

Свидетельство о регистрации  
ПИ № ФС77-77676 от 29 января 2020 г.  
ISSN 0507-4088 (Print)  
ISSN 2411-2097 (Online)  
DOI: 10.36233

**Журнал представлен в международных базах данных и информационно-справочных системах:** Abstract Journals, AIDS & Cancer Research, Biocontrol News and Information, Bio-logical Sciences, Chemical Abstracts, EBSCOhost Biological Abstracts, EBSCOhost Wildlife & Ecology Studies Worldwide, Elsevier BV Scopus, El-sevier 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, Russian Science Citation Index (на платформе Web of Science)

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.elpub.ru;>  
<https://www.elibrary.ru;>  
<https://www.cyberleninka.ru;>  
<https://www.rucont.ru;>  
<https://www.ebsco.com>

**ИЗДАТЕЛЬ:**

ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии  
Роспотребнадзора  
111123, Москва,  
ул. Новогиреевская, д. 3А.  
Phone/fax: +7(925) 011-87-79.  
E-mail: publisher@crie.ru

**РЕДАКЦИЯ:**

Редакция расположена по адресу  
Издателя  
Начальник редакционно-издательского  
отдела:

*Осокина Ольга Владимировна*

Заведующая редакцией:  
*Дроздова Елена Ивановна.*

Выпускающий редактор:  
*Архипова Елена Михайловна*

Редакция не несет ответственности за  
содержание рекламных материалов.

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

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

Подписано в печать 10.11.2020.  
Формат 60×90/8.

Тираж 50 экз. Усл.-печ. л. 8.  
Отпечатано в типографии  
«Буки Веди». [www.bukivedi.com](http://www.bukivedi.com).  
E-mail: [info@bukivedi.com](mailto:info@bukivedi.com).

© ФБУН ЦНИИ эпидемиологии  
Роспотребнадзора, 2020

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

# ВОПРОСЫ ВИРУСОЛОГИИ

(VOPROSI VIRUSOLOGII)

ДВУХМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Основан в 1956 г.

5

Том 65 · 2020

## Редакционная коллегия

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

Зам. главного редактора: **Гребенникова Т.В. (д.б.н., проф.,  
член-корр. РАН)**

Ответственный секретарь: **Альховский С.В. (д.б.н.)**

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

### Члены редколлегии:

Баринский И.Ф. (д.м.н., проф.)

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.)

Колобухина Л.В. (д.м.н., проф.)

Лобзин Ю.В. (д.м.н., проф., акад. РАН)

Малеев В.В. (д.м.н., проф., акад. РАН)

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

Попова А.Ю. (д.м.н., проф.)

Урываев Л.В. (д.м.н., проф., член-корр. РАН)

Юминова Н.В. (д.б.н., проф.)

## РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

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

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

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

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

**Борисевич С.В.** (д.б.н., проф., член-корр. РАН; Сергиев Посад, Россия)

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

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

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

**Глулов 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 А.И.** (Хабаровск, Россия)

**Корзая Л.И.** (д.м.н., проф.; Сочи, Россия)

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

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

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

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

**Лукашев А.Н.** (д.м.н., проф., член-корр. РАН; Москва, Россия)

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

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

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

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

**Нетесов С.В.** (д.б.н., проф., член-корр. 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)

**Покровский В.И.** (д.м.н., проф., акад. РАН; Москва, Россия)

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

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

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

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

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

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

**Чвала И.А.** (к.в.н.; г. Владимир, Россия)

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

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

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

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

**Яшкулов К.Б.** (к.м.н., Элиста, Россия)

## МЕЖДУНАРОДНЫЙ РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

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

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

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

**Goujgoulova G.** (PhD; Sofia, Bulgaria)

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

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

**Klenk H.D.** (PhD, Prof.; Marburg, Germany)

**Kuhn J.H.** (MD, PhD, PhD, M.Sc.; Frederick, USA)

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

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

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

**Oxford J.** (DSc; London, UK)

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

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

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

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

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

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

**Webby R.** (PhD; Memphis, USA)

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

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: 10.36233

**The journal is presented in the following research databases:**

Abstract Journals, AIDS & Cancer Research, Biocontrol News and Information, Bio-logical Sciences, Chemical Abstracts, EBSCOhost Biological Abstracts, EBSCOhost Wildlife & Ecology Studies Worldwide, Elsevier BV Scopus, El-sevier 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, Russian Science Citation Index (на платформе Web of Science)

