12>
22. Sedova E.S., Shcherbinin D.N., Migunov A.I., Smirnov Yu.A., Logunov D.Yu., Shmarov M.M., et al. Recombinant influenza vaccines. *Acta Naturae*. 2012; 4(4): 17–27.
23. Walsh E.P., Baron M.D., Rennie L.F., Monaghan P., Anderson J., Barrett T. Recombinant rinderpest vaccines expressing membrane-anchored proteins as genetic markers: evidence of exclusion of marker protein from the virus envelope. *J. Virol.* 2000; 74(21): 10165–75. <https://doi.org/10.1128/jvi.74.21.10165-10175.2000>
24. Supotnitskiy M.V. Genotherapeutic vector systems based on viruses. *Biopreparats (Biopharmaceutics)*. 2011; (3): 15–26.
25. Blasi M., Wescott E.C., Baker E.J., Mildenberg B., LaBranche C., Rountree W., et al. Therapeutic vaccination with IDLV-SIV-Gag results in durable viremia control in chronically SHIV-infected macaques. *NPJ Vaccines*. 2020; 5(1): 36. <https://doi.org/10.1038/s41541-020-0186-5>
26. Blasi M., Negri D., LaBranche C., Alam S.M., Baker E.J., Brunner E.C., et al. IDLV-HIV-1 Env vaccination in non-human primates induces affinity maturation of antigen-specific memory B cells. *Commun. Biol.* 2018; 1: 134. <https://doi.org/10.1038/s42003-018-0131-6>
27. Wang D., Wang X.W., Peng X.C., Xiang Y., Song S.B., Wang Y.Y., et al. CRISPR/Cas9 genome editing technology significantly accelerated herpes simplex virus research. *Cancer Gene Ther.* 2018; 25(5-6): 93–105. <https://doi.org/10.1038/s41417-018-0016-3>
28. Chen J.S., Dagdas Y.S., Kleinstiver B.P., Welch M.M., Sousa A.A., Harrington L.B., et al. Enhanced proofreading governs CRISPR-Cas9 targeting accuracy. *Nature*. 2017; 550(7676): 407–10. <https://doi.org/10.1038/nature24268>
29. Liu M., Rehman S., Tang X., Gu K., Fan Q., Chen D., et al. Methodologies for improving HDR efficiency. *Front. Genet.* 2018; 9: 691. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00691>
30. Tomita A., Sasanuma H., Owa T., Nakazawa Y., Shimada M., Fukuoka T., et al. Inducing multiple nicks promotes interhomolog homologous recombination to correct heterozygous mutations in somatic cells. *Nat. Commun.* 2023; 14(1): 5607. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-41048-5>
31. Nora L.C., Westmann C.A., Martins-Santana L., Alves L.F., Monteiro L.M.O., Guazzaroni M.E., et al. The art of vector engineering: towards the construction of next-generation genetic tools. *Microb. Biotechnol.* 2019; 12(1): 125–47. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13318>
32. Julin D. Plasmid cloning vectors. In: Bell E., ed. *Molecular Life Sciences*. New York: Springer; 2014. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6436-5_86-1
33. Helinski D.R. A brief history of plasmids. *EcoSal Plus*. 2022; 10(1): eESP00282021. <https://doi.org/10.1128/ecosalplus.esp-0028-2021>
34. Zhou Y., Li C., Ren C., Hu J., Song C., Wang X., et al. One-step assembly of a porcine epidemic diarrhea virus infectious cDNA clone by homologous recombination in yeast: rapid manipulation of viral genome with CRISPR/Cas9 gene-editing technology. *Front. Microbiol.* 2022; 13: 787739. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.787739>
35. Dix T.C., Lassota A., Brauer U., Haussmann I.U., Soller M. Gap-repair recombining for efficient retrieval of large DNA fragments from BAC clones and manipulation of large high-copy number plasmids. *BMC Methods*. 2024; 1(1): 11. <https://doi.org/10.1186/s44330-024-00011-6>
36. Hao M., Tang J., Ge S., Li T., Xia N. Bacterial-artificial-chromosome-based genome editing methods and the applications in herpesvirus research. *Microorganisms*. 2023; 11(3): 589. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030589>
37. Chen F., Li Y.Y., Yu Y.L., Dai J., Huang J.L., Lin J. Simplified plasmid cloning with a universal MCS design and bacterial in vivo assembly. *BMC Biotechnol.* 2021; 21(1): 24. <https://doi.org/10.1186/s12896-021-00679-6>
38. Li C., Wen A., Shen B., Lu J., Huang Y., Chang Y. FastCloning: a highly simplified, purification-free, sequence- and ligation-independent PCR cloning method. *BMC Biotechnol.* 2011; 11: 92. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-11-92>
39. Walhout A.J., Temple G.F., Brasch M.A., Hartley J.L., Lorson M.A., van den Heuvel S., et al. GATEWAY recombinational cloning: application to the cloning of large numbers of open reading frames or ORFeomes. *Methods Enzymol.* 2000; 328: 575–92. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(00\)28419-x](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(00)28419-x)
40. Motohashi K. A simple and efficient seamless DNA cloning method using SLICE from *Escherichia coli* laboratory strains and its application to SLIP site-directed mutagenesis. *BMC Biotechnol.* 2015; 15: 47. <https://doi.org/10.1186/s12896-015-0162-8>
41. Engler C., Gruetzner R., Kandzia R., Marillonnet S. Golden gate shuffling: a one-pot DNA shuffling method based on type II restriction enzymes. *PLoS One*. 2009; 4(5): e5553. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005553>
42. Koskela E.V., Frey A.D. Homologous recombinatorial cloning without the creation of single-stranded ends: exonuclease and ligation-independent cloning (ELIC). *Mol. Biotechnol.* 2015; 57(3): 233–40. <https://doi.org/10.1007/s12033-014-9817-2>
43. Li M.Z., Elledge S.J. Harnessing homologous recombination in vitro to generate recombinant DNA via SLIC. *Nat. Methods*. 2007; 4(3): 251–6. <https://doi.org/10.1038/nmeth1010>
44. Tan L., Strong E.J., Woods K., West N.P. Homologous alignment cloning: a rapid, flexible and highly efficient general molecular

- cloning method. *PeerJ*. 2018; 6: e5146. <https://doi.org/10.7717/peerj.5146>
45. Jeong J.Y., Yim H.S., Ryu J.Y., Lee H.S., Lee J.H., Seen D.S., et al. One-step sequence- and ligation-independent cloning as a rapid and versatile cloning method for functional genomics studies. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012; 78(15): 5440–3. <https://doi.org/10.1128/AEM.00844-12>
46. Zhu B., Cai G., Hall E.O., Freeman G.J. In-fusion assembly: seamless engineering of multidomain fusion proteins, modular vectors, and mutations. *Biotechniques*. 2007; 43(3): 354–9. <https://doi.org/10.2144/000112536>
47. Zhou D., Zhou X., Bian A., Li H., Chen H., Small J.C., et al. An efficient method of directly cloning chimpanzee adenovirus as a vaccine vector. *Nat. Protoc.* 2010; 5(11): 1775–85. <https://doi.org/10.1038/nprot.2010.134>
48. Davison A.J., Benkő M., Harrach B. Genetic content and evolution of adenoviruses. *J. Gen. Virol.* 2003; 84(Pt. 11): 2895–908. <https://doi.org/10.1099/vir.0.19497-0>
49. Davis A.R., Wivel N.A., Palladino J.L., Tao L., Wilson J.M. Construction of adenoviral vectors. *Mol. Biotechnol.* 2001; 18(1): 63–70. <https://doi.org/10.1385/MB:18:1:63>
50. Elkashif A., Alhashimi M., Sayedahmed E.E., Sambhara S., Mittal S.K. Adenoviral vector-based platforms for developing effective vaccines to combat respiratory viral infections. *Clin. Transl. Immunology*. 2021; 10(10): e1345. <https://doi.org/10.1002/cti2.1345>
51. Gray G., Buchbinder S., Duerr A. Overview of STEP and Phambili trial results: two phase IIb test-of-concept studies investigating the efficacy of MRK adenovirus type 5 gag/pol/nef subtype B HIV vaccine. *Curr. Opin. HIV AIDS*. 2010; 5(5): 357–61. <https://doi.org/10.1097/COH.0b013e32833d2d2b>
52. Logunov D.Y., Dolzhenko I.V., Shcheblyakov D.V., Tikhvutulin A.I., Zubkova O.V., Dzharullaeva A.S., et al. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. *Lancet*. 2021; 397(10275): 671–81. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00386-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00386-X)
53. Wu S., Huang J., Zhang Z., Wu J., Zhang J., Hu H., et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of an aerosolised adenovirus type-5 vector-based COVID-19 vaccine (Ad5-nCoV) in adults: preliminary report of an open-label and randomised phase 1 clinical trial. *Lancet Infect. Dis.* 2021; 21(12): 1654–64. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00396-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00396-0)
54. 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](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31208-3)
55. Xu J.W., Wang B.S., Gao P., Huang H.T., Wang F.Y., Qiu W., et al. Safety and immunogenicity of heterologous boosting with orally administered aerosolized bivalent adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine and B.1.1.529 variant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine in adults 18 years and older: a randomized, double blinded, parallel controlled trial. *Emerg. Microbes Infect.* 2024; 13(1): 2281355. <https://doi.org/10.1080/22221751.2023.2281355>
56. See I., Su J.R., Lale A., Woo E.J., Guh A.Y., Shimabukuro T.T., et al. US case reports of cerebral venous sinus thrombosis with thrombocytopenia after Ad26.COV2.S vaccination, March 2 to April 21, 2021. *JAMA*. 2021; 325(24): 2448–56. <https://doi.org/10.1001/jama.2021.7517>
57. Sadoff J., Gray G., Vandebosch A., Cárdenas V., Shukarev G., Grinsztejn B., et al. Safety and efficacy of single-dose Ad26.COV2.S vaccine against COVID-19. *N. Engl. J. Med.* 2021; 384(23): 2187–201. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2101544>
58. Bos R., Rutten L., van der Lubbe J.E.M., Bakkers M.J.G., Hardenberg G., Wegmann F., et al. Ad26 vector-based COVID-19 vaccine encoding a prefusion-stabilized SARS-CoV-2 Spike immunogen induces potent humoral and cellular immune responses. *NPJ Vaccines*. 2020; 5: 91. <https://doi.org/10.1038/s41541-020-00243-x>
59. Zhu F.C., Hou L.H., Li J.X., Wu S.P., Liu P., Zhang G.R., et al. Safety and immunogenicity of a novel recombinant adenovirus type-5 vector-based Ebola vaccine in healthy adults in China: preliminary report of a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1 trial. *Lancet*. 2015; 385(9984): 2272–9. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)60553-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60553-0)
60. Zhang Z., Zhao Z., Wang Y., Wu S., Wang B., Zhang J., et al. Comparative immunogenicity analysis of intradermal versus intramuscular immunization with a recombinant human adenovirus type 5 vaccine against Ebola virus. *Front. Immunol.* 2022; 13: 963049. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.963049>
61. Anywaine Z., Whitworth H., Kaleebu P., Praygod G., Shukarev G., Manno D., et al. Safety and immunogenicity of a 2-dose heterologous vaccination regimen with Ad26.ZEBOV and MVA-BN-Filo Ebola vaccines: 12-month data from a phase 1 randomized clinical trial in Uganda and Tanzania. *J. Infect. Dis.* 2019; 220(1): 46–56. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00128-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00128-6)
62. Schultz N.H., Sørvoll I.H., Michelsen A.E., Munthe L.A., Lund-Johansen F., Ahlen M.T., et al. Thrombosis and thrombocytopenia after ChAdOx1 nCoV-19 vaccination. *N. Engl. J. Med.* 2021; 384(22): 2124–30. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2104882>
63. Greinacher A., Selleng K., Palankar R., Wesche J., Handtke S., Wolff M., et al. Insights in ChAdOx1 nCoV-19 vaccine-induced immune thrombotic thrombocytopenia. *Blood*. 2021; 138(22): 2256–68. <https://doi.org/10.1182/blood.2021013231>
64. Baker A.T., Boyd R.J., Sarkar D., Teixeira-Crespo A., Chan C.K., Bates E., et al. ChAdOx1 interacts with CAR and PF4 with implications for thrombosis with thrombocytopenia syndrome. *Sci. Adv.* 2021; 7(49): eabl8213. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abl8213>
65. Ewer K., Rampling T., Venkatraman N., Bowyer G., Wright D., Lambie T., et al. A monovalent chimpanzee adenovirus Ebola vaccine boosted with MVA. *N. Engl. J. Med.* 2016; 374(17): 1635–46. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1411627>
66. Warimwe G.M., Lorenzo G., Lopez-Gil E., Reyes-Sandoval A., Cottingham M.G., Spencer A.J., et al. Immunogenicity and efficacy of a chimpanzee adenovirus-vectored Rift Valley fever vaccine in mice. *Virol. J.* 2013; 10: 349. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-10-349>
67. Manning W.C., Paliard X., Zhou S., Pat Bland M., Lee A.Y., Hong K., et al. Genetic immunization with adeno-associated virus vectors expressing herpes simplex virus type 2 glycoproteins B and D. *J. Virol.* 1997; 71(10): 7960–2. <https://doi.org/10.1128/JVI.71.10.7960-7962>
68. Derkaev A.A., Ryabova E.I., Esmagambetov I.B., Shcheblyakov D.V., Godakova S.A., Vinogradova I.D., et al. rAAV expressing recombinant neutralizing antibody for the botulinum neurotoxin type A prophylaxis. *Front. Microbiol.* 2022; 13: 960937. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.960937>
69. Liao G., Lau H., Liu Z., Li C., Xu Z., Qi X., et al. Single-dose rAAV5-based vaccine provides long-term protective immunity against SARS-CoV-2 and its variants. *Virol. J.* 2022; 19(1): 212. <https://doi.org/10.1186/s12985-022-01940-w>
70. Pipe S.W., Leebeek F.W.G., Recht M., Key N.S., Castaman G., Miesbach W., et al. Gene therapy with etranacogene dezaparvovec for hemophilia B. *N. Engl. J. Med.* 2023; 388(8): 706–18. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2211644>
71. Ertl H.C.J. Immunogenicity and toxicity of AAV gene therapy. *Front. Immunol.* 2022; 13: 975803. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.975803>
72. Pantaleo G., Janes H., Karuna S., Grant S., Ouedraogo G.L., Allen M., et al. Safety and immunogenicity of a multivalent HIV vaccine comprising envelope protein with either DNA or NYVAC vectors (HVTN 096): a phase 1b, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet HIV*. 2019; 6(11): e737–49. [https://doi.org/10.1016/S2352-3018\(20\)30002-3](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(20)30002-3)
73. Mastrangelo M.J., Eisenlohr L.C., Gomella L., Lattime E.C. Poxvirus vectors: orphaned and underappreciated. *J. Clin. Invest.* 2000; 105(8): 1031–4. <https://doi.org/10.1172/JCI9819>
74. Draper S.J., Cottingham M.G., Gilbert S.C. Utilizing poxviral vectored vaccines for antibody induction-progress and prospects. *Vaccine*. 2013; 31(39): 4223–30.
75. Ura T., Okuda K., Shimada M. Developments in viral vector-based vaccines. *Vaccines*. 2014; 2(3): 624–41. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.05.091>
76. Chen Z., Zhang L., Qin C., Ba L., Yi C.E., Zhang F., et al. Recombinant modified vaccinia virus Ankara expressing the spike glycoprotein of severe acute respiratory syndrome coronavirus induces protective neutralizing antibodies primarily targeting the receptor binding region. *J. Virol.* 2005; 79(5): 2678–88. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.5.2678-2688.2005>
77. Gönczöl E., Berenski K., Pincus S., Endresz V., Méric C., Paoletti E., et al. Preclinical evaluation of an ALVAC (canarypox) – human cytomegalovirus glycoprotein B vaccine candidate. *Vaccines*. 1995; 13(12): 1080–5. [https://doi.org/10.1016/0264-410x\(95\)00048-6](https://doi.org/10.1016/0264-410x(95)00048-6)
78. Naberezhnaya E.R., Soboleva A.V., Vorobyev P.O., Vadekhina V.V., Yusubalieva G.M., Isaeva I.V., et al. Interferon type I-expressing recombinant vaccinia virus as a platform for selective immunotherapy of glioblastoma and melanoma. *Bulletin of Russian State Medical University*. 2024; (6): 18–26. <https://doi.org/10.24075/brsmu.2024.072> <https://elibrary.ru/rgazed>
79. Кулигина Е.В., Рихтер В.А., Власов В.В. Противоопухолевый препарат на основе генно-модифицированного вируса осповак-

- цины VV-GMCSF-LACT. *Вестник Российской академии наук*. 2023; 93(3): 855–64. <https://doi.org/10.31857/S0869587323090098> <https://elibrary.ru/ugrbdm>
80. Open multi-cohort study of the first phase of safety of a drug based on double recombinant vaccinia virus VV-GMCSF-Lact; 2025. Available at: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05376527?%20cond=cancer&intr=lactaptin&rank=1>
 81. Шакиба Я., Набережная Е.Р., Кочетков Д.В., Юсубалиева Г.М., Воробьев П.О., Чумаков П.М. и др. Сравнение онколитической активности рекомбинантных штаммов вируса осповакцины LIVP-RFP и MVA-RFP в отношении солидных опухолей. *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2023; (2): 4–12. <https://doi.org/10.24075/vrgmu.2023.010>
 82. Su D., Han L., Shi C., Li Y., Qian S., Feng Z., et al. An updated review of HSV-1 infection-associated diseases and treatment, vaccine development, and vector therapy application. *Virulence*. 2024; 15(1): 2425744. <https://doi.org/10.1080/21505594.2024.2425744>
 83. Ingusci S., Goins W.F., Cohen J.B., Miyagawa Y., Knipe D.M., Gori J.C. Next-generation replication-defective HSV vectors for delivery of large DNA payloads. *Mol. Ther.* 2025; 33(5): 2205–16. <https://doi.org/10.1016/j.mth.2025.03.055>
 84. Калиберденко В.Б., Арамян Э.Э., Зинченко М.С. Особенности онколитической вирографии и ее применение для лечения глиобластомы. *Клинический разбор в общей медицине*. 2024; 5(12): 51–4. <https://doi.org/10.47407/kr2024.5.12.00537>
 85. Губанова Н.В., Гайтан А.С., Разумов И.А., Мордвинов В.А., Кривошапкин А.Л., Нетесов С.В. и др. Онколитические вирусы в терапии глиом. *Молекулярная биология*. 2012; 46(6): 874–86. <https://elibrary.ru/pfeyjr>
 86. Senzer N.N., Kaufman H.L., Amatruda T., Nemunaitis M., Reid T., Daniels G., et al. Phase II Clinical trial of a granulocyte-macrophage colony-stimulating factor – encoding, second-generation oncolytic herpesvirus in patients with unresectable metastatic melanoma. *JCO*. 2009; 27(34): 5763–71. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.24.367>
 87. Guide S.V., Gonzalez M.E., Bağcı I.S., Agostini B., Chen H., Feeney G., et al. Trial of Beremagene Geperpavec (B-VEC) for dysmorphic epidermolysis bullosa. *N. Engl. J. Med.* 2022; 387(24): 2211–9. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2206663>
 88. Ollmann Saphire E. A vaccine against Ebola Virus. *Cell*. 2020; 181(1): 6. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.03.011>
 89. Munis A.M., Bentley E.M., Takeuchi Y. A tool with many applications: vesicular stomatitis virus in research and medicine. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2020; 20(10): 1187–201. <https://doi.org/10.1080/14712598.2020.1787981>
 90. Mire C.E., Geisbert J.B., Agans K.N., Satterfield B.A., Versteeg K.M., Fritz E.A., et al. Durability of a vesicular stomatitis virus-based Marburg virus vaccine in nonhuman primates. *PLoS One*. 2014; 9(4): e94355. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094355>
 91. Stein D.R., Warner B.M., Soule G., Tierney K., Frost K.L., Booth S., et al. A recombinant vesicular stomatitis-based Lassa fever vaccine elicits rapid and long-term protection from lethal Lassa virus infection in guinea pigs. *NPJ Vaccines*. 2019; 4: 8. <https://doi.org/10.1038/s41541-019-0104-x>
 92. Hamilton A.M., Foster P.J., Ronald J.A. Evaluating nonintegrating lentiviruses as safe vectors for noninvasive reporter-based molecular imaging of multipotent mesenchymal stem cells. *Hum. Gene Ther.* 2018; 29(10): 1213–25. <https://doi.org/10.1089/hum.2018.111>
 93. Dong W., Kantor B. Lentiviral vectors for delivery of gene-editing systems based on CRISPR/Cas: current state and perspectives. *Viruses*. 2021; 13(7): 1288. <https://doi.org/10.3390/v13071288>
 94. Apollonia L. The old and the new: prospects for non-integrating lentiviral vector technology. *Viruses*. 2020; 12(10): 1103. <https://doi.org/10.3390/v12101103>
 95. Negri D.R.M., Rossi A., Blasi M., Michelini Z., Leone P., Chiantore M.V., et al. Simian immunodeficiency virus-Vpx for improving integrase defective lentiviral vector-based vaccines. *Retrovirology*. 2012; 9: 69. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-9-69>
 96. Gallinaro A., Borghi M., Bona R., Grasso F., Calzoletti L., Palladino L., et al. Integrase defective lentiviral vector as a vaccine platform for delivering influenza antigens. *Front. Immunol.* 2018; 9: 171. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00171>
 97. Fontana J.M., Christos P.J., Michelini Z., Negri D., Cara A., Salvatore M. Mucosal immunization with integrase-defective lentiviral vectors protects against influenza virus challenge in mice. *PLoS One*. 2014; 9(5): e97270. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097270>
 98. Chen Z. Parainfluenza virus 5-vectored vaccines against human and animal infectious diseases. *Rev. Med. Virol.* 2018; 28(2): e1965. <https://doi.org/10.1002/rmv.1965>
 99. An D., Li K., Rowe D.K., Diaz M.C.H., Griffin E.F., Beavis A.C., et al. Protection of K18-hACE2 mice and ferrets against SARS-CoV-2 challenge by a single-dose mucosal immunization with a parainfluenza virus 5-based COVID-19 vaccine. *Sci. Adv.* 2021; 7(27): eabi5246. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.103379>
 100. Liang B., Ngwuta J.O., Herbert R., Swerczek J., Dorward D.W., Amaro-Carambot E., et al. Packaging and prefusion stabilization separately and additively increase the quantity and quality of Respiratory Syncytial Virus (RSV)-neutralizing antibodies induced by an RSV fusion protein expressed by a parainfluenza virus vector. *J. Virol.* 2016; 90(21): 10022–38. <https://doi.org/10.1128/JVI.01196-16>
 101. Lingemann M., Liu X., Surman S., Liang B., Herbert R., Hakenberg A.D., et al. Attenuated human parainfluenza virus type 1 expressing Ebola virus glycoprotein GP administered intranasally is immunogenic in African green monkeys. *J. Virol.* 2017; 91(10): e02469-16. <https://doi.org/10.1128/JVI.02469-16>
 102. Brandler S., Tangy F. Recombinant vector derived from live attenuated measles virus: potential for flavivirus vaccines. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2008; 31(2-3): 271–91. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2007.07.012>
 103. Ebenig A., Lange M.V., Mühlebach M.D. Versatility of live-attenuated measles viruses as platform technology for recombinant vaccines. *NPJ Vaccines*. 2022; 7(1): 119. <https://doi.org/10.1038/s41541-022-00543-4>
 104. Després P., Combredet C., Frenkiel M.P., Lorin C., Brahic M., Tangy F. Live measles vaccine expressing the secreted form of the West Nile virus envelope glycoprotein protects against West Nile virus encephalitis. *J. Infect. Dis.* 2005; 191(2): 207–14. <https://doi.org/10.1086/426824>
 105. Rossi S.L., Comer J.E., Wang E., Azar S.R., Lawrence W.S., Planete J.A., et al. Immunogenicity and efficacy of a measles virus-vectored chikungunya vaccine in nonhuman primates. *J. Infect. Dis.* 2019; 220(5): 735–42. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz202>
 106. Nürnberger C., Bodmer B.S., Fiedler A.H., Gabriel G., Mühlebach M.D. A measles virus-based vaccine candidate mediates protection against Zika virus in an allogeneic mouse pregnancy model. *J. Virol.* 2019; 93(3): e01485-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.01485-18>
 107. Fournier P., Arnold A., Wilden H., Schirmacher V. Newcastle disease virus induces pro-inflammatory conditions and type I interferon for counter-acting Treg activity. *Int. J. Oncol.* 2012; 40(3): 840–50. <https://doi.org/10.3892/ijo.2011.1265>
 108. Kim S.H., Samal S. Newcastle disease virus as a vaccine vector for development of human and veterinary vaccines. *Viruses*. 2016; 8(7): 183. <https://doi.org/10.3390/v8070183>
 109. Kuiken T., Buijs P., Van Run P., Van Amerongen G., Koopmans M., Van Den Hoogen B. Pigeon paramyxovirus type 1 from a fatal human case induces pneumonia in experimentally infected cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*). *Vet. Res.* 2017; 48(1): 80. <https://doi.org/10.1186/s13567-017-0486-6>
 110. Sun W., Liu Y., Amanat F., González-Domínguez I., McCroskery S., Slamanig S., et al. A Newcastle disease virus expressing a stabilized spike protein of SARS-CoV-2 induces protective immune responses. *Nat. Commun.* 2021; 12(1): 6197. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26499-y>
 111. DiNapoli J.M., Yang L., Samal S.K., Murphy B.R., Collins P.L., Bukreyev A. Respiratory tract immunization of non-human primates with a Newcastle disease virus-vectored vaccine candidate against Ebola virus elicits a neutralizing antibody response. *Vaccine*. 2010; 29(1): 17–25. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.10.024>
 112. Gonçalves M.A. Adeno-associated virus: from defective virus to effective vector. *Virol. J.* 2005; 2(1): 43. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-2-43>
 113. Somia N., Verma I.M. Gene therapy: trials and tribulations. *Nat. Rev. Genet.* 2000; 1(2): 91–9. <https://doi.org/10.1038/35038533>
 114. Schubert M., Harmison G.G., Meier E. Primary structure of the vesicular stomatitis virus polymerase (L) gene: evidence for a high frequency of mutations. *J. Virol.* 1984; 51(2): 505–14. <https://doi.org/10.1128/JVI.51.2.505-514.1984>
 115. An H.Y., Kim G.N., Wu K., Kang C.Y. Genetically modified VSVNJ vector is capable of accommodating a large foreign gene insert and allows high level gene expression. *Virus Res.* 2013; 171(1): 168–77. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.11.007>
 116. Kalidasan V., Ng W.H., Ishola O.A., Ravichantar N., Tan J.J., Das K.T. A guide in lentiviral vector production for hard-to-transfect cells, using cardiac-derived c-kit expressing cells as a model system. *Sci. Rep.* 2021; 11(1): 19265. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98657-7>
 117. Jenkins G.M., Pagel M., Gould E.A., de A Zanotto P.M., Holmes E.C. Evolution of base composition and codon usage bi-

as in the genus Flavivirus. *J. Mol. Evol.* 2001; 52: 383. <https://doi.org/10.1007/s002390010168>

118. Duffy S., Shackelton L.A., Holmes E.C. Rates of evolutionary change in viruses: patterns and determinants. *Nat. Rev. Genet.* 2008; 9: 267. <https://doi.org/10.1038/nrg2323>

REFERENCES

1. Travieso T., Li J., Mahesh S., Mello J.D.F.R.E., Blasi M. The use of viral vectors in vaccine development. *NPJ Vaccines.* 2022; 7(1): 75. <https://doi.org/10.1038/s41541-022-00503-y>
2. Jogi H.R., Smaraki N., Rajak K.K., Yadav A.K., Bhatt M., Einstien C., et al. Revolutionizing Veterinary Health with Viral Vector-Based Vaccines. *Indian J. Microbiol.* 2024; 64(3): 867–78. <https://doi.org/10.1007/s12088-024-01341-3>
3. Brisse M., Vrba S.M., Kirk N., Liang Y., Ly H. Emerging concepts and technologies in vaccine development. *Front. Immunol.* 2020; 11: 583077. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.583077>
4. Choi K.S. Newcastle disease virus vectored vaccines as bivalent or antigen delivery vaccines. *Clin. Exp. Vaccine Res.* 2017; 6(2): 72. <https://doi.org/10.7774/cevr.2017.6.2.72>
5. Mendell J.R., Al-Zaidy S., Shell R., Arnold W.D., Rodino-Klapac L.R., Prior T.W., et al. Single-dose gene-replacement therapy for spinal muscular atrophy. *N. Engl. J. Med.* 2017; 377(18): 1713–22. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1706198>
6. Ogbonmide T., Rathore R., Rangrej S.B., Hutchinson S., Lewis M., Ojilere S., et al. Gene Therapy for Spinal Muscular Atrophy (SMA): a review of current challenges and safety considerations for onasemnogene abeparvovec (zolgensma). *Cureus.* 2023; 15(3): e36197. <https://doi.org/10.7759/cureus.36197>
7. Ozelo M.C., Mahlangu J., Pasi K.J., Giermasz A., Leavitt A.D., Laffan M., et al. Valoctocogene roxaparvovec gene therapy for hemophilia A. *N. Engl. J. Med.* 2022; 386(11): 1013–25. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2113708>
8. Testa F., Bacci G., Falsini B., Iarossi G., Melillo P., Mucciolo D.P., et al. Voretigene neparvovec for inherited retinal dystrophy due to RPE65 mutations: a scoping review of eligibility and treatment challenges from clinical trials to real practice. *Eye (Lond.)* 2024; 38(13): 2504–15. <https://doi.org/10.1038/s41433-024-03065-6>
9. Link E.K., Tscherne A., Sutter G., Smith E.R., Gurwith M., Chen R.T., et al. A Brighton collaboration standardized template with key considerations for a benefit/risk assessment for a viral vector vaccine based on a non-replicating modified vaccinia virus Ankara viral vector. *Vaccine.* 2025; 43(Pt. 1): 126521. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2024.126521>
10. Wang S., Liang B., Wang W., Li L., Feng N., Zhao Y., et al. Viral vectored vaccines: design, development, preventive and therapeutic applications in human diseases. *Signal Transduct. Target Ther.* 2023; 8(1): 149. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01408-5>
11. Zhan W., Muhuri M., Tai P.W.L., Gao G. Vectored immunotherapeutics for infectious diseases: can rAAVs be the game changers for fighting transmissible pathogens? *Front. Immunol.* 2021; 12: 673699. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.673699>
12. Nascimento I.P., Leite L.C.C. Recombinant vaccines and the development of new vaccine strategies. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2012; 45(12): 1102–11. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2012007500142>
13. Tukhvatulin A.I., Dolzhikova I.V., Dzharullaeva A.S., Grousova D.M., Kovyryshina A.V., Zubkova O.V., et al. Safety and immunogenicity of rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine against SARS-CoV-2 in healthy adolescents: an open-label, non-randomized, multicenter, phase 1/2, dose-escalation study. *Front. Immunol.* 2023; 14: 1228461. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1228461>
14. de Pinho Favaro M.T., Atienza-Garriga J., Martínez-Torró C., Parladé E., Vázquez E., Corchero J.L., et al. Recombinant vaccines in 2022: a perspective from the cell factory. *Microb. Cell Fact.* 2022; 21(1): 203. <https://doi.org/10.1186/s12934-022-01929-8>
15. Valencia S., Gill R.B., Dowdell K.C., Wang Y., Hornung R., Bowman J.J., et al. Comparison of vaccination with rhesus CMV (RhCMV) soluble gB with a RhCMV replication-defective virus deleted for MHC class I immune evasion genes in a RhCMV challenge model. *Vaccine.* 2019; 37(2): 333–42. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.08.043>
16. Rasmussen T.B., Risager P.C., Fahnøe U., Friis M.B., Belsham G.J., Höper D., et al. Efficient generation of recombinant RNA viruses using targeted recombination-mediated mutagenesis of bacterial artificial chromosomes containing full-length cDNA. *BMC Genomics.* 2013; 14: 819. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-819>
17. Zhan X., Lee M., Xiao J., Liu F. Construction and characterization of murine cytomegaloviruses that contain transposon insertions at open reading frames m09 and M83. *J. Virol.* 2000; 74(16): 7411–21. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-819>
18. Urnov F.D., Miller J.C., Lee Y.L., Beausejour C.M., Rock J.M., Augustus S., et al. Highly efficient endogenous human gene correction using designed zinc-finger nucleases. *Nature.* 2005; 435(7042): 646–51. <https://doi.org/10.1038/nature03556>
19. Sakuma T., Hosoi S., Woltjen K., Suzuki K.I., Kashiwagi K., Wada H., et al. Efficient TALEN construction and evaluation methods for human cell and animal applications. *Genes Cells.* 2013; 18(4): 315–26. <https://doi.org/10.1111/gtc.12037>
20. Kuo L., Godeke G.J., Raamsman M.J., Masters P.S., Rottier P.J. Retargeting of coronavirus by substitution of the spike glycoprotein ectodomain: crossing the host cell species barrier. *J. Virol.* 2000; 74(3): 1393–406. <https://doi.org/10.1128/jvi.74.3.1393-1406.2000>
21. Edmonds J., van Grinsven E., Prow N., Bosco-Lauth A., Brault A.C., Bowen R.A., et al. A novel bacterium-free method for generation of flavivirus infectious DNA by circular polymerase extension reaction allows accurate recapitulation of viral heterogeneity. *J. Virol.* 2013; 87(4): 2367–72. <https://doi.org/10.1128/JVI.03162-12>
22. Sedova E.S., Shcherbinin D.N., Migunov Yu.A., Smirnov Yu.A., Logunov D.Yu., Shmarov M.M., et al. Recombinant influenza vaccines. *Acta Naturae.* 2012; 4(4): 17–27.
23. Walsh E.P., Baron M.D., Rennie L.F., Monaghan P., Anderson J., Barrett T. Recombinant rinderpest vaccines expressing membrane-anchored proteins as genetic markers: evidence of exclusion of marker protein from the virus envelope. *J. Virol.* 2000; 74(21): 10165–75. <https://doi.org/10.1128/jvi.74.21.10165-10175.2000>
24. Supotnitskiy M.V. Genotherapeutic vector systems based on viruses. *Biopreparats (Biopharmaceuticals).* 2011; (3): 15–26.
25. Blasi M., Wescott E.C., Baker E.J., Mildenberg B., LaBranche C., Rountree W., et al. Therapeutic vaccination with IDLV-SIV-Gag results in durable viremia control in chronically SHIV-infected macaques. *NPJ Vaccines.* 2020; 5(1): 36. <https://doi.org/10.1038/s41541-020-0186-5>
26. Blasi M., Negri D., LaBranche C., Alam S.M., Baker E.J., Brunner E.C., et al. IDLV-HIV-1 Env vaccination in non-human primates induces affinity maturation of antigen-specific memory B cells. *Commun. Biol.* 2018; 1: 134. <https://doi.org/10.1038/s42003-018-0131-6>
27. Wang D., Wang X.W., Peng X.C., Xiang Y., Song S.B., Wang Y.Y., et al. CRISPR/Cas9 genome editing technology significantly accelerated herpes simplex virus research. *Cancer Gene Ther.* 2018; 25(5-6): 93–105. <https://doi.org/10.1038/s41417-018-0016-3>
28. Chen J.S., Dagdas Y.S., Kleinstiver B.P., Welch M.M., Sousa A.A., Harrington L.B., et al. Enhanced proofreading governs CRISPR-Cas9 targeting accuracy. *Nature.* 2017; 550(7676): 407–10. <https://doi.org/10.1038/nature24268>
29. Liu M., Rehman S., Tang X., Gu K., Fan Q., Chen D., et al. Methodologies for improving HDR efficiency. *Front. Genet.* 2018; 9: 691. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00691>
30. Tomita A., Sasanuma H., Owa T., Nakazawa Y., Shimada M., Fukuoka T., et al. Inducing multiple nicks promotes interhomolog homologous recombination to correct heterozygous mutations in somatic cells. *Nat. Commun.* 2023; 14(1): 5607. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-41048-5>
31. Nora L.C., Westmann C.A., Martins-Santana L., Alves L.F., Monteiro L.M.O., Guazzaroni M.E., et al. The art of vector engineering: towards the construction of next-generation genetic tools. *Microb. Biotechnol.* 2019; 12(1): 125–47. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13318>
32. Julin D. Plasmid cloning vectors. In: Bell E., ed. *Molecular Life Sciences*. New York: Springer; 2014. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6436-5_86-1
33. Helinski D.R. A brief history of plasmids. *EcoSal Plus.* 2022; 10(1): eESP00282021. <https://doi.org/10.1128/ecosalplus.esp-0028-2021>
34. Zhou Y., Li C., Ren C., Hu J., Song C., Wang X., et al. One-step assembly of a porcine epidemic diarrhea virus infectious cDNA clone by homologous recombination in yeast: rapid manipulation of viral genome with CRISPR/Cas9 gene-editing technology. *Front. Microbiol.* 2022; 13: 787739. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.787739>
35. Dix T.C., Lassota A., Brauer U., Haussmann I.U., Solter M. Gap-repair recombineering for efficient retrieval of large DNA fragments from BAC clones and manipulation of large high-copy number plasmids. *BMC Methods.* 2024; 1(1): 11. <https://doi.org/10.1186/s44330-024-00011-6>
36. Hao M., Tang J., Ge S., Li T., Xia N. Bacterial-artificial-chromosome-based genome editing methods and the applications in herpesvirus research. *Microorganisms.* 2023; 11(3): 589. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030589>

37. Chen F., Li Y.Y., Yu Y.L., Dai J., Huang J.L., Lin J. Simplified plasmid cloning with a universal MCS design and bacterial in vivo assembly. *BMC Biotechnol.* 2021; 21(1): 24. <https://doi.org/10.1186/s12896-021-00679-6>
38. Li C., Wen A., Shen B., Lu J., Huang Y., Chang Y. FastCloning: a highly simplified, purification-free, sequence- and ligation-independent PCR cloning method. *BMC Biotechnol.* 2011; 11: 92. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-11-92>
39. Walhout A.J., Temple G.F., Brasch M.A., Hartley J.L., Lorson M.A., van den Heuvel S., et al. GATEWAY recombinational cloning: application to the cloning of large numbers of open reading frames or ORFeomes. *Methods Enzymol.* 2000; 328: 575–92. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(00\)28419-x](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(00)28419-x)
40. Motohashi K. A simple and efficient seamless DNA cloning method using SLICE from *Escherichia coli* laboratory strains and its application to SLiP site-directed mutagenesis. *BMC Biotechnol.* 2015; 15: 47. <https://doi.org/10.1186/s12896-015-0162-8>
41. Engler C., Gruetznert R., Kandzia R., Marillonnet S. Golden gate shuffling: a one-pot DNA shuffling method based on type IIs restriction enzymes. *PLoS One.* 2009; 4(5): e5553. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005553>
42. Koskela E.V., Frey A.D. Homologous recombinational cloning without the creation of single-stranded ends: exonuclease and ligation-independent cloning (ELIC). *Mol. Biotechnol.* 2015; 57(3): 233–40. <https://doi.org/10.1007/s12033-014-9817-2>
43. Li M.Z., Elledge S.J. Harnessing homologous recombination in vitro to generate recombinant DNA via SLIC. *Nat. Methods.* 2007; 4(3): 251–6. <https://doi.org/10.1038/nmeth1010>
44. Tan L., Strong E.J., Woods K., West N.P. Homologous alignment cloning: a rapid, flexible and highly efficient general molecular cloning method. *PeerJ.* 2018; 6: e5146. <https://doi.org/10.7717/peerj.5146>
45. Jeong J.Y., Yim H.S., Ryu J.Y., Lee H.S., Lee J.H., Seen D.S., et al. One-step sequence- and ligation-independent cloning as a rapid and versatile cloning method for functional genomics studies. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012; 78(15): 5440–3. <https://doi.org/10.1128/AEM.00844-12>
46. Zhu B., Cai G., Hall E.O., Freeman G.J. In-fusion assembly: seamless engineering of multidomain fusion proteins, modular vectors, and mutations. *Biotechniques.* 2007; 43(3): 354–9. <https://doi.org/10.2144/000112536>
47. Zhou D., Zhou X., Bian A., Li H., Chen H., Small J.C., et al. An efficient method of directly cloning chimpanzee adenovirus as a vaccine vector. *Nat. Protoc.* 2010; 5(11): 1775–85. <https://doi.org/10.1038/nprot.2010.134>
48. Davison A.J., Benkő M., Harrach B. Genetic content and evolution of adenoviruses. *J. Gen. Virol.* 2003; 84(Pt. 11): 2895–908. <https://doi.org/10.1099/vir.0.19497-0>
49. Davis A.R., Wivel N.A., Palladino J.L., Tao L., Wilson J.M. Construction of adenoviral vectors. *Mol. Biotechnol.* 2001; 18(1): 63–70. <https://doi.org/10.1385/MB:18:1:63>
50. Elkashif A., Alhashimi M., Sayedahmed E.E., Sambhara S., Mittal S.K. Adenoviral vector-based platforms for developing effective vaccines to combat respiratory viral infections. *Clin. Transl. Immunology.* 2021; 10(10): e1345. <https://doi.org/10.1002/cti2.1345>
51. Gray G., Buchbinder S., Duerr A. Overview of STEP and Phambili trial results: two phase IIb test-of-concept studies investigating the efficacy of MRK adenovirus type 5 gag/pol/nef subtype B HIV vaccine. *Curr. Opin. HIV AIDS.* 2010; 5(5): 357–61. <https://doi.org/10.1097/COH.0b013e32833d2d2b>
52. Logunov D.Y., Dolzhikova I.V., Shcheblyakov D.V., Tukhvatulin A.I., Zubkova O.V., Dzharullaeva A.S., et al. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. *Lancet.* 2021; 397(10275): 671–81. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00386-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00386-X)
53. Wu S., Huang J., Zhang Z., Wu J., Zhang J., Hu H., et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of an aerosolised adenovirus type-5 vector-based COVID-19 vaccine (Ad5-nCoV) in adults: preliminary report of an open-label and randomised phase 1 clinical trial. *Lancet Infect. Dis.* 2021; 21(12): 1654–64. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00396-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00396-0)
54. 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](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31208-3)
55. Xu J.W., Wang B.S., Gao P., Huang H.T., Wang F.Y., Qiu W., et al. Safety and immunogenicity of heterologous boosting with orally administered aerosolized bivalent adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine and B.1.1.529 variant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine in adults 18 years and older: a randomized, double-blinded, parallel controlled trial. *Emerg. Microbes. Infect.* 2024; 13(1): 2281355. <https://doi.org/10.1080/22221751.2023.2281355>
56. See I., Su J.R., Lale A., Woo E.J., Guh A.Y., Shimabukuro T.T., et al. US case reports of cerebral venous sinus thrombosis with thrombocytopenia after Ad26.COV2.S vaccination, March 2 to April 21, 2021. *JAMA.* 2021; 325(24): 2448–56. <https://doi.org/10.1001/jama.2021.7517>
57. Sadoff J., Gray G., Vandebosch A., Cárdenas V., Shukarev G., Grinsztejn B., et al. Safety and efficacy of single-dose Ad26.COV2.S vaccine against COVID-19. *N. Engl. J. Med.* 2021; 384(23): 2187–201. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2101544>
58. Bos R., Rutten L., van der Lubbe J.E.M., Bakkers M.J.G., Hardenberg G., Wegmann F., et al. Ad26 vector-based COVID-19 vaccine encoding a prefusion-stabilized SARS-CoV-2 Spike immunogen induces potent humoral and cellular immune responses. *NPJ Vaccines.* 2020; 5: 91. <https://doi.org/10.1038/s41541-020-00243-x>
59. Zhu F.C., Hou L.H., Li J.X., Wu S.P., Liu P., Zhang G.R., et al. Safety and immunogenicity of a novel recombinant adenovirus type-5 vector-based Ebola vaccine in healthy adults in China: preliminary report of a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1 trial. *Lancet.* 2015; 385(9984): 2272–9. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)60553-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60553-0)
60. Zhang Z., Zhao Z., Wang Y., Wu S., Wang B., Zhang J., et al. Comparative immunogenicity analysis of intradermal versus intramuscular immunization with a recombinant human adenovirus type 5 vaccine against Ebola virus. *Front. Immunol.* 2022; 13: 963049. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.963049>
61. Anywaine Z., Whitworth H., Kaleebu P., Praygod G., Shukarev G., Manno D., et al. Safety and immunogenicity of a 2-dose heterologous vaccination regimen with Ad26.ZEBOV and MVA-BN-Filo Ebola vaccines: 12-month data from a phase 1 randomized clinical trial in Uganda and Tanzania. *J. Infect. Dis.* 2019; 220(1): 46–56. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00128-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00128-6)
62. Schultz N.H., Sørvoll I.H., Michelsen A.E., Munthe L.A., Lund-Johansen F., Ahlen M.T., et al. Thrombosis and thrombocytopenia after ChAdOx1 nCoV-19 vaccination. *N. Engl. J. Med.* 2021; 384(22): 2124–30. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2104882>
63. Greinacher A., Selleng K., Palankar R., Wesche J., Handtke S., Wolff M., et al. Insights in ChAdOx1 nCoV-19 vaccine-induced immune thrombotic thrombocytopenia. *Blood.* 2021; 138(22): 2256–68. <https://doi.org/10.1182/blood.2021013231>
64. Baker A.T., Boyd R.J., Sarkar D., Teixeira-Crespo A., Chan C.K., Bates E., et al. ChAdOx1 interacts with CAR and PF4 with implications for thrombosis with thrombocytopenia syndrome. *Sci. Adv.* 2021; 7(49): eabl8213. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abl8213>
65. Ewer K., Rampling T., Venkatraman N., Bowyer G., Wright D., Lambe T., et al. A monovalent chimpanzee adenovirus Ebola vaccine boosted with MVA. *N. Engl. J. Med.* 2016; 374(17): 1635–46. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1411627>
66. Warimwe G.M., Lorenzo G., Lopez-Gil E., Reyes-Sandoval A., Cottingham M.G., Spencer A.J., et al. Immunogenicity and efficacy of a chimpanzee adenovirus-vectored Rift Valley fever vaccine in mice. *Virol. J.* 2013; 10: 349. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-10-349>
67. Manning W.C., Paliard X., Zhou S., Pat Bland M., Lee A.Y., Hong K., et al. Genetic immunization with adeno-associated virus vectors expressing herpes simplex virus type 2 glycoproteins B and D. *J. Virol.* 1997; 71(10): 7960–2. <https://doi.org/10.1128/JVI.71.10.7960-7962>
68. Derkaev A.A., Ryabova E.I., Esmagambetov I.B., Shcheblyakov D.V., Godakova S.A., Vinogradova I.D., et al. rAAV expressing recombinant neutralizing antibody for the botulinum neurotoxin type A prophylaxis. *Front. Microbiol.* 2022; 13: 960937. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.960937>
69. Liao G., Lau H., Liu Z., Li C., Xu Z., Qi X., et al. Single-dose rAAV5-based vaccine provides long-term protective immunity against SARS-CoV-2 and its variants. *Virol. J.* 2022; 19(1): 212. <https://doi.org/10.1186/s12985-022-01940-w>
70. Pipe S.W., Leebeek F.W.G., Recht M., Key N.S., Castaman G., Miesbach W., et al. Gene therapy with etranacogene dezaparvovec for hemophilia B. *N. Engl. J. Med.* 2023; 388(8): 706–18. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2211644>
71. Ertl H.C.J. Immunogenicity and toxicity of AAV gene therapy. *Front. Immunol.* 2022; 13: 975803. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.975803>
72. Pantaleo G., Janes H., Karuna S., Grant S., Ouedraogo G.L., Allen M., et al. Safety and immunogenicity of a multivalent HIV vaccine comprising envelope protein with either DNA or NYVAC vectors (HVTN 096):

- a phase 1b, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet HIV*. 2019; 6(11): e737–49. [https://doi.org/10.1016/S2352-3018\(20\)30002-3](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(20)30002-3)
73. Mastrangelo M.J., Eisenlohr L.C., Gomella L., Lattime E.C. Poxvirus vectors: orphaned and underappreciated. *J. Clin. Invest.* 2000; 105(8): 1031–4. <https://doi.org/10.1172/JCI9819>
74. Draper S.J., Cottingham M.G., Gilbert S.C. Utilizing poxviral vectored vaccines for antibody induction-progress and prospects. *Vaccine*. 2013; 31(39): 4223–30.
75. Ura T., Okuda K., Shimada M. Developments in viral vector-based vaccines. *Vaccines*. 2014; 2(3): 624–41. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.05.091>
76. Chen Z., Zhang L., Qin C., Ba L., Yi C.E., Zhang F., et al. Recombinant modified vaccinia virus Ankara expressing the spike glycoprotein of severe acute respiratory syndrome coronavirus induces protective neutralizing antibodies primarily targeting the receptor binding region. *J. Virol.* 2005; 79(5): 2678–88. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.5.2678-2688.2005>
77. Gönczöl E., Berenski K., Pincus S., Endresz V., Méric C., Paoletti E., et al. Preclinical evaluation of an ALVAC (canarypox) – human cytomegalovirus glycoprotein B vaccine candidate. *Vaccine*. 1995; 13(12): 1080–5. [https://doi.org/10.1016/0264-410x\(95\)00048-6](https://doi.org/10.1016/0264-410x(95)00048-6)
78. Naberezhnaya E.R., Soboleva A.V., Vorobyev P.O., Vadekhina V.V., Yusubalieva G.M., Isaeva I.V., et al. Interferon type I-expressing recombinant vaccinia virus as a platform for selective immunotherapy of glioblastoma and melanoma. *Bulletin of Russian State Medical University*. 2024; (6): 18–26. <https://doi.org/10.24075/brsmu.2024.072> <https://elibrary.ru/rgazed>
79. Kuligina E.V., Richter V.A., Vlassov V.V. Antitumor drug based on the gene-modified vaccinia virus VV-GMCSF-lact. (in Russian)
80. Open multi-cohort study of the first phase of safety of a drug based on double recombinant vaccinia virus VV-GMCSF-Lact. 2025. Available at: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05376527?%20cond=cancer&intr=lactapin&rank=1>
81. Shakiba Y., Naberezhnaya E.R., Kochetkov D.V., Yusubalieva G.M., Vorobyev P.O., Chumakov P.M., et al. Comparison of the oncolytic activity of recombinant vaccinia virus strains LIVP-RFP and MVA-RFP against solid tumors. *Bulletin of Russian State Medical University*. 2023; (2): 4–11. <https://doi.org/10.24075/brsmu.2023.010> (in Russian)
82. Su D., Han L., Shi C., Li Y., Qian S., Feng Z., et al. An updated review of HSV-1 infection-associated diseases and treatment, vaccine development, and vector therapy application. *Virulence*. 2024; 15(1): 2425744. <https://doi.org/10.1080/21505594.2024.2425744>
83. Ingusci S., Goins W.F., Cohen J.B., Miyagawa Y., Knipe D.M., Glorioso J.C. Next-generation replication-defective HSV vectors for delivery of large DNA payloads. *Mol. Ther.* 2025; 33(5): 2205–16. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2025.03.055>
84. Kaliberdenko V.B., Aramyan E.E., Zinchenko M.S. Features of oncolytic virotherapy and its application for the treatment of glioblastoma. *Klinicheskiy razbor v obshchei meditsine*. 2024; 5(12): 51–4. <https://doi.org/10.47407/kr2024.5.12.00537> (in Russian)
85. Gubanov N.V., Gaitan A.S., Razumov I.A., Mordvinov V.A., Krivosheina A.L., Netsesov S.V., et al. Oncolytic viruses in the treatment of gliomas. *Mol. Biol.* 2012; 46(6): 780–9. <https://elibrary.ru/rgnuux>
86. Senzer N.N., Kaufman H.L., Amatruda T., Nemunaitis M., Reid T., Daniels G., et al. Phase II Clinical trial of a granulocyte-macrophage colony-stimulating factor – encoding, second-generation oncolytic herpesvirus in patients with unresectable metastatic melanoma. *JCO*. 2009; 27(34): 5763–71. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.24.367>
87. Guide S.V., Gonzalez M.E., Bağcı I.S., Agostini B., Chen H., Feehey G., et al. Trial of Beremagene Geperpavec (B-VEC) for dystrophic epidermolysis bullosa. *N. Engl. J. Med.* 2022; 387(24): 2211–9. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2206663>
88. Ollmann Saphire E. A vaccine against Ebola Virus. *Cell*. 2020; 181(1): 6. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.03.011>
89. Munis A.M., Bentley E.M., Takeuchi Y. A tool with many applications: vesicular stomatitis virus in research and medicine. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2020; 20(10): 1187–201. <https://doi.org/10.1080/14712598.2020.1787981>
90. Mire C.E., Geisbert J.B., Agans K.N., Satterfield B.A., Versteeg K.M., Fritz E.A., et al. Durability of a vesicular stomatitis virus-based Marburg virus vaccine in nonhuman primates. *PLoS One*. 2014; 9(4): e94355. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094355>
91. Stein D.R., Warner B.M., Soule G., Tierney K., Frost K.L., Booth S., et al. A recombinant vesicular stomatitis-based Lassa fever vaccine elicits rapid and long-term protection from lethal Lassa virus infection in guinea pigs. *NPJ Vaccines*. 2019; 4: 8. <https://doi.org/10.1038/s41541-019-0104-x>
92. Hamilton A.M., Foster P.J., Ronald J.A. Evaluating nonintegrating lentiviruses as safe vectors for noninvasive reporter-based molecular imaging of multipotent mesenchymal stem cells. *Hum. Gene Ther.* 2018; 29(10): 1213–25. <https://doi.org/10.1089/hum.2018.111>
93. Dong W., Kantor B. Lentiviral vectors for delivery of gene-editing systems based on CRISPR/Cas: current state and perspectives. *Viruses*. 2021; 13(7): 1288. <https://doi.org/10.3390/v13071288>
94. Apolonia L. The old and the new: prospects for non-integrating lentiviral vector technology. *Viruses*. 2020; 12(10): 1103. <https://doi.org/10.3390/v12101103>
95. Negri D.R.M., Rossi A., Blasi M., Michelini Z., Leone P., Chiantore M.V., et al. Simian immunodeficiency virus-Vpx for improving integrase defective lentiviral vector-based vaccines. *Retrovirology*. 2012; 9: 69. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-9-69>
96. Gallinaro A., Borghi M., Bona R., Grasso F., Calzoletti L., Palladino L., et al. Integrase defective lentiviral vector as a vaccine platform for delivering influenza antigens. *Front. Immunol.* 2018; 9: 171. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00171>
97. Fontana J.M., Christos P.J., Michelini Z., Negri D., Cara A., Salvatore M. Mucosal immunization with integrase-defective lentiviral vectors protects against influenza virus challenge in mice. *PLoS One*. 2014; 9(5): e97270. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097270>
98. Chen Z. Parainfluenza virus 5-vectored vaccines against human and animal infectious diseases. *Rev. Med. Virol.* 2018; 28(2): e1965. <https://doi.org/10.1002/rmv.1965>
99. An D., Li K., Rowe D.K., Diaz M.C.H., Griffin E.F., Beavis A.C., et al. Protection of K18-hACE2 mice and ferrets against SARS-CoV-2 challenge by a single-dose mucosal immunization with a parainfluenza virus 5-based COVID-19 vaccine. *Sci. Adv.* 2021; 7(27): eabi5246. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.103379>
100. Liang B., Ngwuta J.O., Herbert R., Swerczek J., Dorward D.W., Amaro-Carambot E., et al. Packaging and prefusion stabilization separately and additively increase the quantity and quality of Respiratory Syncytial Virus (RSV)-neutralizing antibodies induced by an RSV fusion protein expressed by a parainfluenza virus vector. *J. Virol.* 2016; 90(21): 10022–38. <https://doi.org/10.1128/JVI.01196-16>
101. Lingemann M., Liu X., Surman S., Liang B., Herbert R., Hakenberg A.D., et al. Attenuated human parainfluenza virus type 1 expressing Ebola virus glycoprotein GP administered intranasally is immunogenic in African green monkeys. *J. Virol.* 2017; 91(10): e02469-16. <https://doi.org/10.1128/JVI.02469-16>
102. Brandler S., Tangy F. Recombinant vector derived from live attenuated measles virus: potential for flavivirus vaccines. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2008; 31(2-3): 271–91. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2007.07.012>
103. Ebenig A., Lange M.V., Mühlebach M.D. Versatility of live-attenuated measles viruses as platform technology for recombinant vaccines. *NPJ Vaccines*. 2022; 7(1): 119. <https://doi.org/10.1038/s41541-022-00543-4>
104. Desprès P., Combredet C., Frenkiel M.P., Lorin C., Brahic M., Tangy F. Live measles vaccine expressing the secreted form of the West Nile virus envelope glycoprotein protects against West Nile virus encephalitis. *J. Infect. Dis.* 2005; 191(2): 207–14. <https://doi.org/10.1086/426824>
105. Rossi S.L., Comer J.E., Wang E., Azar S.R., Lawrence W.S., Plante J.A., et al. Immunogenicity and efficacy of a measles virus-vectored chikungunya vaccine in nonhuman primates. *J. Infect. Dis.* 2019; 220(5): 735–42. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz202>
106. Nürnberger C., Bodmer B.S., Fiedler A.H., Gabriel G., Mühlebach M.D. A measles virus-based vaccine candidate mediates protection against Zika virus in an allogeneic mouse pregnancy model. *J. Virol.* 2019; 93(3): e01485-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.01485-18>
107. Fournier P., Arnold A., Wilden H., Schirrmacher V. Newcastle disease virus induces pro-inflammatory conditions and type I interferon for counter-acting Treg activity. *Int. J. Oncol.* 2012; 40(3): 840–50. <https://doi.org/10.3892/ijo.2011.1265>
108. Kim S.H., Samal S. Newcastle disease virus as a vaccine vector for development of human and veterinary vaccines. *Viruses*. 2016; 8(7): 183. <https://doi.org/10.3390/v8070183>
109. Kuiken T., Buijs P., Van Run P., Van Amerongen G., Koopmans M., Van Den Hoogen B. Pigeon paramyxovirus type 1 from a fatal human case induces pneumonia in experimentally infected cynomolgus macaques (Macaca fascicularis). *Vet. Res.* 2017; 48(1): 80. <https://doi.org/10.1186/s13567-017-0486-6>
110. Sun W., Liu Y., Amanat F., González-Domínguez I., McCroskery S., Slamanig S., et al. A Newcastle disease virus expressing a stabilized spike protein of SARS-CoV-2 induces protective immune responses. *Nat. Commun.* 2021; 12(1): 6197. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26499-y>

111. DiNapoli J.M., Yang L., Samal S.K., Murphy B.R., Collins P.L., Bukreyev A. Respiratory tract immunization of non-human primates with a Newcastle disease virus-vectored vaccine candidate against Ebola virus elicits a neutralizing antibody response. *Vaccine*. 2010; 29(1): 17–25. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.10.024>
112. Gonçalves M.A. Adeno-associated virus: from defective virus to effective vector. *Virol. J.* 2005; 2(1): 43. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-2-43>
113. Somia N., Verma I.M. Gene therapy: trials and tribulations. *Nat. Rev. Genet.* 2000; 1(2): 91–9. <https://doi.org/10.1038/35038533>
114. Schubert M., Harmison G.G., Meier E. Primary structure of the vesicular stomatitis virus polymerase (L) gene: evidence for a high frequency of mutations. *J. Virol.* 1984; 51(2): 505–14. <https://doi.org/10.1128/JVI.51.2.505-514.1984>
115. An H.Y., Kim G.N., Wu K., Kang C.Y. Genetically modified VSVN3 vector is capable of accommodating a large foreign gene insert and allows high level gene expression. *Virus Res.* 2013; 171(1): 168–77. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.11.007>
116. Kalidasan V., Ng W.H., Ishola O.A., Ravichantar N., Tan J.J., Das K.T. A guide in lentiviral vector production for hard-to-transfect cells, using cardiac-derived c-kit expressing cells as a model system. *Sci. Rep.* 2021; 11(1): 19265. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98657-7>
117. Jenkins G.M., Pagel M., Gould E.A., de A Zanolto P.M., Holmes E.C. Evolution of base composition and codon usage bias in the genus *Flavivirus*. *J. Mol. Evol.* 2001; 52: 383. <https://doi.org/10.1007/s002390010168>
118. Duffy S., Shackelton L.A., Holmes E.C. Rates of evolutionary change in viruses: patterns and determinants. *Nat. Rev. Genet.* 2008; 9: 267. <https://doi.org/10.1038/nrg2323>

Информация об авторах:

Прохорова Полина Владимировна — лаборант-исследователь в Рабочей группе (отделу) по выполнению государственного задания в области инфекционной патологии животных ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук», Москва, Россия. E-mail: apopoliproh@yandex.ru; <https://orcid.org/0009-0009-7278-5541>

Власова Наталья Никифоровна — д-р биол. наук, старший научный сотрудник, главный научный сотрудник лаборатории биохимии и молекулярной биологии ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук», Москва, Россия. E-mail: vlanany@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8707-7710>

Южаков Антон Геннадиевич — канд. биол. наук, заведующий лабораторией биохимии и молекулярной биологии ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук», Москва, Россия. E-mail: anton_oskol@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0426-9678>

Гулюкин Алексей Михайлович — д-р ветеринар. наук, член-корр. РАН, директор ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук», Москва, Россия. E-mail: admin@viev.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2160-4770>

Участие авторов: Прохорова П.В. — сбор и обработка материалов, создание рисунков, написание текста; Власова Н.Н. — обзор публикаций на тему статьи, написание и научное редактирование текста; Южаков А.Г. — научное редактирование текста, заключение; Гулюкин А.М. — общая редакция, заключение.

Поступила 23.06.2025
Принята в печать 20.08.2025
Опубликована 30.08.2025

Information about the authors:

Polina V. Prokhorova — Research Assistant in the Working Group (Department) for the Implementation of the State Assignment in the Field of Infectious Pathology of Animals at the Federal Scientific Center – All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Skryabin and Ya.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia. E-mail: apopoliproh@yandex.ru; <https://orcid.org/0009-0009-7278-5541>

Natalia N. Vlasova — Dr. Sci. (Biol), Senior Researcher, Principal Researcher of the Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology at the Federal Scientific Center – All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Skryabin and Ya.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia. E-mail: vlanany@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8707-7710>

Anton G. Yuzhakov — Ph.D. (Biol), Head of the Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology at the Federal Scientific Center – All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Skryabin and Ya.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia. E-mail: anton_oskol@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0426-9678>

Alexey M. Gulyukin — D. Sci. (Vet), Corresponding Member RAS, Director of the Federal Scientific Center – All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Skryabin and Ya.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia. E-mail: admin@viev.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2160-4770>

Contribution: Prokhorova P.V. — collection and processing of materials, creation of drawings, and writing of the text; Vlasova N.N. — review of publications on the topic of the article, writing and scientific editing of the text; Yuzhakov A.G. — scientific editing of the text, and conclusion; Gulyukin A.M. — general editing and conclusion.

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

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-297>

© ШЕИН Д.А., РЫЖОВА Н.Н., КУНДА М.С., ЕРМОЛОВА Е.И., ОЖАРОВСКАЯ Т.А., ПОПОВА О., НИКИТЕНКО Н.А., КРАСНОСЛОБОДЦЕВ К.Г., БУРЦЕВА Е.И., ЗУБКОВА О.В., ВОРОНИНА О.Л., ГИНЦБУРГ А.Л., 2025



Генетическая характеристика изолята аденовируса человека 55-го генотипа (*Adenoviridae: Mastadenovirus*), выделенного в Москве в 2022 г.

Шеин Д.А., Рыжова Н.Н., Кунда М.С., Ермолова Е.И., Ожаровская Т.А., Попова О., Никитенко Н.А., Краснослободцев К.Г., Бурцева Е.И., Зубкова О.В.✉, Воронина О.Л., Гинцбург А.Л.

ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, Россия

Резюме

Введение. Аденовирусная инфекция встречается повсеместно в виде спорадических случаев и отдельных вспышек. Аденовирус человека 55-го генотипа (HAdV-55), эндемичный для территорий Китая и Южной Кореи, вызывает острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) разной степени тяжести как среди гражданского населения, так и в воинских коллективах в разных странах мира. Геномные исследования способствуют достоверной идентификации HAdV-55.

Цель данной работы состояла в идентификации HAdV, выделенного в Москве в 2022 г., проведении полногеномного секвенирования и сравнительного геномного исследования.

Материалы и методы. HAdV-55 выделили из образца пациента, госпитализированного с пневмонией, исследовали методами анализа полиморфизма длины рестрикционных фрагментов и полногеномного секвенирования. Биоинформационный сравнительный анализ выполняли для выборки геномов 83 изолятов.

Результаты. Проведено полногеномное секвенирование изолята HAdV-55, впервые выделенного в РФ. Последовательность генома изолята SCV3008:Ad55 депонировали в GenBank (регистрационный номер PQ641625). Выявлены уникальные мутации в геноме SCV3008:Ad55, одна из которых приводила к консервативной замене T29A в пентоне, не влияющей на его функции. Филогенетический анализ показал кластеризацию SCV3008:Ad55 с изолятами клады II, включившей представителей 7 стран разных континентов, что свидетельствует о широком распространении HAdV-55. Изоляты эндемичных регионов Китая и Южной Кореи формировали отдельные клады. Исследование полиморфизма длин микросателлитов в нетранслируемых областях генома стало дополнительным инструментом различения близкородственных геномов.

Заключение. Сравнительное геномное исследование изолятов HAdV-55, появившегося в результате рекомбинации HAdV-14 и HAdV-11, показало медленное накопление мутаций с 1969 г. как в транслируемых, так и в нетранслируемых областях, позволило выявить уникальные замены нового изолята SCV3008:Ad55. Полученная геномная информация заложила основу для дальнейшего мониторинга HAdV-55 в России и продемонстрировала информативность и значимость полногеномных исследований для наблюдения за аденовирусами. Разработка и внедрение в практику методов генотипирования, нацеленных на выявление HAdV-55 и других клинически значимых генотипов, позволит значительно повысить эффективность диагностики аденовирусных инфекций с угрозой развития бронхопневмонии.

Ключевые слова: аденовирус человека 55-го генотипа; HAdV-55; полногеномное секвенирование; филогенетический анализ

Для цитирования: Шеин Д.А., Рыжова Н.Н., Кунда М.С., Ермолова Е.И., Ожаровская Т.А., Попова О., Никитенко Н.А., Краснослободцев К.Г., Бурцева Е.И., Зубкова О.В., Воронина О.Л., Гинцбург А.Л. Генетическая характеристика изолята аденовируса человека 55-го генотипа (*Adenoviridae: Mastadenovirus*), впервые выделенного в Москве в 2022 г. *Вопросы вирусологии.* 2025; 70(5): 431–443.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-297> EDN: <https://elibrary.ru/aaatdb>

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке государственного задания НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи (регистрационный номер N.122021800184).

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

Этическое утверждение. Исследование проводили при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ГБУЗ г. Москвы «Инфекционная клиническая больница № 1 Департамента здравоохранения города Москвы» (Протокол № 8 от 28.12.2022).

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-297>

Genetic characteristics of the isolate of human adenovirus type 55 (*Adenoviridae: Mastadenovirus*) isolated in Moscow in 2022

Daniil A. Shein, Natalya N. Ryzhova, Marina S. Kunda, Ekaterina I. Ermolova, Tatiana A. Ozharovskaia, Olga Popova, Natalia A. Nikitenko, Kirill G. Krasnoslobodtsev, Elena I. Burtseva, Olga V. Zubkova✉, Olga L. Voronina, Alexander L. Gintsburg

National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, 123098, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. Adenovirus infection occurs globally in the form of sporadic cases and isolated outbreaks. Human adenovirus type 55 (HAdV-55), endemic in China and South Korea, causes acute respiratory viral infections (ARVI) of varying severity, both among the civilian population and in military units in different countries of the world. Genomic research facilitates reliable identification of HAdV-55.

The aim of this study was to identify HAdV isolated in Moscow in 2022, as well as to conduct whole-genome sequencing and comparative genomic research.

Materials and methods. HAdV-55 was isolated from a sample of a patient hospitalized with pneumonia and analyzed using restriction fragment length polymorphism analysis and whole-genome sequencing. Bioinformatics comparative analysis was performed on a sample of sequences of 83 isolates.

Results. The whole-genome sequencing of first isolated in Russia HAdV-55 was conducted. The sequence of isolate SCV3008:Ad55 was deposited in GenBank (Accession Number PQ641625). Unique mutations in the SCV3008:Ad55 genome were identified, one of which resulted in a conservative T29A substitution in the penton that did not affect its functions. Phylogenetic analysis showed clustering of SCV3008:Ad55 with isolates of clade II, which included representatives of 7 countries on different continents, indicating a wide distribution of HAdV-55. Isolates from endemic regions of China and South Korea formed separate clades. The study of microsatellite length polymorphism in untranslated regions of the genome became an additional tool for distinguishing closely related genomes.

Conclusion. The obtained genomic information laid the foundation for further monitoring for HAdV-55 in Russia and demonstrated the informativeness and significance of whole-genome studies for monitoring adenoviruses. The development and implementation of genotyping methods aimed at detecting HAdV-55 and other clinically relevant genotypes will significantly improve the effectiveness of the diagnosis of adenovirus infections with the threat of developing bronchopneumonia.

Keywords: human adenovirus type 55; HAdV-55; whole-genome sequencing; phylogenetic analysis

For citation: Shein D.A., Ryzhova N.N., Kunda M.S., Ermolova E.I., Ozharovskaia T.A., Popova O., Nikitenko N.A., Krasnoslobodtsev K.G., Burtseva E.I., Zubkova O.V., Voronina O.L., Gintsburg A.L. Genetic characteristics of the isolate of human adenovirus type 55 (*Adenoviridae: Mastadenovirus*), isolated in Moscow in 2022. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2025; 70(5): 431-443. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-297> EDN: <https://elibrary.ru/aatdb5>

Funding. The study was carried out with the financial support of the State assignment of N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology (registration number N.122021800184).

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

Ethical approval. The study was conducted with the voluntary informed consent of patients. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Moscow State Medical University «Infectious Clinical Hospital No. 1 of the Moscow Department of Health» (Protocol No. 8 dated 12/28/2022).

Введение

Аденовирусы (семейство *Adenoviridae*) – безоболочечные, содержащие двухцепочечную ДНК вирусы, подразделяют на 6 родов: *Aviadenovirus*, *Barthadenovirus*, *Ichadenovirus*, *Mastadenovirus*, *Siadenovirus* и *Testadenovirus*. Аденовирусы млекопитающих входят в род *Mastadenovirus*, включающий более 50 видов. Аденовирусы человека (HAdV) относятся к 7 видам: *Mastadenovirus adami*, *M. blackbeardi*, *M. caesari*, *M. dominans*, *M. exoticum*, *M. faecale* и *M. russelli*¹.

Различные виды HAdV обладают разным тканевым тропизмом, что зачастую коррелирует с конкретными клиническими симптомами инфекции [1]. HAdV вызывают в основном острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ), но могут также поражать органы зрения, кишечник, мочевыводящие пути и нервную систему. Тяжесть заболевания зависит

¹ICTV. Family: Adenoviridae. Доступно по: <https://ictv.global/report/chapter/adenoviridae/adenoviridae>

от типа вируса и иммунного статуса хозяина [1–5]. Наиболее серьезные респираторные инфекции вызывают HAdV 8 генотипов из 10, принадлежащих виду *M. blackbeardi*: 3, 7, 11, 14, 16, 21, 50, 55 [6].

История выделения HAdV-55 в отдельный генотип показывает роль и развитие методической базы вирусологии, способствующей более точной классификации вирусов. Впервые атипичный вирус HAdV-11 как возбудитель ОРВИ был выявлен с помощью иммунохимических методов в 1974 г. [7]. В 1991 г. сравнение полиморфизма длин фрагментов рестрикции ДНК изолятов позволило выделить генотип HAdV-11a и показать, что вирусы этого генотипа ассоциированы с инфекцией верхних дыхательных путей и бронхопневмонией [8]. В 2009 г. был опубликован первый полный геном HAdV-11a изолята HAdV11-QS (регистрационный номер FJ643676), полученный сборкой перекрывающихся ампликонов, секвенированных по Сэнгеру. Сравнение данных секвенирования способствовало доказательству происхождения HAdV-11a посредством рекомбинации: геном HAdV-11a имеет в основе геном HAdV-14 и часть гена гексона HAdV-11 [9]. В 2011 г. рабочая группа по аденовирусам человека (Human Adenovirus Working Group) рекомендовала использовать сиквенсы полных геномов для типирования и характеристики HAdV и классифицировать рекомбинанты в новые генотипы при отличии нуклеотидной последовательности и биологических свойств [10]. На основании этих рекомендаций в 2013 г. рекомбинант HAdV-11a был назван HAdV-55 с типовым изолятом HAdV11-QS [11]. Ретроспективные исследования коллекционных изолятов показали, что HAdV-55 является эндемичным для Китая и Южной Кореи и доминировал среди вирусов, выделенных при ОРВИ в Пекине с 1965 по 1985 г. [8]. Вспышки HAdV-55-ОРВИ в организованных коллективах фиксируют с 1969 г. среди воинского контингента в Испании [7], в центре профессиональной подготовки в США [12], среди детей в Аргентине, Чили и Уругвае [13], в психиатрических институтах Израиля [14], в семейных коллективах в Китае [15]. HAdV-55 по сравнению с респираторными аденовирусами других генотипов вызывает более тяжелые заболевания и представляет значительную угрозу здоровью населения [6]. В России, по данным Центра экологии и эпидемиологии гриппа Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России в сотрудничестве с 10 опорными базами, в эпидемическом сезоне 2021–2022 гг. на исследованных территориях частота положительных проб на аденовирусы составила 7,7% (1793 образца) из числа тестируемых на ОРВИ [16]. HAdV, выделенный из одного из 1793 образцов, стал объектом подробного исследования.

Цель работы – идентификация HAdV, выделенного в Москве в 2022 г., проведение полногеномного секвенирования и сравнительного геномного исследования.

Материалы и методы

Материалы. Бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ) от госпитализированного мужчины 34 лет с диагно-

зом «пневмония неуточненная».

Исследование проводили при добровольном информированном согласии пациента. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ГБУЗ г. Москвы «Инфекционная клиническая больница № 1 Департамента здравоохранения города Москвы» (Протокол № 8 от 28.12.2022).

Методы. Идентификацию вирусов проводили посредством экстракции РНК/ДНК из клинического материала с помощью набора «РИБО-ПРЕП» («Интерлабсервис», Россия) с последующей детекцией РНК/ДНК возбудителей респираторных инфекций в полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени (ПЦР-РВ) с использованием коммерческих тест-систем «АмплиСенс ОРВИ-скрин-FL» («Интерлабсервис», Россия) согласно инструкции производителя на детектирующем амплификаторе Bio-Rad CFX-96 (Bio-Rad, США).

Выделение HAdV. Вирус накапливали в клетках НЕК293 (эмбриональной почки человека): 100 мкл БАЛ заражали клетки ($0,5 \times 10^6$ клеток/3 см², инкубировали в стандартных условиях (+37 °C, 5% CO₂) до наступления цитопатического действия (ЦПД). Для препаративного наращивания вируса использовали культуральные чашки диаметром 15 см. Инфицированные клетки после наступления 100% ЦПД собирали, концентрировали низкоскоростным центрифугированием (2000 об/мин), ресуспендировали в буфере (0,01 М трис-HCl pH 8,0, 0,01 М NaCl, 5 мМ ЭДТА), подвергали трем циклам замораживания–оттаивания и центрифугировали при 5000 об/мин, осадок удаляли. Аденовирус из супернатанта очищали методом ультрацентрифугирования в градиенте плотности хлористого цезия (в ступенчатом (CsCl с показателем преломления 1,355, 1,365 и 1,375) и равновесном градиенте (CsCl с показателем преломления 1,365)).

Анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ). Геномную ДНК очищенного вируса выделяли с использованием набора Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega, США). ДНК (1 мкг) гидролизировали рестриктазами Cfr41I, XagI и XhoI (Thermo, США) и анализировали методом электрофореза в агарозном геле, используя более длительную выдержку для детектирования низкомолекулярных фрагментов. Анализ ПДРФ *in silico* проводили с помощью программы Geneious Prime (Biomatters, Новая Зеландия).

Секвенирование и сборка генома. Приготовление библиотеки выполняли с применением набора KAPA HyperPlus Kit (F. Hoffmann-La Roche Ltd., Швейцария) согласно протоколам производителя, проверку качества и размера библиотек проводили с помощью электрофореза на чипах High Sensitivity DNA Chips 2100 Bioanalyzer System (Agilent, США), секвенирование – на приборе NextSeq 500/550 (Illumina, США), используя картриджи Mid Output 300 cycles. Для сборки прочтений *de novo* и по референсным последовательностям использовали пакет программ CLC Genomic Workbench v. 21 (Qiagen, США).

Таблица 1. Штаммы HAdV-55, используемые для геномного анализа с целью изучения распространения вируса, региональной персистенции и генетической изменчивости**Table 1.** HAdV-55 strains used for genomic analysis in order to study the spread of the virus, regional persistence and genetic variability

Номер в базе NCBI GenBank Accession Number	Место выделения Country	Год выделения Year of isolation	Номер в базе NCBI GenBank Accession Number	Место выделения Country	Год выделения Year of isolation
MN654381.1	Египет / Egypt	2000	PP002035.1	Китай / China	2018
MN654383.1	Египет / Egypt	2000	PP002036.1	Китай / China	2018
MN654385.1	Египет / Egypt	2000	PP002037.1	Китай / China	2018
MN654380.1	Египет / Egypt	2000	PP002043.1	Китай / China	2018
MN654382.1	Египет / Egypt	2002	PP002044.1	Китай / China	2018
MN654390.1	Египет / Egypt	2005	PP002045.1	Китай / China	2018
MN654391.1	Египет / Egypt	2005	PP002046.1	Китай / China	2018
MN654386.1	Египет / Egypt	2007	MN256653.1	Китай / China	2018
MN654384.1	Египет / Egypt	2008	MN256655.1	Китай / China	2018
MN654387.1	Египет / Egypt	2009	MN256657.1	Китай / China	2018
MG905110.1	Испания / Spain	1969	MN256654.1	Китай / China	2018
FJ643676.1	Китай / China	2006	MN256656.1	Китай / China	2018
JX123027.1	Китай / China	2010	PP002040.1	Китай / China	2018
JX491639.1	Китай / China	2011	MT806174.1	Китай / China	2019
JX123028.1	Китай / China	2011	MT806175.1	Китай / China	2019
MK123979.1	Китай / China	2011	MT806170.1	Китай / China	2019
KJ883522.1	Китай / China	2011	MT806172.1	Китай / China	2019
KP279748.1	Китай / China	2012	MT806173.1	Китай / China	2019
KP896478.1	Китай / China	2012	MT806171.1	Китай / China	2019
JX123029.1	Китай / China	2012	OM714808.1	Китай / China	2020
KC857701.1	Китай / China	2012	OP375144.1	Китай / China	2021
KP896483.1	Китай / China	2013	MN654388.1	Сингапур / Singapore	2005
KJ883520.1	Китай / China	2013	MN654389.1	Сингапур / Singapore	2005
KJ883521.1	Китай / China	2013	MN654394.1	США / USA	1976
KP896484.1	Китай / China	2013	MN654392.1	США / USA	1997
MK123980.1	Китай / China	2013	MT513753.1	США / USA	2006
MK123981.1	Китай / China	2013	MN654395.1	США / USA	2020
KF908851.1	Китай / China	2013	MN654375.1	Южная Корея / South Korea	2009
MK886831.1	Китай / China	2015	MN654376.1	Южная Корея / South Korea	2009
KX289874.1	Китай / China	2015	MN654377.1	Южная Корея / South Korea	2009
KY070248.1	Китай / China	2016	MN654378.1	Южная Корея / South Korea	2009
KY780931.1	Китай / China	2016	MN654379.1	Южная Корея / South Korea	2009
KY780932.1	Китай / China	2016	KX494979.1	Южная Корея / South Korea	2016
KY780933.1	Китай / China	2016	KY471318.1	Южная Корея / South Korea	2017
PP002039.1	Китай / China	2018	KY471322.1	Южная Корея / South Korea	2017
PP002041.1	Китай / China	2018	KY471319.1	Южная Корея / South Korea	2017
MN052861.1	Китай / China	2018	KY471320.1	Южная Корея / South Korea	2017
MK123978.1	Китай / China	2018	KY471321.1	Южная Корея / South Korea	2017
PP002033.1	Китай / China	2018	KY471323.1	Южная Корея / South Korea	2017
PP002034.1	Китай / China	2018	MW053454.1	Южная Корея / South Korea	2019
PP002038.1	Китай / China	2018	MN654393.1	Япония / Japan	2012
PP002032.1	Китай / China	2018			

Для уточнения последовательностей гомополимеров применяли секвенирование по Сэнгеру, используя наборы BDT UltraSeq HP Kit (SenseCare Bio, Китай), электрофорез проводили в капиллярах 50 см, в геле POP-7 на приборе 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США).

Сравнительный анализ. В сравнительный анализ включили 83 полных генома HAdV-55 (табл. 1) и геном HAdV-14 (MF062484). Выравнивание геномных последовательностей выборки изолятов, построение филогенетического дерева Neighbor-joining, расчет ANI (average nucleotide identity, средней нуклеотидной идентичности) выполняли с помощью модуля Whole Genome Alignment пакета программ CLC Genomic Workbench v. 21 (Qiagen, США). Для визуализации дерева использовали программу MEGA11 [17]. Трансляцию рамок считывания и выравнивание аминокислотных последовательностей выполняли в программе MEGA11 [17].

Результаты

В выборке респираторных образцов, поступивших из стационаров Москвы в сезоне 2021–2022 гг., 12 содержали HAdV по данным ПЦР-РВ. Образцы проанализировали по значениям вирусной нагрузки и множественности инфекции. Один из образцов (БАЛ пациента, госпитализированного с пневмонией), отличавшийся высоким показателем нагрузки ДНК HAdV

(значение порогового цикла, $C_t = 12,3$) и отсутствием сопутствующей инфекции другими респираторными вирусами, использовали для изоляции HAdV.

Выделенный аденовирус идентифицировали как HAdV-55 на основании данных секвенирования, депонировали в Государственной коллекции вирусов Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России под номером SCV3008:Ad55, геномные данные зарегистрировали в GenBank (регистрационный номер PQ641625).

Анализ ПДРФ ДНК изолята выявил следующие фрагменты: Cfr41I (12894, 8674, 7768, 2664, 1194, 1181 и 403 п.н.), XhoI (10335, 8005, 6544, 5761, 2628, 1355 и 150 п.н.) и XagI (20615, 5219, 3789, 2944, 1359 и 852 п.н.). На рис. 1 (а) представлены наиболее яркие из них. Сопоставление с данными *in silico* для изолятов HAdV-55 (MG905110), HAdV-11 (AY163756) и HAdV-14 (MF062484) (рис. 1 б) подтверждает сходство рестрикционных фрагментов изолятов SCV3008:Ad55 и HAdV-55 (MG905110) и подчеркивает, что в рекомбинанте HAdV-55 основу генома составляют гены HAdV-14.

Сходство с HAdV-14 показал и расчет ANI между геномами HAdV-55 выборки, представленными в табл. 1, SCV3008:Ad55 и HAdV-14 (MF062484). Значение ANI между HAdV-55 и HAdV-14 составило 98,7478–98,9411, а между геномами HAdV-55 – 99,6546–100,000.

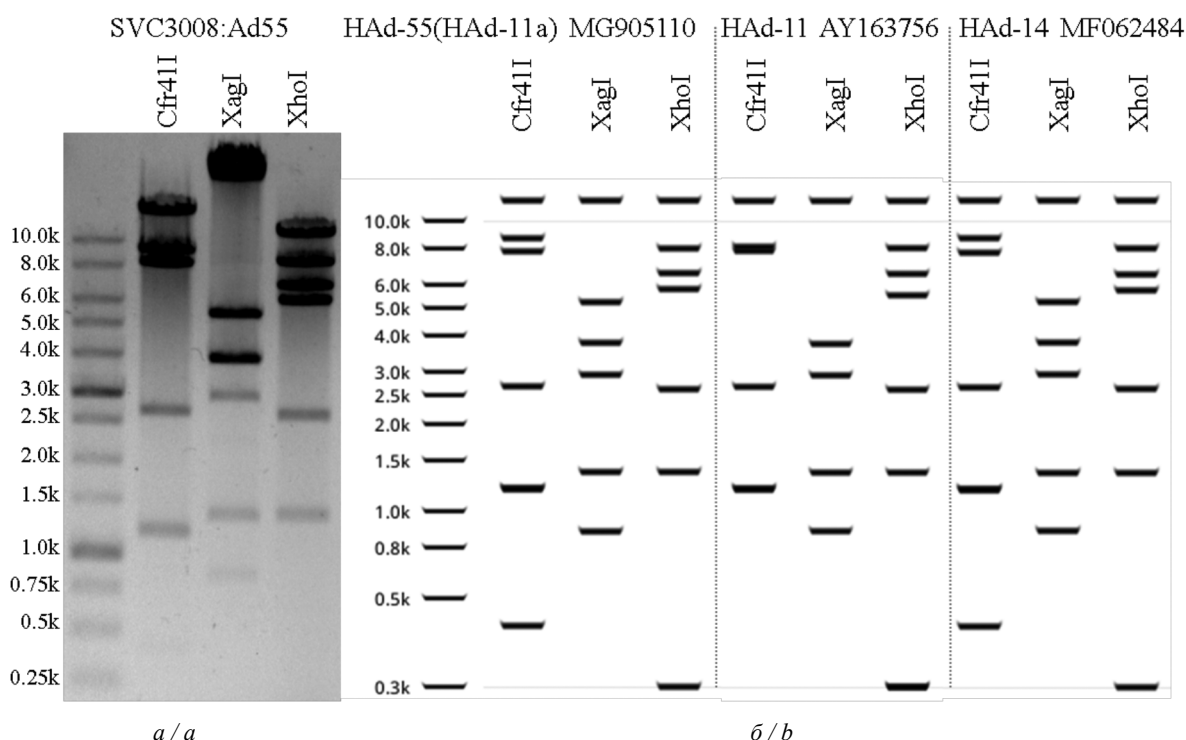


Рис. 1. Полиморфизм длин рестрикционных фрагментов, полученных с рестриктазами Cfr41I, XagI и XhoI.

a – для ДНК изолята SCV3008:Ad55 *in vitro*; *б* – для ДНК штаммов HAdV-55, HAdV-11 и HAdV-14 *in silico*.