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:

<https://www.virusjour.elpub.ru;>

<https://www.elibrary.ru;>

<https://www.cyberleninka.ru;>

<https://www.rucont.ru;>

<https://www.ebsco.com>

**PUBLISHER:**

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

Head of the Editorial and publishing department: *Olga V. Osokina*

**EDITORIAL OFFICE:**

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

Head of Editorial Office: *Elena I. Drozdova*

The Editorial Board is not responsible for the advertising content.

The materials that do not meet the requirements of the journal (<https://www.virusjour.elpub.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.elpub.ru>).

Signed to the press on October 10, 2020. Print format 60×90/8. Circulation 50 copies.

Produced at the Buki Vedi Printing House. 115093, 1, 1st Party lane, Moscow, Russian Federation. E-mail: [info@bukivedi.com](mailto:info@bukivedi.com). [www.bukivedi.com](http://www.bukivedi.com)

© Central Research Institute for Epidemiology, 2020

**Founders: Central Research Institute for Epidemiology,  
Russian Scientific Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists**

# PROBLEMS OF VIROLOGY

(VOPROSI VIRUSOLOGII)

SCIENTIFIC THEORETICAL JOURNAL ISSUED  
ONCE IN TWO MONTHS

Published since 1956

5

Volume 65 • 2020

## EDITORIAL BOARD

**Editor-in-Chief: LVOV D.K., MD, PhD, DSc, Professor,  
Academician of RAS**

Assistant editors in chief: **Grebennikova T.V.**, Doctor of Biological Sciences, Professor, Corresponding Member of RAS

Executive secretary: **Al'khovskiy S.V.**, Doctor of Biological Sciences

Scientific editor: **Zaberezhnyy A.D.**, Doctor of Biological Sciences, Professor, Corresponding Member of RAS

## MEMBERS OF EDITORIAL BOARD

Barinskiy I.F. – MD, PhD, DSc, Prof.;  
Belousova R.V. – Doctor of Veterinary Sciences, Prof.;  
Galegov G.A. – Doctor of Biological Sciences, Prof.;  
Gulyukin M.I. – Doctor of Veterinary Sciences, Prof., Academician of RAS;  
Gurtsevich V.E. – MD, PhD, DSc, Prof.;  
Ershov F.I. – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS;  
Zhirnov O.P. – Doctor of Biological Sciences, Prof., Corresponding Member of RAS;  
Zverev V.V. – Doctor of Biological Sciences, Prof., Academician of RAS;  
Zuev V.A. – MD, PhD, DSc, Prof.;  
Ivanova O.E. – MD, PhD, DSc, Prof.;  
Karganova G.G. – Doctor of Biological Sciences, Prof.;  
Kolobukhina L.V. – MD, PhD, DSc, Prof.;  
Lobzin Yu.V. – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS;  
Maleev V.V. – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS;  
Onishchenko G.G. – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS;  
Popova A.Yu. – MD, PhD, DSc, Prof., Chief Sanitary Doctor of the Russian Federation;  
Uryvaev L.V. – MD, PhD, DSc, Prof., Corresponding Member of RAS;  
Yuminova N.V. – Doctor of Biological Sciences, Prof.