Fig. 1. Restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) using Cfr41I, XagI, and XhoI restriction enzymes.

a – DNA of the SCV3008 isolate *in vitro*; *b* – DNA of the HAdV-55, HAdV-11 and HAdV-14 strains *in silico*.

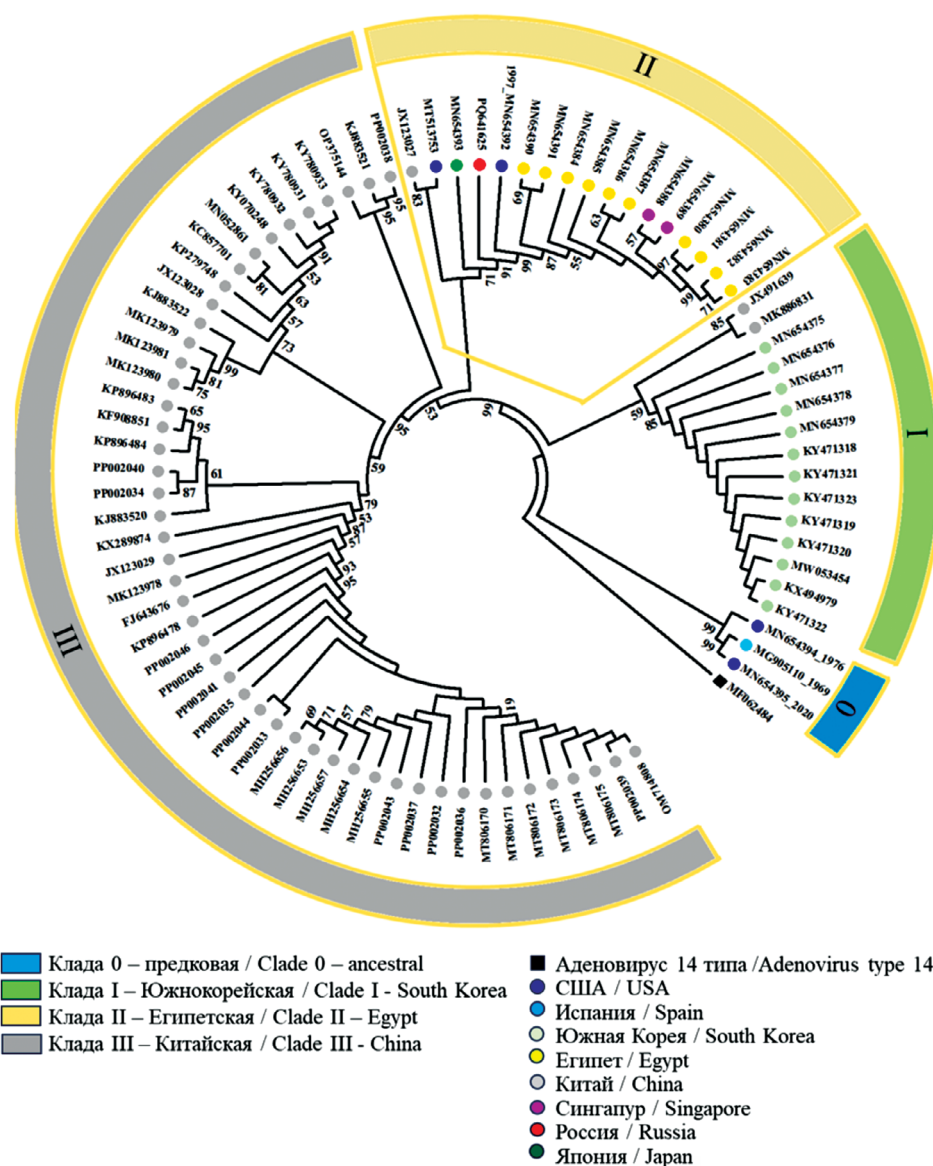


Рис. 2. Филогенетическое древо Neighbor-joining, построенное на основе полных геномов 83 изолятов HAdV-55, представленных в табл. 1, и генома изолята SCV3008:Ad55 (PQ641625).

Клады 0–III охарактеризованы в легенде. MF062484 – изолят HAdV-14, представляет внешнюю группу.

Fig. 2. Neighbor-joining phylogenetic tree constructed based on the complete genomes of 83 HAdV-55 isolates presented in Table 1, and the genome of the SCV3008:Ad55 isolate (PQ641625).

Clades 0–III are characterized in the legend. MF062484 – HAdV-14 isolate, represents an outgroup.

В филогенетический анализ включили изоляты HAdV-55, выделенные в 8 странах в 1969–2022 гг. (табл. 1). Древо гомологии представлено на **рис. 2**. Как видно из рисунка, геномы сформировали 4 клады. В базовую кладу «0» вошли наиболее ранние изоляты MG905110 (Испания, 1969), MN654394 (США, 1976) и изолят MN654395 (США, 2020). Кладу «I» образовали 13 изолятов из Южной Кореи и два изолята из Китая (2011 и 2015 гг.). Клада «II», основу которой составили изоляты из Египта (12 изолятов), была наиболее разнообразна по представленности стран. В нее вошли изоляты из Сингапура (MN654388 и MN654389, 2005), Японии (MN654393, 2012),

США (MN654392, 1997; MT513753, 2006), Китая (JX123027, 2010) и выделенный нами изолят SCV3008:Ad55. Самую многочисленную кладу «III» образовали изоляты Китая 2006–2021 гг.

В кладе «II» максимально близким изоляту SCV3008:Ad55 по значению ANI (99,9396) был изолят из Японии (MN654393). Отличия между геномами SCV3008:Ad55 и MN654393 выявили как в нетранслируемых областях генома, так и в генах структурных и неструктурных белков (**табл. 2**). Выявленные замены сопоставили с последовательностями других геномов выборки. Отметим, что сравнение областей ITR и ближайших к ним было возможно не для всех

Таблица 2. Характеристика замен в геноме изолята SVC308:Ad55**Table 2.** Characterization of substitutions in the genome of isolate SVC308-Ad55

Название области генома/CDS Name of the region of the genome/CDS	Замена в геноме SVC308:Ad55 относительно генома WPAFB415 Substitution in the SVC308:Ad55 genome relative to the WPAFB415	Встречаемость мутации Mutation frequency	Замены в последовательности белка Substitutions in amino acid sequence
Нетранслируемые области / Untranslated regions	C134T**	Clade Egypt*	
	A445G	SVC308:Ad55	
	T3437C	SVC308:Ad55	
	A3924G	SVC308:Ad55	
pIX 14,2 кДа / 14.2 kDa	G34619T***	SVC308:Ad55	
pIVa2 50,9 кДа / 50.9 kDa	C3536T	SVC308:Ad55	
128,9 кДа ДНК-полимераза / 128.9 kDa DNA polymerase	T4656C	WPAFB415	
	C6707T	SVC308:Ad55	
pTP 73,4 кДа / 73.4 kDa	T6764A	WPAFB415	Lys→Asp
	G8779A	SVC308:Ad55	
L1 52/55K 43,9 кДа / 43.9 kDa	C8815T	Clade Egypt*	
	C11734T	SVC308:Ad55	
L1 pIIIa 65,6 кДа / 65.6 kDa	G13349A	Clade Egypt*	
	T13787A	SVC308:Ad55	Thr→Ala
L2 пентон 62,5 кДа / 62.5 kDa penton protein	G14203A	SVC308:Ad55	
	T16315C	WPAFB415	Glu→Leu
L2 pV 40,1 кДа / 40.1 kDa	G16530C	WPAFB415	
	G22776A	SVC308:Ad55	
E2A 58,3 кДа ДНК-связывающий белок / 58.3 kDa DNA-binding protein	C26083T	Clade Egypt*	His→Tyr
L4 22K 21,6 кДа / 21.6 kDa	A26918G	WPAFB415	
L4 pVIII 25 кДа / 25 kDa	T28096G	SVC308:Ad55	
E3 18,5 кДа / 18.5 kDa			

Примечание. * – кроме MT513753, MN654393, JX123027; ** – область левого ITR есть только в 65 геномах из 85; *** – область генома перед правым ITR присутствует только в 75 геномах из 85.

Note. * – except for MT513753, MN654393, JX123027; ** – the left ITR region is found in only 65 of the 85 genomes; *** – the region of the genome in front of the right ITR is present in only 75 out of 85 genomes.

геномов. Из выявленных замен 4 были характерны для большинства изолятов клады «II», 4 являлись уникальными для генома японского изолята, 12 замен отличали изолят SCV3008:Ad55.

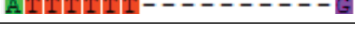
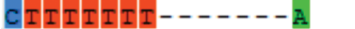
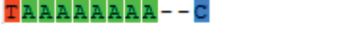
Замены в 4 рамках считывания были несинонимичными. Мутация в пептоне (Thr29Ala) была уникальна для изолята SCV3008:Ad55. Замены в ДНК-полимеразе (Asp566Lys) и в белке pV (Leu105Glu) отличали японский изолят MN654393. Мутация в белке L4 22K (His162Tyr) встречалась у 14 изолятов клады «II», включая SCV3008:Ad55 (табл. 2).

При анализе геномов мы обратили внимание на неоднородность размеров поли-А/поли-Т-последовательностей в межгенных областях (табл. 3). Размеры областей 2–6, отмеченные в геноме SCV3008:Ad55, были характерны для многих геномов выборки HAdV-55. Область 1 с заменой A6G являлась уникальной для SCV3008:Ad55. Последовательности гомополимеров в геномах аденовирусов, называемые также микросателлитами, обратили на себя внимание исследователей при расследовании вспышек адено-

вирусной инфекции со смертельными исходами в военных коллективах США в 2006–2007 гг. Полиморфизм длин локусов микросателлитов стал маркером высокого разрешения для отнесения HAdV-14 к одной вспышке [18]. Мы провели сравнение локусов микросателлитов у изолятов клады II «Egypt», включившей 17 изолятов разных континентов. Из данных табл. 4 следует, что большинство изолятов клады было сходно по размеру микросателлитов всех 6 локусов. Максимальное количество локусов (4) отличало геномы изолятов из Японии (MN654393) и России (SCV3008:Ad55), по 3 локусам отличался геном единственного изолята из Китая в кладе II (JX123027), по двум разным локусам – изоляты из США (MN654392, 1997; MT513753, 2006), по одному – изоляты из Сингапура (MN654388 и MN654389). Из 10 египетских изолятов в кладе II три имели по одному локусу отличий. Таким образом, при высоком консерватизме геномов HAdV-55 локусы микросателлитов действительно позволяют различить геномы вирусов в пределах одной клады.

Таблица 3. Области повторов в геномах выборки аденовирусов человека 55-го типа

Table 3. Regions of repeats in the genomes of a sample of adenoviruses belonging to genotype 55

N	Положение по геному PQ641625 / Соседние OPC The position according to PQ641625 genome / Neighboring ORS	Изолят Isolate	Число нуклеотидов в повторе The number of nucleotides in the repeat	Количество изо- лятов Number of isolates
1	3918–3933 bp / pIX; pIVa2	MF062484/China/2010*		1
		OP375144/China/2021		3
		MW053454/China/2023		1
		PQ641625/Russia/2022		1
		MN654393/Japan/2012		1
		MN654378/S.Korea/2009		24
		MN654392/USA/1997		5
		MN654394/USA/1976		1
		FJ643676/China/2011		48
2	10651–10664 bp / pTP; L1	MF062484/China/2010*		
		MN654395/USA/2020		1
		MW053454/China/2023		3
		KY471322/S.Korea/2017		9
		PP002032/China/2018		21
		PQ641625/Russia/2022		7
		MN654394/USA/1976		37
		MK123980/China/2013		6
		KP896484/China/2013		1
3	13620–13630 bp/L1 pIIIa; L2 penton [polyA_signal_sequence (aataaa) 13627–13633 bp]	MF062484/China/2010*		1
		PP002034/China/2018		1
		MN654388/Singapore/2005		16
		PQ641625/Russia/2022		66
		PP002040/China/2018		1
4a	17323–17334 bp / L2 pX; L3 pVI	MF062484/China/2010*		
		MK123978/China/2018		1
		PQ641625/Russia/2022		51
		KY070248/China/2016		20
		MN654394/USA/1976		12
		KP896484/China/2013		1
4b	17341–17352 bp / L2 pX; L3 pVI [polyA_signal_sequence (aataaa) 17339–17344 bp]	MF062484/China/2010*		
		KX494979/S.Korea/2016		5
		PQ641625/Russia/2022		75
		KH289874/China/2015		5
5	29474–29486 bp / E3 20.2 kDa; E3 10.3 kDa	MF062484/China/2010*		
		MT513753/USA/2006		1
		MK123981/China/2013		3
		OM714808/China/2020		1
		PQ641625/Russia/2022		17
		KP896483/China/2013		37
		JX123029/China/2012		25
		KP896484/China/2013		1
6	34006 – 34016 bp / E4 ORF2; E4 ORF1	MF062484/China/2010*		1
		MT513753/USA/2006		3
		PQ641625/Russia/2022		28
		JX123029/China/2012		53

Примечание. * – предковый геном Human adenovirus 14.

Note. * – the ancestral genome of Human adenovirus 14.

Таблица 4. Размер локусов микросателлитов в геномах изолятов клады II «Egypt»**Table 4.** Size of microsatellite loci in the genomes of clade II «Egypt» isolates

Локус Locus	Изолят Isolate	Размер гомополимера (нт) Homopolymer size (nt)	Локус Locus	Изолят Isolate	Размер гомополимера (нт) Homopolymer size (nt)
1	Большинство* / Most	A (13)	4a, 4b	Большинство / Most	A (10); A (10)
	MN654380 (Egypt 2000)	A (12)		JX123027 (China 2010)	A (10); A (11)
	MN654392 (USA 1997)	A (12)		MN654392 (USA 1997)	A (9); A (10)
	MN654393 (Japan 2012)	A (14)	5	Большинство / Most	T (9)
	PQ641625 (Russia 2022)	A (13) G (1)		MN654393 (Japan 2012)	T (11)
2	Большинство / Most	T (11)	6	PQ641625 (Russia 2022)	T (11)
	MN654393 (Japan 2012)	T (12)		JX123027 (China 2010)	T (10)
	PQ641625 (Russia 2022)	T (12)		MT513753 (USA 2006)	T (14)
	JX123027 (China 2010)	T (12)		Большинство / Most	A (8)
3	Большинство / Most	A (10)		MN654393 (Japan 2012)	A (10)
	MN654386 (Egypt 2007)	A (11)		PQ641625 (Russia 2022)	A (10)
	MN654387 (Egypt 2009)	A (11)		MT513753 (USA 2006)	A (11)
	MN654388 (Singapore 2005)	A (11)			
	MN654389 (Singapore 2005)	A (11)			

Примечание. * – в кладе II «Egypt» 17 изолятов.

Note. * – Clade II «Egypt» contains 17 isolates.

Обсуждение

В представленной работе впервые описан геном изолята HAdV-55 SCV3008:Ad55, выделенного на территории РФ. Отметим, что молекулярно-эпидемиологические геномные исследования аденовирусов в РФ, выполненные ранее, являются единичными и посвящены изучению *M. caesari* HAdV, возбудителей респираторных инфекций у детей [19]. Сбор сравнительной информации для геномных исследований затруднен в связи с низкой степенью внедрения методов генотипирования в лабораторную диагностику аденовирусной инфекции.

В России молекулярно-генетический подход, одобренный с 2010 г., применяют для эпидемиологического мониторинга аденовирусной инфекции и идентификации возбудителя до семейства *Adenoviridae* в Референс-центре по диагностике гриппа и ОРВИ на базе НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева, в Центре экологии и эпидемиологии гриппа НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи и в опорных базах Роспотребнадзора. На особом контроле находятся аденовирусные инфекции у детей, которые также подлежат молекулярной диагностике согласно клиническим рекомендациям². Однако генотипирование HAdV не входит в перечень методов лабораторной диагностики.

ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) не проводит планового наблюдения аденовирусной инфекции и фиксирует только вспышки забо-

левания, тогда как CDC (Centers for Disease Control and Prevention, США) разработал рекомендации по идентификации HAdV на основе амплификации нуклеиновых кислот и создал Национальную систему отчетности по типам аденовирусов (The National Adenovirus Type Reporting System, NATRS). По сведениям NATRS, в 2017–2023 гг. HAdV 6 генотипов являлись наиболее распространенными в США, среди которых HAdV-7 и HAdV-14 вида *M. blackbeardi* составили 13,4 и 7,8% соответственно (<https://www.cdc.gov/adenovirus/hcp/outbreaks/index.html>). Японская национальная система эпидемиологического надзора за инфекционными заболеваниями также проводит генотипирование аденовирусов, отмечая среди преобладающих *M. blackbeardi* HAdV-3, 7, 11, 34, 35, а среди минорных 14, 16, 55, 66, 68, 79 [20]. CDC Китая контролирует грипп и ОРВИ, но не публикует в открытой печати отчеты по генотипированию вирусов [21]. Таким образом, из национальных систем контроля учет HAdV-55 проводит только система эпиднадзора Японии.

Анализ научных публикаций за 2012–2025 гг., размещенных в PubMed, показал, что из 48 статей, упоминающих в ключевых словах HAdV-55, 39 (81%) опубликовано исследователями из Китая, 7 – из Южной Кореи, по одной – из США и Сенегала. Такое соотношение публикаций подтверждает эндемичность HAdV-55 для Китая и Южной Кореи. Следует отметить, что из публикаций Южной Кореи только в двух представлено исследование инфекций HAdV-55 среди гражданского населения, в остальных описаны вспышки ОРВИ, вызванной HAdV-55, среди воинского контингента [22]. Тему

²Клинические рекомендации (протокол лечения) оказания медицинской помощи детям больным аденовирусной инфекцией; 2013. Доступно по: <http://niidi.ru/dotAsset/69f7f879-9765-4634-a621-8792acf587b7.pdf>

HAдV-55-инфекции среди военных продолжает публикация из США [23], посвященная анализу изолята вируса MW053454, выделенного от американского военнотружущего, находившегося в Южной Корее в 2019 г. Изолят MW053454 отличался от южнокорейского изолята KX494979 2016 г. одной синонимичной заменой. В нашем исследовании оба изолята вошли в кладу I «South Korea». В Сенегале с 2012 по 2015 г. у пациентов с ОРВИ *M. blackbeardi* HAдV выявили в 9 случаях, среди которых отмечены HAдV-7, HAдV-55 и HAдV-11 [24]. Приведенные данные свидетельствуют о том, что генотипирование HAдV постепенно входит в лабораторную практику.

Учитывая вышесказанное, для проведения сравнительного исследования генома изолята SCV3008:Ad55 мы воспользовались данными GenBank, собрав выборку из 83 изолятов 1969–2022 гг. из 7 стран. Анализ выборки показал высокое сходство геномов HAдV-55, достигающее по показателю ANI 99,7–100%, что согласуется с данными других исследований, выполненных на меньшем количестве изолятов [25]. Вместе с тем филогенетический анализ позволил разделить геномы выборки на клады, что свидетельствует о наличии гетерогенности даже при высокой гомологии. Клады I и III соответствовали географической принадлежности изолятов и показали эпидемическую связь как между изолятами из Китая, так и изолятами из Южной Кореи. Изоляты из Египта 2000–2009 гг., страны, удаленной от эндемичных по HAдV-55 территорий, кластеризовались с изолятами из 5 государств, в том числе Китая, что свидетельствует о распространении HAдV-55, чему способствуют процессы глобализации. Следует отметить, что в кладу II вошли преимущественно изоляты от гражданского населения. Исключение составили изоляты из Сингапура и Японии, полученные из образцов военных, заболевших ОРВИ [25].

Сравнительный геномный анализ выявил отличия изолята SVC3008:Ad55, а именно 12 точковых мутаций, распределенных по всему геному, из которых не синонимичной была замена в рамке считывания пентона L2 62,5 кДа, приводящая к замене T29A в N-конце белковой последовательности. Поскольку замена консервативна, она не сказывается на амфипатических свойствах N-концевой спирали белка и на способности мотива PPRY (42–45 а.о.) взаимодействовать с доменами WW клеточных убиквитинлигаз, что обеспечивает проникновение вируса в эукариотическую клетку, определяющее его инфекционность [26].

Дополнительную информацию о разнообразии близкородственных геномов изолятов клады II дал анализ полиморфизма длин микросателлитов (гомополимеров) 6 локусов в нетранслируемых областях. Из 17 изолятов клады 10 имели отличие хотя бы по одному локусу. Изоляты из Японии и России отличались от других изолятов клады по 4 локусам микросателлитов. Такой подход позволил различить даже изоляты из Египта внутри двух регионов: Александрии (2000–2002) и Каира (2005–2009).

Заключение

Сравнительное геномное исследование изолятов HAдV-55, появившегося в результате рекомбинации HAдV-14 и HAдV-11, показало медленное накопление мутаций с 1969 г. как в транслируемых, так и в нетранслируемых областях, позволило выявить уникальные замены нового изолята SVC3008:Ad55. Полученная геномная информация заложила основу для разработки диагностических наборов и дальнейшего мониторинга HAдV-55, вызывающего инфекции, осложненные бронхопневмонией. В то же время, поскольку аденовирусы подвержены рекомбинационной изменчивости, а горячие точки рекомбинации множественны (гены пентона, гексона, филамента (фибера), E1, E3 и E4) [27], именно полногеномное секвенирование эффективно в мониторинге и молекулярно-эпидемиологическом анализе возбудителей аденовирусной инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lynch J.P. 3rd, Kajon A.E. Adenovirus: epidemiology, global spread of novel serotypes, and advances in treatment and prevention. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2016; 37(4): 586–602. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1584923>
2. Coleman K.K., Wong C.C., Jayakumar J., Nguyen T.T., Wong A.W.L., Yadana S., et al. Adenoviral infections in Singapore: Should new antiviral therapies and vaccines be adopted? *J. Infect. Dis.* 2020; 221(4): 566–77. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz489>
3. Xu W., Xu Z., Huang L., Qin E.Q., Zhang J.L., Zhao P., et al. Transcriptome sequencing identifies novel immune response genes highly related to the severity of human adenovirus type 55 infection. *Front. Microbiol.* 2019; 10: 130. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00130>
4. Kajon A.E., Lamson D.M., St. George K. Emergence and re-emergence of respiratory adenoviruses in the United States. *Curr. Opin. Virol.* 2019; 34: 63–9. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2018.12.004>
5. Dhingra A., Hage E., Ganzenmueller T., Böttcher S., Hofmann J., Hamprecht K., et al. Molecular Evolution of Human Adenovirus (HAдV) Species C. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 1039. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37249-4>
6. Scott M.K., Chommanard C., Lu X., Appelgate D., Grenz L., Schneider E., et al. Human adenovirus associated with severe respiratory infection, Oregon, USA, 2013–2014. *Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22(6): 1044–51. <https://doi.org/10.3201/eid2206.151898>
7. Hierholzer J.C., Pumarola A., Rodríguez-Torres A., Beltran M. Occurrence of respiratory illness due to an atypical strain of adenovirus type 11 during a large outbreak in Spanish military recruits. *Am. J. Epidemiol.* 1974; 99(6): 434–42. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a121632>
8. Li Q.G., Hambræus J., Wadell G. Genetic relationship between thirteen genome types of adenovirus 11, 34, and 35 with different tropisms. *Intervirology.* 1991; 32(6): 338–50. <https://doi.org/10.1159/000150218>
9. Yang Z., Zhu Z., Tang L., Wang L., Tan X., Yu P., et al. Genomic analyses of recombinant adenovirus type 11a in China. *J. Clin. Microbiol.* 2009; 47(10): 3082–90. <https://doi.org/10.1128/JCM.00282-09>
10. Seto D., Chodosh J., Brister J.R., Jones M.S. Using the whole-genome sequence to characterize and name human adenoviruses. *J. Virol.* 2011; 85(11): 5701–2. <https://doi.org/10.1128/JVI.00354-11>
11. Seto D., Jones M.S., Dyer D.W., Chodosh J. Characterizing, typing, and naming human adenovirus type 55 in the era of whole genome data. *J. Clin. Virol.* 2013; 58(4): 741–2. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2013.09.025>
12. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Civilian outbreak of adenovirus acute respiratory disease – South Dakota, 1997. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 1998; 47(27): 567–70.
13. Kajon A.E., Mistchenko A.S., Videla C., Hortal M., Wadell G., Avenadoño L.F. Molecular epidemiology of adenovirus acute lower respiratory infections of children in the south cone of South America (1991–

- 1994). *J. Med. Virol.* 1996; 48(2): 151–6. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9071\(199602\)48:2%3C151::aid-jmv6%3E3.0.co;2-8](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9071(199602)48:2%3C151::aid-jmv6%3E3.0.co;2-8)
14. Salama M., Amitai Z., Nutman A., Gottesman-Yekutieli T., Sherbany H., Drori Y., et al. Outbreak of adenovirus type 55 infection in Israel. *J. Clin. Virol.* 2016; 78: 31–5. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2016.03.002>
15. Jing S., Zhang J., Cao M., Liu M., Yan Y., Zhao S., et al. Household transmission of human adenovirus type 55 in case of fatal acute respiratory disease. *Emerg. Infect. Dis.* 2019; 25(9): 1756–8. <https://doi.org/10.3201/eid2509.181937>
16. Бурцева Е.И., Панова А.Д., Колобухина Л.В., Игнатьева А.В., Кириллова Е.С., Бреслав Н.В. и др. Эпидемический сезон 2021–2022 годов. Частота ко-инфекции респираторными вирусными патогенами. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2023; 28(2): 67–77. <https://doi.org/10.17816/EID321873>
17. Tamura K., Stecher G., Kumar S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Mol. Biol. Evol.* 2021; 38(7): 3022–7. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
18. Hough H.S., Lott L., Gong H., Kuschner R.A., Lynch J.A., Metzgar D. Adenovirus microsatellite reveals dynamics of transmission during a recent epidemic of human adenovirus serotype 14 infection. *J. Clin. Microbiol.* 2009; 47(7): 2243–8. <https://doi.org/10.1128/JCM.01659-08>
19. Kurskaya O.G., Prokopyeva E.A., Dubovitskiy N.A., Solomatina M.V., Sobolev I.A., Derko A.A., et al. Genetic Diversity of the Human Adenovirus C Isolated from Hospitalized Children in Russia (2019–2022). *Viruses.* 2024; 16(3): 386. <https://doi.org/10.3390/v16030386>
20. Adenovirus infections, 2008 to 2020, Japan. *IASR.* 2021; 42(4): 67–9. Available at: <https://id-info.jihs.go.jp/niid/en/iasr/12459-494te.html>
21. Sun H., Hu W., Wei Y., Hao Y. Review: Drawing on the development experiences of infectious disease surveillance systems around the world. *China CDC Wkly.* 2024; 6(41): 1065–74. <https://doi.org/10.46234/ccdcw2024.220>
22. Ko J.H., Woo H.T., Oh H.S., Moon S.M., Choi J.Y., Lim J.U., et al. Ongoing outbreak of human adenovirus-associated acute respiratory illness in the Republic of Korea military, 2013 to 2018. *Korean J. Intern. Med.* 2021; 36(1): 205–13. <https://doi.org/10.3904/kjim.2019.092>
23. Hughes J.J., Yang Y., Fries A.C., Maljkovic Berry I., Pollio A.R., Fung C.K., et al. Complete genome sequences of two human adenovirus type 55 isolates from South Korea and the United States. *Microbiol. Resour. Announc.* 2021; 10(5): e01347-20. <https://doi.org/10.1128/MRA.01347-20>
24. Niang M.N., Diop N.S., Fall A., Kiori D.E., Sarr F.D., Sy S., et al. Respiratory viruses in patients with influenza-like illness in Senegal: Focus on human respiratory adenoviruses. *PLoS One.* 2017; 12(3): e0174287. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174287>
25. Hang J., Kajon A.E., Graf P.C.F., Berry I.M., Yang Y., Sanborn M.A., et al. Human adenovirus type 55 distribution, regional persistence, and genetic variability. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26(7): 1497–505. <https://doi.org/10.3201/eid2607.191707>
26. Wodrich H., Henaff D., Jammart B., Segura-Morales C., Seelmeier S., Coux O., et al. A capsid-encoded PPxY-motif facilitates adenovirus entry. *PLoS Pathog.* 2010; 6(3): e1000808. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000808>
27. Wang F., De R., Han Z., Xu Y., Zhu R., Sun Y., et al. High-frequency recombination of human adenovirus in children with acute respiratory tract infections in Beijing, China. *Viruses.* 2024; 16(6): 828. <https://doi.org/10.3390/v16060828>
4. Kajon A.E., Lamson D.M., St. George K. Emergence and re-emergence of respiratory adenoviruses in the United States. *Curr. Opin. Virol.* 2019; 34: 63–9. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2018.12.004>
5. Dhingra A., Hage E., Ganzenmueller T., Böttcher S., Hofmann J., Hamprecht K., et al. Molecular Evolution of Human Adenovirus (HAdV) Species C. *Sci Rep.* 2019; 9(1): 1039. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37249-4>
6. Scott M.K., Chommanard C., Lu X., Appelgate D., Grenz L., Schneider E., et al. Human adenovirus associated with severe respiratory infection, Oregon, USA, 2013–2014. *Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22(6): 1044–51. <https://doi.org/10.3201/eid2206.151898>
7. Hierholzer J.C., Pumarola A., Rodriguez-Torres A., Beltran M. Occurrence of respiratory illness due to an atypical strain of adenovirus type 11 during a large outbreak in Spanish military recruits. *Am. J. Epidemiol.* 1974; 99(6): 434–42. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a121632>
8. Li Q.G., Hambraeus J., Wadell G. Genetic relationship between thirteen genome types of adenovirus 11, 34, and 35 with different tropisms. *Intervirology.* 1991; 32(6): 338–50. <https://doi.org/10.1159/000150218>
9. Yang Z., Zhu Z., Tang L., Wang L., Tan X., Yu P., et al. Genomic analyses of recombinant adenovirus type 11a in China. *J. Clin. Microbiol.* 2009; 47(10): 3082–90. <https://doi.org/10.1128/JCM.00282-09>
10. Seto D., Chodosh J., Brister J.R., Jones M.S. Using the whole-genome sequence to characterize and name human adenoviruses. *J. Virol.* 2011; 85(11): 5701–2. <https://doi.org/10.1128/JVI.00354-11>
11. Seto D., Jones M.S., Dyer D.W., Chodosh J. Characterizing, typing, and naming human adenovirus type 55 in the era of whole genome data. *J. Clin. Virol.* 2013; 58(4): 741–2. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2013.09.025>
12. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Civilian outbreak of adenovirus acute respiratory disease – South Dakota, 1997. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 1998; 47(27): 567–70.
13. Kajon A.E., Mistchenko A.S., Videla C., Hortal M., Wadell G., Avendaño L.F. Molecular epidemiology of adenovirus acute lower respiratory infections of children in the south cone of South America (1991–1994). *J. Med. Virol.* 1996; 48(2): 151–6. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9071\(199602\)48:2%3C151::aid-jmv6%3E3.0.co;2-8](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9071(199602)48:2%3C151::aid-jmv6%3E3.0.co;2-8)
14. Salama M., Amitai Z., Nutman A., Gottesman-Yekutieli T., Sherbany H., Drori Y., et al. Outbreak of adenovirus type 55 infection in Israel. *J. Clin. Virol.* 2016; 78: 31–5. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2016.03.002>
15. Jing S., Zhang J., Cao M., Liu M., Yan Y., Zhao S., et al. Household transmission of human adenovirus type 55 in case of fatal acute respiratory disease. *Emerg. Infect. Dis.* 2019; 25(9): 1756–8. <https://doi.org/10.3201/eid2509.181937>
16. Burtseva E.I., Panova A.D., Kolobukhina L.V., Ignatjeva A.V., Kirillova E.S., Breslav N.V., et al. Epidemic season 2021–2022: Frequency of co-infection by respiratory viral pathogens. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2023; 28(2): 67–77. <https://doi.org/10.17816/EID321873> (in Russian)
17. Tamura K., Stecher G., Kumar S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Mol. Biol. Evol.* 2021; 38(7): 3022–7. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
18. Hough H.S., Lott L., Gong H., Kuschner R.A., Lynch J.A., Metzgar D. Adenovirus microsatellite reveals dynamics of transmission during a recent epidemic of human adenovirus serotype 14 infection. *J. Clin. Microbiol.* 2009; 47(7): 2243–8. <https://doi.org/10.1128/JCM.01659-08>
19. Kurskaya O.G., Prokopyeva E.A., Dubovitskiy N.A., Solomatina M.V., Sobolev I.A., Derko A.A., et al. Genetic Diversity of the Human Adenovirus C Isolated from Hospitalized Children in Russia (2019–2022). *Viruses.* 2024; 16(3): 386. <https://doi.org/10.3390/v16030386>
20. Adenovirus infections, 2008 to 2020, Japan. *IASR.* 2021; 42(4): 67–9. Available at: <https://id-info.jihs.go.jp/niid/en/iasr/12459-494te.html>
21. Sun H., Hu W., Wei Y., Hao Y. Review: Drawing on the development experiences of infectious disease surveillance systems around the world. *China CDC Wkly.* 2024; 6(41): 1065–74. <https://doi.org/10.46234/ccdcw2024.220>
22. Ko J.H., Woo H.T., Oh H.S., Moon S.M., Choi J.Y., Lim J.U., et al. Ongoing outbreak of human adenovirus-associated acute respiratory illness in the Republic of Korea military, 2013 to 2018. *Korean J. Intern. Med.* 2021; 36(1): 205–13. <https://doi.org/10.3904/kjim.2019.092>
23. Hughes J.J., Yang Y., Fries A.C., Maljkovic Berry I., Pollio A.R., Fung C.K., et al. Complete genome sequences of two human ad-

REFERENCES

1. Lynch J.P. 3rd, Kajon A.E. Adenovirus: epidemiology, global spread of novel serotypes, and advances in treatment and prevention. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2016; 37(4): 586–602. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1584923>
2. Coleman K.K., Wong C.C., Jayakumar J., Nguyen T.T., Wong A.W.L., Yadana S., et al. Adenoviral infections in Singapore: Should new antiviral therapies and vaccines be adopted? *J. Infect. Dis.* 2020; 221(4): 566–77. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz489>
3. Xu W., Xu Z., Huang L., Qin E.Q., Zhang J.L., Zhao P., et al. Transcriptome sequencing identifies novel immune response genes highly related to the severity of human adenovirus type 55 infection. *Front. Microbiol.* 2019; 10: 130. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00130>

- enovirus type 55 isolates from South Korea and the United States. *Microbiol. Resour. Announc.* 2021; 10(5): e01347-20. <https://doi.org/10.1128/MRA.01347-20>
24. Niang M.N., Diop N.S., Fall A., Kiori D.E., Sarr F.D., Sy S., et al. Respiratory viruses in patients with influenza-like illness in Senegal: Focus on human respiratory adenoviruses. *PLoS One.* 2017; 12(3): e0174287. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174287>
 25. Hang J., Kajon A.E., Graf P.C.F., Berry I.M., Yang Y., Sanborn M.A., et al. Human adenovirus type 55 distribution, regional persistence, and genetic variability. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26(7): 1497–505. <https://doi.org/10.3201/eid2607.191707>
 26. Wodrich H., Henaff D., Jammart B., Segura-Morales C., Seelmeir S., Coux O., et al. A capsid-encoded PPxY-motif facilitates adenovirus entry. *PLoS Pathog.* 2010; 6(3): e1000808. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000808>
 27. Wang F., De R., Han Z., Xu Y., Zhu R., Sun Y., et al. High-frequency recombination of human adenovirus in children with acute respiratory tract infections in Beijing, China. *Viruses.* 2024; 16(6): 828. <https://doi.org/10.3390/v16060828>

Информация об авторах:

Шейн Даниил Алексеевич – аспирант лаборатории иммунобиотехнологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: daniil.schein@yandex.ru; <https://orcid.org/0009-0003-3768-9817>

Рыжова Наталья Николаевна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории анализа геномов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: gynatalia@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5361-870X>

Кунда Марина Сергеевна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории анализа геномов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: markunda99@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-1945-0397>

Ермолова Екатерина Ивановна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории анализа геномов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: aksenova16@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0437-9404>

Ожаровская Татьяна Андреевна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунобиотехнологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: t.ozh@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7147-1553>

Попова Ольга – младший научный сотрудник лаборатории иммунобиотехнологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: olga.popova31@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3248-1227>

Никитенко Наталья Анатольевна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной микробиологии, заведующая медицинским отделом ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: nan-nikitenko@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5829-744X>

Краснослободцев Кирилл Геннадьевич – научный сотрудник этиологии и эпидемиологии гриппа ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: kkg_87@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1745-9128>

Бурцева Елена Ивановна – д-р мед. наук, заведующая лабораторией этиологии и эпидемиологии гриппа ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: elena-burtseva@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2518-6801>

Зубкова Ольга Вадимовна – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунобиотехнологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: olga-zubkova@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7893-8419>

Воронина Ольга Львовна – канд. биол. наук, доцент, ведущий научный сотрудник – заведующая лабораторией анализа геномов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: olv550@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-7206-3594>

Гинцбург Александр Леонидович – д-р биол. наук, академик РАН, профессор, директор ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: gintsburg@gamaleya.org; <https://orcid.org/0000-0003-1769-5059>

Участие авторов: Шейн Д.А. – анализ вирусной ДНК, написание рукописи; Рыжова Н.Н., Кунда М.С., Ермолова Е.И. – геномные исследования, биоинформационный анализ, визуализация, написание рукописи; Ожаровская Т.А., Попова О. – накопление, выделение и очистка вируса; Никитенко Н.А., Краснослободцев К.Г. – анализ базы данных образцов, тестированных на аденовирус; Бурцева Е.И. – кураторство базы данных, консультирование по вопросам эпидемиологии; Зубкова О.В. – накопление, выделение и очистка вируса, написание и редактирование рукописи; Воронина О.Л. – методология и дизайн геномного исследования, биоинформационный анализ, написание и научное редактирование рукописи; Гинцбург А.Л. – общее руководство проектом, научное редактирование рукописи.

Поступила 14.04.2025

Принята в печать 12.06.2025

Опубликована онлайн 15.09.2025

Information about the authors:

Daniil A. Shein – Postgraduate Student, Laboratory of genome analysis, National Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya of Ministry of Health, Moscow, Russia. E-mail: daniil.schein@yandex.ru; <https://orcid.org/0009-0003-3768-9817>

Natalya N. Ryzhova – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of genome analysis, National Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya of Ministry of Health, Moscow, Russia. E-mail: gynatalia@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5361-870X>

Marina S. Kunda – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of genome analysis, National Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya of Ministry of Health, Moscow, Russia. E-mail: markunda99@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-1945-0397>

Ekaterina I. Ermolova – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of genome analysis, National Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya of Ministry of Health, Moscow, Russia. E-mail: aksenova16@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0437-9404>

Tatiana A. Ozharovskaia – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Immunobiotechnology laboratory, National Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya of Ministry of Health, Moscow, Russia. E-mail: t.ozh@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7147-1553>

Olga Popova – junior researcher, Immunobiotechnology laboratory, National Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya of Ministry of Health, Moscow, Russia. E-mail: olga.popova31@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3248-1227>

Natalia A. Nikitenko – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Head of Medical Department, National Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya of Ministry of Health, Moscow, Russia. E-mail: nan-nikitenko@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5829-744X>

Kirill G. Krasnoslobodtsev – researcher, Influenza etiology and epidemiology laboratory, National Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya of Ministry of Health, Moscow, Russia. E-mail: kkg_87@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1745-9128>

Elena I. Burtseva – Dr. Sci. (Medicine), Head, Influenza etiology and epidemiology laboratory, National Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya of Ministry of Health, Moscow, Russia. E-mail: elena-burtseva@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2518-6801>

Olga V. Zubkova✉ – Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Immunobiotechnology laboratory, National Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya of Ministry of Health, Moscow, Russia. E-mail: olga-zubkova@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7893-8419>

Olga L. Voronina – Cand. Sci. (Biol.), Assistant Professor, Leading Researcher, Head of Laboratory of genome analysis, National Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya of Ministry of Health, Moscow, Russia. E-mail: olv550@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-7206-3594>

Alexander L. Gintsburg – Dr. Sci. (Biol.), RAS academician, professor, Director, National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya of Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia. E-mail: gintsburg@gamaleya.org; <https://orcid.org/0000-0003-1769-5059>

Contribution: Shein D.A. – analysis of viral DNA, manuscript writing; Ryzhova N.N., Kunda M.S., Ermolova E.I. – genomic research, bioinformatics analysis, visualization, manuscript writing; Ozharovskaia T.A., Popova O. – propagation, extraction and purification of the virus; Nikitenko N.A., Krasnoslobodtsev K.G. – analysis of a database of samples, adenovirus testing; Burtseva E.I. – database curation, consulting on epidemiology issues; Zubkova O.V. – propagation, extraction and purification of the virus, writing and editing of the manuscript; Voronina O.L. – methodology and design of the genomic study, bioinformatics analysis, writing and editing of the manuscript; Gintsburg A.L. – general project management, editing of the manuscript.

Received 14 April 2025

Accepted 12 June 2025

Published online 15 September 2025

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/05074088300>

© ЧЕРНОРЫЖ Я.Ю., ЮРЛОВ К.И., ГРЕБЕННИКОВА Т.В., АНДРЕЕВ С.М., ЛЕСНОВА Е.И., СИМОНОВ Р.А., ФЕДОРОВА Н.Е., КУЩ А.А., 2025



Устойчивость и восстановление чувствительности опухолевых клеток, инфицированных цитомегаловирусом человека, к доксорубину при сочетанном применении с дисперсным фуллереном dC₆₀

Чернорыж Я.Ю.^{1✉}, Юрлов К.И.¹, Гребенникова Т.В.¹, Андреев С.М.², Леснова Е.И.¹, Симонов Р.А.¹, Федорова Н.Е.¹, Куш А.А.¹

¹ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, Россия;

²ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, 115522, г. Москва, Россия

Резюме

Введение. Цитомегаловирусная инфекция способна индуцировать развитие резистентности опухолевых клеток к химиотерапевтическим препаратам посредством модуляции апоптотических путей. В поиске альтернативных препаратов, направленных на преодоление вирус-ассоциированной резистентности, перспективным направлением является применение наноматериалов (дисперсной формы фуллерена dC₆₀). Возможность преодоления вирус-ассоциированной лекарственной устойчивости открывает новые возможности для разработки комбинированных терапевтических стратегий в лечении опухолей.

Цель – оценить влияние цитомегаловирусной инфекции на резистентность клеток гепатокарциномы и промиелоцитарного лейкоза к доксорубину, а также потенциал дисперсного фуллерена dC₆₀ в восстановлении чувствительности к химиотерапии доксорубином клеток моноцитарной лейкемии.

Материалы и методы. Исследовали клетки: гепатокарциномы (Huh 7.5), промиелоцитарного лейкоза (HL-60), моноцитарной лейкемии (THP-1); цитомегаловирус (штамм AD169). Экспериментальная часть включала общепринятые культуральные и вирусологические методы, иммуноцитохимию, иммуноблоттинг, полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени, полимеразную цепную реакцию с обратной транскрипцией, МТТ-тест.

Результаты. Цитомегаловирусная инфекция в клетках гепатокарциномы и промиелоцитарного лейкоза снижала цитотоксическое действие доксорубина на 30%. В клетках моноцитарной лейкемии сочетанное применение доксорубина с дисперсным фуллереном dC₆₀ приводило к восстановлению чувствительности инфицированных клеток к химиотерапии. При этом 93% гибель опухолевых клеток достигалась с применением доксорубина в 2 раза меньшей концентрации.

Заключение. Цитомегаловирусная инфекция формирует резистентность к доксорубину на гемопоэтических (клетки промиелоцитарного лейкоза и моноцитарной лейкемии) и солидных (клетки гепатокарциномы) опухолевых моделях. Примечательно, что сочетанное действие доксорубина с дисперсным фуллереном dC₆₀ не только позволяет преодолевать вирус-опосредованную лекарственную устойчивость в клетках моноцитарной лейкемии, но и позволяет достичь выраженного цитотоксического эффекта при сниженных концентрациях доксорубина, что открывает перспективы для разработки комбинированных терапевтических схем со сниженной токсичностью.

Ключевые слова: цитомегаловирус человека; дисперсный фуллерен dC₆₀; Huh 7.5; THP-1; HL-60; гепатокарцинома; лейкоз; лейкемия

Для цитирования: Чернорыж Я.Ю., Юрлов К.И., Гребенникова Т.В., Андреев С.М., Леснова Е.И., Симонов Р.А., Федорова Н.Е., Куш А.А. Устойчивость и восстановление чувствительности опухолевых клеток, инфицированных цитомегаловирусом человека, к доксорубину при сочетанном применении с дисперсным фуллереном dC₆₀. *Вопросы вирусологии*. 2025; 70(5): 444–454.

DOI: <https://doi.org/10.36233/05074088300> EDN: <https://elibrary.ru/cdagan>

Финансирование. Работа финансировалась за счет средств бюджета ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России.

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

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/05074088300>

Resistance and chemosensitivity restoration in human cytomegalovirus-infected tumor cells to doxorubicin through combined treatment with aqueous fullerene dC₆₀

Yana Yu. Chernoryzh¹✉, Kirill I. Yurlov¹, Tatyana V. Grebennikova¹, Sergey M. Andreev², Ekaterina I. Lesnova¹, Ruslan A. Simonov¹, Natalia E. Fedorova¹, Alla A. Kushch¹

¹National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, 123098, Moscow, Russia;

²National Research Center – Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia, 115522, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. Human cytomegalovirus infection can induce tumor cell resistance to chemotherapeutic agents through modulation of apoptotic pathways. In the search for alternative approaches to overcome virus-associated drug resistance, the application of nanomaterials (aqueous fullerene dC₆₀) represents a promising strategy. The potential to overcome human cytomegalovirus mediated chemoresistance opens new avenues for developing combined therapeutic approaches in oncology.

Aim – to evaluate the impact of human cytomegalovirus infection on the resistance of hepatocellular carcinoma and promyelocytic leukemia cells to doxorubicin, as well as the potential of aqueous fullerene dC₆₀ to restore chemosensitivity in monocytic leukemia cells.

Materials and methods. Hepatocellular carcinoma cells (Huh 7.5), promyelocytic leukemia cells (HL-60), monocytic leukemia cells (THP-1), and HCMV AD169 were used. The experimental procedures included standard cell culture techniques, virological methods, immunocytochemistry, Western blotting, Real-Time Polymerase Chain Reaction, Quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction and MTT assay.

Results. Human cytomegalovirus infection reduced doxorubicin cytotoxicity by 30% in both hepatocellular carcinoma and promyelocytic leukemia cells. In monocytic leukemia cells, combined treatment with doxorubicin and dC₆₀ restored chemosensitivity to human cytomegalovirus infected cells, achieving 93% tumor cell death at half the standard doxorubicin concentration.

Conclusion. Human cytomegalovirus infection induces doxorubicin resistance in both hematopoietic (promyelocytic leukemia, monocytic leukemia) and solid (hepatocellular carcinoma) tumor models. Importantly, combined treatment doxorubicin with aqueous fullerene dC₆₀ not only overcomes virus-mediated drug resistance in monocytic leukemia cells but also enhances cytotoxicity at reduced doxorubicin concentrations, offering prospects for developing less toxic combined therapeutic regimens.

Keywords: *human cytomegalovirus; aqueous fullerene C₆₀ (dC₆₀); Huh 7.5; THP-1; HL-60; hepatocellular carcinoma; leukemia*

For citation: Chernoryzh Ya.Yu., Yurlov K.I., Grebennikova T.V., Andreev S.M., Lesnova E.I., Simonov R.A., Fedorova N.E., Kushch A.A. Resistance and chemosensitivity restoration in human cytomegalovirus-infected tumor cells to doxorubicin through combined treatment with aqueous fullerene dC₆₀. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2025; 70(5): 444–454. DOI: <https://doi.org/10.36233/05074088300> EDN: <https://elibrary.ru/cdagan>

Funding. This work was supported by intramural funding from the N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology of 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.

Введение

В последние десятилетия накапливаются данные, свидетельствующие о важной роли инфекционных агентов в развитии онкологических заболеваний [1]. Цитомегаловирус (ЦМВ) (семейство *Herpesviridae*) не является классическим онкогенным вирусом, несмотря на экспериментальные данные, указывающие на его способность трансформировать фибробласты [2], гепатоциты и клетки НерG2 [3]. Однако результаты многочисленных исследований подтверждают онкомодулирующее действие ЦМВ [4], при этом

вирусные ДНК и/или белки обнаруживаются у 90–100% пациентов с различными типами опухолей [5], что делает актуальным изучение его роли в патогенезе злокачественных новообразований.

ЦМВ – полигистiotропный вирус, персистирует в организме после первичной инфекции, периодически реактивируясь. Клетки крови служат основным резервуаром латентной инфекции. Ранее нами было показано, что инфекция ЦМВ клеточной линии моноцитарной лейкемии ТНР-1 индуцирует устойчивость к доксорубину (ДОКС) [6]. Примечательно, что противовирусная терапия ганцикловиром не восстанавливает

ливают чувствительность к химиотерапии [7], что указывает на необходимость поиска новых подходов для преодоления вирус-опосредованной резистентности.

ДОКС – один из наиболее эффективных противоопухолевых препаратов, широко применяемых в терапии разных злокачественных новообразований. Однако клиническое использование ДОКС ограничено его выраженной кардио- и нефротоксичностью. Актуальной проблемой многих исследований является преодоление устойчивости опухолевых клеток к химиотерапии при одновременном снижении токсического воздействия ДОКС. Показано, что ресвератрол повышает цитотоксическую активность ДОКС в отношении клеток рака молочной железы человека при одновременном применении или за 24 ч до применения ДОКС [8] и усиливает цитотоксический эффект ДОКС в клетках карциномы толстой кишки [9]. Другие стратегии включают использование комбинаций, таких как AICAR и ДОКС, в составе наночастиц для преодоления проблемы токсичности при таргетной терапии, при этом сохраняются мощные противораковые эффекты в клетках карциномы легких, карциномы толстой кишки, аденокарциномы шейки матки, острой Т-клеточной лейкемии и карциномы поджелудочной железы [10], а также применение мицелл на основе TPGS1000 и куркумина для преодоления резистентности в клетках рака легких [11]. Кроме того, олигонуклеотид DT01 показал потенциал в усилении эффекта ДОКС при гепатоцеллюлярной карциноме [12].

Дисперсный фуллерен dC_{60} является перспективным средством в биологии и медицине, публикации о химических и биологических свойствах этого вещества свидетельствуют о его малой токсичности, антиоксидантной и противовоспалительной активности, ранозаживляющих свойствах [13, 14]. Согласно данной литературы, наночастицы фуллерена C_{60} , обладающие гидрофильными свойствами, демонстрируют выраженную противовирусную активность против широкого спектра патогенов, включая ВИЧ, вирус Эбола, разные штаммы вируса гриппа (H1N1, H3N2, H5N1), аденовирусы и респираторно-синцитиальный вирус [15–17], вирус простого герпеса 1-го типа и ЦМВ [18].

Поэтому целью исследования было изучение влияния цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ) на формирование резистентности к ДОКС в клеточных линиях гепатокарциномы и промиелоцитарного лейкоза и оценка способности нанодисперсного фуллерена dC_{60} преодолевать химиорезистентность в ЦМВ-инфицированных клетках моноцитарной лейкемии при сочетанном применении с ДОКС.

Материалы и методы

Клетки. В работе использованы: клеточная линия фибробластов легкого эмбриона человека (ФЛЭЧ), клетки гепатокарциномы Huh 7.5, клетки промиелоцитарного лейкоза HL-60 и клетки моноцитарной лейкемии THP-1, полученные из банка клеточных культур ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (Москва). Для поддержания клеточных

культур ФЛЭЧ и Huh 7.5 использовали питательную среду DMEM, а линии HL-60 и THP-1 культивировали в среде RPMI-1640. В состав питательных сред входили следующие компоненты: L-глутамин (2 мМ), гентамицин (50 мкг/мл), фетальная бычья сыворотка (10%). Все реагенты были приобретены у отечественного поставщика (ООО «ПанЭко», Россия). Контроль качества подтвердил отсутствие микробной контаминации (как внеклеточной, так и внутриклеточной) в используемых клеточных культурах.

Вир. В исследовании применяли лабораторный штамм ЦМВ AD169, предоставленный вирусной коллекцией НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи. Вирусный материал пассировали на культуре клеток ФЛЭЧ с последующим определением инфекционного титра методом бляшкообразования. Титр *de novo* полученного вируса составлял 1×10^5 БОЕ/мл (бляшкообразующих единиц на 1 мл).

Дисперсный фуллерен dC_{60} был предоставлен ФГБУ ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России. Морфологический анализ проводили на сканирующем электронном микроскопе TESCAN MIRA 3 LMN (режим вторичных электронов, ускоряющее напряжение 5 кВ, ток пучка 130 пА). Образцы готовили методом воздушной сушки без металлического напыления.

МТТ-тест. Для определения жизнеспособности клеток после воздействия ДОКС и фуллерена dC_{60} применяли стандартный МТТ-тест. Клеточные культуры инкубировали с тетразолиевым красителем (МТТ, 1 мг/мл) в течение 2 ч при 37 °С. Образованный формазан экстрагировали 0,04 М раствором соляной кислоты в изопропанол. Количественную оценку проводили методом спектрофотометрии на планшетном ридере TECAN при 570 нм с коррекцией фонового сигнала на 620 нм.

Иммуноцитохимия. Для детекции ЦМВ-инфицированных клеток использовали иммунопероксидазный метод с первичными антителами против вирусных белков IE1-p72 и pp65 (Abcam, Великобритания). Препараты визуализировали с использованием микроскопа AxioCam MRc5 (Carl Zeiss, Германия) с 400-кратным увеличением и цифровой регистрацией изображений.

Иммуноблотинг. Трансфер на нитроцеллюлозные мембраны проводили после предварительного электрофоретического разделения белков в 12% полиакриламидном геле. Визуализацию проводили методом хемилюминесценции (система Bio-Rad, США) с последующей количественной оценкой цифровых изображений в программе ImageJ (версия 1.52, NIH, США). Для нормализации данных использовали белок β -актин.

Полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Тотальную РНК экстрагировали с использованием реагента тризол (Thermo Fisher Scientific, США) по стандартному протоколу. Синтез комплементарной ДНК осуществляли при помощи 1 мкг тотальной РНК и коммерческого набора обратной транскриптазы MultiScribe (Applied Biosystems, США). Праймеры для амплификации

проектировали на основе последовательностей генома штамма ЦМВ AD169 с использованием: программы Vector NTI Advance 11, алгоритма термодинамического прогнозирования (Thermfold Web Server) и инструмента Primer-BLAST (NCBI). В качестве эндогенного контроля служил ген *GAPDH*.

Полимеразная цепная реакция с детекцией результатов в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Для выделения геномной ДНК применяли коммерческий набор «ДНК-сорб-В» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия) согласно стандартному протоколу экстракции нуклеиновых кислот. Количественное определение ЦМВ ДНК выполняли методом ПЦР-РВ с использованием специализированного набора реагентов (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). Амплификацию проводили в термоциклере с детекцией флуоресцентного сигнала на каждом цикле.

Статистический анализ выполняли с применением программного обеспечения Prism 9.1.1 (GraphPad Software, США) и SPSS Statistics 27 (IBM, США). Обработку данных проводили в строгом соответствии с актуальными методическими рекомендациями.

Результаты

Приготовление и характеристика dC_{60} . Фуллерен dC_{60} получали по модифицированной методике диалфильтрации, в которой стандартный диализ заменили тангенциальной ультрафильтрацией в соответствии с ранее опубликованным протоколом [18]. Полученные образцы представляли собой агломераты размером около 100 нм, сформированные из более мелких частиц диаметром 15–30 нм.

Цитотоксическое действие ДОКС на клетки Huh 7.5 и HL-60. Для определения цитотоксического действия ДОКС клеточные линии Huh 7.5 и HL-60 инкубировали в присутствии разных концентраций антибиотика: 0,1–10 мкг/мл для Huh 7.5 (рис. 1 а) и 0,3–3 мкг/мл для HL-60 (рис. 1 б). Установлено, что 50% цитотоксическая доза (IC_{50}) ДОКС для клеток Huh 7.5 составила 2,6 мкг/мл, тогда как для HL-60 данный показатель был значительно ниже – 0,05 мкг/мл.

Характеристика ЦМВИ в клетках Huh 7.5 и HL-60. В ходе исследования методом количественной ПЦР-РВ оценивали содержание вирусной ДНК в клеточных линиях Huh 7.5 и HL-60 в течение 14 сут после инфицирования. Анализ полученных данных (рис. 2 а) выявил снижение количества вирусной ДНК в расчете на одну клетку в обеих исследуемых линиях. В клетках HL-60 содержание вирусного генома уменьшилось с $1,22 \pm 0,01$ lg (1 сут после инфицирования) до $0,78 \pm 0,02$ lg (14 сут после инфицирования). Аналогичная динамика наблюдалась в линии Huh 7.5, где показатель снизился с $1,86 \pm 0,03$ lg в 1-е сутки до $1,22 \pm 0,06$ lg к концу экспериментального периода.

Для характеристики течения ЦМВИ в клеточных линиях Huh 7.5 и HL-60 проводили анализ вирусспецифических белков, соответствующих сверхранней (IE) и ранней (Е) стадиям инфекционного процесса. Клетки заражали ЦМВ при множественности инфицирования 2 БОЕ/клетку с последующим мониторингом содержания IE1-p72 и pp65 в течение 14 сут.

Наибольшее количество клеток, содержащих белки IE1-p72 и pp65, зафиксировано в линии HL-60 на 1-е сутки ($37,7 \pm 2,3\%$), тогда как в культуре Huh 7.5 максимальный уровень инфицированных клеток отмечен на 2-е сутки ($42 \pm 6,5\%$). К 14 сут в обеих клеточных линиях наблюдалось статистически значимое ($p < 0,05$) уменьшение числа клеток, позитивных по IE1-p72 и pp65 ($1,5 \pm 0,9$ и $1,6 \pm 0,9$ соответственно), что указывает на завершение литической вирусной репликации (рис. 2 б).

Результаты исследования выявили динамическое уменьшение концентрации вирусной ДНК и сокращение популяции клеток, экспрессирующих IE- и Е-антигены ЦМВ, в течение 2-недельного периода наблюдения. Наблюдаемая динамика указывает на эволюцию инфекционного процесса от активной репликационной стадии к латентной персистенции вируса в обеих изученных клеточных моделях.

Цитотоксическое действие ДОКС на клетки Huh 7.5 и HL-60, инфицированные ЦМВ. На основании

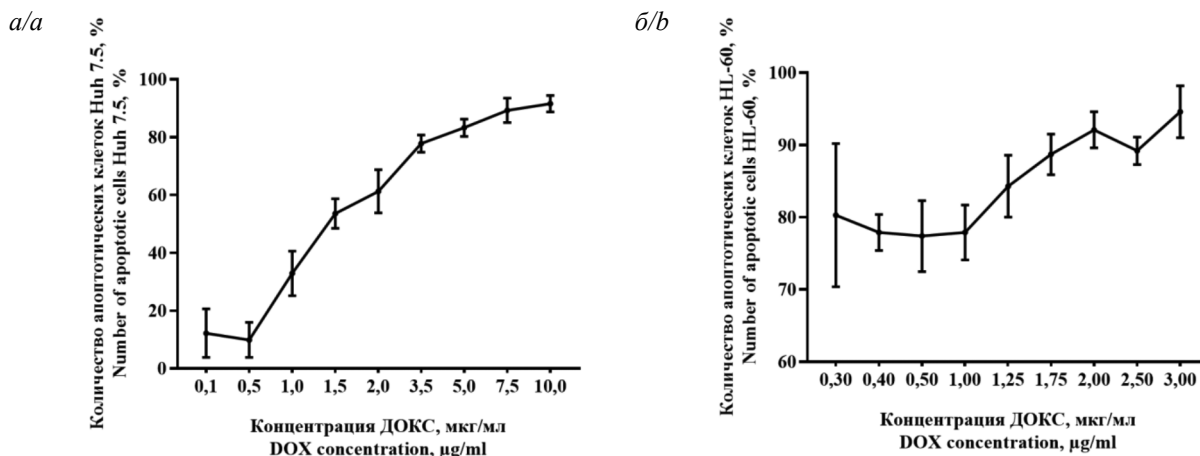


Рис. 1. Цитотоксическое действие ДОКС на клетки Huh 7.5 (а) и HL-60 (б).

Fig. 1. Evaluation of doxorubicin-induced cytotoxicity in Huh 7.5 (a) hepatocarcinoma and HL-60 promyelocytic leukemia cells (b).

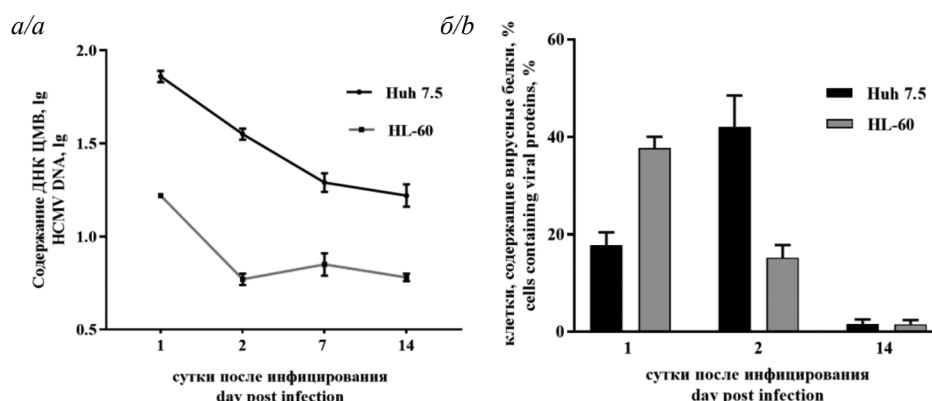


Рис. 2. Динамика содержания ДНК ЦМВ (а) и вирусных белков IE1-p72 и pp65 (б) в клетках Huh 7.5 и HL-60 с 1-х по 14-е сутки после инфицирования.

Fig. 2. Longitudinal monitoring of CMV DNA content (a) and IE1-p72/pp65 viral protein expression (b) in Huh 7.5 and HL-60 cell lines during 14 days post-infection.

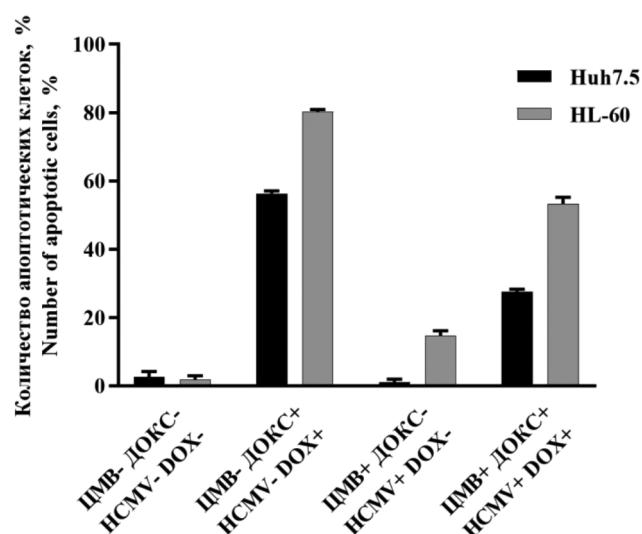


Рис. 3. Цитотоксическое действие ДОКС на клетки Huh 7.5 и HL-60, инфицированные ЦМВ.

Fig. 3. Doxorubicin-induced cytotoxicity in cytomegalovirus infected Huh 7.5 hepatocarcinoma and HL-60 promyelocytic leukemia cell lines.

анализа дозозависимой цитотоксичности были выбраны субтоксические концентрации ДОКС: 6 мкг/мл для клеточной линии Huh 7.5 и 0,6 мкг/мл для HL-60.

Был выполнен сравнительный анализ цитотоксического действия ДОКС на клеточные линии HL-60 и Huh 7.5 при наличии и отсутствии ЦМВИ. Клетки линии HL-60 обрабатывали ДОКС в концентрации 0,6 мкг/мл через 24 ч после вирусного заражения. Для клеточной культуры Huh 7.5 применяли более высокую концентрацию препарата (6 мкг/мл), которую вносили через 48 ч после инфицирования. Такой дифференцированный подход позволил оценить влияние вирусной инфекции на эффективность химиотерапевтического агента в разных клеточных системах. Анализ цитотоксического эффекта проводили после 24-часовой инкубации с антибиотиком. Результаты представлены на **рис. 3**.

В клетках HL-60 наблюдалось достоверное ($p < 0,05$) снижение цитотоксического эффекта антибиотика – количество нежизнеспособных клеток уменьшилось с $80,3 \pm 0,6\%$ в неинфицированной культуре до $53,3 \pm 1,9\%$ в инфицированной. Аналогичный протективный эффект ЦМВИ был зарегистрирован в клетках Huh 7.5: показатели клеточной гибели снизились с $56,3 \pm 0,8$ до $27,6 \pm 0,7\%$ ($p < 0,05$). Полученные результаты свидетельствуют о выраженном модулирующем действии ЦМВИ, снижающем цитотоксическую эффективность ДОКС примерно на 30% в обеих исследуемых клеточных линиях, что может быть обусловлено вирус-индуцированными изменениями клеточного метаболизма или активацией защитных механизмов в инфицированных клетках.

Противовирусное действие фуллерена dC_{60} на клетках THP-1. Ранее была показана дозозависимая противовирусная активность dC_{60} в отношении ЦМВИ на клетках ФЛЭЧ [10]. В настоящем исследовании изучали влияние dC_{60} на содержание вирусной ДНК методом ПЦР-PB, экспрессию генов *UL123* (сверххранящий белок IE1-p72) и *UL54* (ДНК-полимераза) методом ОТ-ПЦР и вирусных белков (IE1-p72 и pp65) методом «вестерн-блот» в ЦМВ-инфицированных клетках THP-1. Полученные результаты представлены в **табл. 1**.

Результаты исследования демонстрируют значимое воздействие дисперсного фуллерена dC_{60} на молекулярные маркеры ЦМВИ в клетках THP-1. Отмечалось достоверное снижение экспрессии гена *UL54* на 57% ($p < 0,05$), уменьшение уровня белка IE1-p72 на 28% ($p < 0,05$) и значимое снижение вирусной нагрузки ($p < 0,05$). При этом увеличение экспрессии гена *UL123* не было статистически значимым ($p > 0,05$), а содержание белка pp65 сохранялось на низком уровне ($p > 0,05$).

Полученные данные свидетельствуют о селективном ингибирующем действии дисперсного фуллерена dC_{60} на определенные этапы вирусной репликации, что проявляется в уменьшении уровня сверххраняющего белка (IE1-p72), снижении экспрессии поздних вирусных генов и уменьшении вирусной нагрузки.

Таблица 1. Влияние дисперсного фуллерена dC_{60} на течение цитомегаловирусной инфекции в клетках ТНР-1**Table 1.** Quantitative analysis of aqueous fullerene dC_{60} nanoparticles impact on human cytomegalovirus replication kinetics and infectivity in THP-1 cells

Параметр Parameter	UL54, усл. ед. / CU	UL123, усл. ед. / CU	IE1-p72, усл. ед. / CU	pp65, усл. ед. / CU	ДНК, копий/мл (lg) DNA copies/ml (lg)
$dC_{60} -$	$1,01 \pm 0,16$	$1,01 \pm 0,19$	$1,02 \pm 0,1$	$0,04 \pm 0,02$	$6,0 \pm 0,6$
$dC_{60} +$	$0,43 \pm 0,08^*$	$1,52 \pm 0,45$	$0,73 \pm 0,08^*$	$0,02 \pm 0,02$	$2,0 \pm 0,7^*$

Примечание. * – статистически значимые различия ($p < 0,05$).**Note.** * – statistically significant differences ($p < 0.05$).

Сочетанное действие дисперсного фуллерена dC_{60} и ДОКС на ЦМВ-инфицированные клетки ТНР-1. С целью изучения потенциального синергического взаимодействия исследовали комбинированное воздействие дисперсного фуллерена dC_{60} и ДОКС на клеточную линию ТНР-1, инфицированную ЦМВ. В работе использовали следующие концентрационные диапазоны: дисперсного фуллерена dC_{60} – 12,5–100 мкг/мл; ДОКС – 1,25–5 мкг/мл. Экспериментальный дизайн предусматривал систематическую оценку цитотоксических эффектов всех возможных комбинаций указанных соединений для выявления потенциально синергических взаимодействий между изучаемыми агентами. Для оценки синергического эффекта было проведено комплексное исследование комбинированного действия дисперсного фуллерена dC_{60} в концентрациях 12,5, 25,0, 50,0 и 100,0 мкг/мл и ДОКС в концентрациях 1,25, 2,50 и 5,00 мкг/мл на ЦМВ-инфицированные клетки ТНР-1. Результаты исследования демонстрируют выраженный синергический эффект комбинации дисперсного фуллерена dC_{60} с ДОКС, проявляющийся в значительном повышении цитотоксической активности против ЦМВ-инфицированных клеток ТНР-1. Выявлено достоверное снижение количества нежизнеспособных клеток при всех исследованных концентрациях ДОКС, при этом в инфицированной культуре цитотоксический эффект был почти в 2,5 раза менее выражен по сравнению с неинфицированными клетками. Результаты исследования свидетельствуют о значительном потенцировании цитотоксического действия ДОКС при его сочетанном применении с нанодисперсным фуллереном dC_{60} в отношении ЦМВ-инфицированных клеток линии ТНР-1. Полученные экспериментальные данные выявили четкую дозозависимую синергию изучаемых соединений: применение минимальных эффективных концентраций (1,25 мкг/мл ДОКС в комбинации с 12,5 мкг/мл dC_{60}) достоверно повышало чувствительность инфицированных клеток к химиотерапевтическому воздействию ($p < 0,05$). При этом максимального цитотоксического эффекта, характеризующегося гибелью $93,0 \pm 2,5\%$ клеточной популяции, достигали при использовании оптимального сочетания концентраций – 2,5 мкг/мл ДОКС и 50 мкг/мл нанодисперсного фуллерена dC_{60} (рис. 4). Полученные результаты демонстрируют перспективность использования дисперсного фуллерена dC_{60} для потенцирования цитотоксической терапии при ЦМВ-ассоциированных онкогематологических заболеваниях.

Проведенный факторный анализ данных с применением метода главных компонент с последующим варимакс-вращением позволил выделить два доминирующих фактора эффективности химиотерапии, основные параметры которых систематизированы в табл. 2. Данные компоненты объясняют наибольшую долю дисперсии в исследуемой выборке и могут рассматриваться как ключевые факторы, определяющие наблюдаемые закономерности.

Результаты факторного анализа выявили значимый вклад ключевых компонент в общую вариабельность эффективности химиотерапевтического воздействия. Первый фактор объяснял 49,3% наблюдаемой дисперсии, второй – 38,5%, демонстрируя выраженную доминантную роль этих компонент. Совокупный вклад двух факторов достигал 87,9%, что указывает на их определяющее значение в формировании вариабельности химиотерапевтического ответа.

Для количественной оценки взаимосвязей между исследуемыми параметрами и выделенными факторами был проведен анализ факторных нагрузок. В табл. 3 представлена соответствующая матрица, где наиболее значимые корреляции (с максимальными значениями нагрузок) выделены для наглядности.

Первой компоненте соответствовали высокие значения концентрации ДОКС (0,801) и большее количество нежизнеспособных клеток (0,916), что позволяет обозначить ее как компонента «Цитотоксическое действие ДОКС». Вторая компонента (0,968) имела наиболее выраженные корреляции с концентрациями дисперсного фуллерена dC_{60} , поэтому была интерпретирована как компонента «Концентрация dC_{60} ». Интерпретация результатов факторного анализа подтверждает его валидность, т.к. выделенные компоненты имеют четкое содержательное объяснение, что свидетельствует об адекватности примененного аналитического подхода. Проверка исходных предпосылок с использованием теста сферичности Бартлетта показала статистически значимый результат ($p < 0,001$), что обосновывает правомерность применения факторного анализа к исследуемым данным. Полученное значение p -уровня указывает на наличие значимых взаимосвязей между переменными, достаточных для проведения данного вида многомерного анализа.

Корреляционная связь полученных компонент с эффективностью химиотерапии оценивали с помощью коэффициента корреляции Спирмена (ρ). Были уста-

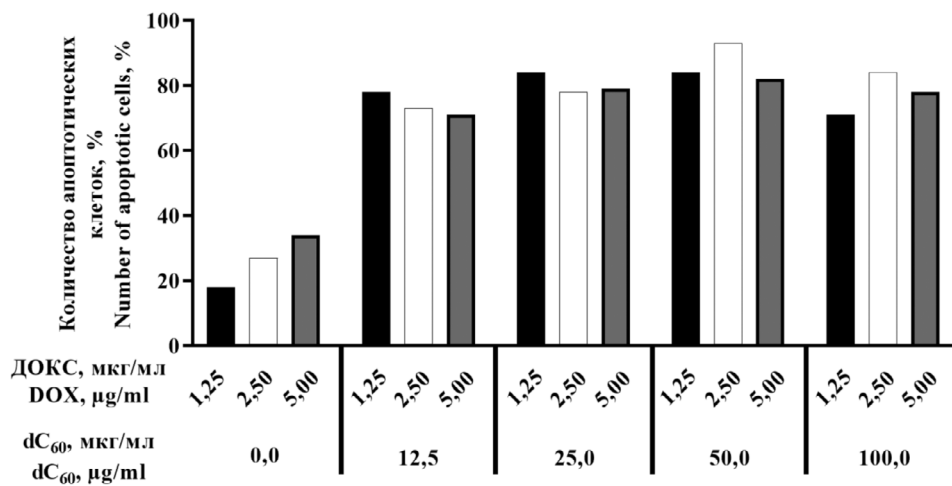


Рис. 4. Сочетанное действие ДОКС и дисперсного фуллерена dC₆₀ на клетки THP-1, инфицированные ЦМВ.

Fig. 4. Evaluation of combination treatment with doxorubicin (DOX) and aqueous fullerene dC₆₀ nanoparticles in cytomegalovirus infected THP-1 cells.

Таблица 2. Характеристики компонент
Table 2. Characteristics of Key Components

№	Компонента Key Components	Собственные значения Eigenvalues	Удельный вклад в дисперсию, % Rotation Sums of Squared Loadings, %	
			каждой компоненты variance	накопленный cumulative
1	Цитотоксическое действие ДОКС DOX-induced cytotoxicity	1,480	49,3	49,3
2	Концентрация dC ₆₀ dC ₆₀ concentration	1,156	38,5	87,9

Таблица 3. Матрица факторных нагрузок для показателей, влияющих на эффективность химиотерапии
Table 3. Factor loading matrix for parameters influencing chemotherapy efficacy

Показатель Parameter	Компонента Components	
	1	2
Нежизнеспособные клетки Non-viability cells	0,801	0,433
Концентрация ДОКС Concentration DOX	0,916	–0,180
Концентрация dC ₆₀ Concentration dC ₆₀	0,015	0,968

новлены статистически значимая прямая корреляционная связь заметной тесноты компоненты 1 «Цитотоксическое действие ДОКС» с количеством нежизнеспособных ЦМВ-инфицированных клеток ($\rho = 0,641$; $p = 0,003$) и статистически значимая прямая корреляционная связь заметной тесноты компоненты 2 «Концентрация dC₆₀» с количеством нежизнеспособных ЦМВ-инфицированных клеток ($\rho = 0,595$; $p = 0,007$).

Обсуждение

Согласно данным современных исследований, около 20% случаев злокачественных опухолей у человека имеют вирусную этиологию. На сегодняшний день доказана онкогенная роль нескольких вирусов, таких как вирус Эпштейна–Барр, вирусы гепатита В и С,

Т-лимфотропный вирус человека 1-го типа, вирус папилломы человека, герпесвирус 8-го типа и полиомавирус клеток Меркеля. Эпидемиологические и молекулярно-биологические исследования подтверждают их значимую роль в развитии лимфопролиферативных заболеваний, гепатоцеллюлярной карциномы, рака шейки матки и других злокачественных новообразований [19, 20].

ЦМВ – широко распространенный оппортунистический патоген в человеческой популяции. Результаты многочисленных исследований подтверждают высокую частоту обнаружения вирусных ДНК и специфических белков ЦМВ в тканях разных злокачественных новообразований [21]. Особую клиническую значимость представляет установленная взаимосвязь между

врожденной формой ЦМВИ и повышенным риском развития острого лимфобластного лейкоза [22].

Проведенные исследования выявили комплексное взаимодействие между ЦМВИ и цитотоксическим действием ДОКС в разных опухолевых клеточных линиях, таких как ТНР-1 (острая моноцитарная лейкозия) [6, 7, 23, 24], HL-60 (острый промиелоцитарный лейкоз) и Nuh 7.5 (гепатокарцинома). Результаты, полученные в настоящем исследовании, свидетельствуют о выраженной разнице в чувствительности клеточных линий Nuh 7.5 и HL-60 к ДОКС, что подтверждается значительным различием значений CD_{50} (2,6 мкг/мл против 0,05 мкг/мл соответственно). Это может быть связано с особенностями клеточного метаболизма в разных типах опухолевых клеток, что требует дальнейшего изучения на молекулярном уровне. Динамика ЦМВИ в исследуемых клеточных линиях характеризовалась постепенным снижением содержания вирусной ДНК и уменьшением количества клеток, содержащих сверххранний (IE1-p72) и ранний (pp65) вирусные белки, что указывает на переход от литической к персистирующей фазе инфекции. Примечательно, что максимальная экспрессия вирусных белков наблюдалась в разные сроки: в клетках HL-60 – на 1-е сутки, тогда как в Nuh 7.5 – на 2-е сутки после инфицирования. Эти различия могут отражать особенности внутриклеточных процессов в разных типах клеток при ЦМВИ. Таким образом, мы предполагаем, что ЦМВ не может продуктивно заражать раковые клеточные линии, экспрессирующие онкогенные аллели. Это согласуется с результатами других исследователей, которые показали, что определенные онкогенные аллели, включая антиген Т (TAg), ингибируют ЦМВИ [25].

Особого внимания заслуживает выявленный эффект снижения цитотоксического действия ДОКС на 30% в обеих клеточных линиях после ЦМВ-инфицирования. Этот феномен может быть обусловлен вирус-индуцированными изменениями клеточного метаболизма и/или активацией защитных механизмов, что открывает новые направления для изучения механизмов лекарственной резистентности при вирус-ассоциированных опухолях.

Современная противовирусная терапия ЦМВИ, основанная преимущественно на ингибиторах вирусной ДНК-полимеразы (ганцикловир и его аналоги), демонстрирует ограниченную эффективность, действуя исключительно на литическую стадию инфекционного цикла и не оказывая влияния на латентные формы вируса. В наших предыдущих исследованиях было установлено, что комбинация ганцикловира с ДОКС не позволяет преодолеть сниженную чувствительность ЦМВ-инфицированных клеток ТНР-1 к химиотерапии [7]. Проведенный углубленный анализ молекулярных механизмов вирус-опосредованной лекарственной устойчивости позволил идентифицировать новые классы соединений, обладающих потенциалом для восстановления химиочувствительности ЦМВ-инфицированных клеток [6, 26, 27].

Среди инновационных противовирусных препаратов особый интерес представляют углеродные наночастицы, в частности водная дисперсия фуллерена C_{60} (dC_{60}), проявляющие выраженную активность в отношении герпесвирусов, в том числе ЦМВ [13–18]. Одним из преимуществ dC_{60} является возможность его промышленного производства с использованием стандартной технологии ультрафильтрации, что обеспечивает стабильное получение высококонцентрированных растворов с воспроизводимыми характеристиками. Данная технология отличается высокой экономической эффективностью и легко масштабируется до производственных объемов. Наряду с благоприятным профилем безопасности и выраженной противовирусной активностью это делает дисперсный фуллерен dC_{60} перспективным кандидатом для разработки новых терапевтических средств, особенно актуальных в условиях роста резистентности к традиционным противовирусным препаратам, и для терапии персистирующих вирусных инфекций.

Исследование противовирусной активности дисперсного фуллерена dC_{60} выявило его селективное действие на разные этапы вирусной репликации в клетках ТНР-1, инфицированных ЦМВ. Наиболее выраженным было ингибирующее влияние на экспрессию гена *UL54* (ДНК-полимераза), уровень сверххранного белка IE1-p72 и содержание ДНК ЦМВ.

Настоящее исследование выявило принципиально важный феномен синергического взаимодействия между противоопухолевым препаратом ДОКС и наноформой фуллерена C_{60} в выбранном диапазоне концентраций, при котором отсутствовал цитотоксический эффект (до 100 мкг/мл). Полученные данные демонстрируют два ключевых аспекта: во-первых, комбинированное применение указанных соединений даже в минимальных концентрациях способствовало преодолению вирус-индуцированной резистентности опухолевых клеток; во-вторых, оптимальный цитотоксический эффект, характеризующийся гибелью более 90% клеточной популяции, достигался при сочетанном использовании ДОКС в концентрации 2,5 мкг/мл и нанодисперсного фуллерена в дозе 50 мкг/мл. Проведенный факторный анализ подтвердил значимость обоих компонентов (ДОКС и dC_{60}) для эффективности терапии, причем их совместный вклад объяснял 87,9% вариативности результатов.

Результаты проведенного исследования открывают новые возможности для разработки терапевтических стратегий при онкологических заболеваниях, ассоциированных с ЦМВИ, включая как гематологические, так и солидные опухоли. Полученные данные обосновывают необходимость дальнейшего изучения использования дисперсного фуллерена dC_{60} для потенцирования химиотерапии при ЦМВ-ассоциированных онкологических заболеваниях.