## EDITORIAL COUNCIL

Akimkin V.G. — MD, PhD, DSc,  
Prof., Academician of RAS (Moscow,  
Russia)

Aliper T.I. — Sc.D., Prof. (Moscow,  
Russia)

Antonov V.A. — MD, PhD, DSc, Prof.  
(Volgograd, Russia)

Bovin N.V. — Sc.D., Prof. (Moscow,  
Russia)

Borisevich S.V. — Sc.D., Prof.,  
Corr. Member of RAS (Sergiev Posad,  
Russia)

Briko N.I. — MD, PhD, DSc, Prof.,  
Academician of RAS (Moscow,  
Russia)

Vasin A.V. — Sc.D. (Saint-Petersburg,  
Russia)

Glotov A.G. — Sc.D., Prof.  
(Krasnoobsk, Russia)

Glupov V.V. — Sc.D., Prof.  
(Novosibirsk, Russia)

Zasedatelev A.S. — Doctor of  
physical, Prof. (Moscow, Russia)

Zlobin V.I. — MD, PhD, DSc, Prof.,  
Academician of RAS (Irkutsk, Russia)

Ivanov L.I. — MD (Khabarovsk,  
Russia)

Korzaya L.I. — MD, PhD, DSc (Sochi,  
Russia)

Kuzin A.A. — MD, PhD, DSc  
(St. Petersburg, Russia)

Kutyrev V.V. — MD, PhD, DSc, Prof.,  
Academician of RAS (Saratov, Russia)

Leonova G.N. — MD, PhD, DSc, Prof.  
(Vladivostok, Russia)

Loktev V.B. — Sc.D., Prof.  
(Novosibirsk, Russia)

Lukashev A.N. — MD, PhD, DSc,  
Prof., Corr. Member of RAS (Moscow,  
Russia)

Makarov V.V. — Sc.D., Prof. (Moscow,  
Russia)

Malyshev N.A. — MD, PhD, DSc, Prof.  
(Moscow, Russia)

Manapova E.R. — MD, PhD, DSc  
(Kazan', Russia)

Mikhailov M.I. — MD, PhD, DSc,  
Prof., Corr. Member of RAS (Moscow,  
Russia)

Netesov S.V. — Sc.D., Prof., Corr.  
Member of RAS (Novosibirsk, Russia)

Nikiforov V.V. — MD, PhD, DSc, Prof.  
(Moscow, Russia)

Panin A.N. — Sc.D., Prof., Academician  
of RAS (Moscow, Russia)

Pokrovskiy A.G. — MD, PhD,  
DSc, Prof., Corr. Member of RAS  
(Novosibirsk, Russia)

Pokrovskiy V.I. — MD, PhD, DSc,  
Prof., Academician of RAS (Moscow,  
Russia)

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

Romanenko V.V. — MD, PhD, DSc  
(Ekaterinburg, Russia)

Savel'ev S.I. — MD, PhD, DSc, Prof.  
(Lipetsk, Russia)

Smetanina S.V. — PhD (Moscow,  
Russia)

Stepanova T.F. — MD, PhD, DSc, Prof.  
(Tyumen', Russia)

Tutel'yan A.V. — MD, PhD, DSc,  
Prof., Corr. Member of RAS (Moscow,  
Russia)

Chvala I.A. — PhD  
(Vladimir, Russia)

Chumakov P.M. — Sc.D., Prof., Corr.  
Member of RAS (Moscow, Russia)

Chuchalin A.G. — MD, PhD, DSc,  
Prof., Academician of RAS (Moscow,  
Russia)

Shestopalov A.M. — Sc.D., Prof.  
(Novosibirsk, Russia)

Shchelkanov M.Yu. — Sc.D, Prof.  
(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)

Klenk H.D. (PhD, Prof.; Marburg,  
Germany)

Kuhn J.H. (MD, PhD, PhD, M.Sc.;  
Frederick, USA)

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

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

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

Oxford J. (DSc; London, UK)

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

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

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

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

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

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

Webby R. (PhD; Memphis, USA)

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

## СОДЕРЖАНИЕ

## РЕДАКЦИОННАЯ КОНЦЕПЦИЯ

**Львов Д.К., Гулюкин М.И., Забережный А.Д., Гулюкин А.М.**

Формирование популяционного генофонда потенциально угрожающих биобезопасности зоонозных вирусов\* . . . . . 243

## ОБЗОРЫ

**Ландышев Н.Н., Воронько Я.Г., Тимошина О.Ю., Суслина С.Н., Акимкин В.Г., Мирошников К.А.**

Обзор законодательства в области обращения персонализированных препаратов бактериофагов . . . . . 259