Заключение

ЦМВИ формирует резистентность к ДОКС на гемопоэтических (промиелоцитарный лейкоз, моноцитарная лейкозия) и солидных (гепатокарцинома)

опухолевых моделях. Примечательно, что сочетанное действие ДОКС с дисперсным фуллереном dC_{60} позволяет не только преодолевать вирус-опосредованную лекарственную устойчивость в клетках моноцитарной лейкемии, но и достичь выраженного цитотоксического эффекта при сниженных концентрациях ДОКС, что открывает перспективы для разработки комбинированных терапевтических схем со сниженной токсичностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cao J., Li D. Searching for human oncoviruses: Histories, challenges, and opportunities. *J. Cell. Biochem.* 2018; 119(6): 4897–906. <https://doi.org/10.1002/jcb.26717>
2. de Wit R.H., Mujić-Delić A., van Senten J.R., Fraile-Ramos A., Siderius M., Smit M.J. Human cytomegalovirus encoded chemokine receptor US28 activates the HIF-1 α /PKM2 axis in glioblastoma cells. *Oncotarget.* 2016; 7(42): 67966–85. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11817>
3. Lepiller Q., Abbas W., Kumar A., Tripathy M.K., Herbein G. HC-MV activates the IL-6-JAK-STAT3 axis in HepG2 cells and primary human hepatocytes. *PLoS One.* 2013; 8(3): e59591. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059591>
4. El Baba R., Herbein G. Immune landscape of CMV infection in cancer patients: from “canonical” diseases toward virus-elicited oncomodulation. *Front. Immunol.* 2021; 12: 730765. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.730765>
5. Herbein G. Tumors and cytomegalovirus: an intimate interplay. *Viruses.* 2022; 14(4): 812. <https://doi.org/10.3390/v14040812>
6. Fedorova N.E., Chernoryzh Y.Y., Vinogradskaya G.R., Emelianova S.S., Zavalysina L.E., Yurlov K.I., et al. Inhibitor of polyamine catabolism MDL72.527 restores the sensitivity to doxorubicin of monocytic leukemia THP-1 cells infected with human cytomegalovirus. *Biochimie.* 2019; 158: 82–9. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2018.12.012>
7. Чернорыж Я.Ю., Юрлов К.И., Симонов Р.А., Федорова Н.Е., Куц А.А. Сверххранение белки цитомегаловируса участвуют в установлении резистентности к противоопухолевому антибиотику доксорубину инфицированных клеток лейкемии THP-1. *Актуальная биотехнология.* 2019; (3): 385–8. <https://elibrary.ru/xabsji>
8. Osman A.M., Bayoumi H.M., Al-Harhi S.E., Damanhour Z.A., Elshal M.F. Modulation of doxorubicin cytotoxicity by resveratrol in a human breast cancer cell line. *Cancer Cell Int.* 2012; 12(1): 47. <https://doi.org/10.1186/1475-2867-12-47>
9. Schroeter A., Marko D. Resveratrol modulates the topoisomerase inhibitory potential of doxorubicin in human colon carcinoma cells. *Molecules.* 2014; 19(12): 20054–72. <https://doi.org/10.3390/molecules191220054>
10. Daglioglu C., Okutucu B. Therapeutic effects of AICAR and DOX conjugated multifunctional nanoparticles in sensitization and elimination of cancer cells via survivin targeting. *Pharm. Res.* 2017; 34(1): 175–84. <https://doi.org/10.1007/s11095-016-2053-7>
11. Gu Y., Li J., Li Y., Song L., Li D., Peng L., et al. Nanomicelles loaded with doxorubicin and curcumin for alleviating multidrug resistance in lung cancer. *Int. J. Nanomedicine.* 2016; 11: 5757–70. <https://doi.org/10.2147/ijn.s118568>
12. Herath N.I., Devun F., Herbette A., Lienafa M.C., Chouteau P., Sun J.S., et al. Potentiation of doxorubicin efficacy in hepatocellular carcinoma by the DNA repair inhibitor DT01 in preclinical models. 2017; 27(10): 4435–44. <https://doi.org/10.1007/s00330-017-4792-1>
13. Goodarzi S., Ros T.D., Conde J., Sefat F., Mozafari M. Fullerene: Biomedical engineers get to revisit an old friend. *Materials Today.* 2017; 20(8): 460–80. <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2017.03.017>
14. Shershakova N.N., Andreev S.M., Tomchuk A.A., Makarova E.A., Nikonova A.A., Turetskiy E.A., et al. Wound healing activity of aqueous dispersion of fullerene C_{60} produced by “green technology”. *Nanomedicine.* 2023; 47: 102619. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2022.102619>
15. Xu P.Y., Li X.Q., Chen W.G., Deng L.L., Tan Y.Z., Zhang Q., et al. Progress in antiviral fullerene research. *Nanomaterials (Basel).* 2022; 12(15): 2547. <https://doi.org/10.3390/nano12152547>
16. Sinigubova E.O., Kraevaya O.A., Volobueva A.S., Zhilenkov A.V., Shestakov A.F., Baykov S.V., et al. Water-soluble fullerene C_{60}

derivatives are effective inhibitors of influenza virus replication. *Microorganisms.* 2023; 11(3): 681. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030681>

17. Mashino T. Development of bio-active fullerene derivatives suitable for drug. *Yakugaku Zasshi.* 2022; 142(2): 165–79. <https://doi.org/10.1248/yakushi.21-00188> (in Japanese)
18. Klimova R., Andreev S., Momotyuk E., Demidova N., Fedorova N., Chernoryzh Y., et al. Aqueous fullerene C_{60} solution suppresses herpes simplex virus and cytomegalovirus infections. *Fuller. Nanotub. Carbon Nanostructures.* 2020; 28(6): 487–99. <https://doi.org/10.1080/1536383X.2019.1706495>
19. Schiller J.T., Lowy D.R. An introduction to virus infections and human cancer. *Recent Results Cancer Res.* 2021; 217: 1–11. https://doi.org/10.1007/978-3-030-57362-1_1
20. Chen C.J., You S.L., Hsu W.L., Yang H.I., Lee M.H., Chen H.C., et al. Epidemiology of virus infection and human cancer. *Recent Results Cancer Res.* 2021; 217: 13–45. https://doi.org/10.1007/978-3-030-57362-1_2
21. Herbein G. High-risk oncogenic human cytomegalovirus. *Viruses.* 2022; 14(11): 2462. <https://doi.org/10.3390/v14112462>
22. Francis S.S., Wallace A.D., Wendt G.A., Li L., Liu F., Riley L.W., et al. In utero cytomegalovirus infection and development of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2017; 129(12): 1680–4. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-07-723148>
23. Чернорыж Я.Ю., Федорова Н.Е., Юрлов К.И., Симонов Р.А., Корнев А.Б., Карпов Д.С. и др. Резистентность клеток лейкемии THP-1, инфицированных цитомегаловирусом, к противоопухолевому антибиотику доксорубину и восстановление чувствительности ингибиторами молекулярного пути PI3K/AKT/mTOR. *Доклады Академии наук.* 2019; 489(4): 433–7. <https://doi.org/10.31857/S0869-56524894433-437> <https://elibrary.ru/cbjgwc>
24. Емельянова С.С., Чернорыж Я.Ю., Юрлов К.И., Закирова Н.Ф., Виноградская Г.Р., Вербенко В.Н. Цитомегаловирус индуцирует устойчивость опухолевых клеток THP-1 к химиотерапии, влияя на метаболизм полиаминов. *Актуальная биотехнология.* 2019; (3): 585–8. <https://elibrary.ru/ivwogg>
25. Xu S., Schafer X., Munger J. Expression of oncogenic alleles induces multiple blocks to human cytomegalovirus infection. *J. Virol.* 2016; 90(9): 4346–56. <https://doi.org/10.1128/jvi.00179-16>
26. Чернорыж Я.Ю., Федорова Н.Е., Юрлов К.И., Иванов А.В., Куц А.А. Сочетанное применение противоопухолевого антибиотика доксорубина и ингибитора mTOR-рапамицина восстанавливает чувствительность клеток лейкемии THP-1, инфицированных цитомегаловирусом, и снижает цитотоксичность доксорубина. *Гены и клетки.* 2019; 14(3): 70–1. <https://elibrary.ru/yrchlk>
27. Чернорыж Я.Ю., Федорова Н.Е., Корнев А.Б., Иванов А.В., Куц А.А. Ингибиторы mTOR снимают блок апоптоза, вызванный ЦМВ инфекцией опухолевых клеток THP-1, обработанных доксорубином. *Вестник Биомедицина и социология.* 2018; 3(4): 45–8. <https://elibrary.ru/vqfxea>

REFERENCES

1. Cao J., Li D. Searching for human oncoviruses: Histories, challenges, and opportunities. *J. Cell. Biochem.* 2018; 119(6): 4897–906. <https://doi.org/10.1002/jcb.26717>
2. de Wit R.H., Mujić-Delić A., van Senten J.R., Fraile-Ramos A., Siderius M., Smit M.J. Human cytomegalovirus encoded chemokine receptor US28 activates the HIF-1 α /PKM2 axis in glioblastoma cells. *Oncotarget.* 2016; 7(42): 67966–85. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11817>
3. Lepiller Q., Abbas W., Kumar A., Tripathy M.K., Herbein G. HC-MV activates the IL-6-JAK-STAT3 axis in HepG2 cells and primary human hepatocytes. *PLoS One.* 2013; 8(3): e59591. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059591>
4. El Baba R., Herbein G. Immune landscape of CMV infection in cancer patients: from “canonical” diseases toward virus-elicited oncomodulation. *Front. Immunol.* 2021; 12: 730765. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.730765>
5. Herbein G. Tumors and cytomegalovirus: an intimate interplay. *Viruses.* 2022; 14(4): 812. <https://doi.org/10.3390/v14040812>
6. Fedorova N.E., Chernoryzh Y.Y., Vinogradskaya G.R., Emelianova S.S., Zavalysina L.E., Yurlov K.I., et al. Inhibitor of polyamine catabolism MDL72.527 restores the sensitivity to doxorubicin of mono-

- cytic leukemia THP-1 cells infected with human cytomegalovirus. *Biochimie*. 2019; 158: 82–9. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2018.12.012>
7. Chernoryzh YA.YU., Yurlov K.I., Simonov R.A., Fedorova N.E., Kushch A.A. Cytomegalovirus immediate-early proteins mediate doxorubicin resistance in THP-1 leukemia cells. *Aktual'naya biotekhnologiya*. 2019; (3): 385–8. <https://elibrary.ru/xabsiq> (in Russian)
 8. Osman A.M., Bayoumi H.M., Al-Harthy S.E., Damanhour Z.A., Elshal M.F. Modulation of doxorubicin cytotoxicity by resveratrol in a human breast cancer cell line. *Cancer Cell Int*. 2012; 12(1): 47. <https://doi.org/10.1186/1475-2867-12-47>
 9. Schroeter A., Marko D. Resveratrol modulates the topoisomerase inhibitory potential of doxorubicin in human colon carcinoma cells. *Molecules*. 2014; 19(12): 20054–72. <https://doi.org/10.3390/molecules191220054>
 10. Daglioglu C., Okutucu B. Therapeutic effects of AICAR and DOX conjugated multifunctional nanoparticles in sensitization and elimination of cancer cells via survivin targeting. *Pharm. Res.* 2017; 34(1): 175–84. <https://doi.org/10.1007/s11095-016-2053-7>
 11. Gu Y., Li J., Li Y., Song L., Li D., Peng L., et al. Nanomicelles loaded with doxorubicin and curcumin for alleviating multidrug resistance in lung cancer. *Int. J. Nanomedicine*. 2016; 11: 5757–70. <https://doi.org/10.2147/ijn.s118568>
 12. Herath N.I., Devun F., Herbet A., Lienafa M.C., Chouteau P., Sun J.S., et al. Potentiation of doxorubicin efficacy in hepatocellular carcinoma by the DNA repair inhibitor DT01 in preclinical models. 2017; 27(10): 4435–44. <https://doi.org/10.1007/s00330-017-4792-1>
 13. Goodarzi S., Ros T.D., Conde J., Sefat F., Mozafari M. Fullerene: Biomedical engineers get to revisit an old friend. *Materials Today*. 2017; 20(8): 460–80. <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2017.03.017>
 14. Shershakova N.N., Andreev S.M., Tomchuk A.A., Makarova E.A., Nikonova A.A., Turetskiy E.A., et al. Wound healing activity of aqueous dispersion of fullerene C₆₀ produced by “green technology”. *Nanomedicine*. 2023; 47: 102619. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2022.102619>
 15. Xu P.Y., Li X.Q., Chen W.G., Deng L.L., Tan Y.Z., Zhang Q., et al. Progress in antiviral fullerene research. *Nanomaterials (Basel)*. 2022; 12(15): 2547. <https://doi.org/10.3390/nano12152547>
 16. Sinegubova E.O., Kraevaya O.A., Volobueva A.S., Zhilenkov A.V., Shestakov A.F., Baykov S.V., et al. Water-soluble fullerene C₆₀ derivatives are effective inhibitors of influenza virus replication. *Microorganisms*. 2023; 11(3): 681. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030681>
 17. Mashino T. Development of bio-active fullerene derivatives suitable for drug. *Yakugaku Zasshi*. 2022; 142(2): 165–79. <https://doi.org/10.1248/yakushi.21-00188> (in Japanese)
 18. Klimova R., Andreev S., Momotyuk E., Demidova N., Fedorova N., Chernoryzh Y., et al. Aqueous fullerene C₆₀ solution suppresses herpes simplex virus and cytomegalovirus infections. *Fuller. Nanotub. Carbon Nanostructures*. 2020; 28(6): 487–99. <https://doi.org/10.1080/1536383X.2019.1706495>
 19. Schiller J.T., Lowy D.R. An introduction to virus infections and human cancer. *Recent Results Cancer Res*. 2021; 217: 1–11. https://doi.org/10.1007/978-3-030-57362-1_1
 20. Chen C.J., You S.L., Hsu W.L., Yang H.I., Lee M.H., Chen H.C., et al. Epidemiology of virus infection and human cancer. *Recent Results Cancer Res*. 2021; 217: 13–45. https://doi.org/10.1007/978-3-030-57362-1_2
 21. Herbein G. High-risk oncogenic human cytomegalovirus. *Viruses*. 2022; 14(11): 2462. <https://doi.org/10.3390/v14112462>
 22. Francis S.S., Wallace A.D., Wendt G.A., Li L., Liu F., Riley L.W., et al. In utero cytomegalovirus infection and development of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2017; 129(12): 1680–4. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-07-723148>
 23. Chernoryzh Y.Y., Fedorova N.E., Yurlov K.I., Simonov R.A., Kushch A.A., Gintsburg A.L., et al. Resistance of THP-1 leukemia cells infected with cytomegalovirus to anti-tumor antibiotic doxorubicin and restoration of the sensitivity by inhibitors of the PI3K/Akt/mTOR molecular pathway. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2019; 489(1): 388–91. <https://doi.org/10.1134/S1607672919060073> <https://elibrary.ru/atorde>
 24. Emel'yanova S.S., Chernoryzh YA.YU., Yurlov K.I., Zakirova N.F., Vinogradskaya G.R., Verbenko V.N. Cytomegalovirus induces chemoresistance in THP-1 tumor cells by modulating polyamine metabolism. *Aktual'naya biotekhnologiya*. 2019; (3): 585–8. <https://elibrary.ru/ivwogg> (in Russian)
 25. Xu S., Schafer X., Munger J. Expression of oncogenic alleles induces multiple blocks to human cytomegalovirus infection. *J. Virol*. 2016; 90(9): 4346–56. <https://doi.org/10.1128/jvi.00179-16>
 26. Chernorizh Ya.Yu., Fedorova N.E., Yurlov K.I., Ivanov A.V., Kushch A.A. Combined application of anti-tumor antibiotic doxorubicin and inhibitor mTOR-rapamicine restores the sensitivity of leukemia cells THP-1 infected with human cytomegalovirus. *Geny i kletki*. 2019; 14(3): 70–1. <https://elibrary.ru/yrchfk> (in Russian)
 27. Chernoryzh YA.YU., Fedorova N.E., Kornev A.B., Ivanov A.V., Kushch A.A. mTOR inhibitors reverse HCMV-induced apoptosis blockade in doxorubicin-treated THP-1 tumor cells. *Vestnik Biomeditsina i sotsiologiya*. 2018; 3(4): 45–8. <https://elibrary.ru/vqfxea> (in Russian)

Информация об авторах:

Чернорыж Яна Юрьевна✉ – канд. мед. наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: revengeful_w@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9848-8515>

Юрлов Кирилл Иванович – научный сотрудник лаборатории клеточной инженерии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: kir34292@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-4694-2445>.

Гребенникова Татьяна Владимировна – д-р биол. наук, профессор, чл.-корр. РАН, заместитель директора по научной работе подразделения Института вирусологии им. Д.И. Иванковского, руководитель Испытательного центра ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: t_grebennikova@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6141-9361>

Андреев Сергей Михайлович – канд. хим. наук, зав. лаб. пептидных иммуногенов ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия. E-mail: andsergej@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8297-579X>

Леснова Екатерина Ивановна – научный сотрудник лаборатории клеточной инженерии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: wolf252006@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2801-6843>

Симонов Руслан Александрович – лаборант-исследователь лаборатории клеточной инженерии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: simonoff.ra@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7706-8228>

Федорова Наталья Евгеньевна – канд. биол. наук, ведущий научный сотр. лаборатории клеточной инженерии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: ninani@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8466-7993>

Куш Алла Александровна – д-р биол. наук, проф., ведущий научный сотр. лаборатории клеточной инженерии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: vitaliku@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3396-5533>

Участие авторов: Чернорыж Я.Ю. – концепция и дизайн исследования, проведение экспериментов, анализ и статистическая обработка полученных результатов, подготовка текста; Юрлов К.И. – проведение экспериментов, анализ и интерпретация данных, подготовка текста; Гребенникова Т.В. – анализ и интерпретация данных, подготовка текста, одобрение окончательного варианта статьи для публикации; Андреев С.М. – синтез и характеристика дисперсного фуллерена dC_{60} ; Леснова Е.И., Симонов Р.А. – проведение экспериментов; Федорова Н.Е. – проведение пилотных исследований; Куш А.А. – разработка гипотезы исследования, организационно-методическая работа по дизайну исследования.

Поступила 24.04.2025
Принята в печать 14.08.2025
Опубликована онлайн 26.09.2025

Information about the authors:

Yana Yu. Chernoryzh✉ – PhD, Candidate of Medical Sciences, Researcher, laboratory of molecular diagnostics, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia. E-mail: revengeful_w@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9848-8515>

Kirill I. Yurlov – Researcher at the Laboratory of Cellular Engineering, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamalei, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: kir34292@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-4694-2445>

Tatyana V. Grebennikova – Doctor of Biological Sciences, Professor, Corresponding Member RAS, deputy Director for Science of the Division of the Ivanovsky Virology Institute Head of the Control Center of National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia. E-mail: t_grebennikova@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6141-9361>

Sergey M. Andreev – PhD, Head of the of the Peptide Immunogens Lab., NRC Institute of Immunology, FMBA of Russia, Moscow, Russia. E-mail: andsergej@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8297-579X>

Ekaterina I. Lesnova – Researcher, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamalei, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: wolf252006@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2801-6843>

Ruslan A. Simonov – Laboratory Research Assistant, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamalei, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: simonoff.ra@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7706-8228>

Natalia E. Fedorova – PhD, Senior Researcher, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamalei, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: ninani@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8466-7993>

Alla A. Kushch – Professor, Dr. Sci. (Biology), Leading Researcher, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamalei, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: vitaliku@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3396-5533>

Contribution: Chernoryzh Ya.Yu – concept and design of research, performing the experiments, analysis and statistical processing of the obtained results, text preparation; Yurlov K.I. – performing the experiments, analysis and interpretation of data, text preparation. Grebennikova T.V. – analysis and interpretation of data, preparation of the text, approval of the final version of the article for publication; Andreev S.M. – synthesis and characterization of aqueous fullerene dC_{60} ; Lesnova E.I., Simonov R.A. – performing the experiments; Fedorova N.E. – pilot study execution; Kushch A.A. – research hypothesis development, organizational and methodological work on study design.

Received 24 April 2025
Accepted 14 August 2025
Published online 26 September 2025

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-334>

© MALANDA-KIMINOU J.P., GOT F.E.B., MALONGA G.A., 2025



Hepatitis B and C viruses seroprevalence and risk factors among health care workers (HCWs) in referral hospitals in Brazzaville, Republic of Congo

Juthèce P. Malanda-Kiminou*, Ferdinand E.B. Got*, Gervillien A. Malonga*✉

Department of Virology and Molecular Viral Oncology, Faculty of Health Sciences, Marien Ngouabi University, Brazzaville, Republic of Congo

Abstract**Introduction.** Hepatitis B and C viruses cause chronic infections leading to liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma.**This study** aimed to determine the seroprevalence of hepatitis B and C viruses and the potential risk factors which might influence the prevalence among health care workers (HCWs) in Brazzaville, Republic of Congo.**Materials and methods.** We conducted a cross-sectional study from June to November 2022 among HCWs from the Talangaï and Makélékélé referral hospitals, Brazzaville. 107 HCWs were included and serological screening was carried out using rapid screening tests followed by the ELISA technique, after completing a survey questionnaire.**Results.** The mean age was 36.56 ± 11.62 years with a female predominance of 1 : 0.36 sex ratio, laboratory technicians were the most represented socio-professional category. Seroprevalence of HBV was 7.48% and that of HCV was 3.74%. During their service, 40% have already been the victims of blood exposure accidents and have 7 times more risk of contracting HBV (odd ratio [OR] = 7.01 (95% Confidence interval [CI] 1.54–31.96); $p = 0.01$).**Conclusion.** These data show that hepatitis B and C viruses are still endemic among HCWs in Republic of Congo. We can conclude that the health care sector is a high-risk profession due to infection with hepatitis B and C viruses. It is therefore necessary to improve the health and safety conditions of HCWs, implement new strategies to reduce occupational exposure to blood and body fluids, and reduce viral contamination by hepatitis B and C.**Keywords:** *Hepatitis B virus; Hepatitis C virus; Seroprevalence; Health care workers, Blood exposure accident; Brazzaville; Congo***For citation:** Malanda-Kiminou J.P., Got F.E.B., Malonga G.A. Hepatitis B and C viruses seroprevalence and risk factors among health care workers (HCWs) in referral hospitals in Brazzaville, Republic of Congo. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2025; 70(5): 455–462. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-334> EDN: <https://elibrary.ru/soarbm>**Funding.** This study was not supported by any external sources of funding.**Acknowledgement.** We would like to thank the doctoral program in health and human biology at the Faculty of Health Sciences (FSSA) of Marien Ngouabi University (UMNG) for the training. We would also like to thank HCWs and administrative staff of the Talangaï and Makélékélé referral hospitals in Brazzaville, Republic of Congo.**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 Health Sciences Research Ethics Committee of the Ministry of Scientific Research and Technology (Protocol No. 320/MRSIT/IRSSA/CERSSA dated April 5, 2021), then received secondary authorization from the Faculty of Health Sciences of Marien NGOUABI University (reference number: 75/ UMNG.FSSAV-DOY).

*These authors have contributed equally to the work

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-334>

Серопревалентность вирусов гепатитов В и С и факторы риска среди медицинских работников (МР) в специализированных больницах в Браззавиле, Республика Конго

Juthèce P. Malanda-Kiminou*, Ferdinand E.B. Got*, Gervillien A. Malonga*✉

Кафедра вирусологии и молекулярной вирусной онкологии, факультет медицинских наук, Университет Мариен Нгуаби, Браззавиль, Республика Конго

Резюме

Введение. Вирусы гепатитов В и С вызывают хронические инфекции, приводящие к циррозу печени и гепатоцеллюлярной карциноме.

Целью данного исследования было определить серопревалентность вирусов гепатитов В и С и потенциальные факторы риска, которые могут влиять на распространенность среди медицинских работников (МР) в Браззавиле, Республика Конго.

Материалы и методы. Мы провели поперечное исследование с июня по ноябрь 2022 г. среди МР в специализированных больницах Талангаи и Макелекеле в Браззавиле. В исследование было включено 107 МР. Серологический скрининг проводили с использованием экспресс-тестов, а затем с подтверждением реактивных результатов в иммуоферментном анализе после заполнения анкеты.

Результаты. Средний возраст пациентов составил $36,56 \pm 11,62$ года, в когорте преобладали женщины (соотношение женщин и мужчин составило 1 : 0,36). Наиболее представительной социально-профессиональной категорией были лаборанты. Серопревалентность вируса гепатита В составила 7,48%, а вируса гепатита С – 3,74%. За время работы 40% МР являлись жертвами несчастных случаев, связанных с контактом с кровью, и имели в 7 раз больший риск заражения вирусом гепатита В (коэффициент шансов [ОШ] = 7,01 (95% доверительный интервал [ДИ] 1,54–31,96); $p = 0,01$).

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что вирусы гепатитов В и С по-прежнему широко распространены среди МР в Республике Конго. Можно сделать вывод, что МР являются группой высокого риска инфицирования вирусами гепатитов В и С. В этой связи необходимо улучшить условия труда и безопасности МР, внедрить новые стратегии для снижения профессионального контакта с кровью и биологическими жидкостями, а также снизить уровень заражения вирусами гепатитов В и С.

Ключевые слова: вирус гепатита В; вирус гепатита С; серопревалентность; медицинские работники; несчастные случаи, связанные с контактом с кровью; Браззавиль; Конго

Для цитирования: Malanda-Kiminou J.P., Got F.E.B., Malonga G.A. Серопревалентность вирусов гепатитов В и С и факторы риска среди медицинских работников (МР) в специализированных больницах в Браззавиле, Республика Конго. *Вопросы вирусологии*. 2025; 70(5): 455–462. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-334> EDN: <https://elibrary.ru/soarbm>

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Благодарность. Мы хотели бы поблагодарить докторскую программу по здоровью и биологии человека на факультете медицинских наук (FSSA) Университета Мариен Нгуаби (UMNG) за предоставленную помощь.

Мы также хотели бы поблагодарить медицинских работников и административный персонал больниц Талангаи и Макелекеле в Браззавиле, Республика Конго.

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

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии участников. Протокол исследования одобрен Комитетом по этике исследований в области здравоохранения Министерства научных исследований и технологий (Протокол № 320/MRSIT/IRSSA/CERSSA от 05.04.2021), затем получил вторичное разрешение от факультета медицинских наук Университета Мариен НГУАБИ (регистрационный номер: 75/ UMNG.FSSAV-DOY).

Introduction

Viral hepatitis is caused by five different types of viruses, including hepatitis virus A, B, C, D and E. Hepatitis B virus (HBV) and Hepatitis C virus (HCV), are among the leading causes of chronic liver diseases such as cirrhosis, liver failure and

hepatocellular carcinoma (HCC) [1, 2]. Viral hepatitis is a global public health problem, on a par with communicable diseases such as HIV/AIDS, tuberculosis and malaria [3]. All hepatitis viruses have hepatocyte tropism and cause inflammatory lesions leading to an acute liver infection that can progress to chronic liver disease. If left untreated, chronic infection progresses

*Эти авторы внесли равный вклад в написание статьи

insidiously towards serious complications such as cirrhosis and HCC [4]. There are an estimated 248 million people living with chronic hepatitis B, 110 million living with a positive anti-HCV antibody and 80 million with active HCV viremia [5, 6]. While each year nearly 10 to 30 million new contaminations by these viruses are recorded [7]. Viral hepatitis is now ranked as the seventh leading cause of mortality worldwide [6]. Hepatitis B virus Surface Antigen (HBsAg) and HCV seroprevalence vary according to region. There are regions with a high prevalence of HBsAg (Africa, South-East Asia), regions with an intermediate prevalence (Eastern Europe, North Africa, Greece, Japan) and low prevalence (Northern Europe and the USA), with respectively 5 to 10%, 2 to 5% and less than 2% of the general population chronically carrying HBs antigen [8]. Global HCV seroprevalence is estimated between 2 and 3%, that of sub-Saharan Africa at 2.98% [9, 10]. In Republic of Congo, HBV seroprevalence varies between 5.3 and 9.9% depending on the population studied [11–13] and HCV seroprevalence is estimated at 2.9% [14]. Health care workers (HCWs) have an increased risk of becoming infected with hepatitis B and C viruses, approximately four times more than the rest of the population, due to their direct contact with bodily fluids and substances patients such as blood, and other contaminated body fluids, as well as due to blood exposure accidents (needle stick injuries and others) [15, 16]. It should be noted that in the Republic of Congo, the national hepatitis control program raises awareness about the importance of hepatitis B vaccination. However, the HBV vaccine is not free or included in the Expanded Program on Immunization (EPI) for newborns. In addition, HBV vaccination, including for healthcare workers, is voluntary and not mandatory. Among non-immune HCWs, the risk of HBV infection after percutaneous exposure ranges from less than 6% (if HBeAg negative) to 30% (if HBeAg positive). In developing countries, 40 to 65% of HBV infections among HCWs are attributable to percutaneous occupational exposure, whereas the corresponding risk in developed countries is low, less than 10% [17]. In East Africa, the prevalence of HBsAg among health care workers is estimated between 7 and 8% [18]. Kateera et al. reported a prevalence of 2.9% of chronic hepatitis B infection, indicated by positive HBsAg, and 1.3% of HCV positivity, indicated by anti-hepatitis C virus antibodies, among tertiary hospital workers in Rwanda [19]. Ziraba et al. found chronic hepatitis B infection in 8.1% of HCWs at a Ugandan university hospital [16]. Republic of Congo is no exception, Deby Gassaye et al. (2015), report a prevalence of HBsAg among nursing staff at the University Hospital of Brazzaville (CHU-B) of 5.3%, of whom 50% were HBeAg positive; 36.3 and 11.5% had anti-HBc and HBs antibodies respectively; while the prevalence of the presence of anti-HCV antibodies was 4.4% [11]. This study aimed to determine the seroprevalence of hepatitis B and C viruses and the potential risk factors which might influence the prevalence among health care workers in Brazzaville, Republic of Congo.

Materials and methods

Study population, samples and data collection

We conducted a cross-sectional study from June to November 2022 among health care workers from the Talangaï and Makélékélé referral hospitals in Brazzaville,

Republic of Congo. In total, 107 apparently healthy HCWs who had direct or indirect contact (biological fluids, soiled objects, etc.) with patients were included. Administrative staff were not included in our study. After collecting blood samples from health care workers at the two health centers included in the study, serum analyses were performed at the Serology Unit of the National Blood Transfusion Center of Brazzaville (CNTS Brazzaville). For each participant, a survey questionnaire was completed with data on sociodemographic characteristics including gender, age, marital status, profession. Clinical characteristics included risk factors for transmission of hepatitis B virus and hepatitis C virus, such as blood exposure accidents (stings, cuts, splashes) and non-professional risk factors (transfusion, drugs, scarification, piercing, tattooing, stay in a boarding school, stay in prison, nosocomial risk from surgery or dental care, risky sexual intercourse, sexual partner with HBV/HCV, multiple sexual partners, drug-addicted sex partner).

Rapid screening tests for detection of hepatitis B surface antigen and anti HCV antibodies

The NADAL HBsAg strip test (nal von minden GmbH, Moers, Germany) was used for the detection of hepatitis B surface antigen in serum. The NADAL “nal von minden” immunochromatographic tests have a sensitivity of 99.9% and a specificity of 99.9%. Concerning HCV, rapid diagnostic tests called One Step anti-HCV Rapid Screen Test (NANTONG Jiangsu Province, China) was used for the detection of anti-HCV antibodies in serum.

Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of hepatitis B surface antigen and anti HCV antibodies

As reference, after detection of HBsAg and anti-HCV-Ab by rapid screening tests, HBsAg and anti-HCV status of all serum samples was determined by ELISA (Monolisa HBsAg ULTRA and Monolisa Anti-HCV PLUS V3, Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) of the 4th generation (100% sensitivity, 99.94% specificity) following manufacturer's instructions.

Statistical analysis

Database was created using Excel 2013 (Microsoft) and the data was analysed using Epi-info software (version 7.2.2.6). The odds ratio (OR) and their 95% confidence intervals (95% CI) were calculated and the result was considered statistically significant at $p < 0.05$.

Ethical approval

This study was conducted according to recommendations of the Declaration of Helsinki. Approvals were obtained from the Health Sciences Research Ethics Committee of the Ministry of Scientific Research and Technology under reference number 320/MRSIT/IRSSA/CERSSA, the highest institution for the approval of experiments on humans in the Republic of Congo. The study then received secondary authorization from the Faculty of Health Sciences of Marien NGOUABI University (reference number: 75/ UMNG.FSSAV-DOY). HCWs participating in the study gave their written, free and informed consent and completed the survey form. The data processing was anonymous and the results confidential.

Results

Sociodemographic characteristics

A total of 107 health care workers were included in this study and women were the most represented [78/107 (72.90%)] (**Table 1**). The mean age was 36.56 ± 11.62 years and the age group most represented was 35–44 years (28.97%), with extremes of 17 and 63 years. The majority of agents were single while the most represented socio-professional category was that of laboratory technicians.

HBsAg and anti-HCV antibodies seroprevalence

We found in this study, a prevalence of 7.48% (8) and 3.74% (4) for HBsAg and anti-HCV antibodies respectively (**Table 1** and **2**). There were more women than men among the positive subjects, in particular 5 women were positive for HBsAg and 4 for anti-HCV antibodies, although not statistically significant ($p = 0.5$). Half of the HBsAg-positive subjects (50%) were in the 35–44 age group, while half of the anti-HCV antibodies positive subjects (50%) were over 45 years old. For both HBsAg and anti-HCV

Table 1. Distribution of HBsAg and anti-HCV antibodies according to sociodemographic characteristics**Таблица 1.** Распределение HBsAg и антител к HCV по социально-демографическим характеристикам

Variables / Параметры	n (%)	HBsAg	Anti-HCV antibodies
		Positive / Позитивны, n (%)	Positive / Позитивны, n (%)
<i>Gender / Пол</i>			
Female / Женский	78 (72.9)	5 (62.5)	4 (100)
Male / Мужской	29 (27.1)	3 (37.5)	–
<i>Age (years) / Возраст (лет)</i>			
15–24	23 (21.5)	1 (12.5)	–
25–34	25 (23.3)	1 (12.5)	1 (25)
35–44	31 (29.0)	4 (50.0)	1 (25)
≥ 45	28 (26.1)	2 (25.0)	2 (50)
<i>Marital status / Семейное положение</i>			
Single / Одинокий	84 (78.5)	5 (62.5)	2 (50)
Married / В браке	21 (19.6)	3 (37.5)	2 (50)
Divorced / Разведен	2 (1.8)	–	–
<i>Profession / Профессия</i>			
Lab Technician / Лаборант	31 (29.0)	6 (75.0)	3 (75)
Nurse / Медсестра	26 (24.0)	–	–
Student trainee / Студент-стажер	20 (19.0)	1 (12.5)	–
Midwife / Акушерка	16 (15.0)	1 (12.5)	1 (25)
Doctor / Врач	7 (6.0)	–	–
Biocleaning agent / Уборщик	3 (3.0)	–	–
Surgeon / Хирург	3 (3.0)	–	–
Health Assistant / Медицинский помощник	1 (1.0)	–	–
<i>Accidents involving exposure to blood / Случаи контакта с кровью</i>	Yes, 43 (40.2)	5 (62.5)	1 (25)
Stings / Укусы	Yes, 26 (24.3)	5 (62.5)	1 (25)
Splashes / Брызги	Yes, 11 (10.3)	–	–
Cuts / Порезы	Yes, 6 (5.6)	–	–
<i>Non-professional risk factors</i>	Yes, 64 (59.8)	3 (37.5)	3 (75)
Blood transfusion / Трансфузии	Yes, 4 (3.8)	1 (12.5)	–
Drugs / Лекарства	–	–	–
Scarification / Скарификация	Yes, 8 (7.5)	1 (12.5)	–
Piercing / Пирсинг	Yes, 5 (4.7)	–	1 (25.0)
Tattoo / Татуировка	Yes, 7 (6.5)	–	–
Boarding school stay / Пребывание в школе-интернате	Yes, 3 (2.8)	–	–
Prison stay / Тюремное заключение	Yes, 3 (2.8)	–	–
Nosocomial risk (surgery) / Риск больничной инфекции (хирургия)	Yes, 4 (3.8)	–	–
Nosocomial risk (dental care) / Риск больничной инфекции (стоматология)	Yes, 11 (10.2)	–	–
Risky sexual behaviour / Рискованное сексуальное поведение	Yes, 6 (5.6)	–	–
Sexual partner with VHB/VHC / Сексуальный партнер с VHB/VHC	–	–	–
Multiple sex partners / Несколько сексуальных партнеров	Yes, 12 (11.2)	1 (12.5)	2 (50.0)
Drug-addicted sexual partner / Сексуальный партнер, страдающий наркотической зависимостью	Yes, 1 (0.9)	–	–

Table 2. Distribution of HBsAg and anti-HCV antibodies according to risk factors**Таблица 2.** Распределение HBsAg и антител к HCV по факторам риска

Variables	HBsAg			Anti-HCV antibodies / Антитела к HCV		
	Positive / Позитивны, n (%)	Odds ratio / Отношение шансов	p-value	Positive / Позитивны, n (%)	Odds ratio / Отношение шансов	p-value
<i>Piercing / Пирсинг</i>						
Yes / Да	–	–	–	1 (25)	6.53 (0.57–74.5)	0,13
No / Нет	8 (100)	1		3 (75)	1	
<i>Multiple sex partners / Несколько сексуальных партнеров</i>						
Yes / Да	1 (12)	0.47 (0.05–4.03)	0.493	2 (50)	3.68 (0.49–27.63)	0.205
No / Нет	7 (88)	1		2 (50)	1	
<i>Drug-addicted sexual partner / Сексуальный партнер, страдающий наркотической зависимостью</i>						
Yes / Да	–	–	–	–	–	–
No / Нет	8 (100)	1		4 (100)	1	
<i>Risky sexual behaviour / Рискованное сексуальное поведение</i>						
Yes / Да	–	–	–	4 (100)	1	–
Yes / Да	8 (100)	1		–	–	
<i>Scarification / Скарификация</i>						
Yes / Да	1 (12.5)	0.53 (0.06–4.55)	0.555	–	–	–
No / Нет	7 (87.5)	1		4 (100)	1	
<i>Tattoo / Татуировка</i>						
Yes / Да	–	–	–	–	–	–
No / Нет	8 (100)	1		4 (100)	1	
<i>Accidents involving exposure to blood / Случаи контакта с кровью</i>						
Yes / Да	5 (62.5)	7.01 (1.54–31.96)	0.01	1 (25)	1	
No / Нет	3 (37.5)	1		3 (75)	0.52 (0.05–5.01)	0.558

antibodies, there were more positive cases among laboratory technicians than in other professions, but differences were not statistically significant ($p > 0.05$).

Risk factors associated with HBsAg and anti-HCV seropositivity

Blood transfusion, drugs, scarification, piercing, tattoo, boarding school stay, prison stay, dental care, surgery, risky sexual behaviour, sexual partner with HBV/HCV, multiple sex partner and drug-addicted sex partner were considered as non-professional risk factors and none of them were statistically significant related to hepatitis B and C. Blood exposure accidents were the only risk factor associated with the development of hepatitis B. HCWs who were victims of blood exposure accidents were 7 times more likely to contract HBV (odd ratio [OR] = 7.01 (95% Confidence interval [CI] 1.54–31.96); $p = 0.01$). Of all these HCWs, 43 reported blood exposure accidents. Stings, cuts and splashes were cited as types of blood exposure accidents from which, stings were the most represented accounting for 37.43%.

Discussion

In Sub-Saharan Africa, infection with hepatitis B virus (HBV) or hepatitis C virus (HCV) is the main risk factor for hepatocellular carcinoma (HCC) [20]. Infection with HBV

and HCV is a major public health problem in the Republic of Congo, particularly among HCWs [11]. Health care workers in our study were predominantly female. Deby et al. reported in 2015 a female predominance in Republic of Congo [11]. Many studies in some countries in Africa and around the world report similar results, Shao et al. in Tanzania with 78.5% [21] and Alqahtani et al. in Saudi Arabia with 73% [22]. This majority can be explained by the fact that the majority of staff in these two health centers are women. Although a study conducted among HCWs in Burkina Faso by Pietra et al., revealed a majority of men [23]. The age group most represented in our study was 35–44 years; similar to the results reported among HCWs in South-Eastern Nigeria (31–40 years) [24]. About age, Ugandan studies also reported a mean age of 36 years [16, 25]. We found a seroprevalence of 7.48% (8/107) for the HBV and 3.74% (4/107) for HCV among HCWs of the two reference hospitals. Our results on seroprevalence of HBsAg is close to the 7% reported by Muller et al. among HCWs in Tanzania [26] but slightly higher than that obtained by Deby et al. on the HCWs of the Brazzaville University Hospital in 2015 which was 5.2% [11]. Some Sub-Saharan African countries have reported lower HBV prevalence rates; 2.6% among HCWs and medical waste handlers in Ethiopia [27], 2.3% in HCWs of an urban referral hospital in central Sudan [28], 1.1% in

HCWs who are in regular contact with blood, body fluids and patients in Nigeria [29], 2.9% among workers at the University Teaching Hospital of Butare in Huye District, Rwanda [19], 4.5% among HCWs in Kenya [30]. On the other hand, in Cameroon and the Democratic Republic of Congo, neighboring countries of the Republic of Congo, an alarmingly high HBsAg prevalence rate of 10.6 and 18.6%, respectively, has been reported in HCWs [31, 32]. HCV seroprevalence of 3.74% found in our study population was similar to that of 3.2% obtained among HCWs in Abbottabad, Pakistan [33], and fairly close to the results reported by Deby et al. among HCWs at the Brazzaville University Hospital, which was 4.4% [11]. Cameroon, Ethiopia and Sierra Leone report even lower HCV seroprevalence rates of 1.7, 0.4 and 2.5% respectively [34–36]. These disparate HBV and HCV seroprevalences from one study to another could be explained by the number of participants. The more participants there were, the more the prevalence increased because of the power of the sampling. This finding is shared by meta-analysis studies [37]. The other reason could be differences in the routine HBV vaccination policies which in turn may influence immunity of HCWs and the lack of a policy to raise awareness of HBV and HCV risk factors [38]. In our study, although all participants (HCWs) were asked about their HBV vaccination status, none had been vaccinated. This data was deemed unusable and was therefore not included in the results. In some hospitals, no instructions are posted or given on what to do in the event of a blood exposure accident, which was the case in the facilities where we conducted our study. This highlights the reality of viral hepatitis B and C among HCWs in Central and West Africa. The seroprevalence of both viruses were higher in female HCWs; 62.5% *versus* 37.5% for HBsAg and 100% *versus* 0% for HCV. This is due to an effect of overrepresentation of women in our study because in most studies no statistically significant difference was found between female and male HCWs [21, 38–40]. In terms of profession, an increased proportion of HBV (6/31, 19.35%) and HCV (3/31, 9.67%) positives was observed among laboratory technicians, followed by the categories of midwife (1/15; 6.66% both HBsAg and HCV) and student trainee (1/20; 5% for HBsAg). Similar observations have been reported in a study with laboratory technicians in Uganda (18.18%) [16]. We see the same dynamics with HCV. Okasha et al. in Egypt (2015) report in the laboratory technician profession a prevalence of 4.8%; although half that of what we found [41]. This suggests that variations between different HCW cadres could reflect different levels of exposure risk. It is therefore possible that the risk of infection differs according to health care professions. Laboratory technicians were not only the most represented professional category in our study, but they also perform blood sampling and are constantly exposed when performing medical tests. It should be noted that in the Republic of Congo, in almost all hospitals, blood sampling of patients is carried out by laboratory technicians. This explains why our results are different from other studies that have reported high prevalence of hepatitis B and C among nurses and doctors [27, 29]. However, HBsAg and anti-HCV antibodies positivity according to occupation did

not give any statistically significant difference ($p > 0.05$). Exposure to fluids from potentially infected patients is quite high. We found a considerably high proportion of HCWs exposed to blood exposure accidents (43; 40%). 63% (5) of HCWs with needle sting injuries tested positive for HBsAg and 25% (1) for anti-HCV antibodies, yet only 7.5% (8) had been vaccinated against hepatitis B, with barely one HCW having received the recommended three doses; no immunity tests for anti-HBs antibodies were performed. These results seem similar to those obtained by Okasha et al. in Egypt and by Deby et al. in Republic of Congo, where blood and needles were the main sources of contamination [11,41]. Thus, HCWs who are victims of blood exposure accidents have 7 times more risk of contracting HBV. This result is different from that obtained by Yizengaw et al. in Ethiopia [27] and Shao et al. [21] who had respectively obtained contact with a positive case of hepatitis and blood transfusion as main risk factors. Concerning HCV, the most important risk factor appears to be unsafe sex. However, we did not observe any statistically significant difference. In contrast, Okasha et al. in Egypt reported that the most important risk factor was accidental needlestick injuries [41]. This may be explained by the daily use of needles by health personnel.

Our study may have some limitations: (i) Due to insufficient technical facilities, we were unable to search during this study for other serological markers of HBV, namely anti-HBs Ab; HBeAg; anti-HBe Ab; anti-HBc Ab as well as the viral load of HBV and HCV. This could have informed us about the different stages of carriage of these viruses. (ii) HCWs in services with a high risk of occupational exposure, such as surgical emergencies and blood banks, were not included in our study because they were overwhelmed by the workload and were reluctant to participate in our study. (iii) We were unable to establish a strong causal link between the risk factors described and hepatitis B and C virus positivity. It may be that the participants were infected before entering the workplace.

Conclusion

This high prevalence shows that hepatitis B and C are still endemic among HCWs in Republic of Congo. Furthermore, we can state that the health profession constitutes a profession at risk due to infection with hepatitis B and C viruses. To reduce the prevalence of HBV and HCV among HCWs it needs a new strategy that reduces occupational exposure to blood and body fluids. There is need for increasing the awareness and prevention of contracting and transmitting HBV and HCV infections among HCWs, to integrate HBsAg screening and HBV vaccination during recruitment sessions for public and private sector health workers in order to help protect health workers in the sector and control the spread of the virus. Vaccination against hepatitis B virus infection could also be made mandatory for preclinical medical and nursing students. The Ministry of Health could consider offering subsidized or free Hepatitis B vaccination to HCW. In addition, in Congolese hospitals, occupational medicine or the Ministry of Health must play the role of providing ongoing training for all health professionals in infection prevention, and of displaying procedures to be followed in the event of exposure accidents in work areas at risk of exposure.