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Яцышина С.Б., Мамошина М.В., Шипулина О.Ю., Подколзин А.Т., Акимкин В.Г.**

Анализ циркуляции коронавируса человека\* . . . . . 267

**Носик Д.Н., Носик Н.Н., Теплякова Т.В., Лобач О.А., Киселева И.А., Кондрашина Н.Г., Бочкова М.С., Ананько Г.Г.**Противовирусная активность экстрактов базидиомицетов и гуминовых соединений в отношении вируса иммунодефицита человека (*Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus 1*) и вируса простого герпеса (*Herpesviridae: Simplexvirus: Human alphaherpesvirus 1*) . . . . . 276**Наровлянский А.Н., Полосков В.В., Иванова А.М., Кравченко С.К., Бабаева Ф.Э., Сычевская К.А., Мезенцева М.В., Суетина И.А., Руссу Л.И., Измestьева А.В., Оспельникова Т.П., Сарымсаков А.А., Ершов Ф.И.**Интерферон-регулирующая активность противовирусного лекарственного средства *целагрип* и его влияние на экспрессию генов врожденного иммунитета и образование активных форм кислорода у больных фолликулярной лимфомой . . . . . 284**Костинов М.П., Журавлев П.И., Пахомов Д.В., Шмитько А.Д., Полищук В.Б., Филатов Н.Н., Гладкова Л.С., Рыжов А.А.**

Напряжённость иммунитета против кори у сотрудниц родильного блока в городе Москве . . . . . 294

## CONTENTS

## EDITORIAL CONCEPT

**Lvov D.K., Gulyukin M.I., Zaberezhniy A.D., Gulyukin A.M.**

Formation of population gene pools of zoonotic viruses, potentially threatening biosafety\* . . . . . 243

## REVIEWS

**Landyshev N.N., Voronko Y.G., Timoshina O.Yu., Suslina S.N., Akimkin V.G., Miroshnikov K.A.**

A review of the regulatory framework for personalized bacteriophages registration . . . . . 259

## ORIGINAL RESEARCHES

**Yatsyshina S.B., Mamoshina M.V., Shipulina O.Yu., Podkolzin A.T., Akimkin V.G.\***

Analysis of human coronaviruses circulation. . . . . 267

**Nosik D.N., Nosik N.N., Teplyakova T.V., Lobach O.A., Kiseleva I.A., Kondrashina N.G., Bochkova M.S., Ananko G.G.**Antiviral activity of extracts of basidiomycetes and humic compounds substances against Human Immunodeficiency Virus (*Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus 1*) and Herpes Simplex Virus (*Herpesviridae: Simplexvirus: Human alphaherpesvirus 1*) . . . . . 276**Narovlyansky A.N., Poloskov V.V., Ivanova A.M., Kravchenko S.K., Babayeva F.E., Sychevskaya K.A., Mezentseva M.V., Suetina I.A., Russu L.I., Izmet'seva A.V., Ospelnikova T.P., Sarymsakov A.A., Ershov F.I.**Interferon-regulating activity of the *celagrip* antiviral drug and its influence on formation of reactive oxygen species and expression of innate immunity genes in the follicular lymphoma patients . . . . . 284**Kostinov M.P., Zhuravlev P.I., Pakhomov D.V., Shmit'ko A.D., Polishchuk V.B., Filatov N.N., Gladkova L.S., Ryzhov A.A.**

Intensity of the immunity against measles in employees of the maternity unit in Moscow . . . . . 294

\* The article is published in Russian and English on the journal's website: <https://virusjour.elpub.ru/jour>

## РЕДАКЦИОННАЯ КОНЦЕПЦИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020



### Формирование популяционного генофонда потенциально угрожающих биобезопасности зоонозных вирусов

Львов Д.К.<sup>1</sup>, Гулюкин М.И.<sup>2</sup>, Забережный А.Д.<sup>2</sup>, Гулюкин А.М.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт вирусологии имени Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Федеральный научный центр экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН», 109428, Москва, Россия

Проведён анализ возможного формирования популяционного генофонда вирусов с респираторной передачей, способных к развитию пандемий, на различных этапах эволюции биосферы. Наземное формирование генофондов поксвирусов (подсемейство *Entomopoxvirinae*) могло начаться с их перехода с голосеменных растений на членистоногих (карбон, 375 млн лет назад) с дальнейшей эволюцией, связанной с грызунами в палеоцене (75–70 млн лет назад) и разделением на роды (300–500 тыс. лет назад) и респираторной передачей (эпидемии) среди людей (10–2 тыс. лет до н.э.). Возможен возврат натуральной оспы.

Реликты ортомиксовирусов (род *Isavirus*), возможно, были связаны с рыбами (*Ichthya*) (силур, 500–400 млн лет назад), а затем их эволюция была тесно связана с птицами (меловой период, 135–110 млн лет назад) с разделением на роды и респираторной передачей среди людей с эпидемическим распространением (10–2 тыс. лет до н.э.). Последующие пандемии гриппа А могут быть катастрофическими по числу жертв и экономическому ущербу.

Коронавирусы начали формировать генофонд, взаимодействуя с земноводными (подсемейство *Letovirinae*), но в основном с рукокрылыми (*Chiroptera*) в третичном периоде (110–85 млн лет назад), образуя также переход на парнопалых (эоцен, 70–60 млн лет назад) и лишь 10–2 тыс. лет до н.э. приобретая способность к респираторной передаче (в первую очередь, вероятно, представителями рода *Alphacoronavirus*), обособились в сезонную инфекцию людей. Подобная ситуация возможна в ближайшем будущем с SARS-CoV-2. Эпидемические катаклизмы, более серьезные, чем COVID-19, связанные с зоонозными вирусами, вероятно, возникнут и в будущем. Необходим постоянный мониторинг популяционных генофондов зоонозных вирусов.

**Ключевые слова:** эволюция; популяционный генофонд; *Poxviridae*; *Orthomyxoviridae*; *Coronaviridae*; птицы; грызуны; летучие мыши; филогенетика.

**Для цитирования:** 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): 243-258. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-5-1>

**Для корреспонденции:** Львов Дмитрий Константинович – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, руководитель отдела экологии вирусов с научно-практическим центром по экологии и эпидемиологии гриппа, Институт вирусологии имени Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва. <https://orcid.org/0000-0001-8176-6582>. E-mail: [dk\\_lvov@mail.ru](mailto:dk_lvov@mail.ru)

**Участие авторов:** все авторы в равной мере участвовали в выработке концепции статьи и её написании.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 30.08.2020  
Принята в печать 15.09.2020

### Formation of population gene pools of zoonotic viruses, potentially threatening biosafety

Dmitry K. Lvov<sup>1</sup>, Michail I. Gulyukin<sup>2</sup>, Alexey D. Zaberezhnyi<sup>2</sup>, Alexey M. Gulyukin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>D.I. Ivanovsky Institute of Virology. N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Russian Federation, Moscow, 123098, Russia;

<sup>2</sup>Federal State Budget Scientific Institution «Federal Scientific Center VIEV», 109428, Moscow, Russia

The possible formation of population gene pools of zoonotic viruses with a respiratory route of transmission and a possibility of a pandemic at different stages of biosphere evolution is analyzed. Forming of Poxviruses (*Entomopoxvirinae*) gene pool could be the beginning of transformation from Plants to Arthropoda (Carbon – 375

million years ago) with further evolution connected with *Rodentia* (Pliocene – 75–70 million years ago) and further separation of genera (500–300 thousand years ago), and respiratory transmission (epidemics) between humans (10–2 thousand years BC). Smallpox comeback would be possible. Orthomyxoviruses relicts (genus *Isavirus*) were possibly connected with *Ichthya* (Silurian – 500–410 million years ago), and then close interaction with *Aves* (the Cretaceous, 125–110 million years ago) with the division of genera and respiratory transmission (epidemics) between humans (10–2 thousand BC). Next pandemic of influenza A could be catastrophic in terms of the number of victims and economic damage.