REFERENCES

- Melardo C., Foglia F., Rocca M.T.D., Zaino A., Morone M.V., Filippis A.D., et al. Hepatitis B Virus prevalence and serological profiles in a hospital in Southern Italy. *New Microbiol.* 2022; 45(5).
- Lavanchy D. Worldwide epidemiology of HBV infection, disease burden, and vaccine prevention. *J. Clin. Virol.* 2005; 34(Suppl. 1): S1–3. [https://doi.org/10.1016/s1386-6532\(05\)00384-7](https://doi.org/10.1016/s1386-6532(05)00384-7)
- Global hepatitis report; 2017. Available at: <https://who.int/publications-detail-redirect/9789241565455>
- GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age–sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet.* 2015; 385(9963): 117–71. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(14\)61682-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(14)61682-2)
- Gower E., Estes C., Blach S., Razavi-Shearer K., Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J. Hepatol.* 2014; 61(1 Suppl.): S45–57. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.07.027>
- Said Z.N.A., El-Sayed M.H. Challenge of managing hepatitis B virus and hepatitis C virus infections in resource-limited settings. *World J. Hepatol.* 2022; 14(7): 1333–43. <https://doi.org/10.4254/wjh.v14.i7.1333>
- Tiollais P., Chen Z. The hepatitis B. *Pathol. Biol. (Paris).* 2010; 58(4): 243–4. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2010.04.002>
- Pol S. Natural history of hepatitis B infection. *Presse Med.* 2006; 35(2 Pt. 2): 308–16. [https://doi.org/10.1016/s0755-4982\(06\)74576-6](https://doi.org/10.1016/s0755-4982(06)74576-6) (in French)
- Polaris Observatory HCV Collaborators. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. *Lancet Gastroenterol. Hepatol.* 2017; 2(3): 161–76. [https://doi.org/10.1016/s2468-1253\(16\)30181-9](https://doi.org/10.1016/s2468-1253(16)30181-9)
- Rao V.B., Johari N., du Cros P., Messina J., Ford N., Cooke G.S. Hepatitis C seroprevalence and HIV co-infection in sub-Saharan Africa: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect. Dis.* 2015; 15(7): 819–24. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(15\)00006-7](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(15)00006-7)
- Deby G., Malanda C.B., Bossali F., Atipo-Ibara B.I., Bokilo-Dzia A., Ahoui-Apendi C., et al. Seroprevalence of the virals hepatitis B and C at the health-care workers of the university hospital of Brazzaville. *J. Afr. Hepato Gastroenterol.* 2015; 9(4): 179–83. (in French)
- Angounda B.M., Bokilo Dzia A., Niama F., Atipo Ibara B.I., Kobawila S.C., Ibara J.R. Evaluation of the hepatitis B virus screening strategy for blood donors in Brazzaville. *Transfus. Clin. Biol.* 2015; 22(4): 229. <https://doi.org/10.1016/j.tracbi.2015.06.045> (in French)
- Atipo-Ibara B.I., Itoua-Ngaporo A.N., Dzia-Lepfoundzou A., Ahoui-Apendi C., Deby-Gassaye C., Bossali F., et al. Hepatitis B virus in Congo (Brazzaville): seroprevalence and genetic diversity among blood donors in hyper-endemic areas. *J. Afr. Hepato Gastroenterol.* 2015; 9(3): 127–31. (in French)
- Riou J., Ait Ahmed M., Blake A., Vozlinsky S., Brichler S., Eholié S., et al. Hepatitis C virus seroprevalence in adults in Africa: a systematic review and meta-analysis. *J. Viral Hepat.* 2016; 23(4): 244–55. <https://doi.org/10.1111/jvh.12481>
- Schillie S. Prevention of hepatitis B virus infection in the United States: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. *MMWR Recomm. Rep.* 2018; 67(1): 1–31. <https://doi.org/10.15585/mmwr.rr6701a1>
- Ziraba A.K., Bwogi J., Namale A., Wainaina C.W., Mayanja-Kizza H. Sero-prevalence and risk factors for hepatitis B virus infection among health care workers in a tertiary hospital in Uganda. *BMC Infect. Dis.* 2010; 10: 191. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-10-191>
- Aaron D., Nagu T.J., Rwegasha J., Komba E. Hepatitis B vaccination coverage among healthcare workers at national hospital in Tanzania: how much, who and why? *BMC Infect. Dis.* 2017; 17(1): 786. <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2893-8>
- Beltrami E.M., Williams I.T., Shapiro C.N., Chamberland M.E. Risk and management of blood-borne infections in health care workers. *Clin. Microbiol. Rev.* 2000; 13(3): 385–407. <https://doi.org/10.1128/cmr.13.3.385>
- Kateera F., Walker T.D., Mutesa L., Mutabazi V., Musabeyesu E., Mukabatsinda C., et al. Hepatitis B and C seroprevalence among health care workers in a tertiary hospital in Rwanda. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2015; 109(3): 203–8. <https://doi.org/10.1093/trstmh/trv004>
- Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2021; 71(3): 209–49. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Shao E.R., Mboya I.B., Gunda D.W., Ruhangisa F.G., Temu E.M., Nkwama M.L., et al. Seroprevalence of hepatitis B virus infection and associated factors among healthcare workers in northern Tanzania. *BMC Infect. Dis.* 2018; 18(1): 474. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3376-2>
- Alqahtani J.M., Abu-Eshy S.A., Mahfouz A.A., El-Mekki A.A., Asaad A.M. Seroprevalence of hepatitis B and C virus infections among health students and health care workers in the Najran region, southwestern Saudi Arabia: The need for national guidelines for health students. *BMC Public Health.* 2014; 14(1): 577. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-14-577>
- Pietra V., Kiema D., Sorgho D., Kabore S.P.C.G., Mande S., Castelli F., et al. Prevalence of hepatitis B virus markers and antibodies against the hepatitis C virus among the staff of the Nanoro Health District, Burkina Faso: Prevalence of hepatitis B virus markers and hepatitis C virus antibodies among health personnel in the Nanoro District, Burkina Faso. *Sci Santé.* 2008; 31(1 Pt. 2). Available at: https://www.revuesciences-techniquesburkina.org/index.php/sciences_de_la_sante/article/view/251 (in French)
- Omotoowo I.B., Meka I.A., Ijoma U.N., Okoli V.E., Obieniu O., Nwagha T., et al. Uptake of hepatitis B vaccination and its determinants among health care workers in a tertiary health facility in Enugu, South-East, Nigeria. *BMC Infect. Dis.* 2018; 18(1): 288. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3191-9>
- Braka F., Nanyunja M., Makumbi I., Mbabazi W., Kasasa S., Lewis R.F. Hepatitis B infection among health workers in Uganda: Evidence of the need for health worker protection. *Vaccine.* 2006; 24(47): 6930–7. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.08.029>
- Mueller A., Stoetter L., Kalluvya S., Stich A., Majinge C., Weissbrich B., et al. Prevalence of hepatitis B virus infection among health care workers in a tertiary hospital in Tanzania. *BMC Infect. Dis.* 2015; 15: 386. <https://doi.org/10.1186/s12879-015-1129-z>
- Yizengaw E., Getahun T., Geta M., Mulu W., Ashagrie M., Hailu D., et al. Sero-prevalence of hepatitis B virus infection and associated factors among health care workers and medical waste handlers in primary hospitals of North-west Ethiopia. *BMC Res. Notes.* 2018; 11(1): 437. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3538-8>
- Nail A., Eltiganni S., Imam A. Seroprevalence of hepatitis B and C among health care workers in Omdurman, Sudan. *Sudan J. Med. Sci.* 2008; 3(3): 201–6. <https://doi.org/10.4314/sjms.v3i3.38536>
- Alese O.O., Alese M.O., Ohunakin A., Oluyide P.O. Seroprevalence of hepatitis B surface antigen and occupational risk factors among health care workers in Ekiti State, Nigeria. *J. Clin. Diagn. Res. JCDR.* 2016; 10(2): LC16-8. <https://doi.org/10.7860/jcdr/2016/15936.7329>
- Kisangau E.N., Awour A., Juma B., Odhiambo D., Muasya T., Kiio S.N., et al. Prevalence of hepatitis B virus infection and uptake of hepatitis B vaccine among healthcare workers, Makuani County, Kenya 2017. *J. Public Health.* 2019; 41(4): 765–71. <https://doi.org/10.1093/pubmed/fdy186>
- Akazong W.E., Tume C., Njouom R., Ayong L., Fondoh V., Kuiate J.R. Knowledge, attitude and prevalence of hepatitis B virus among healthcare workers: a cross-sectional, hospital-based study in Bamenda Health District, NWR, Cameroon. *BMJ Open.* 2020; 10(3): e031075. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2019-031075>
- Lungosi M.B., Muzembo B.A., Mbendi N.C., Nkondila N.A., Ngatu N.R., Suzuki T., et al. Assessing the prevalence of hepatitis B virus infection among health care workers in a referral hospital in Kisantu, Congo DR: a pilot study. *Ind. Health.* 2019; 57(5): 621–6. <https://doi.org/10.2486/indhealth.2018-0166>
- Javed S., Nasreen G., Muhammad I., Rehman A.U., Jamila F., Muhammad Yasir A. Seroprevalence of hepatitis B and hepatitis C in health care workers in Abbottabad. *J. Ayub. Med. Coll. Abbottabad.* 2008; 20(3): 27–9.
- Fritzsche C., Becker F., Hemmer C.J., Riebold D., Klammt S., Hufer F., et al. Hepatitis B and C: neglected diseases among health care workers in Cameroon. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2013; 107(3): 158–64. <https://doi.org/10.1093/trstmh/trs087>
- Hebo H.J., Gameda D.H., Abdusemed K.A. Hepatitis B and C viral infection: prevalence, knowledge, attitude, practice, and occupational exposure among healthcare workers of Jimma University Medical Center, Southwest Ethiopia. *ScientificWorldJournal.* 2019; 2019: 9482607. <https://doi.org/10.1155/2019/9482607>

36. Mafofa N.G., Giovanetti M., Wadoun R.E.G., Minutolo A., Yinda C.K., Russo G., et al. Viral hepatitis B and C detection among Ebola survivors and health care workers in Makeni, Sierra Leone. *J. Biosci. Med.* 2020; 8(10): 18–32. <https://doi.org/10.4236/jbm.2020.810003>
37. Atlaw D., Sahiledengle B., Tariku Z. Hepatitis B and C virus infection among healthcare workers in Africa: a systematic review and meta-analysis. *Environ. Health Prev. Med.* 2021; 26(1): 61. <https://doi.org/10.1186/s12199-021-00983-9>
38. Nikolopoulou G.B., Tzoutzas I., Tsakris A., Maltezou H.C. Hepatitis B in healthcare personnel: an update on the global landscape. *Viruses*. 2023; 15(12): 2454. <https://doi.org/10.3390/v15122454>
39. Qin Y.L., Li B., Zhou Y.S., Zhang X., Li L., Song B., et al. Prevalence and associated knowledge of hepatitis B infection among healthcare workers in Freetown, Sierra Leone. *BMC Infect. Dis.* 2018; 18(1): 315. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3235-1>
40. Nguyen T., Pham T., Tang H.K., Phan L., Mize G., Lee W.M., et al. Unmet needs in occupational health: prevention and management of viral hepatitis in healthcare workers in Ho Chi Minh City, Vietnam: a mixed-methods study. *BMJ Open*. 2021; 11(10): e052668. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2021-052668>
41. Okasha O., Munier A., Delarocque Astagneau E., El Houssinie M., Rafik M., Bassim H., et al. Hepatitis C virus infection and risk factors in health-care workers at Ain Shams University Hospitals, Cairo, Egypt. *East Mediterr. Health J.* 2015; 21(3): 199–212. <https://doi.org/10.26719/2015.21.3.213>

Information about the authors:

Juthèce Private Malanda-Kiminou – Master's degree, PhD Student, Faculty of Health Sciences of Marien Ngouabi University; Organization address: Avenue des Premiers Jeux Africains. BP 69, Brazzaville, République du Congo. E-mail: kiminouprivat@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-3594-1228>

Ferdinand Emaniël Brel Got – PhD in Virology, Part-time lecturer in Virology, Faculty of Health Sciences of Marien Ngouabi University; Organization address: Avenue des Premiers Jeux Africains. BP 69, Brazzaville, République du Congo. E-mail: emmanueldeferdinand@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-0866-9473>

Gervillien Arnold Malonga✉ – PhD in Virology, Part-time lecturer in Virology, Faculty of Health Sciences of Marien Ngouabi University; Organization address: Avenue des Premiers Jeux Africains. BP 69, Brazzaville, République du Congo. E-mail: arnoldgermalonga@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-1840-951x>

Contribution: Malanda-Kiminou J.P., Got F.E.B., Malonga G.A. – idea and design of the work, conducting laboratory research, analysis of results, writing the article, scientific editing of the article.

Received 23 July 2025
Accepted 19 September 2025
Published 30 October 2025

Информация об авторах:

Malanda-Kiminou Juthèce Private – аспирант факультета медицинских наук Университета Мариен Нгуаби, Avenue des Premiers Jeux Africains. BP 69, Браззавиль, Республика Конго. E-mail: kiminouprivat@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-3594-1228>

Got Ferdinand Emaniël Brel – канд. мед. наук (вирусология), преподаватель вирусологии по совместительству, факультет медицинских наук Университета Мариен Нгуаби, Avenue des Premiers Jeux Africains. BP 69, Браззавиль, Республика Конго. E-mail: emmanueldeferdinand@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-0866-9473>

Malonga Gervillien Arnold✉ – канд. мед. наук (Вирусология), преподаватель вирусологии по совместительству, факультет медицинских наук Университета Мариен Нгуаби, Avenue des Premiers Jeux Africains. BP 69, Браззавиль, Республика Конго. E-mail: arnoldgermalonga@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-1840-951x>

Участие авторов: Malanda-Kiminou J.P., Got F.E.B., Malonga G.A. – идея и дизайн работы, проведение лабораторных исследований, анализ результатов, написание статьи, научное редактирование статьи.

Поступила 23.07.2025
Принята в печать 19.09.2025
Опубликована 30.10.2025

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-337>

© OLAYIWOLA J.O., AKAGBOSU A.O., SAMSON O.J., ALABA A.E., APONJOLOSUN B.S., SOYEMI S.A., 2025



Seroprevalence of Anti-Mpox Virus IgG Antibody and Awareness of Mpox Disease in Ibadan, Southwest Nigeria

John Olusola Olayiwola^{1✉}, Adesuwa Oluwatofunmi Akagbosu¹, Oyindamola John Samson², Ademola Emmanuel Alaba¹, Babalola Sunday Aponjolosun², Stephen Ademola Soyemi³

¹Medical Microbiology Unit, Department of Microbiology and Biotechnology, Ajayi Crowther University, Oyo, Nigeria;

²Environmental Microbiology Unit, Department of Microbiology and Biotechnology, Ajayi Crowther University, Oyo, Nigeria;

³PAOOS Diagnostic Centre, Department of Pathology, University College Hospital, Ibadan, Oyo State, Nigeria

Abstract

Purpose. Mpox cases were previously common in children; recent outbreaks of clade II have mostly affected young adults. Therefore, this study examines the knowledge, attitudes, and seroprevalence of the Mpox virus among consenting participants in Ibadan.

Materials and methods. Eligible individuals were those who voluntarily participated in the study and met the inclusion criteria specified for the study. A cross-sectional survey was conducted involving 94 respondents, investigating socio-demographic factors, awareness levels, attitudes toward prevention, and infection rates. The anti-Mpox virus IgG antibody was detected quantitatively using the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) technique. The data were then analyzed using the χ^2 test, while the antibody quantification was displayed with a Box and Whisker plot; statistical significance was determined at $p < 0.05$.

Results. The majority of respondents were female (66.7%) and aged 58 years and above (20.0%). Most had tertiary (40.0%) and secondary education (34.4%). Awareness of the Mpox was moderate, with 61.1% having heard of the virus, primarily through news (20.0%) and healthcare workers (18.9%). However, knowledge gaps were evident: only 38.9% recognized symptoms, and 40.0% understood modes of transmission. Attitudes towards prevention were generally positive; 60.0% believed Mpox could be prevented, and 73.3% were willing to take a vaccine. Still, readiness to engage in screening was low; 81.1% had never been tested, and 58.9% were unaware of local test availability. Regarding seroprevalence, females showed a significantly higher infection rate (27.4%) than males (9.6%) ($\chi^2 = 3.854$, $p = 0.050$). Age-wise, the highest infection rates occurred in those < 18 years (61.5%) and 53–57 years (66.6%) ($\chi^2 = 30.817$, $p = 0.000$), indicating significant age-related differences.

Conclusion. The findings highlight the need for targeted public health education, increased test access, and focused intervention strategies to improve Mpox virus prevention and control, especially among vulnerable age groups and under-informed populations.

Keywords: Mpox; Seropositivity; Immunoglobulin G; Antibody; Outbreak

For citation: Olayiwola J.O., Akagbosu A.O., Samson O.J., Alaba A.E., Aponjolosun B.S., Soyemi S.A. Seroprevalence of anti-Mpox virus IgG antibody and awareness of Mpox disease in Ibadan, Southwest Nigeria. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2025; 70(5): 463–470. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-337> EDN: <https://elibrary.ru/spvndn>

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. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Research Ethics Committee of the Faculty of Natural Sciences, Ajayi Crowther University, Oyo (Protocol No FNS/ERC/2024/025SM dated December 13, 2024).

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-337>

Частота выявления антител класса IgG к вирусу Мрох и осведомленность о заболевании Мрох в Ибадане, юго-западная Нигерия

John Olusola Olayiwola^{1✉}, Adesuwa Oluwatofunmi Akagbosu¹, Oyindamola John Samson², Ademola Emmanuel Alaba¹, Babalola Sunday Aponjolosun², Stephen Ademola Soyemi³

¹Отделение медицинской микробиологии, кафедра микробиологии и биотехнологии, Университет Аджайи Кроутер, Ойо, Нигерия;

²Отделение экологической микробиологии, кафедра микробиологии и биотехнологии, Университет Аджайи Кроутер, Ойо, Нигерия;

³Диагностический центр PAOOS, кафедра патологии, больница университетского колледжа, Ибадан, штат Ойо, Нигерия

Резюме

Цель. Ранее случаи Мрох были распространены среди детей; недавние вспышки, вызванные вирусом клады II, в основном затронули лиц молодого возраста. Исследование направлено на изучение знаний о вирусе Мрох и отношении к нему, а также серопревалентности среди когорты лиц в Ибадане, давших согласие на участие в исследовании.

Материалы и методы. К участию в исследовании были допущены добровольцы, соответствовавшие установленным критериям включения. Было проведено поперечное исследование с участием 94 респондентов для изучения социально-демографических факторов, уровня осведомленности, отношения к профилактике и уровня инфицирования. Антитела класса IgG к вирусу Мрох количественно определяли с помощью метода твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). Затем данные анализировали с использованием критерия χ^2 , а количественное определение антител отображали с помощью диаграммы типа «ящик с усами»; статистическую значимость определяли при $p < 0,05$.

Результаты. Большинство респондентов были женщинами (66,7%) в возрасте 58 лет и старше (20,0%). Большинство имели высшее (40,0%) и среднее образование (34,4%). Осведомленность об Мрох была умеренной: 61,1% опрошенных слышали о вирусе в основном из новостей (20,0%) и от работников здравоохранения (18,9%). Тем не менее пробелы в знаниях были очевидны: только 38,9% знали о симптомах заболевания и 40,0% понимали пути передачи вируса. Отношение к профилактике было в целом положительным; 60,0% считали, что Мрох можно предотвратить, и 73,3% были готовы вакцинироваться. Тем не менее готовность участвовать в скрининге была низкой; 81,1% респондентов никогда не проходили тестирование, а 58,9% не знали о доступности теста в их регионе. Что касается серопревалентности, у женщин частота выявления анти-Мрох была значительно выше (27,4%), чем у мужчин (9,6%) ($\chi^2 = 3,854$, $p = 0,050$). В возрастном разрезе самые высокие показатели серопозитивности наблюдались у лиц младше 18 лет (61,5%) и в возрасте от 53 до 57 лет (66,6%) ($\chi^2 = 30,817$, $p = 0,000$), что указывает на значительные возрастные различия.

Заключение. Полученные данные подчеркивают необходимость целевого просвещения в области общественного здравоохранения, расширения доступа к тестированию и разработки стратегий целенаправленного вмешательства для улучшения профилактики и контроля Мрох, особенно среди уязвимых возрастных групп и малоинформированного населения.

Ключевые слова: Мрох; серопозитивность; иммуноглобулин G; антитела; вспышка

Для цитирования: Olayiwola J.O., Akagbosu A.O., Samson O.J., Alaba A.E., Aponjolosun B.S., Soyemi S.A. Частота выявления антител класса IgG к вирусу Мрох и осведомленность о заболевании Мрох в Ибадане, юго-западная Нигерия. *Вопросы вирусологии*. 2025; 70(5): 463–470. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-337> EDN: <https://elibrary.ru/spvndn>

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. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Комитетом по этике исследований факультета естественных наук Университета Аджайи Кроутера, штат Ойо (протокол № FNS/ERC/2024/025SM от 13.12.2024).

Background

Monkeypox (Mpox) is a viral disease pathogen of which belongs to the Poxviridae family, a group of large and complex DNA viruses. It has been characterized into two groups of strains with varying case fatality rates [1]. Between January 1, 2022, and February 1, 2023, more than 87,000 cases and 141 deaths attributed to human Mpox were reported in 111 countries worldwide [2]. Since 1970, when it was first confirmed, monkeypox has been reported in central and western African countries, including Cameroon, the Central African Republic, the Democratic Republic of Congo, and Nigeria [3, 4]. However, the actual burden of monkeypox in Sub-Saharan Africa remains poorly defined.

The increased global spread of Mpox recently underscores the need for enhanced surveillance and public health emergency preparedness, especially in areas with weak health systems, such as Nigeria [5, 6]. The first occurrence of the disease outside Africa was in the USA in 2003, with 47 human cases attributed to close contact with prairie dogs believed to have been infected by rodents imported from Ghana [7]. Subsequently, four additional cases outside Africa were detected, linked to the largest clade II monkeypox virus (previously called West African clade) outbreak between 2017 and 2018 [3, 8]. The outbreaks of Mpox in Europe and North America suggest the potential for further transmission in non-endemic settings [9–11].

Additionally, most cases of Mpox in Nigeria do not report contact with animals, while over 50% have a history of contact with persons with similar skin lesions. The clade II monkeypox virus was previously described as causing a less severe illness than the Congo-basin clade and smallpox [7]. Nevertheless, some cases in Nigeria were associated with adverse outcomes [8, 12]. Consequently, further research is needed on the possible risk factors for mpox and its severity as observed in recent outbreaks, including the role of immunity and coinfections [9].

The discontinuation of routine smallpox vaccinations since 1980 and the potential for asymptomatic human-to-human transmission may have played a role in the virus's evolution [13]. Additionally, changes in human behavior, travel patterns, and population movement have likely contributed to the rapid spread of the 2022 outbreak [11, 14]. Despite increasing case numbers, research on the epidemiology, clinical symptoms, and transmission pathways remains limited [15]. As the outbreak continues to evolve, further studies will be essential in improving our understanding of the virus and refining public health responses [15]. Therefore, this study was carried out to investigate the seroprevalence of anti-Mpox virus IgG antibody in Ibadan, Southwest Nigeria.

Materials and methods

Study Location and Design

This study was conducted at the Ibadan North Local Government, Oyo State, Nigeria, from January to June 2025. Eligible individuals were people who consented

to participate, while ineligibility was due to non-consent. A cross-sectional and laboratory-based study was used to investigate the occurrence and prevalence of the virus. Institutional ethical approval (FNS/ERC/2024/025SM) to carry out this work was granted by the Research Ethics Committee of the Faculty of Natural Sciences, Ajayi Crowther University, Oyo State, Nigeria.

Demographic Data Collection

A structured questionnaire was used to assess the socio-demographic data of the participants, as well as their awareness, knowledge, and attitudes towards Mpox infection, after obtaining verbal consent following proper education of the participants.

Sample Collection

A total of 94 blood samples were collected from participants via venipuncture after obtaining their consent. The minimum sample size for estimating anti-Mpox IgG seroprevalence was computed using Cochran's formula with 95% confidence ($Z = 1.96$), anticipated prevalence of 7% (Cochrane, 1977), and desired precision ($d = 0.05$), yielding a total of 100 samples. Allowing for an anticipated 10% non-response rate, the target sample size was 111 respondents. Ultimately, 94 participants were enrolled and included in the final analysis due to resource constraints. The blood samples were collected into the EDTA bottles and spun by centrifugation at 3000 rpm for 10 minutes to separate the serum. The serum is then separated into a plain bottle and kept at -80°C before the serological assay according to Reed et al. [2004].

The work was duly approved by the Research Ethics Committee of the Faculty of Natural Sciences, Ajayi Crowther University, Oyo. The approval number (FNS/ERC/2024/025SM) was given for the conduct of the research.

Detection of Anti-Mpox Virus IgG Antibody

This Mpox-IgG Antibody ELISA kit was used to detect the occurrence of anti-Mpox IgG antibody by measuring the intensity of the color change using a spectrophotometer. The standard curve was prepared by plotting Optical Density against the of anti-Mpox IgG antibody concentration obtained from standards according to the manufacturer and was therefore used for the interpretation of the readings from the sera.

Data analysis

Data collected was statistically analyzed to evaluate the association between different variables at 95% confidence intervals using SPSS version 23. Statistical value below 0.05 ($p < 0.05$) was considered statistically significant. A Box and Whisker plot was used to present the concentration of anti-Mpox virus IgG antibody. The data is then presented using frequency tables, simple ratios, percentages, and charts.

Results

Socio-demographic variables among the respondents

The socio-demographic data showed a variety of ages of the respondents, with ≥ 58 years having the highest

occurrence (20.0%), while 23–27 years were the least age group (4.4%). There were more females (66.7%) among the respondents and males (23.3%); however, 10.0% of the respondents did not disclose their gender (**Table 1**).

Awareness and Knowledge of the Mpox Virus among the Respondents

The knowledge of the Mpox disease, its symptoms, and transmission was observed among 55 (61.1%) respondents. The means of awareness about Mpox disease was observed to be more (20.0%) through broadcasting, while 18.9% of the respondents heard through healthcare workers; however, 34.4% of the respondents have not heard about Mpox infection (**Table 2**).

Attitudes toward Mpox Virus Prevention among Respondents

There were 54 (60.0%) of the respondents who knew that Mpox disease can be prevented, while 24 (26.7%) did not believe Mpox disease can be prevented; however, 12 (13.3%) of respondents did not respond. It was observed that 16 (17.8%) of the respondents were ready for regular handwashing, while 9 (10.0%) of the respondents were ready to wear protective devices for prevention. There were 66 (73.3%) of the respondents

who indicated willingness to take the Mpox virus vaccine, while 6 (6.7%) of the respondents expressed a phobia of the vaccine against Mpox disease (**Table 3**).

Concentration of Anti-Mpox Virus IgG Antibody and Seroprevalence by Gender

The seroprevalence of the Mpox virus IgG antibody was 27.4% among females, while it was 9.6% among males. *p*-value was found to be 0.005, which showed that the Mpox virus is statistically significant among females (**Table 4**). The concentration of anti-Mpox virus IgG antibody was observed to range from 67.7 pg/mL to 131.4 pg/mL in the blood samples collected from females (**Fig. 1**), while the concentration of anti-Mpox virus IgG antibody in males ranged from 60.6 pg/mL to 131.8 pg/mL (**Fig. 2**).

Seroprevalence of Mpox virus by Gender and Age

The seroprevalence of the Mpox virus antibody was higher in the age group ≤ 18 years (61.5%), 53–57 years (66.6%), and ≥ 58 years (50.0%). Moderate prevalence was observed with 43–47 years (42.8%). However, there was no occurrence of Mpox IgG antibody among the 18–27 years and 38–42 years age groups of the respondents. The *p*-value was found to be 0.000, which showed that anti-Mpox virus IgG antibody occurrence is statistically significant among the children and adults based on the age range (**Fig. 3**).

Table 1. Socio-demographic variables among the respondents

Таблица 1. Социально-демографические данные респондентов

Demography / Демография	Frequency (%) / Частота (%)
Age (years) / Возраст (годы)	
< 18	14 (15.6)
18–22	6 (6.7)
23–27	4 (4.4)
28–32	2 (2.2)
33–37	10 (11.1)
38–42	5 (5.6)
43–47	9 (10.0)
47–52	10 (11.1)
53–57	4 (4.4)
58 above / 58 и более	18 (20.0)
No response / Нет ответа	8 (8.9)
Gender / Пол	
Male / Мужчины	21 (23.3)
Female / Женщины	60 (66.7)
No response / Нет ответа	9 (10.0)
Educational Level / Образование	
No formal education / Нет образования	1 (1.1)
Primary / Начальное	10 (11.1)
Secondary / Среднее	31 (34.4)
Tertiary / Высшее	36 (40.0)
No response / Нет ответа	12 (13.3)
Ethnicity / Этническая принадлежность	
Yoruba / йоруба	35 (38.9)
Igbo / игбо	39 (43.3)
Hausa / хауса	1 (1.1)
No response / Нет данных	15 (16.7)
Religion / Религия	
Christianity / Христианство	77 (85.6)
Islamic / Ислам	3 (3.3)
No response / Нет ответа	10 (11.1)

Discussion

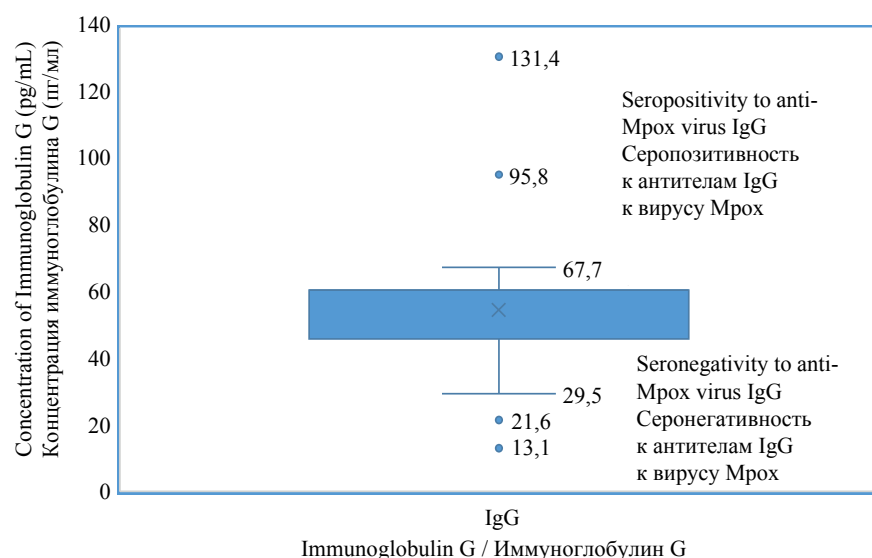
Mpox is currently not regarded as a public health emergency of international concern; however, it continues to spread in several countries, such as Nigeria. A comprehensive understanding of awareness, knowledge, and control measures for this disease by people is crucial. This study assessed the awareness and seroprevalence of anti-mpox virus IgG antibody among apparently healthy individuals in the community of Ibadan.

This study revealed that the majority of respondents were aware of the Mpox disease, with 61.1% affirming awareness of the disease, which is confirmed in a study by Ogoina et al. [16], who found that 60.5% of participants were aware of Mpox and demonstrated adequate knowledge. However, a notable proportion, 31.1% of the respondents, reported not being aware of the virus in this work. This finding was also corroborated by the report of Olojede et al. [17], where 90.6% were aware of the Mpox, and only 52.2% had good knowledge scores of the disease.

In this study, the respondents frequently indicated that news, family and friends, healthcare workers, and social media were their primary sources of information for awareness; however, broadcasting had a higher percentage among the sources of information. These findings were supported by previous studies conducted by Awoyomi et al. [18], Al-Mustapha et al. [19], and Bakare et al. [20]. In our findings, social media had a second source of information score for the awareness of Mpox disease. Although social media plays a key role in information dissemination, it is attributed to a source of misinformation [21]. This finding was corroborated by the work of Olojede et al. [17], where social media was among the

Table 2. Awareness and Knowledge of the Mpox Virus among the Respondents**Таблица 2.** Осведомленность и знания о вирусе Мпок среди респондентов

Variables / Вопросы	Frequency (%) / Частота (%)
Have you heard of the Mpox virus? Слышали ли вы о вирусе Мпок?	
Yes / Да	55 (61.1)
No / Нет	28 (31.1)
No response / Нет ответа	7 (7.8)
If yes, what is your primary source of information about the Mpox virus? Если да, то какой у вас основной источник информации о вирусе Мпок?	
News / Новости	18 (20.0)
Social media / Соцсети	13 (14.4)
Healthcare workers / Работники здравоохранения	17 (18.9)
Friends/Family / Друзья/Семья	7 (7.8)
Others / Другие	4 (4.4)
No response / Нет ответа	31 (34.4)
Do you know the symptoms of the Mpox virus? Знаете ли вы симптомы инфекции, вызванной вирусом Мпок?	
Yes / Да	35 (38.9)
No / Нет	42 (46.7)
No response / Нет ответа	13 (14.4)
If yes, which of these do you associate with Mpox virus? Если да, то какие из них вы связываете с вирусом Мпок?	
Fever / Лихорадка	15 (16.7)
Skin rashes / Кожная сыпь	18 (20.0)
Headaches / Головная боль	7 (7.8)
Muscle aches / Мышечные боли	4 (4.4)
No response / Нет ответа	46 (51.1)
Do you know how the Mpox virus is transmitted? Знаете ли вы, как передается вирус Мпок?	
Yes / Да	36 (40.0)
No / Нет	44 (48.9)
No response / Нет ответа	10 (11.1)
If yes, which of these do you think is a mode of transmission? Если да, то какой из перечисленных ниже, по вашему мнению, является путем передачи?	
Direct contact with infected person / Прямой контакт с инфицированным человеком	25 (27.8)
Contact with animals / Контакт с животными	6 (6.7)
Airborne droplets / Воздушно-капельный путь	9 (10.0)
Others / Другое	1 (1.1)
No response / Нет ответа	49 (54.4)

**Fig. 1.** Concentration of Anti-Mpox Immunoglobulin G Antibody among the females.**Рис. 1.** Концентрация антител против Мпок класса IgG среди женщин.

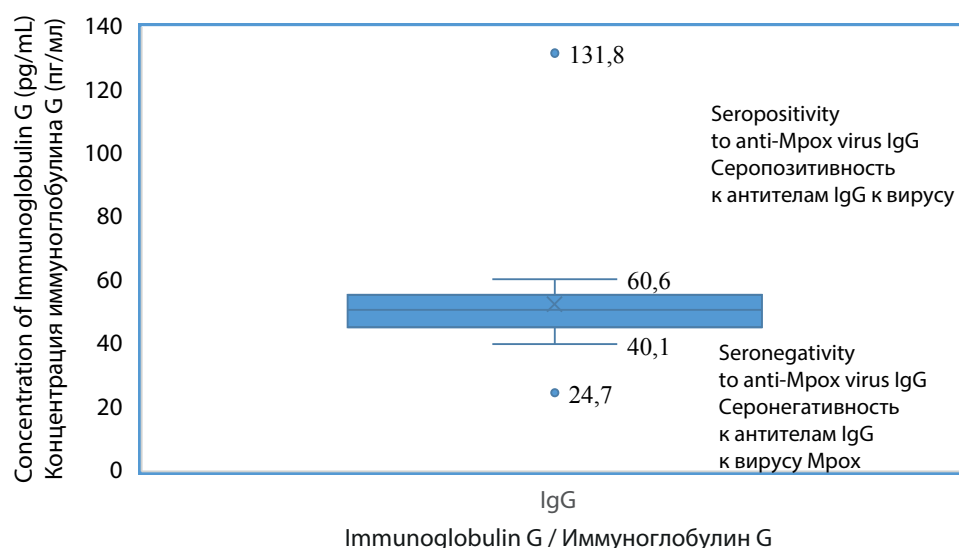


Fig. 2. Concentration of Anti-Mpox Immunoglobulin G Antibody among the males.

Рис. 2. Концентрация антител против Мпок класса IgG среди мужчин.

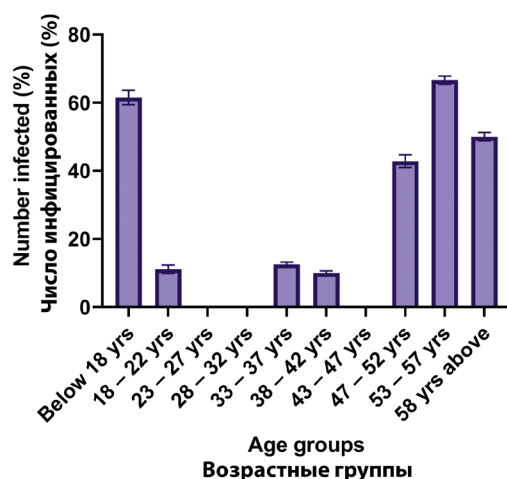


Fig. 3. Seroprevalence of Anti-Mpox IgG Antibody according to Age groups.

Рис. 3. Серопревалентность антител класса IgG к Мпок в зависимости от возраста.

primary sources of information for respondents. Our findings revealed that people are better reached through broadcasting and social media for community intervention during a disease outbreak. Our study also evaluated the knowledge of the participants about the means of transmission of the Mpox virus. Only 48.9% of the respondents understood the methods of transmission of the Mpox virus. Overall, awareness and knowledge of the Mpox disease were generally low, which is similar to the findings of Al-Mustapha et al. [19], who reported low knowledge in a cross-sectional survey on public knowledge of the Mpox in Nigeria.

The attitudinal score of the respondents in this work was observed to be moderate. Our findings showed that 60.0%

believed that Mpox could be prevented, and 73.3% expressed willingness to take public vaccination. This report suggests a relatively high vaccine acceptability rate in Nigeria; this report shows little deviation from a similar study conducted in Ghana, where there was 41.7% willingness for public vaccination [22].

In our study, seroprevalence of anti-Mpox virus IgG antibody was observed to be 21.5% among the surveyed population. This seroprevalence is slightly lower compared to the 27.9% seroprevalence reported by Ogoia et al. [16] in a study. However, in another study, Ogoia et al. [23], reported a higher prevalence, where 163 out of 265 cases of anti-Mpox virus antibody were confirmed. Our study showed that the occurrence of anti-Mpox virus IgG antibody can be age dependent, as our study observed higher occurrence of the Mpox among the age groups: ≤ 18 years (61.5%), 53–57 years (66.6%), and ≥ 58 years (50.0%). This finding revealed that the Mpox virus can be common to children and adults, which could be due to the immune status of the age groups. This finding corroborates Mauldin et al. [24], who suggested the Mpox infection was more common among children.

Conclusion

This study revealed a relatively high level of awareness about the Mpox virus among respondents, but there were low knowledge scores about the disease. The discrepancy between awareness and knowledge scores in this study underscores a persistent need for comprehensive public education. The current findings may suggest emerging vulnerability in both pediatric and older adult populations, possibly due to lower immunity, close contact exposure exhibited by these groups, or unvaccinated status following the cessation of routine smallpox vaccination.

Table 3. Attitudes of the Respondents toward Mpox Virus Prevention**Таблица 3.** Отношение респондентов к профилактике Мпок

Variables / Вопросы	Frequency (%) / Частота (%)
Do you believe the Mpox virus can be prevented? Верите ли вы, что вирус Мпок можно предотвратить?	
Yes / Да	54 (60.0)
No / Нет	24 (26.7)
No response / Нет ответа	12 (13.3)
Which of these preventive measures do you think are effective? Какие из этих превентивных мер вы считаете эффективными?	
Regular handwashing / Регулярное мытье рук	16 (17.8)
Avoiding contact with an infected person / Избегать контакта с инфицированным человеком	9 (10.0)
Wearing protective devices / Ношение защитных устройств	11 (12.2)
Vaccination / Вакцинация	27 (30.0)
Others / Другое	1 (1.1)
No response / Нет ответа	26 (28.9)
Are you willing to take a vaccine for the Mpox virus? Готовы ли вы сделать прививку от вируса Мпок?	
Yes / Да	66 (73.3)
No / Нет	6 (6.7)
Not sure / Не уверен	6 (6.7)
No response / Нет ответа	12 (13.3)
Do you think healthcare workers in hospitals are adequately trained to manage the Mpox virus? Считаете ли вы, что медицинские работники в больницах достаточно подготовлены к борьбе с вирусом Мпок?	
Yes / Да	58 (64.4)
No / Нет	4 (4.4)
Not sure	13 (14.4)
No response / Нет ответа	15 (16.7)

Table 4. Seroprevalence of Mpox virus according to Gender**Таблица 4.** Серопревалентность вируса Мпок в зависимости от пола

Variables / Пол	Number examined / Число обследованных	Number of seropositive (%) / Число серопозитивных (%)
Male / Мужчины	31	3 (9.6)
Females / Женщины	62	17 (27.4)
$\chi^2 = 3.854$, $df = 1$, $p = 0.050$		

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

- Wassenaar T.M., Wanchai V., Ussery D.W. Comparison of Monkeypox virus genomes from the 2017 Nigeria outbreak and the 2022 outbreak. *J. Appl. Microbiol.* 2022; 133(6): 3690–8. <https://doi.org/10.1111/jam.15806>
- Harapan H., Ophinni Y., Megawati D., Frediansyah A., Mama-da S.S., Salampe M., et al. Monkeypox: a comprehensive review. *Viruses*. 2022; 14(10): 2155. <https://doi.org/10.3390/v14102155>
- Mauldin M.R., Andrea M.M., Yoshinori J.N., Anna M., Erin R.W., Whitney D., et al. Exportation of Monkeypox virus from the African continent. *J. Infect. Dis.* 2022; 225(8): 1367–76. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa559>
- Bunge E.M., Bernard H., Liddy C., Florian L., Heinz W., Lorraine R.B., et al. The changing epidemiology of human monkeypox—a potential threat? A systematic review. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2022; 16(2): e0010141. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010141>
- Nguyen P.Y., Ajisegiri W.S., Costantino V., Chughtai A.A., MacIntyre C.R. Reemergence of human monkeypox and declining population immunity in the context of urbanization, Nigeria, 2017–2020. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27(4): 1007–14. <https://doi.org/10.3201/eid2704.203569>
- Kabuga A.I., El Zowalaty M.E. A review of the monkeypox virus and a recent outbreak of skin rash disease in Nigeria. *J. Med. Virol.* 2019; 91(4): 533–40. <https://doi.org/10.1002/jmv.25348>
- Reed K.D., Melski J.W., Graham M.B., Regnery R.L., Sotir M.J., Wegner M.V., et al. The detection of Monkeypox in humans in the Western Hemisphere. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350(4): 342–50. <https://doi.org/10.1056/nejmoa032299>
- Yinka-Ogunleye A., Aruna O., Dalhat M., Ogoina D., McCol-lum A., Disu Y., et al. (2019). Outbreak of human Monkeypox in Nigeria in 2017–18: a clinical and epidemiological report. *Lancet Infect. Dis.* 2019; 19(8): 872–9. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(19\)30294-4](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(19)30294-4)
- Kuebel C., Haskett E. “I’m doing the best I can”: teaching general music in the time of COVID-19. *Update Univ. S. C. Dep. Music.* 2023; 41(2): 28–37. <https://doi.org/10.1177/87551233211067766>
- Thornhill J.P., Antinori A., Orkin C.M. Monkeypox virus infection across 16 countries – April–June 2022. Reply. *N. Engl. J. Med.* 2022; 387(25): e69. <https://doi.org/10.1056/nejmc2213969>
- WHO. Investigations ongoing into atypical cases of Monkeypox now reported in eight countries in Europe; 2022.
- Ogoina D., Iroezindu M., James H.I., Olumide A.I., Omoleke S., Yinka-Ogunleye A. Monkeypox outbreaks in Nigeria: Epidemiological and clinical features, public health response, and implications for the future. *Lancet Infect. Dis.* 2022; 22(10): e234–43.
- Bunge E.M., Hoet B., Chen L., Lienert F., Weidenthaler H., Baer L.R. The changing epidemiology of human monkeypox—A potential threat? A systematic review. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2022; 16(2): e0010141. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010141>

14. McQuiston J.H., Braden C.R., Bowen M.D., McCollum A.M., McDonald R., Carnes N., et al. The CDC domestic mpox response – United States, 2022–2023. *MMWR Morb. Mortal Wkly Rep.* 2023; 72(20): 547–52. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7220a2>
15. Sharif N., Nazmul S., Khalid J.A., Ibrahim F.H., Fuad M.A., Isabel D., et al. Molecular epidemiology, transmission and clinical features of 2022-mpox outbreak: a systematic review. *Health Sci. Rep.* 2023; 6(10): e1603. <https://doi.org/10.1002/hsr2.1603>
16. Ogoina D., Inestol O., Adesola Y.O., Chikwe I., Nnaemeka N., Olusola A. Case report: recurrent mpox in a healthcare worker in Nigeria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2023; 109(4): 858–60. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.23-0232>
17. Olojede O., Bakare D., Sogbesan A., Salako J., and AA, B. An assessment of awareness, knowledge and perception of monkeypox (mpox) disease among internet users in Nigeria: a cross-sectional survey. *Babcock Univ. Med. J.* 2024; 7(2): 98–107. <https://doi.org/10.38029/babcockuniv.med.j.v7i2.402>
18. Awoyomi O.J., Njoga E.O., Jaja I.F., Oyeleye F.A., Awoyomi P.O., Ibrahim M.A., et al. Mpox in Nigeria: Perceptions and knowledge of the disease among critical stakeholders-Global public health consequences. *PLoS One.* 2023; 18(3): e0283571. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0283571>
19. Al-Mustapha A.I., Ogundijo O.A., Sikiru N.A., Kolawole B., Oye-wo M., El-Nadi H., et al. A cross-sectional survey of public knowledge of the monkeypox disease in Nigeria. *BMC Public Health.* 2023; 23(1): 591. <https://doi.org/10.1186/s12889-023-15398-0>
20. Bakare D., Salako J., Sogbesan A., Olojede O.E., Bakare A.A. Assessment of the level of awareness, knowledge, and risk perception of community members about mpox infection in Nigeria. *Ann. Ib. Postgrad. Med.* 2024; 22(1): 76–87.
21. WHO. WHO delivering on its commitment to protect and improve people's health: stories of healthier populations, access to services and emergency response; 2024.
22. Ghazy R.M., Yazbek S., Gebreal A., Hussein M., Addai S.A., Mensah E., Sarfo M., et al. Monkeypox vaccine acceptance among Ghanaians: a call for action. *Vaccines (Basel).* 2023; 11(2): 240. <https://doi.org/10.3390/vaccines11020240>
23. Ogoina D., Mahmmod M.D., Ballah A.D., Mildred O., Nneka M.C.I., Sebastine O.O., et al. Mpox epidemiology and risk factors, Nigeria, 2022. *Emerg. Infect. Dis.* 2024; 30(9): 1799–808. <https://doi.org/10.3201/eid3009.240135>
24. Mauldin M.R., McCollum A.M., Nakazawa Y.J., Mandra A., Whitehouse E.R., Davidson W., et al. Exportation of monkeypox virus from the African continent. *J. Infect. Dis.* 2022; 225(8): 1367–76. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa559>

Information about the authors:

John Olusola Olayiwola✉ – Ph. D, Senior Lecturer, Ajayi Crowther University, Oyo, Oyo State, Nigeria. E-mail: jo.olayiwola@acu.edu.ng, olusolajohn97@yahoo.com; <https://orcid.org/0000-0003-2919-0154>

Adesuwa Oluwatofunmi Akagbosu – B Sc., Laboratory Technologist, Ajayi Crowther University, Oyo, Oyo State, Nigeria. E-mail: Adesuwaakagbosu8@gmail.com; <https://orcid.org/0009-0004-0499-6308>

Oyindamola John Samson – M Sc., Assistant Lecturer, Ajayi Crowther University, Oyo, Oyo State, Nigeria. E-mail: oj.samson@acu.edu.ng; <https://orcid.org/0000-0003-0404-7634>

Ademola Emmanuel Alaba – M Sc., Lecturer II, Ajayi Crowther University, Oyo, Oyo State, Nigeria. E-mail: ae.alaba@acu.edu.ng; <https://orcid.org/0000-0002-4152-9803>

Babalola Sunday Aponjolosun – Ph. D, Lecturer II, Ajayi Crowther University, Oyo, Oyo State, Nigeria. E-mail: bs.aponjolosun@acu.edu.ng; <https://orcid.org/0000-0002-7736-8474>

Stephen Ademola Soyemi – M Sc., Research Officer I, University College Hospital, Ibadan, Oyo State, Nigeria. E-mail: dcrown1martyr@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-3997-1213>

Contribution: John Olusola Olayiwola – designed the research plan; John Olusola Olayiwola, Adesuwa Oluwatofunmi Akagbosu, Stephen Ademola Soyemi, and Oyindamola John Samson – carried out sample collection and the laboratory work; John Olusola Olayiwola, Adesuwa Oluwatofunmi Akagbosu, Babalola Sunday Aponjolosun, and Ademola Emmanuel Alaba – interpreted the results; John Olusola Olayiwola – wrote the manuscript together; and approved by the authors.