Coronaviruses formed a gene pool by interaction with *Amphibia* (subfamily *Letovirinae*) and then with *Chiroptera* in Tertiary (110–75 million years ago) with transformation to *Artiodactyla* (Eocene – 70–60 million years ago), and only 10–2 thousand years BC acquired the ability to a respiratory transmission and became *Alphaviruses*, a seasonal infection of humans. A similar situation is possible in the near future with SARS-CoV-2. Pandemics associated with zoonoses even more serious than COVID-19 are likely. Constant monitoring of populational gene pools of zoonotic viruses is necessary

**Keywords:** *evolution; populational gene pools; viral population; Poxviridae; Orthomyxoviridae; Coronaviridae; Aves, Rodentia; Chiroptera; phylogenetics.*

**For citation:** Lvov D.K., Gulyukin M.I., Zaberezhniy A.D., Gulyukin F.V. Formation of gene pools of zoonotic viruses, potentially threatening biosafety. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2020; 65(5):243-258. (In Russ., in Engl.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-5-1>

**For correspondence:** Dmitry K. Lvov – D.Sci. (Med.), Prof., Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of epy Department of Ecology of Viruses with Center of Ecology and Epidemiology of Influenza, FSBI «National Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya» of Ministry of Health, 123098, Moscow, Russia. E-mail: [dk\\_lvov@mail.ru](mailto:dk_lvov@mail.ru). <http://orcid.org/0000-0001-8176-6582>

**Information about authors:**

Lvov D.K., <http://orcid.org/0000-0001-8176-6582>

Gulyukin M.I., <https://orcid.org/0000-0002-7489-6175>

Zaberezhniy A.D., <https://orcid.org/0000-0001-7635-2596>

Gulyukin A.M., <https://orcid.org/0000-0003-2160-4770>

**Contribution:** all the authors have equally contributed to the development of the article concept and to the writing of the article.

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 30 August 2020

Accepted 15 September 2020

Возникшая в 2019 г. и переросшая в пандемию эпидемия COVID-19 вызвала необходимость вернуться к проблеме новых и возвращающихся (emerging – reemerging) инфекций. Рождение вирусологии как науки и её развитие являются историей этой проблемы [1]. Неожиданно возникающие чрезвычайные эпидемические ситуации в результате природных катаклизмов или криминальных действий представляют угрозу национальной и глобальной биобезопасности, поскольку борьба на этапе их возникновения трудна или невозможна. Вирусы поражают всё живущее на земле – представителей царств Вирусов (виофаги), Архей, Бактерий, Водорослей, Растений, Грибов, Простейших, Животных и человека (табл. 1). Все вирусные инфекции человека изначально были зоонозами, возбудители которых в результате эволюции преодолели межвидовой (межтаксонный) барьер и со временем стали циркулировать в человеческой популяции, превратившись в зооантропонозы и антропонозы. С появлением у гоминин *Homo sapiens* артикуляции в современной эпохе четвертичного периода кайнозойской эры появилась возможность передачи вирусов (оспа, грипп, комплекс сезонных респираторных вирусов) респираторным путём. Однако этому предшествовали эволюционные события в популяциях вирусов и их хозяев длиной порядка 3,5 млрд лет, связанные с эволюцией среды обитания. Важнейшими этапами являлись появление прокариот

в архее, эукариот в протерозое, зарождение основных типов животных в кембрии, возникновение рыб в силуре, земноводных в девоне, пресмыкающихся в карбоне-юрке (палеозой–мезозой), насекомоядных млекопитающих и птиц в меловом периоде мезозоя, летучих мышей в третичном периоде кайнозоя, грызунов в палеоцене, парноногих в эоцене (см. табл. 1).

Все эти события предшествовали появлению человека. В палеоцене появились первые приматы, а останки первых предков человека (семейство *Pongidae*) отнесены к олигоцену. Гоминиды появились в плиоцене, а питекантропы и другие гоминины (род *Homo*) установлены в плейстоцене четвертичного периода. Предки *H. sapiens* уже в начале современного периода начали взаимодействовать с популяциями вирусов животных. А после появления у гомининов артикуляции стали активно распространяться вирусы, способные к респираторной передаче (см. табл. 1). Одомашнивание животных, проходившее 20–10 тыс. лет назад, существенно активизировало переход вирусов животных на людей [2]. Эволюция вирусов в природных экосистемах в результате изменений их популяционного генофонда создаёт угрозу постоянного появления новых генетических кластеров. Эти процессы лежат в основе возникновения новых и возвращающихся инфекций.

Процесс межпопуляционного взаимодействия вирусов и их хозяев в меняющихся условиях среды обита-



Таблица 1. Схема основных этапов\* эволюции биосферы и возможное их влияние на генофонд вирусов  
Table 1. Scheme of stages\* of the evolution of biosphere and its possible influence on viral gene pools

Эра Era	Период Period	Эпоха Epoch	Возраст (млн лет) Age (mln years)	Фоновые представители биосферы и их предшественники Background representatives of biosphere and their predecessors	Известные потенциальные вирусы (последствия взаимодействия) Known potential viruses (interaction consequences)
Архей Протерозой			3500–2000	Прокариоты: археи ( <i>Archaea</i> )	≥ 9 семейств (Мую-, Sipro-, Ampulla- и др.)
			2000–1000	Прокариоты: бактерии ( <i>Bacteria</i> ) Эукариоты: простейшие ( <i>Protozoa</i> ); водоросли ( <i>Algae</i> ); грибы ( <i>Fungi</i> ); растения ( <i>Plant</i> ). Беспозвоночные животные (морские) ( <i>Invertebrata</i> )	≥ 12 семейств (Мую-, Podo-, Sipro- и др.) ≥ 6 семейств (Reo-, Pseudo-, Mini- и др.) ≥ 9 семейств (Phycodna-, Pseudo-, Endoma и др.) ≥ 14 семейств (Pseudo-, Endoma-, Partiti- и др.) ≥ 26 семейств (Gemini-, Reo-, Rhabdo- и др.) ≥ 25 семейств (Vasulo-, Reo-, Meta-, Pox- и др.) Межтаксонный переход вирусов
Палеозой	Кембрий		1000–550	Членистоногие морские ( <i>Arthropoda</i> ), трилобиты	Начало перехода голосеменных растений на сушу
	Ордовик		550–500	Зарождение большинства типов современных животных Моллюски, трилобиты Линшайники	
Мезозой	Силур		500–410	Хвощи, папоротники Паукообразные (морские) ( <i>Arachnoidea</i> ) Позвоночные: рыбы ( <i>Ichthyia</i> )	
	Девон		410–375	Класс земноводные ( <i>Amphibia</i> )	≥ 11 семейств (Orthomuxo-, Reo-, Rhabdo- и др.)
	Карбон		375–325	Папоротники, плауны Появление класса пресмыкающихся ( <i>Reptilia</i> ), господство членистоногих ( <i>Arthropoda</i> )	≥ 4 семейств (Adeno-, Irido-, Alloherpes и др.)
	Пермь		325–240	Господство пресмыкающихся ( <i>Reptilia</i> )	≥ 18 семейств (Pox-, Reo-, Rhabdo- и др.)
	Триас		240–225	Расцвет пресмыкающихся ( <i>Reptilia</i> ) Покрытосеменные растения ( <i>Plants</i> )	≥ 7 семейств (Adeno-, Irido-, Reo-, Parvo- и др.)
	Юра		225–135	Расцвет пресмыкающихся ( <i>Reptilia</i> )	≥ 26 семейств (Reo-, Rhabdo-, Gemini- и др.)
Кайнозой	Мел		135–110	Класс Млекопитающие ( <i>Mammalia</i> ): отряд Насекомоядные ( <i>Insectivora</i> ) Птицы ( <i>Aves</i> )	≥ 7 семейств (Adeno-, Irido-, Reo- и др.) ≥ 31 семейства (Herpes-, Adeno-, Reo- и др.)
	Третичный		110–85	Отряд Летучие мыши ( <i>Chiroptera</i> )	≥ 20 семейств (Orthomuxo-, Adeno-, Reo- и др.)
	Палеоген	Палеоцен	75–70	Расцвет птиц и плацентарных млекопитающих Отряд Грызуны ( <i>Rodentia</i> ) <b>Отряд Приматы (<i>Primates</i>)</b>	≥ 10 семейств (Cogoпа-, Adeno-, Reo- и др.) Формирование генофондов Orthomuxo-, Cogoпа-, Pox- и др. >23 семейств (Pox-, Hanta-, Reo-, Herpes- и др.)
		Эоцен	70–60	Парнопапы ( <i>Artiodactyla</i> ) Непарнопапы ( <i>Perissodactyla</i> ) <b>Подотряд человекоподобные (<i>Anthropoidea</i>)</b>	<b>≥ 26 семейств (Cogoпа-, Pox-, Orthomuxo- и др.)</b>
		Олигоцен	60–40	Семейство Мартышковые ( <i>Scorpiaceidae</i> ) <b>Семейство Человекообразные (<i>Pongidae</i>)</b>	≥ 24 семейства (Pox-, Orthomuxo-, Reo- и др.) ≥ 18 семейств (Pox-, Orthomuxo-, Reo- и др.)
	Неоген	Миоцен	40–25	Грызуны ( <i>Rodentia</i> ): семейство Белчичи ( <i>Sciuridae</i> ) подсемейство Наземные белчичи ( <i>Marmotinae</i> ) семейство Хомячки ( <i>Cricetidae</i> ) подсемейство Песчанки ( <i>Gerbillinae</i> ) подотряд Мышеобразные ( <i>Myomorpha</i> )	≥ 20 семейств (Adeno-, Pox-, Reo-, Pogoпа- и др.) <b>Случайные заражения особей без эпидемических последствий</b> <i>Poxviridae</i> <i>Herpadnaviridae</i> , <i>Poxviridae</i> <i>Poxviridae</i> <i>Poxviridae</i> <i>Poxviridae</i> , <i>Hantaviridae</i> , <i>Herpesviridae</i>
	Четвертичный	Плейстоцен	25–6	<b>Семейство Люди (<i>Hominidae</i>)</b>	<b>Случайные заражения отдельных особей</b>
			5–1	<b>Подсемейство Гоминины (<i>Homininae</i>)</b> Род <i>Homo</i> : <i>H. rithesanthropus</i> , <i>H. sinanthropus</i> и другие гоминины	<b>Прямое заражение. Активизация контактов с животными на охоте</b>