Received 03 August 2025

Accepted 01 October 2025

Published 30 October 2025

Информация об авторах:

John Olusola Olayiwola✉ – канд. биол. наук, старший преподаватель, Университет Аджайи Кроутера, Ойо, штат Ойо, Нигерия. E-mail: jo.olayiwola@acu.edu.ng, olusolajohn97@yahoo.com; <https://orcid.org/0000-0003-2919-0154>

Adesuwa Oluwatofunmi Akagbosu – бакалавр, лаборант-технолог, Университет Аджайи Кроутера, Ойо, штат Ойо, Нигерия. E-mail: Adesuwaakagbosu8@gmail.com; <https://orcid.org/0009-0004-0499-6308>

Oyindamola John Samson – магистр, ассистент преподавателя, Университет Аджайи Кроутера, Ойо, штат Ойо, Нигерия. E-mail: oj.samson@acu.edu.ng; <https://orcid.org/0000-0003-0404-7634>

Ademola Emmanuel Alaba – магистр, преподаватель II, Университет Аджайи Кроутера, Ойо, штат Ойо, Нигерия. E-mail: ae.alaba@acu.edu.ng; <https://orcid.org/0000-0002-4152-9803>

Babalola Sunday Aponjolosun – канд. биол. наук, преподаватель II, Университет Аджайи Кроутера, Ойо, штат Ойо, Нигерия. E-mail: bs.aponjolosun@acu.edu.ng; <https://orcid.org/0000-0002-7736-8474>

Stephen Ademola Soyemi – магистр, научный сотрудник I, университетский колледж, больница, Ибадан, штат Ойо, Нигерия. E-mail: dcrown1martyr@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-3997-1213>

Участие авторов: John Olusola Olayiwola – разработка плана исследования; John Olusola Olayiwola, Adesuwa Oluwatofunmi Akagbosu, Stephen Ademola Soyemi, и Oyindamola John Samson – сбор образцов и лабораторные работы; John Olusola Olayiwola, Adesuwa Oluwatofunmi Akagbosu, Babalola Sunday Aponjolosun, и Ademola Emmanuel Alaba – интерпретация результатов; John Olusola Olayiwola – написание рукописи; все авторы одобрили рукопись.

Поступила 03.08.2025

Принята в печать 01.10.2025

Опубликована 30.10.2025

В ПОМОЩЬ ВИРУСОЛОГУ



ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-326>

© КОНТАРОВ Н.А., ПОГАРСКАЯ И.В., ДОЛГОВА Е.И., КОНТАРОВА Е.О., ПОМАЗАНОВ В.В., МАРДАНЛЫ С.Г., ЮМИНОВА Н.В., 2025

Диагностика инфекционного и гемагглютинирующего титра вируса гриппа А/Маллард Пенсильвания/10218/84 (H5N2) по изменению микровязкости вирусной мембраны после взаимодействия с фосфолипидными модификаторами на примере бесхолестериновых липосом

Контаров Н.А.^{1,2✉}, Погарская И.В.², Долгова Е.И.², Контарова Е.О.³, Помазанов В.В.⁴, Гафаров Р.Р.⁴, Марданлы С.Г.⁴, Юминова Н.В.²

¹ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, Россия;

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», 115088, г. Москва, Россия;

³ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий» ФМБА России, 115682, г. Москва, Россия;

⁴ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет», 142611, г. Орехово-Зуево, Россия

Резюме

Введение. Противовирусное действие ряда препаратов связано с модификацией липидной мембраны вирусов вследствие их применения. Один из возможных механизмов такой модификации вирусной мембраны заключается в экстракции холестерина из мембран вирионов.

Цель работы. Изучить методику определения инфекционного и гемагглютинирующего титра вируса гриппа птиц по изменению микровязкости вирусной мембраны после инкубации с фосфолипидными модификаторами – бесхолестериновыми липосомами, состоящими из фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина в мольном отношении 1 : 2, в течение 48 ч.

Материалы и методы. Процесс экстракции подтверждали двумя методами: гель-фильтрацией с радиоактивно мечеными липосомами и вирионами, а также по изменению величины поляризации флуоресцентного зонда 1-анилинонафталин-8-сульфонат-аниона (8-АНС) в вирусной мембране.

Результаты. Обнаружена корреляционная связь между изменением инфекционного и гемагглютинирующего титра и микровязкостью вирусной мембраны.

Заключение. Предложенная в работе методика позволяет проводить количественное определение инфекционной и гемагглютинирующей активности вируса гриппа в зависимости от изменений микровязкости мембран вирусов после взаимодействия фосфолипидных модификаторов. Представляется возможным использовать выявленную зависимость для определения инфекционной и гемагглютинирующей активности вируса гриппа в пределах одного серотипа в клинической лабораторной диагностике, применяя различные флуоресцентные зонды. В качестве липофильных модификаторов вирусной мембраны можно использовать не только липосомы определенного состава, но и такие соединения, как этиленгликоль, эритрит, глицерин.

Ключевые слова: бесхолестериновые липосомы; вирус гриппа; экстракция холестерина; микровязкость вирусной мембраны; лабораторная диагностика

Для цитирования: Контаров Н.А., Погарская И.В., Долгова Е.И., Контарова Е.О., Помазанов В.В., Гафаров Р.Р., Марданлы С.Г., Юминова Н.В. Диагностика инфекционного и гемагглютинирующего титра вируса гриппа А/Маллард Пенсильвания/10218/84 (H5N2) по изменению микровязкости вирусной мембраны после взаимодействия с фосфолипидными модификаторами на примере бесхолестериновых липосом. *Вопросы вирусологии*. 2025; 70(5): 471–476. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-326> EDN: <https://elibrary.ru/atftvd>

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.

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-326>

Method for determining infectious and hemagglutinating titer of influenza A/Mallard Pennsylvania/10218/84 (H5N2) virus by changing the microviscosity of the viral membrane after interaction with phospholipid modifiers using cholesterol free liposomes as an example

Nikolay A. Kontarov^{1,2✉}, Irina V. Pogarskaya², Ekaterina I. Dolgova², Elena O. Kontarova³, Vladimir V. Pomazanov⁴, Ramis R. Gafarov⁴, Sefaddin G. Mardany⁴, Nadezhda V. Yuminova²

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 119991, Moscow, Russia;

²Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, 115088, Moscow, Russia;

³Federal Scientific and Clinical Center of Federal Medical Biology Centre, 115682, Moscow, Russia;

⁴State University of Humanities and Technology, Russia, 142611, Orekhovo-Zuevo, Russia

Abstract

Introduction. The antiviral action of a number of drugs is associated with their modification of the lipid membrane of viruses. One of the possible mechanisms of such modification of the viral membrane is the extraction of cholesterol from the membranes of virions.

Objective of the study. A method has been developed for determining the infectious and hemagglutinating titer of avian influenza virus by changing the microviscosity of the viral membrane after incubation with phospholipid modifiers, using cholesterol-free liposomes consisting of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in a molar ratio of 1 : 2 for 48 hours as an example.

Materials and methods. The extraction process was confirmed by two methods: gel filtration with radioactively labeled liposomes and virions, and by changing the polarization value of the fluorescent probe 1-anilinonaphthalene-8-sulfonate anion (8-ANS) in the viral membrane.

Results. A correlation was found between the change in infectious and hemagglutinating titer and the microviscosity of the viral membrane.

Conclusion. In this regard, it seems possible to use this dependence to determine the infectious and hemagglutinating activity of the influenza virus within one serotype in clinical laboratory diagnostics, using various fluorescent probes. It should be noted that not only liposomes of a certain composition can be used as lipophilic modifiers of the viral membrane, but also such compounds as ethylene glycol, erythritol, glycerol.

Keywords: *cholesterol-free liposomes; influenza virus; cholesterol extraction; microviscosity of the viral membrane, laboratory diagnostics*

For citation: Kontarov N.A., Pogarskaya I.V., Dolgova E.I., Kontarova E.O., Pomazanov V.V., Gafarov R.R., Mardany S.G., Yuminova N.V. Method for determining infectious and hemagglutinating titer of influenza A/Mallard Pennsylvania/10218/84 (H5N2) virus by changing the microviscosity of the viral membrane after interaction with phospholipid modifiers using cholesterol free liposomes as an example. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2025; 70(5): 471–476. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-326> EDN: <https://elibrary.ru/atftvd>

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

На сегодняшний день имеется значительное количество работ, посвященных изучению противовирусного действия липосом в комплексе с разными химическими соединениями и методам изучения механизмов взаимодействия таких липосом с разными оболочечными вирусами [1–9]. Обмен липидами с липосомами приводит к изменению физических характеристик локального окружения белковых антигенов вируса гриппа и к невозможности изменения их конформации при взаимодействии с рецепторами клетки-хозяина. При этом в литературе отсутствует информация о наличии зависимости между величинами инфекционно-го и гемагглютинирующего титра вируса гриппа от фи-

зических характеристик вирусной мембраны. Одной из таких характеристик, которую достаточно просто определить, используя различные флуоресцентные зонды, является микровязкость, что может являться диагностическим признаком. Изменение микровязкости зависит от содержания холестерина в мембране.

Цель – разработать метод, позволяющий определять инфекционный и гемагглютинирующий титр вируса гриппа в зависимости от изменения микровязкости вирусной мембраны после взаимодействия с бесхолестериновыми липосомами.

Материалы и методы

Объектом исследования служил штамм вируса гриппа птиц А/Маллард Пенсильвания/10218/84 (H5N2).

Вирс выращивали на 10-дневных куриных эмбрионах. Исходный инфекционный титр вируса составлял $7,0 \pm 0,2 \lg 50\%$ эмбриональных инфицирующих доз в 1 мл (ЭИД₅₀/мл). Изучение противовирусного действия вируса проводили в перевиваемой культуре клеток MDCK (клетки почек собаки Мадина–Дарби). Клетки линии MDCK высевали на 24-луночные планшеты и инкубировали 14–24 ч до формирования монослоя, занимающего от 80 до 90% ростовой поверхности. Затем вносили в лунки по 0,1 мл вирус-содержащей жидкости (множественность инфекции составляла 0,01 ТЦД₅₀/кл (50% тканевая цитопатическая доза на клетку)) в среде альфа-MEM и инкубировали в течение 72 ч в атмосфере CO₂ при 36 °C. После инкубации клетки промывали средой MEM и вносили бесхолестериновые липосомы в лунки планшетов с монослоем клеток в объеме 0,5 мл. Планшеты с клетками инкубировали в атмосфере CO₂ при 36 °C в течение 30 мин. Затем в культуральной жидкости определяли инфекционный и гемагглютинирующий титр вируса. Инфекционность вируса определяли по титрованию в 10-дневных куриных эмбрионах при их заражении в аллантоисную полость. Инфекционный титр рассчитывали по методу Рида–Менча. Реакцию гемагглютинации проводили стандартным образом с использованием куриных эритроцитов [10]. Исходный гемагглютинирующий титр составлял 2048 ГАЕ/мл. Липосомы получали по стандартному методу с незначительными модификациями [11]. Препарат фосфатидилхолина (Sigma, США) в концентрации 1–2 мг/мл в растворе 0,01 М KCl инкубировали при 70 °C в течение 10 мин, также использовали препараты смеси фосфатидилэтаноламина и фосфатидилхолина (Sigma, США) в мольном соотношении 2 : 1. Размеры и частичную концентрацию липосом определяли спектрофотометрически с помощью фотозлектроколориметра (ФЭК) по методу Геллера [12]. Для стабилизации липосом добавляли полиэтиленгликоль 6000 (Sigma, США) в конечной концентрации 2,5 мМ. Распределение липосом из смеси фосфолипидов по размерам представляло собой гамма-распределение со средним радиусом липосом $\bar{R} = 85 \pm 2,5$ нм, средний индекс полидисперсности липосомальных дисперсий составлял менее 0,1. Средняя частичная концентрация липосом из смеси фосфолипидов составила $\bar{N} = (6,45 \pm 0,1) \times 10^{15}$ см³. Определение степени окисленности липосом проводили по общепринятой методике с расчетом индекса окисленности (ИО):

$$\text{ИО} = \frac{(D_{233} - D_{300})}{(D_{215} - D_{300})} \quad (1),$$

где D_{233} , D_{215} и D_{300} – оптическая плотность анализируемого образца, измеренная относительно 95% этилового спирта на спектрофотометре Anthos Zenyth 200th (Biochrom, Великобритания) при длинах волн 233, 215 и 300 нм соответственно. Стабильность липосомальной дисперсии оценивали по изменению размеров частиц в зависимости от срока хранения (при температуре 4 °C в течение 20 сут), свето-

пропусканию при длине волны 640 нм с помощью спектрофотометра Anthos Zenyth 200th (Biochrom, Великобритания) и дзета-потенциалу (ζ) который определяли по электрофоретической подвижности липосом в дисперсии методом микроэлектрофореза с помощью прибора Zetasizer-2 (Великобритания). С целью выявления экстракции холестерина липосомами применяли гель-фильтрацию и радиометрию меченных ¹⁴C-холестерином вирионов и ³H-инулином липосом в колонке для гель-фильтрации с сефарозой 4В (Sigma, США). Отсутствие вирионов в фильтрате в обоих случаях контролировали с помощью реакции гемагглютинации [10]. Радиометрию образцов осуществляли с помощью радиометра (БЛ-БДБ-2, РФ). Для определения изменения микровязкости липидной мембраны вирионов и липосом применялся флуоресцентный зонд 8-АНС («Sigma», США) в конечной концентрации 10 мкМ. Для определения величины поляризации (P) использовали спектрофлюориметр Флюорат-02-Панорама (РФ), $\lambda_{\text{возб}} = 360$ нм, $\lambda_{\text{эмис}} = 400\text{--}550$ нм. Величину P определяли по формуле Перрена–Яблонского:

$$\frac{1}{P} = \frac{1}{P_0} + \left(\frac{1}{P_0} - \frac{1}{3} \right) \frac{\kappa T \tau_0}{V \eta} \quad (2),$$

где P – поляризация флуоресценции зонда в мембране; V – молярный объем зонда, τ_0 – время жизни флуоресценции, P_0 – предельная поляризация флуоресценции зонда, η – вязкость среды, R – газовая постоянная, T – температура среды, равная 298 К, κ – постоянная Больцмана. Поляризацию флуоресценции зонда в вирусном инокуляте определяли до добавления липосом и после инкубации с липосомами, как описано выше, в течение 48 ч. Контрольный препаратом являлся вирусный инокулят. Количественной оценкой противовирусного действия липосом являлась величина ΔT ($\lg \text{ЭИД}_{50}/\text{мл}$), равная разности инфекционных титров до и после внесения липосом. Статистическую обработку результатов, полученных из 4-кратных повторов каждого эксперимента, проводили стандартными методами с помощью Microsoft Excel 2010 с проверкой выборки на нормальное распределение с помощью критерия Колмогорова и расчета t-критерия, различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты

На первом этапе исследований было проведено изучение стабильности липосомальных дисперсий. На рис. 1 представлена зависимость, отражающая стабильность липосомальных дисперсий в зависимости от срока хранения при 4 °C. На рисунке видно незначительное, в пределах ошибки, увеличение среднего радиуса липосом в дисперсии при хранении. Светопротекание липосомальной дисперсии при температуре 25 °C и длине волны 640 нм составляло 75%, что соответствует требованиям Государственной фармакопеи РФ. Известно, что устойчивость коллоидных растворов наблюдается при значениях дзета-потенциала более 30 мВ по абсолютному значению [13]. Среднее абсолютное значение дзета-потен-

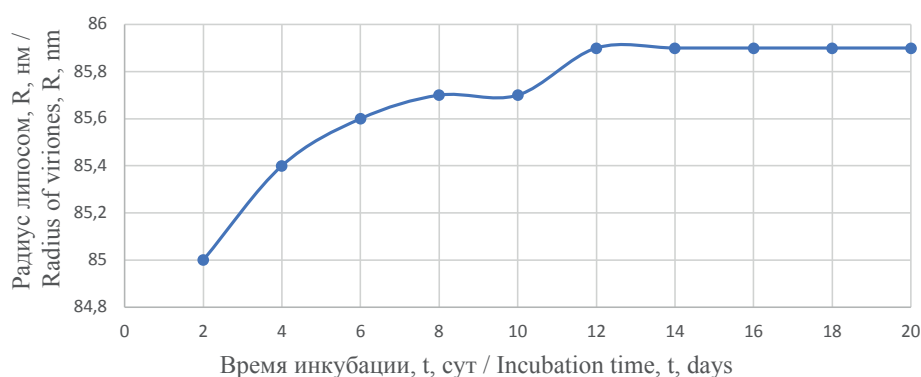
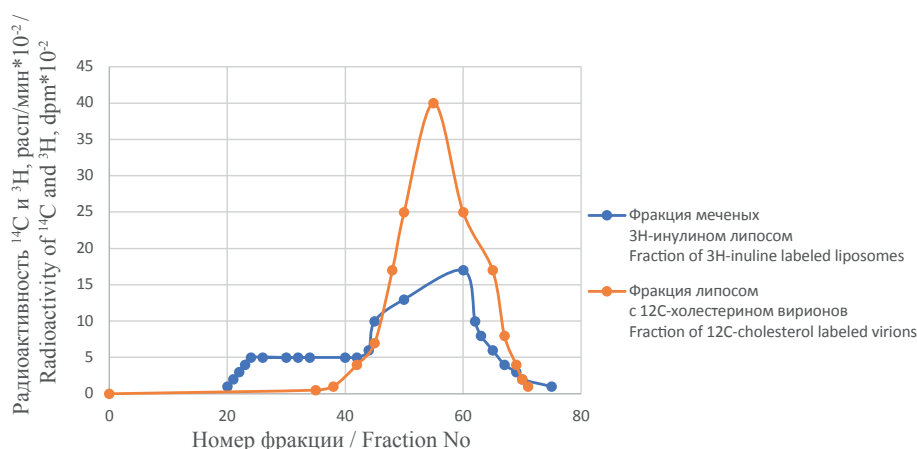


Рис. 1. Изменение размеров липосом при 4 °C в течение 20 сут.

Fig. 1. Change in liposome size at 4 °C for 20 days.

Рис. 2. Гель-фильтрация радиоактивно меченых ³H-инулином липосом без холестерина и ¹⁴C-холестерином вирионов гриппа.Fig. 2. Gel filtration of radioactively labeled ³H-inulin-free cholesterol-liposomes and ¹⁴C-cholesterol-labeled influenza virions.

циала липосом составило $\zeta = 65 \pm 1,5$ мВ. Значение ИО исходной дисперсии липосом составило 0,1, при хранении в течение 20 сут при температуре 4 °C ИО незначительно увеличился до 0,15. В обоих случаях ИО не превышал предельного значения, равного 0,4.

С целью проверить гипотезу экстракции холестерина из вирусной мембраны, после инкубации с вирионами, меченными ¹⁴C-холестерином в течение 5 ч, дисперсию с мечеными ³H-инулином липосомами фракционировали по размерам гель-фильтрацией на сефарозе 4В. Было обнаружено, что основная часть меченых липидов находится в составе частиц, совпадающих по своим размерам с исходными липосомами. Совпадали не только средние размеры, но и распределение по размерам. Небольшая фракция липосом в результате взаимодействия с вирионами превратилась в более крупные агрегаты. В их составе также присутствовал вирусный холестерин (рис. 2). Экстракция холестерина из вирионов возможна только при контактном взаимодействии липосом и вирионов. Такая ситуация может наблюдаться при разрушении двойного электрического слоя вирусных мембран липосомами. Экстракция холестерина бесхолестериновыми липосомами приводила к снижению микровязкости вирусных мембран, что было подтверждено с помощью определения величины поляризации

флуоресценции зондов по формуле (2). Расчеты показали уменьшение микровязкости вирусных мембран с $(5,0 \pm 0,4) \times 10^{-3}$ Па·с до $(1,0 \pm 0,05) \times 10^{-3}$ Па·с в течение 48 ч после инкубации с липосомами. В вирусном контроле уменьшение микровязкости мембран не происходило. На основании полученных результатов было сделано предположение о возможной корреляции инфекционной и гемагглютинирующей активности вируса от микровязкости мембран вирионов, и, поскольку изменение микровязкости вирусной мембраны вызывает изменение пространственного расположения антигенных белков, последнее может быть использовано в качестве диагностического признака. Были получены зависимости инфекционного и гемагглютинирующего титра от микровязкости вирусных мембран с высоким коэффициентом корреляции. На рис. 3 представлена убывающая линейная зависимость инфекционного титра от микровязкости мембраны вируса. Для гемагглютинирующего титра была получена убывающая экспоненциальная зависимость (рис. 4). На графиках приведены уравнения линий тренда, по которым можно рассчитывать показатели инфекционной и гемагглютинирующей активности по экспериментально определенным значениям микровязкости мембран для конкретного штамма вируса гриппа.

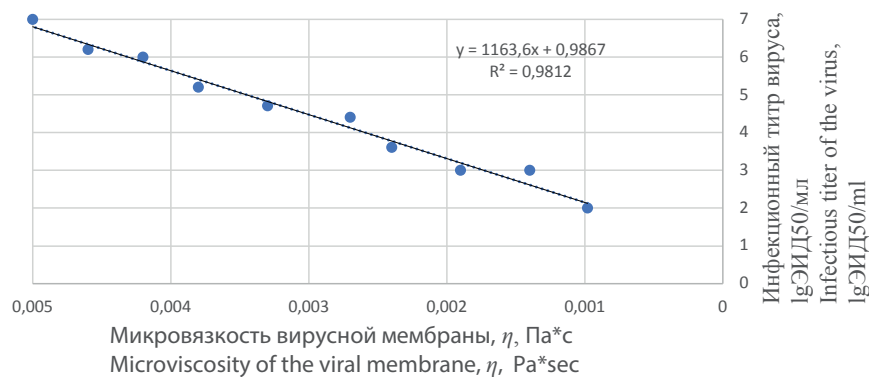


Рис. 3. Зависимость инфекционного титра вируса от микровязкости вирусной мембраны.

Fig. 3. Dependence of infectious titer of the virus on the microviscosity of the viral membrane.

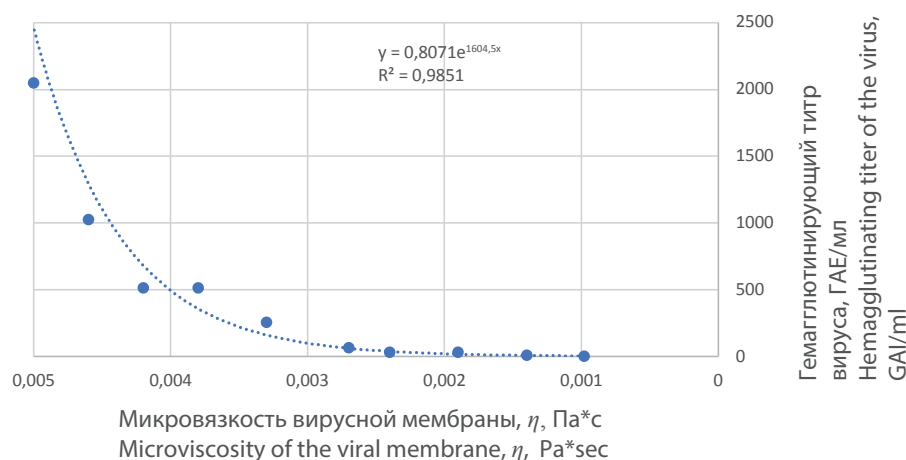


Рис. 4. Зависимость гемагглютинирующего титра вируса от микровязкости вирусной мембраны.

Fig. 4. Dependence of the hemagglutinating titer of the virus on the microviscosity of the viral membrane.

Заключение

Таким образом, предложенная в работе методика позволяет проводить количественное определение инфекционной и гемагглютинирующей активности вируса гриппа в зависимости от изменений микровязкости мембран вирусов после взаимодействия фосфолипидных модификаторов. Данный метод может найти применение в вирусологических исследованиях и клинической лабораторной диагностике при определении инфекционной и гемагглютинирующей активности вирусов гриппа.

Следует отметить, что изменение микровязкости вирусной мембраны может происходить при взаимодействии с любыми другими фосфолипидными модификаторами, которые можно использовать для определения вышеуказанных титров вируса гриппа.

ЛИТЕРАТУРА

- Kingery-Wood J.E., Williams K.W., Sigal G.B., Whitesides G.M. The agglutination of erythrocytes by influenza virus is strongly inhibited by liposomes incorporating an analog of sialyl gangliosides. *J. Am. Chem. Soc.* 1992; 114(18): 7303–5. <https://doi.org/10.1021/ja00044a057>
- van Meer G., Davoust J., Simons K. Parameters affecting low pH-mediated fusion of liposomes with the plasma membrane of cells infected with influenza virus. *Biochemistry.* 1985; 24(14): 3593–602. <https://doi.org/10.1021/bi00335a030>
- Hendricks G.L., Weirich K.L., Viswanathan K., Li J., Shriver Z.H., Ashour J., et al. Sialylneolacto-N-tetraose c (LSTc)-bearing liposomal decoys capture influenza a virus. *J. Biol. Chem.* 2013; 288(12): 8061–73. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.437202>
- White J., Helenius A. pH-dependent fusion between the Semliki Forest virus membrane and liposomes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1980; 77(6): 3273–77. <https://doi.org/10.1073/pnas.77.6.3273>
- Sulczewski F.B., Liszbinski R.B., Romão P.R.T., Rodrigues Junior L.C. Nanoparticle vaccines against viral infections. *Arch. Virol.* 2018; 163(9): 2313–25. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3856-0>
- Hernandez L.D., Peters R.J., Delos S.E., Young J.A., Agard D.A., White J.M. Activation of a retroviral membrane fusion protein: soluble receptor-induced liposome binding of the ALSV envelope glycoprotein. *J. Cell Biol.* 1997; 139(6): 1455–64. <https://doi.org/10.1083/jcb.139.6.1455>
- McGill A.R., Markoutsas E., Mayilsamy K., Green R., Sivakumar K., Mohapatra S., et al. Acetate-encapsulated linolenic acid liposomes reduce SARS-CoV-2 and RSV infection. *Viruses.* 2023; 15(7): 1429. <https://doi.org/10.3390/v15071429>
- Grünewald K. Viral fusion: how Flu induces dimples on liposomes. *EMBO J.* 2010; 29(7): 1165–6. <https://doi.org/10.1038/emboj.2010.35>
- Hendricks G.L., Velazquez L., Pham S., Qaisar N., Delaney J.C., Viswanathan K., et al. Heparin octasaccharide decoy liposomes inhibit replication of multiple viruses. *Antiviral Res.* 2015; 116: 34–44. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2015.01.008>
- Mahy B.W.J. *Virology: A Practical Approach*. IRL Press; 1985. <https://doi.org/10.1136/jcp.38.11.1319-a>
- Pagano R., Thompson T.E. Spherical lipid bilayer membranes. *Biochim. Biophys. Acta.* 1967; 144(3): 666–9. DOI: 10.1016/0005-2760(67)90055-0

12. Контаров Н.А., Лотте В.Д., Контарова Е.О., Балаев Н.В., Юминова Н.В., Зверев В.В. New method for measurement of size and concentration of liposomes. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2009; 86(6): 95–8. <https://elibrary.ru/rcdmzz>
13. Sabin J., Prieto G., Ruso J.M., Hidalgo-Alvarez R., Sarmiento F. Size and stability of liposomes: A possible role of hydration and osmotic forces. *Eur. Phys. J. E. Soft Matter*. 2006; 20(4): 401–08. <https://doi.org/10.1140/epje/i2006-10029-9>
6. Hernandez L.D., Peters R.J., Delos S.E., Young J.A., Agard D.A., White J.M. Activation of a retroviral membrane fusion protein: soluble receptor-induced liposome binding of the ALSV envelope glycoprotein. *J. Cell Biol.* 1997; 139(6): 1455–64. <https://doi.org/10.1083/jcb.139.6.1455>
7. McGill A.R., Markoutsas E., Mayilsamy K., Green R., Sivakumar K., Mohapatra S., et al. Acetate-encapsulated linolenic acid liposomes reduce SARS-CoV-2 and RSV infection. *Viruses*. 2023; 15(7): 1429. <https://doi.org/10.3390/v15071429>
8. Grünwald K. Viral fusion: how Flu induces dimples on liposomes. *EMBO J.* 2010; 29(7): 1165–6. <https://doi.org/10.1038/emboj.2010.35>
9. Hendricks G.L., Velazquez L., Pham S., Qaisar N., Delaney J.C., Viswanathan K., et al. Heparin octasaccharide decoy liposomes inhibit replication of multiple viruses. *Antiviral Res.* 2015; 116: 34–44. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2015.01.008>
10. Mahy B.W.J. *Virology: A Practical Approach*. IRL Press; 1985. <https://doi.org/10.1136/jcp.38.11.1319-a>
11. Pagano R., Thompson T.E. Spherical lipid bilayer membranes. *Biochim. Biophys. Acta*. 1967; 144(3): 666–9. DOI: 10.1016/0005-2760(67)90055-0
12. Kontarov N.A., Lotte V.D., Kontarova E.O., Balaev N.V., Yuminova N.V., Zverev V.V. New method for measurement of size and concentration of liposomes. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2009; 86(6): 95–8. <https://elibrary.ru/rcdmzz> (in Russian)
13. Sabin J., Prieto G., Ruso J.M., Hidalgo-Alvarez R., Sarmiento F. Size and stability of liposomes: A possible role of hydration and osmotic forces. *Eur. Phys. J. E. Soft Matter*. 2006; 20(4): 401–08. <https://doi.org/10.1140/epje/i2006-10029-9>

REFERENCES

1. Kingery-Wood J.E., Williams K.W., Sigal G.B., Whitesides G.M. The agglutination of erythrocytes by influenza virus is strongly inhibited by liposomes incorporating an analog of sialyl gangliosides. *J. Am. Chem. Soc.* 1992; 114(18): 7303–5. <https://doi.org/10.1021/ja00044a057>
2. van Meer G., Davoust J., Simons K. Parameters affecting low pH-mediated fusion of liposomes with the plasma membrane of cells infected with influenza virus. *Biochemistry*. 1985; 24(14): 3593–602. <https://doi.org/10.1021/bi00335a030>
3. Hendricks G.L., Weirich K.L., Viswanathan K., Li J., Shriver Z.H., Ashour J., et al. Sialylneolacto-N-tetraose c (LSTc)-bearing liposomal decoys capture influenza A virus. *J. Biol. Chem.* 2013; 288(12): 8061–73. <https://doi.org/10.1074/jbc.m112.437202>
4. White J., Helenius A. pH-dependent fusion between the Semliki Forest virus membrane and liposomes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1980; 77(6): 3273–77. <https://doi.org/10.1073/pnas.77.6.3273>
5. Sulczewski F.B., Liszbinski R.B., Romão P.R.T., Rodrigues Junior L.C. Nanoparticle vaccines against viral infections. *Arch. Virol.* 2018; 163(9): 2313–25. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3856-0>

Информация об авторах:

Контаров Николай Александрович – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории детских вирусных инфекций ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия. E-mail: kontarov@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0030-4867>

Погарская Ирина Владимировна – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела вирусологии им. О.Г. Анджаридзе ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия. E-mail: kozry81@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3580-6277>

Долгова Екатерина Игоревна – младший научный сотрудник отдела вирусологии им. О.Г. Анджаридзе ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия. E-mail: dolgovaev@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8985-7569>

Контарова Елена Олеговна – канд. мед. наук, врач лучевой диагностики ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, Москва, Россия. E-mail: kontarova@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5550-7875>

Помазанов Владимир Васильевич – д-р техн. наук, профессор ГОУ ВО МО ГГТУ, Орехово-Зуево, Россия. E-mail: ecolab@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7336-9912>

Гафаров Рамис Рафикович – канд. биол. наук, ГОУ ВО МО ГГТУ, Орехово-Зуево, Россия. E-mail: gafarov68@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0009-2869-7421>

Марданлы Сейфадин Гашимович – д-р мед. наук, ГОУ ВО МО ГГТУ, Орехово-Зуево, Россия. E-mail: ecolab@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3650-2363>

Юминова Надежда Васильевна – д-р биол. наук, главный научный сотрудник отдела вирусологии им. О.Г. Анджаридзе ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова Москва, Россия. E-mail: yuminova@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7723-4038>

Участие авторов: Контаров Н.А., Юминова Н.В., Марданлы С.Г., Помазанов В.В. – постановка задачи и руководство исследованием; Погарская И.В., Долгова Е.И., Гафаров Р.Р. – проведение экспериментов, работа с литературой; Контарова Е.О. – проведение расчетов, статистической обработки и построение графиков.

Поступила 25.06.2025
Принята в печать 22.08.2025
Опубликована 30.10.2025

Information about the authors:

Nikolay A. Kontarov – PhD (Biology), leading researcher at the laboratory of children's viral infections I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia. E-mail: kontarov@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0030-4867>

Irina V. Pogarskaya – PhD (Biology), leading researcher Department of Virology named after O.G. Andzhapardze, I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia. E-mail: kozry81@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3580-6277>

Ekaterina I. Dolgova – junior researcher Department of Virology named after O.G. Andzhapardze, I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia. E-mail: dolgovaev@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8985-7569>

Elena O. Kontarova – PhD (Medicine), radiologist, Federal Scientific and Clinical Center of Federal Medical Biology Centre, Moscow, Russia. E-mail: kontarova@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5550-7875>

Vladimir V. Pomazanov – Dr Sci (Engineering), professor, State University of Humanities and Technology, Orekhovo-Zuevo, Russia. E-mail: ecolab@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7336-9912>

Ramis R. Gafarov – PhD (Biology), State University of Humanities and Technology, Orekhovo-Zuevo, Russia. E-mail: ecolab@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0009-2869-7421>

Sefaddin G. Mardany – Dr Sci (Medicine), State University of Humanities and Technology, Orekhovo-Zuevo, Russia. E-mail: ecolab@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3650-2363>

Nadezhda V. Yuminova – Dr Sci (Biology), chief researcher, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia. E-mail: yuminova@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7723-4038>

Contribution: Kontarov N.A., Yuminova N.V., Mardany S.G., Pomazanov V.V. – formulation of the problem and management of the study; Pogarskaya I.V., Dolgova E.I., Gafarov R.R. – conducting experiments, working with literature; Kontarova E.O. – conducting calculations, statistical processing and plotting graphs.

Received 25 June 2025
Accepted 22 August 2025
Published 30 October 2025

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-347>

© НОВИКОВ Д.В., МЕЛЕНТЬЕВ Д.А., ТАЛАЕВ В.Ю., НОВИКОВА Н.А., МОХОНОВА Е.В., КАШНИКОВ А.Ю., ЗАИЧЕНКО И.Е., СВЕТЛОВА М.В., КУРКОВА Е.В., БАБАЙКИНА О.Н., ЛАПИН В.А., ЦЫГАНОВА М.И., ЗАЙЦЕВ Д.Е., НОВИКОВ В.В., 2025



Антитела против VP3 echovirus 30 (*Picornaviridae: Enterovirus: Enterovirus betacoxsackie*) нейтрализуют вирус *in vitro*

Новиков Д.В.^{1,2✉}, Мелентьев Д.А.^{1,2}, Талаев В.Ю.¹, Новикова Н.А.¹, Мохонова Е.В.¹, Кашников А.Ю.¹, Заиченко И.Е.¹, Светлова М.В.¹, Куркова Е.В.¹, Бабайкина О.Н.¹, Лапин В.А.^{1,2}, Цыганова М.И.¹, Зайцев Д.Е.^{1,2}, Новиков В.В.^{1,2}

¹ФБУН «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;

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

Резюме

Введение. Широкая распространенность энтеровируса echovirus 30 (E30) и случаи тяжелого течения инфекции указывают на необходимость разработки средств иммунопрофилактики. В структуре поверхностного белка VP3 ряда энтеровирусов найдены эпитопы для нейтрализующих антител и Т-клеточного ответа. Однако иммуногенные свойства VP3 E30 не изучены.

Целью настоящей работы явилась характеристика иммуногенности капсидного белка VP3 E30 и изучение вируснейтрализующих свойств антител против VP3 E30.

Материалы и методы. Рекомбинантный VP3_{E30} и химерный белок S_N-VP3_{E30}, состоящий из S-региона VP1 норовируса и полноразмерного VP3 E30, экспрессировали в *Escherichia coli*. S_N-VP3_{E30} использовали для формирования вирусоподобных частиц (ВпЧ). Действие S_N-VP3_{E30} на дендритные клетки (ДК) человека оценивали методом проточной цитофлуориметрии по изменению экспрессии HLA-DR, CCR7, CD80, CD83 и CD86. Для исследования иммуногенных свойств S_N-VP3_{E30} иммунизировали мышей линии BALB/c и морскую свинку. Титры антител и их avidность определяли методом иммуноферментного анализа. Взаимодействие антител против VP3 с вирусом E30 изучали с помощью иммуноэлектронной микроскопии. Способность нейтрализовать вирус исследовали в культуре клеток эмбриональной рабдомиосаркомы (RD).

Результаты. Рекомбинантный VP3_{E30} вызывал неполное созревание ДК человека, характеризующееся отсутствием стимуляции экспрессии хемокинового рецептора CCR7. Включение VP3 в состав химерных ВпЧ приводило к полному созреванию ДК и сильному гуморальному иммунному ответу у лабораторных животных. Антитела против VP3 характеризовались высокой avidностью, способностью вызывать агрегацию вирусных частиц *in vitro* и нейтрализовать вирус E30 в культуре клеток RD.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что VP3 может быть использован в качестве антигена в составе субъединичной вакцины против энтеровируса E30.

Ключевые слова: echovirus 30; VP3; вирусоподобные частицы; химерные белки; вакцины

Для цитирования: Новиков Д.В., Мелентьев Д.А., Талаев В.Ю., Новикова Н.А., Мохонова Е.В., Кашников А.Ю., Заиченко И.Е., Светлова М.В., Куркова Е.В., Бабайкина О.Н., Лапин В.А., Цыганова М.И., Зайцев Д.Е., Новиков В.В. Антитела против VP3 echovirus 30 (*Picornaviridae: Enterovirus: Enterovirus betacoxsackie*) нейтрализуют вирус *in vitro*. *Вопросы вирусологии*. 2025; 70(5): 477–486.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-347> EDN: <https://elibrary.ru/thqkln>

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). Проведение исследований одобрено Этическим комитетом ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора (протокол № 5 от 25.11.2021).

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-347>

Antibodies against VP3 protein of echovirus 30 (*Picornaviridae: Enterovirus: Enterovirus betacoxsackie*) neutralize virus *in vitro*

Dmitry V. Novikov^{1,2✉}, Dmitry A. Melentev^{1,2}, Vladimir Yu. Talayev¹, Nadezhda A. Novikova¹, Ekaterina V. Mokhonova¹, Alexander U. Kashnikov¹, Irina E. Zaichenko¹, Marya V. Svetlova¹, Elena V. Kurkova¹, Olga N. Babaykina¹, Vladislav A. Lapin^{1,2}, Maria I. Tsyganova¹, Dmitry E. Zaitsev^{1,2}, Viktor V. Novikov^{1,2}

¹Academician 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 (Rosпотребнадзор), 603950, Nizhny Novgorod, Russia;

²N.I. Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, 603950, Nizhny Novgorod, Russia

Abstract

Introduction. The widespread occurrence of enterovirus echovirus 30 (E30) and cases of severe disease indicate the need for vaccine development. Epitopes for neutralizing antibodies and T-cell response have been found in VP3 proteins of some enteroviruses. However, the immunogenic properties of VP3 E30 have not been studied. The aim of this work is to characterize the immunogenic properties of VP3 E30 and testing the virus-neutralizing properties of antibodies against VP3 E30.

Materials and methods. VP3_{E30} and the chimeric protein S_N-VP3_{E30}, consisting of the S region of norovirus VP1 and VP3 E30 were expressed in *Escherichia coli*. S_N-VP3_{E30} was used to form virus-like particles (VLPs). The effect on human dendritic cells (DCs) was assessed by flow cytometry to measure changes in HLA-DR, CCR7, CD80, CD83 and CD86 expression. BALB/c mice and guinea pig were used for immunization with S_N-VP3_{E30}. Antibody titers and avidity were determined by ELISA. The interaction of antibodies with VP3 E30 was studied by immunoelectron microscopy and virus neutralization in embryonal rhabdomyosarcoma (RD) cell culture.

Results. Recombinant VP3 E30 caused incomplete DCs maturation, characterized by the understimulation of the CCR7 chemokine receptor expression. Inclusion of VP3 in the chimeric VLPs resulted in complete DCs maturation and a strong humoral immune response in laboratory animals. Antibodies against VP3 were characterized by high avidity, the ability to induce agglomeration of viral particles and neutralization of E30 in RD cell culture.

Conclusion. The obtained results indicate that VP3 can be used as an antigen in the composition of a subunit vaccine against enterovirus E30.

Keywords: echovirus 30; VP3; virus-like particles; chimeric proteins; vaccines

For citation: Novikov D.V., Melentev D.A., Talayev V.Yu., Novikova N.A., Mokhonova E.V., Kashnikov A.Yu., Zaichenko I.Ye., Svetlova M.V., Kurkova E.V., Babaykina O.N., Lapin V.A., Tsyganova M.I., Zaitsev D.E., Novikov V.V. Antibodies against VP3 protein of echovirus 30 (*Picornaviridae: Enterovirus: Enterovirus betacoxsackie*) neutralize virus *in vitro*. *Problems of Virology (Voprosy Virologii)*. 2025; 70(5): 477–486 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-347> EDN: <https://elibrary.ru/thqkln>

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.

Ethical statement. The authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with the Consensus Author Guidelines for Animal Use (IAVES, July 23, 2010). The research was approved by the Ethics Committee of the Federal Budgetary Science Institution Academician I.N. Blokhina NNRIEM of Rosпотребнадзор (protocol No. 5 dated November 25, 2021).

Введение

Echovirus 30 (E30), являющийся одним из представителей вида *Enterovirus betacoxsackie* (*Enterovirus B*), широко распространен по всему миру и представляет серьезную проблему для здравоохранения [1]. Вирус E30 является нейротропным, инфицирование может проявляться в форме менингита реже менингоэнцефалита, энцефалита или системного заболевания. Наиболее часто E30 детектируется при вирусном менингите у детей и у лиц с ослабленным иммунитетом [2].

У инфицированных пациентов отмечаются сильные приступы мигрени, высокая температура, светобоязнь и другие клинические проявления. Обследование детей с вызванным E30 менингитом показало, что инфицирование ассоциируется с нарушениями регионарного кровотока, вероятно связанными с цереброваскулярным воспалением [3]. Энцефалит E30 является частой причиной вспышек и подъемов заболеваемости менингитом. В Европе в 2015–2018 гг. E30 составил 14,5% всех подтвержденных случаев энтеровирусной инфекции [4]. Имеются сообщения

о том, что E30 генетически разнообразен. Филогенетический анализ на основе нуклеотидных последовательностей гена капсидного белка VP1 показал существование 8 монофилетических групп или линий вируса [5]. Таким образом, широкая распространенность и случаи тяжелого течения болезни указывают на необходимость разработки средств иммунопрофилактики E30-инфекции.

Вирус E30, как и другие энтеровирусы, имеет мелкие безоболочечные вирионы, поверхность капсида которых образована тремя белками – VP1, VP2 и VP3. Взаимодействие этих белков между собой приводит к образованию участка связывания вируса с рецептором клетки. Наиболее исследованным у энтеровирусов является белок VP1, в котором обнаружено множество линейных эпитопов для нейтрализующих вирус антител. Это определяет выбор большинства исследователей в пользу VP1 для создания вакцин против энтеровирусов [6]. Свойства других поверхностных белков E30 изучены недостаточно. На примере полиовируса было показано, что VP3 проявлял более выраженную способность к проникновению в головной мозг через гематоэнцефалический барьер по сравнению с VP1 [7]. Установлено, что VP3 Enterovirus D68 играет ключевую роль в подавлении врожденного иммунитета хозяина, блокируя синтез интерферонов I типа [8]. В структуре VP3 некоторых энтеровирусов найдены эпитопы для нейтрализующих антител [9–11] и Т-клеточного ответа [12]. Это указывает на возможность использования белка VP3 энтеровирусов в качестве антигена для разработки вакцин или терапевтической мишени. Однако иммуногенные свойства VP3 E30 не изучены.

Цель исследования – характеристика иммуногенных свойств VP3 E30.

Материалы и методы

В работе использовали нуклеотидную последовательность VP3 Echovirus 30 isolate NSW-V46-2008-ECHO30 (GenBank № MF678335.1). Для успешной экспрессии в *Escherichia coli* проводили оптимизацию кодонов с использованием информации, представленной в базе данных Codon usage database (<http://www.kazusa.or.jp/codon/>). ДНК синтезировали в ООО «Люмипроб РУС» (Россия). Рекомбинантный VP3_{E30} получали, как описано ранее [13]. Для повышения иммуногенности VP3 E30 объединяли в одну молекулу с последовательностью, кодирующей S и шарнирный регион VP1 норовируса (S_N-VP3_{E30}), как описано ранее [14]. Белок S_N-VP3_{E30} экспрессировали в *E. coli* Rosetta 2 (DE3) (Novagen, США) и очищали с использованием IMAC Sepharose 6 Fast Flow (GE Healthcare, Швеция) в денатурирующих условиях. Для формирования вирусоподобных частиц (ВпЧ) проводили диализ против 1000 объемов буферного раствора, содержащего 50 мМ трис-HCl, 150 мМ NaCl, 20% сахарозы, pH 7,5. Для удаления эндотоксинов применяли Detoxi-Gel (Pierce) в соответствии с рекомендациями производителя и стерилизовали фильтрованием с диаметром пор 0,45 мкм.

Получение антисывороток. Самок 25 мышей линии BALB/c (возраст 8 нед, масса 18–20 г) дважды иммунизировали внутривбрюшинно с интервалом 2 нед. Для иммунизации 1-й группы (10 мышей) использовали 500 мкл раствора, содержащего 10 мкг белка S_N-VP3_{E30}, 50 мМ трис-HCl pH 7,5, 150 мМ NaCl и 20% глюкозы; 2-ю группу (10 мышей) иммунизировали 500 мкл раствора, содержащего 10 мкг белка S_N-VP3_{E30}, 100 мкг Al(OH)₃ («ИмБио», Россия), 50 мМ трис-HCl pH 7,5, 150 мМ NaCl и 20% глюкозы. Контрольную группу (5 мышей) иммунизировали введением 500 мкл буферного раствора (50 мМ трис-HCl pH 7,5, 150 мМ NaCl и 20% глюкозы). Через 21 сут после второй иммунизации у мышей забирали кровь, готовили сыворотку крови и хранили при –70 °С.

Самку морской свинки (*Cavia porcellus*) (возраст 9 мес, масса 700 г) иммунизировали подкожно дважды с интервалом 2 нед. Для каждой иммунизации использовали 1 мл раствора, содержащего 500 мкг белка S_N-VP3_{E30}, 5 мкг Al(OH)₃, 50 мМ трис-HCl pH 7,5, 150 мМ NaCl и 20% глюкозы. Через 21 сут после второй иммунизации у животного забирали кровь, готовили сыворотку крови и хранили при –70 °С. Для получения фракции иммуноглобулинов класса G из сыворотки крови использовали метод высаливания сульфатом аммония.

Иммуноферментный анализ. Обнаружение антител против VP3 E30 и определение индекса avidности антител проводили, как описано ранее [13], с небольшими изменениями. Для обнаружения антител в сыворотке крови мыши использовали конъюгированные с пероксидазой хрена антитела козы к суммарным иммуноглобулинам мыши (ИМТЕК, Россия) и антитела против мышинных иммуноглобулинов класса М (IgM) (Elabscience, Китай). Для выявления антител против VP3 E30 у морской свинки применяли белок А, меченный пероксидазой хрена (ФГУН НИИЭМ им. Пастера, Россия).

Электронная микроскопия. Для получения микрофотографий ВпЧ использовали трансмиссионную электронную микроскопию. На медную сетку, покрытую парлордиевой пленкой-подложкой, наносили 5 мкл раствора белка в концентрации 100 мкг/мл, инкубировали в течение 5 мин, отмывали водой от несвязавшихся компонентов и окрашивали водным раствором 2% уранилацетата (pH 4,5) в течение 20 с. Образцы анализировали с помощью просвечивающего электронного микроскопа HT7700 (Hitachi, Япония).

При оценке способности антител против S_N-VP3_{E30} взаимодействовать с вирионами E30 в качестве источника энтеровируса использовали фекалии двух больных, в которых методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией были обнаружены E30 с генотипом eC2 (E30-eC2 1194/24) и h (E30-h 2671/17). Готовили 10% суспензию фекалий в физиологическом растворе, центрифугировали при 5000 об/мин в течение 10 мин, супернатант последовательно фильтровали через мембранные фильтры с размером пор 0,45 и 0,22 мкм. К 20 мкл вирусной суспензии добавляли 20 мкл иммуноглобулинов,

выделенных из сыворотки крови морской свинки, иммунизированной S_N -VP3_{E30} методом высаливания. В качестве отрицательного контроля использовали иммуноглобулины морской свинки, иммунизированной полученным ранее VP1 норовируса [15]. Смесь инкубировали в течение 30 мин при 37 °С, затем в течение 12 ч при 4 °С. После инкубации препараты центрифугировали в течение 30 мин при 14 000 об/мин. Полученные осадки разводили в 20 мкл воды и наносили на сетку для электронной микроскопии, контрастировали в водном растворе 2% фосфорно-вольфрамовой кислоты и визуализировали с помощью электронного микроскопа, как описано выше.

Действие на дендритные клетки (ДК). ДК получали, как описано ранее [16]. Моноциты выделяли из мононуклеарных клеток крови взрослых здоровых доноров с помощью 2-часовой адгезии на 48-луночных планшетах (Costar, США). Неприлипшие клетки отмывали, оставшиеся клетки инкубировали в среде RPMI-1640 (Gibco, Великобритания), содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки (РАА, Австрия). На 1-е и 3-и сутки в культуры вносили по 20 нг/мл интерлейкина (IL)-4 и 100 нг/мл гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (Sci.store.ru, Россия). На 7-е сутки полученные незрелые ДК (нДК) переводили в свежую питательную среду и культивировали с добавлением 10 мкг/мл полипептида VP3_{E30} или S_N -VP3_{E30} в течение 48 ч. Негативными контролями являлись ДК без добавления рекомбинантных белков (нДК) и ДК, инкубированные с контрольным раствором (КР) – лизатом бактерий, трансфицированных рЕТ22b, который прошел все этапы очистки, аналогично VP3_{E30} и S_N -VP3_{E30}. Положительным контролем являлись зрелые ДК (зДК), инкубированные в течение 48 ч в присутствии 25 нг/мл IL-6 (Sci.store.ru, Россия), 25 нг/мл IL-1 β , 50 нг/мл фактора некроза опухоли- α (TNF- α) (R&D, США) и 1 мкг/мл простагландина E2 (Sigma, США). После инкубации ДК собирали, окрашивали флуоресцентно-мечеными моноклональными антителами к HLA-DR («Сорбент», Россия), CCR7, CD80 (BioLegend, США), CD83 (Elabscience, КНР) и CD86 (eBioscience, США) и анализировали на проточном цитофлуориметре FACS Calibur (BD Biosciences, США). ДК гейтировали по профилю прямого и бокового светорассеивания и оценивали долю клеток, несущих мембранные молекулы, а также геометрическую среднюю интенсивности флуоресценции (GMFI) как показатель среднего количества молекул на одной клетке.

Реакцию нейтрализации проводили, как детально описано ранее [17]. На клетках эмбриональной рабдомиосаркомы (RD) («Биолот», Россия) определяли 50% цитопатическое действие (ЦПД₅₀) для штаммов E30 с генотипом eC2 (изолят 2045/23) и генотипом h (изолят 2700/16), ранее выделенных от больных энтеровирусным менингитом и хранящихся в рабочей коллекции ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора. ЦПД регистрировали на 4-е сутки визуально и колориметрическим методом

восстановления тетразолия (МТТ) (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид) [18]. Далее для исследования нейтрализующих свойств антител сыворотку крови иммунизированных лабораторных животных прогревали в течение 30 мин при 56 °С. Для последовательных разведений использовали полную питательную среду, содержащую 100 ЦПД₅₀ E30. Смесь инкубировали в течение 1 ч при 37 °С и переносили в 96-луночный планшет, содержащий не менее 95% монослоя клеток RD. Для каждого вируса использовали по три сыворотки крови мышей и сыворотку морской свинки, иммунизированные S_N -VP3_{E30}. Исследование проводили в двух повторах. В контрольные лунки вносили питательную среду без вируса. Клетки инкубировали в течение 96 ч при 37 °С и 5% CO₂. При использовании МТТ нейтрализующий титр определяли по последнему разведению сыворотки крови, в котором средний показатель оптической плотности при длине волны 570 нм (ОП) был равен или превышал разницу между ОП в лунках с незараженными клетками и ОП в лунках с клетками, зараженными 100 ЦПД₅₀ E30, разделенную на 2.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, США). При сравнении нескольких зависимых выборок использовали тест Фридмана и при неравенстве выборок группы сравнивали парным знаковым ранговым тестом Вилкоксона.

Результаты

Ранее сообщалось, что отдельные пептиды поверхностных белков enterovirus-A71 обладали слабой иммуногенностью даже при использовании адьюванта [19]. В связи с этим для повышения иммуногенности нами был получен химерный белок S_N -VP3_{E30}, состоящий из S-части VP1 норовируса и VP3_{E30} (рис. 1 а), с молекулярной массой 51 кДа. Такой белок способен формировать округлые вирусоподобные структуры, диаметр которых варьировал приблизительно от 20 до 50 нм (рис. 1 б).

На первом этапе исследования иммуногенных свойств оценивали действие рекомбинантных VP3_{E30} и S_N -VP3_{E30} на ДК. С этой целью незрелые моноцитарные ДК человека инкубировали с исследуемыми белками, а затем оценивали их фенотип. Действие VP3 на ДК выражалось в небольшом приросте доли CD83⁺ и CD86⁺-клеток и увеличении GMFI CD80⁺-клеток относительно отрицательных контролей (рис. 2). Инкубация ДК с S_N -VP3_{E30} вызывала увеличение доли CD86⁺-клеток и рост их GMFI, что говорит об увеличении количества копий этой костимулирующей молекулы на клетке. Также S_N -VP3_{E30} индуцировал увеличение экспрессии CD80, которое проявлялось в росте интенсивности флуоресценции окрашенных ДК и оказывал воздействие на CD83 и CCR7, которое регистрировалось как увеличение доли клеток, несущих эти маркеры. Следует отметить, что экспрессия всех перечисленных выше молекул, индуцированная VP3 или S_N -VP3_{E30}, заметно уступала уровню экспрессии этих молекул на зДК положительного контроля,

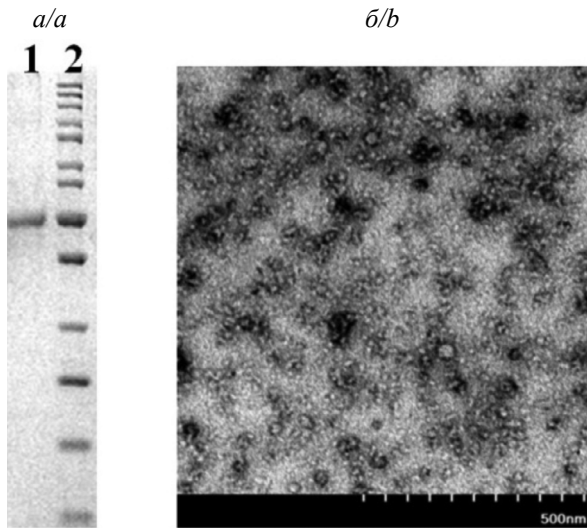


Рис. 1. Белок S_N-VP3_{E30} формирует вирусоподобные частицы (ВпЧ).

a – электрофоретическая подвижность очищенного S_N-VP3_{E30} (1) в сравнении с PageRuler Plus Prestained Protein Ladder (Thermo Scientific) (2); *б* – электронная микрофотография ВпЧ, образованных белком S_N-VP3_{E30} (увеличение 12 000).

Fig. 1. The S_N-VP3_{E30} protein forms virus-like particles (VLPs).

a – electrophoretic mobility of purified S_N-VP3_{E30} (1) compared to PageRuler Plus Prestained Protein Ladder (Thermo Scientific) (2); *b* – electron micrograph of VLP formed by e S_N-VP3_{E30} (12,000× magnification).

созревание которых было индуцировано смесью медиаторов воспаления.

Иммунизация мышей белком S_N-VP3_{E30} показала, что средний титр суммарных антител против VP3

составил приблизительно 1/35 000, а при использовании адьюванта – 1/115 000. Титры анти-VP3 IgM также были высокими и в среднем составляли 1/6600 и 1/8800 при иммунизации совместно с адьювантом (**рис. 3 а**). Антитела обладали относительно высокими индексами авидности, в среднем 75% для суммарных антител и 49% для IgM. Использование адьюванта не приводило к значимым изменениям индекса авидности антител против VP3 (**рис. 3 б**).

При исследовании взаимодействия антител против VP3 с вирионами E30 показано, что добавление иммуноглобулинов морской свинки, иммунизированной S_N-VP3_{E30}, к выделенным из фекалий препаратам E30 разных генотипов приводило к образованию вирусных агломератов (**рис. 4 б, в**). В реакции нейтрализации было установлено, что при разведении в 20–40 раз содержащие анти-VP3 сыворотки крови мышей и морской свинки нейтрализовали 100 ЦПД₅₀ E30 обоих генотипов.

Обсуждение

Энтеровирус E30 является широко распространенным патогеном, который занимает ведущее место среди представителей вида *Enterovirus betacoxsackie*, обладающих нейротропностью. Повсеместная распространенность и тяжесть вызываемого заболевания определяют необходимость разработки E30-вакцины, в том числе на основе поверхностных белков капсида вируса. Поверхностные белки вириона энтеровирусов не гликозилируются, поэтому исследуемые в настоящей работе белки были получены в *E. coli*. VP3_{E30} представляет собой рекомбинантный аналог полно-

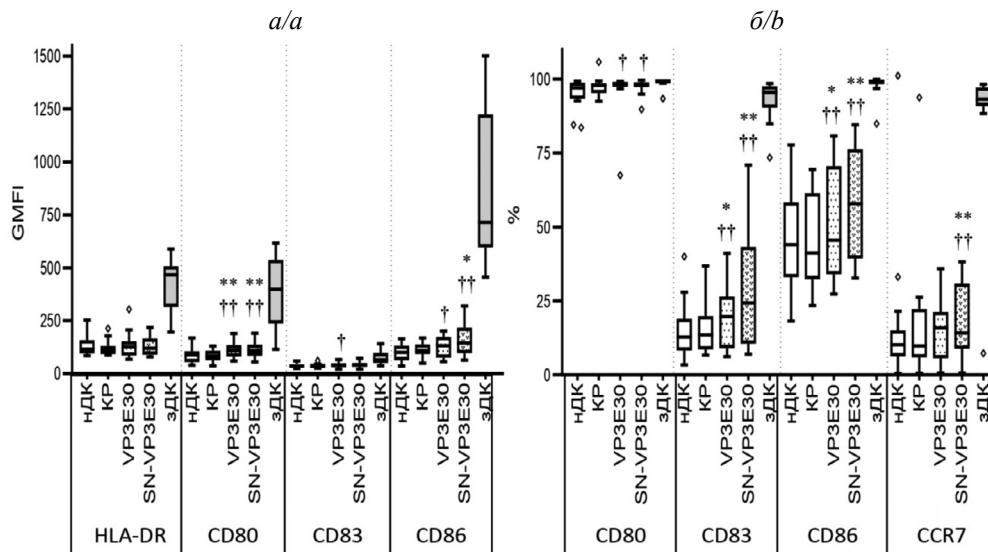


Рис. 2. Экспрессия молекул HLA-DR, CD80, CD83, CD86 и CCR7 на дендритных клетках (ДК) после инкубации с VP3 или S_N-VP3_{E30}.

a – интенсивность флуоресценции (GMFI); *б* – процент клеток, несущих маркер (гистограммы Тьюки). Тип клеток, их стимуляторов и анализируемые маркеры – под гистограммами. Различия с нДК обозначены: † – $p < 0,05$, †† – $p < 0,005$; различия с ДК, инкубированными с KP, обозначены: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,005$ (в парном знаковом ранговом тесте Вилкоксона).

Fig. 2. Expression of HLA-DR, CD80, CD83, CD86, and CCR7 molecules on dendritic cells (DCs) after incubation with VP3 or S_N-VP3_{E30}.

a – the fluorescence intensity (GMFI); *b* – the percentage of cells bearing the marker (Tukey histograms). The cell type, their stimulators, and analyzed markers are shown below the histograms. Differences from unstimulated DCs are indicated: † – $p < 0.05$, †† – $p < 0.005$; differences from DCs incubated with negative control are indicated: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.005$ (paired Wilcoxon signed rank test).

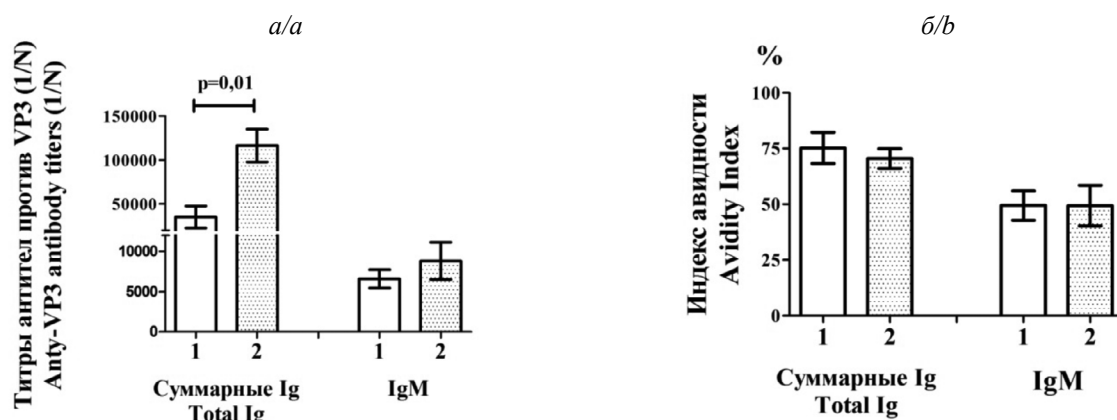


Рис. 3. Характеристика антител к VP3_{E30} после иммунизации мышей химерным белком S_N-VP3_{E30}.
a – титры антител; *b* – индекс авидности антител. 1 – иммунизация без адъюванта (*n* = 10), 2 – иммунизации с адъювантом (*n* = 10).

Fig. 3. Characteristics of antibodies to VP3_{E30} after mice immunization by the chimeric protein S_N-VP3_{E30}.

a – antibody titers; *b* – antibody avidity index. 1 – immunization without adjuvant (*n* = 10), 2 – immunization with adjuvant (*n* = 10).

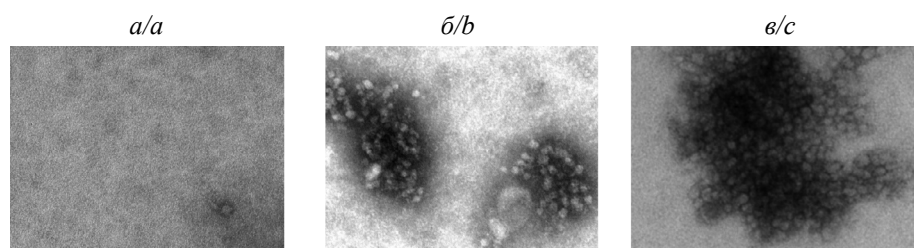


Рис. 4. Иммуноэлектронные микрофотографии E30 (увеличение 12 000).

a – препарат после взаимодействия с антителами против VP1 норовируса; *b* – агрегаты E30-eC2 1194/24 после взаимодействия с антителами против VP3_{E30}; *в* – агрегаты E30-h 2671/17 после взаимодействия с антителами против VP3_{E30}.

Fig. 4. Immunoelectron micrographs of E30 (12,000× magnification).

a – preparation with antibodies against norovirus VP1; *b* – E30-eC2 1194/24 aggregates after interaction with antibodies against VP3_{E30}; *c* – E30-h 2671/17 aggregates after interaction with antibodies against VP3_{E30}.

размерного VP3 E30. Молекула S_N-VP3_{E30} является химерой, в которой S-домен белка VP1 норовируса GII.4 слит в одну молекулу с VP3 E30. Такое слияние позволяло получать ВпЧ, у которых на поверхности представлен VP3 E30. Электронная микроскопия показала, что S_N-VP3_{E30} формирует ВпЧ разного размера (рис. 2 б). Это наблюдение согласуется с ранее опубликованными данными, в которых показано, что рекомбинантный VP1 норовируса с генотипом GII.4 образует по крайней мере три типа ВпЧ с диаметром ~ 52, 45 и 26 нм [20].

Поскольку ДК являются важным звеном развития приобретенного иммунитета и необходимы для первой фазы инициации фолликулярных Т-хелперов, которые, в свою очередь, способствуют выработке В-клетками долгоживущих высокоаффинных антител [21], нами было проведено сравнение воздействия VP3_{E30} и S_N-VP3_{E30} на фенотип ДК. Установлено, что инкубация ДК с VP3 вызывала слабые изменения фенотипа ДК (небольшой прирост доли CD83⁺- и CD86⁺-клеток и увеличение экспрессии CD80⁺) и не стимулировала экспрессию CCR7 на поверхности ДК (рис. 2). CCR7 является основным хемокиновым рецептором, который направляет миграцию ДК из периферических тканей в лимфатические узлы, а при его отсут-

ствии активация фолликулярных Т-хелперов нарушается [22]. Возможно, это наблюдение объясняет описанную ранее слабую иммуногенность отдельных пептидов поверхностных белков энтеровирусов [19]. S_N-VP3_{E30} вызывал увеличение экспрессии костимулирующих молекул CD80 и CD86, маркера зрелости CD83 и хемокинового рецептора CCR7 на поверхности ДК, что вероятно связано со способностью S_N-VP3_{E30} формировать ВпЧ. Однако по сравнению с положительным контролем увеличение экспрессии исследуемых маркеров было умеренным, что отражало созревание не всех ДК человека.

Для дальнейших экспериментов по иммунизации лабораторных животных мы использовали только S_N-VP3_{E30}. У мышей, иммунизированных S_N-VP3_{E30}, детектировались высокие титры и индексы авидности как суммарных антител, так и IgM-антител против VP3 E30 (рис. 3). Сравнение иммуногенности S_N-VP3_{E30} с иммуногенностью аналогичного химерного белка S_N-VP1_{E30}, содержащего VP1 E30, иммунизация которым происходила по аналогичной схеме [17], показало, что титры и индексы авидности антител против VP3 были выше, чем у антител против VP1 E30. Это свидетельствует о более скором процессе созревания антител против VP3. Имму-

ноглобулины морской свинки, иммунизированной S_N -VP3_{E30}, вызывали образование агрегатов двух наиболее распространенных в России генотипов вирусов E30, выделенных из клинического материала. Этот результат свидетельствует о способности антител против VP3 связываться с диким вирусом. Кроме того, сывороточные антитела против VP3, полученные при иммунизации мышей и морской свинки, были способны нейтрализовать генетически различающиеся штаммы E30 в культуре клеток. Сходные результаты были получены для других энтеровирусов. При исследовании поликлональных сывороток человека моноклональные антитела против одного генотипа могут блокировать заражение клеток в культуре с другими генотипами и серотипами энтеровирусов [23, 24].

Заключение

Таким образом, VP3 E30 вызывал неполное созревание ДК, характеризующееся отсутствием стимуляции экспрессии хемокинового рецептора CCR7. Включение VP3 в состав химерных ВпЧ приводило к созреванию ДК и сильному гуморальному иммунному ответу у лабораторных животных. Антитела против VP3 E30 характеризовались высокой авидностью и способностью связывать и нейтрализовать вирусы двух наиболее распространенных на территории России генотипов E30. Полученные результаты свидетельствуют, что VP3 в составе S_N -VP3_{E30} в перспективе может быть включен в состав комбинированной вакцины для профилактики энтеровирусных инфекций.

ЛИТЕРАТУРА

- Brouwer L., Moreni G., Wolthers K.C., Pajkrt D. World-wide prevalence and genotype distribution of enteroviruses. *Viruses*. 2021; 13(3): 434–49. <https://doi.org/10.3390/v13030434>
- Chuang Y., Huang Y. Enteroviral infection in neonates. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 2019; 52(6): 851–7. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2019.08.018>
- Nishikawa M., Matsubara T., Yoshitomi T., Ichiyama T., Hayashi T., Furukawa S. Abnormalities of brain perfusion in echovirus type 30 meningitis. *J. Neurol. Sci.* 2000; 179(S 1-2): 122–6. [https://doi.org/10.1016/S0022-510X\(00\)00398-1](https://doi.org/10.1016/S0022-510X(00)00398-1)
- Broberg E.K., Simone B., Jansa J. Upsurge in echovirus 30 detections in five EU/EEA countries, April to September, 2018. *Euro Surveill.* 2018; 23(44): 1800537. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.44.1800537>
- Lema C., Torres C., Van der Sanden S., Cisterna D., Freire M.C., Gómez R.M. Global phylogenetics of Echovirus 30 revealed differential behavior among viral lineages. *Virology*. 2019; 531: 79–92. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2019.02.012>
- Новиков Д.В., Мелентьев Д.А. Энтеровирусные (Picornaviridae: Enterovirus) (неполио) вакцины. *Вопросы вирусологии*. 2022; 67(3): 185–92. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-111> <https://elibrary.ru/fwqjow>
- Mizutani T., Ishizaka A. Poliovirus capsid protein VP3 can penetrate vascular endothelial cells. *FEBS Lett.* 2024; 598(15): 1909–18. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.14974>
- Kang J., Huang M., Li J., Zhang K., Zhu C., Liu S., et al. Enterovirus D68 VP3 targets the interferon regulatory factor 7 to inhibit type I interferon response. *Microbiol. Spectr.* 2023; 11(3): e0413822. <https://doi.org/10.1128/spectrum.04138-22>
- Kiener T.K., Jia Q., Meng T., Chow V.T.K., Kwang J. A novel universal neutralizing monoclonal antibody against enterovirus 71 that targets the highly conserved “knob” region of VP3 protein. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2014; 8(5): e2895. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002895>
- Jia Q., Ng Q., Chin W., Meng T., Chow V.T.K., Wang C., et al. Effective in vivo therapeutic IgG antibody against VP3 of enterovirus 71 with receptor-competing activity. *Sci. Rep.* 2017; 7: 46402. <https://doi.org/10.1038/srep46402>
- 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>
- Marttila J., Hyöty H., Vilja P., Harkonen T., Alho A., Roivainen M., et al. T cell epitopes in coxsackievirus B4 structural proteins concentrate in regions conserved between enteroviruses. *Virology*. 2002; 293(2): 217–24. <https://doi.org/10.1006/viro.2001.1259>
- 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/exbfff>
- 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>
- 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>
- Talayev V., Zaichenko I., Svetlova M., Matveichev A., Babaykina O., Voronina E., et al. Low-dose influenza vaccine Grippol Quadrivalent with adjuvant Polyoxidonium induces a T helper-2 mediated humoral immune response and increases NK cell activity. *Vaccine*. 2020; 38(42): 6645–55. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.07.053>
- Мелентьев Д.А., Новиков Д.В., Мохонова Е.В., Новикова Н.А., Кашников А.Ю., Селиванова С.Г. и др. Иммунологические свойства химерного белка, содержащего основной капсидный белок echovirus 30 (Picornaviridae: Enterovirus: Enterovirus betacoxsackie). *Вопросы вирусологии*. 2025; 70(2): 189–98. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-311> <https://elibrary.ru/peagdt>
- Riss T.L., Moravec R.A., Niles A.L., Duellman S., Benink H.A., Worzella T.J., et al. Cell viability assays. In: Markossian S., Grossman A., Baskir H., Arkin M., Auld D., Austin C., et al. *Assay Guidance Manual*. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences; 2004.
- Anasir M.I., Poh C.L. Advances in antigenic peptide-based vaccine and neutralizing antibodies against viruses causing hand, foot, and mouth disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20(6): 1256. <https://doi.org/10.3390/ijms20061256>
- Devant J.M., Hofhaus G., Bhella D., Hansman G.S. Heterologous expression of human norovirus GII.4 VP1 leads to assembly of T=4 virus-like particles. *Antiviral Res.* 2019; 168: 175–82. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2019.05.010>
- Luo W., Yin Q. B cell response to vaccination. *Immunol. Invest.* 2021; 50(7): 780–801. <https://doi.org/10.1080/08820139.2021.1903033>
- Krishnaswamy J.K., Gowthaman U., Zhang B., Mattsson J., Szeponik L., Liu D., et al. Migratory CD11b⁺ conventional dendritic cells induce T follicular helper cell-dependent antibody responses. *Sci. Immunol.* 2017; 2(18): eaam9169. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aam9169>

23. Mao Q., Cheng T., Zhu F., Li J., Wang Y., Li Y., et al. The cross-neutralizing activity of enterovirus 71 subgenotype C4 vaccines in healthy Chinese infants and children. *PLoS One*. 2013; 8(11): e79599. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079599>
 24. Rosenfeld A.B., Shen E.Q.L., Melendez M., Mishra N., Lipkin W.I., Racaniello V.R. Cross-reactive antibody responses against nonpoliovirus enteroviruses. *mBio*. 2022; 13(1): e0366021. <https://doi.org/10.1128/mbio.03660-21>
- ## REFERENCES
1. Brouwer L., Moreni G., Wolthers K.C., Pajkrt D. World-wide prevalence and genotype distribution of enteroviruses. *Viruses*. 2021; 13(3): 434–49. <https://doi.org/10.3390/v13030434>
 2. Chuang Y., Huang Y. Enteroviral infection in neonates. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 2019; 52(6): 851–7. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2019.08.018>
 3. Nishikawa M., Matsubara T., Yoshitomi T., Ichiyama T., Hayashi T., Furukawa S. Abnormalities of brain perfusion in echovirus type 30 meningitis. *J. Neurol. Sci.* 2000; 179(S 1-2): 122–6. [https://doi.org/10.1016/s0022-510x\(00\)00398-1](https://doi.org/10.1016/s0022-510x(00)00398-1)
 4. Broberg E.K., Simone B., Jansa J. Upsurge in echovirus 30 detections in five EU/EEA countries, April to September, 2018. *Euro Surveill.* 2018; 23(44): 1800537. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.44.1800537>
 5. Lema C., Torres C., Van der Sanden S., Cisterna D., Freire M.C., Gómez R.M. Global phylogenetics of Echovirus 30 revealed differential behavior among viral lineages. *Virology*. 2019; 531: 79–92. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2019.02.012>
 6. Novikov D.V., Melentev D.A. Enteroviral (Picornaviridae: Enterovirus) (nonpolio) vaccines. *Voprosy virusologii*. 2022; 67(3): 185–92. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-111> <https://elibrary.ru/fwqjow> (in Russian)
 7. Mizutani T., Ishizaka A. Poliovirus capsid protein VP3 can penetrate vascular endothelial cells. *FEBS Lett.* 2024; 598(15): 1909–18. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.14974>
 8. Kang J., Huang M., Li J., Zhang K., Zhu C., Liu S., et al. Enterovirus D68 VP3 targets the interferon regulatory factor 7 to inhibit type I interferon response. *Microbiol. Spectr.* 2023; 11(3): e0413822. <https://doi.org/10.1128/spectrum.04138-22>
 9. Kiener T.K., Jia Q., Meng T., Chow V.T.K., Kwang J. A novel universal neutralizing monoclonal antibody against enterovirus 71 that targets the highly conserved “knob” region of VP3 protein. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2014; 8(5): e2895. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002895>
 10. Jia Q., Ng Q., Chin W., Meng T., Chow V.T.K., Wang C., et al. Effective in vivo therapeutic IgG antibody against VP3 of enterovirus 71 with receptor-competing activity. *Sci. Rep.* 2017; 7: 46402. <https://doi.org/10.1038/srep46402>
 11. 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>
 12. Marttila J., Hyöty H., Vilja P., Harkonen T., Alho A., Roivainen M., et al. T cell epitopes in coxsackievirus B4 structural proteins concentrate in regions conserved between enteroviruses. *Virology*. 2002; 293(2): 217–24. <https://doi.org/10.1006/viro.2001.1259>
 13. 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)
 14. 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)
 15. Lapin V.A., Novikov D.V., Mokhonova E.V., Melentyev D.A., Tsiganova 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)
 16. Talayev V., Zaichenko I., Svetlova M., Matveichev A., Babaykina O., Voronina E., et al. Low-dose influenza vaccine Grippol Quadrivalent with adjuvant Polyoxidonium induces a T helper-2 mediated humoral immune response and increases NK cell activity. *Vaccine*. 2020; 38(42): 6645–55. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.07.053>
 17. Talayev V., Novikov D.V., Mokhonova E.V., Novikova N.A., Kashnikov A.Yu., Selivanova S.G., et al. Immunological properties of a chimeric protein containing the major capsid protein of echovirus 30 (Picornaviridae: Enterovirus: Enterovirus betacoxsackie). *Voprosy virusologii*. 2025; 70(2): 189–98. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-311> <https://elibrary.ru/peagdt> (in Russian)
 18. Riss T.L., Moravec R.A., Niles A.L., Duellman S., Benink H.A., Worzella T.J., et al. Cell viability assays. In: Markossian S., Grossman A., Baskir H., Arkin M., Auld D., Austin C., et al. *Assay Guidance Manual*. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences; 2004.
 19. Anasir M.I., Poh C.L. Advances in antigenic peptide-based vaccine and neutralizing antibodies against viruses causing hand, foot, and mouth disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20(6): 1256. <https://doi.org/10.3390/ijms20061256>
 20. Devant J.M., Hofhaus G., Bhella D., Hansman G.S. Heterologous expression of human norovirus GII.4 VP1 leads to assembly of T=4 virus-like particles. *Antiviral Res.* 2019; 168: 175–82. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2019.05.010>
 21. Luo W., Yin Q. B cell response to vaccination. *Immunol. Invest.* 2021; 50(7): 780–801. <https://doi.org/10.1080/08820139.2021.1903033>
 22. Krishnaswamy J.K., Gowthaman U., Zhang B., Mattsson J., Szepontik L., Liu D., et al. Migratory CD11b⁺ conventional dendritic cells induce T follicular helper cell-dependent antibody responses. *Sci. Immunol.* 2017; 2(18): eaam9169. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aam9169>
 23. Mao Q., Cheng T., Zhu F., Li J., Wang Y., Li Y., et al. The cross-neutralizing activity of enterovirus 71 subgenotype C4 vaccines in healthy Chinese infants and children. *PLoS One*. 2013; 8(11): e79599. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079599>
 24. Rosenfeld A.B., Shen E.Q.L., Melendez M., Mishra N., Lipkin W.I., Racaniello V.R. Cross-reactive antibody responses against nonpoliovirus enteroviruses. *mBio*. 2022; 13(1): e0366021. <https://doi.org/10.1128/mbio.03660-21>

Информация об авторах:

Новиков Дмитрий Викторович — канд. биол. наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии, ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: novikov.dv75@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7049-6935>

Мелентьев Дмитрий Александрович — младший научный сотрудник лаборатории иммунохимии ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: dim-melente@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2441-6874>

Талаев Владимир Юрьевич — д-р. мед. наук, профессор, ведущий научный сотрудник-заведующий лабораторией клеточной иммунологии ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: talaev@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1993-0622>

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

Мохонова Екатерина Валерьевна — научный сотрудник лаборатории иммунохимии ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: ekaterinamohonova@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9742-7646>

Кашников Александр Юрьевич — научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: mevirfc@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1033-7347>

Заиченко Ирина Евгеньевна — канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: imm.irina@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5063-3111>

Светлова Мария Владимировна — канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: maria.talaeva@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4097-6780>

Куркова Елена Викторовна — канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: el2v@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1801-9693>

Бабайкина Ольга Николаевна — канд. мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: olga_babaykina@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4527-6134>

Лапин Владислав Александрович — младший научный сотрудник лаборатории иммунохимии ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, 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 ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: maria_che@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2811-6844>

Зайцев Дмитрий Евгеньевич — младший научный сотрудник лаборатории иммунохимии ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, 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 ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия. E-mail: mbre@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2449-7213>

Участие авторов: Новиков Д.В. — концепция и дизайн исследования, проведение экспериментальных работ, написание текста; Мелентьев Д.А. — проведение экспериментальных работ; Талаев В.Ю., Новикова Н.А. — проведение экспериментальных работ, написание текста; Мохонова Е.В., Кашников А.Ю., Заиченко И.Е., Светлова М.В., Куркова Е.В., Бабайкина О.Н., Лапин В.А., Цыганова М.И., Зайцев Д.Е. — проведение экспериментальных работ; Новиков В.В. — написание текста, одобрение окончательного варианта статьи для публикации.

Поступила 10.09.2025
Принята в печать 24.10.2025
Опубликована 30.10.2025

Information about the authors:

Dmitry V. Novikov — PhD, Leading Researcher, laboratory of immunochemistry Academician 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>

Dmitry A. Melentev — Junior Researcher, laboratory of immunochemistry Academician 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>

Vladimir Yu. Talayev — DSc (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Cellular Immunology Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: talaev@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1993-0622>

Ekaterina V. Mokhonova — Researcher, laboratory of Academician 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 — Professor. Head of the laboratory of molecular epidemiology of viral infections Academician 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 U. Kashnikov — Researcher, laboratory of molecular epidemiology of viral infections Academician 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>

Irina E. Zaichenko — PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Cellular Immunology Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: imm.irina@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5063-3111>

Marya V. Svetlova — PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Cellular Immunology Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: maria.talaeva@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4097-6780>

Elena V. Kurkova — PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Cellular Immunology Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: el2v@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1801-9693>

Olga N. Babaykina – PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Cellular Immunology Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia.

E-mail: olga_babaykina@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4527-6134>

Vladislav A. Lapin – Junior Researcher, laboratory of immunochemistry Academician 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 Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: maria_che@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2811-6844>

Dmitry E. Zaitsev – Junior Researcher, laboratory of immunochemistry Academician 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 – Professor. Head of the laboratory of immunochemistry Academician 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: Novikov D.V. – the study concept and design, analysis and interpretation of the data, preparing of the text; Melentev D.A. – conducting experimental research; Talayev V.Yu., Novikova N.A. – conducting experimental research, writing the text; Mokhonova E.V., Zaichenko I.E., Svetlova M.V., Kurkova E.V., Babaykina O.N., Lapin V.A., Tsyganova M.I., Zaitsev D.E. – conducting experimental research; Novikov V.V. – writing the text, approving the final version of the article for publication.

Received 10 September 2025

Accepted 24 October 2025

Published 30 October 2025