Окончание табл. см. на стр. 246.

Эра Era	Период Period	Эпоха Epoch	Возраст (млн лет) Age (mln years)	Фоновые представители биосферы и их предшественники Background representatives of biosphere and their predecessors	Известные потенциальные вирусы (последствия взаимодействия) Known potential viruses (interaction consequences)
		Современная	500–300 тыс.	<i>H. heidelbergensis</i> , <i>H. neanderthalensis</i> и другие представители предков <i>H. sapiens</i>	Начало взаимодействия популяций вирусов и гоминин. <i>Poxviridae</i> — разделение на роды
			300–40 тыс.	<i>H. sapiens</i> (формирование популяционного генофонда); приобретение артикуляции; начало одомашнивания (собаки)	Способность вирусов к респираторной передаче (оспа, грипп, коронавирусы и другие инфекции)
			10–2 тыс. до н. э.	Первые цивилизации; одомашнивание парнокопытных (овцы, козы, крупный рогатый скот, свиньи), непарнокопытных (лошади), птиц (утки, гуси, куры, индейки); заселение грызунов в жильё	Взаимодействие популяционных генофондов <i>H. sapiens</i> , домашних животных и вирусов; эпидемии вирусов с респираторной передачей; эпизоотии вирусов с алиментарной передачей; переход зоонозов в зооантропонозы и антропонозы
			2 тыс. лет до н. э. – XIX в. XXI в.	Формирование цивилизаций и активизация контактов (переселение народов, войны, торговля, колонизация, освоение новых территорий) Высокая численность и плотность населения Транспортные потоки, глобализация Крупные хозяйства сельскохозяйственных животных	Увеличение числа антропонозов, возникновение новых и возвращающихся инфекций  Пандемии и панзоотии

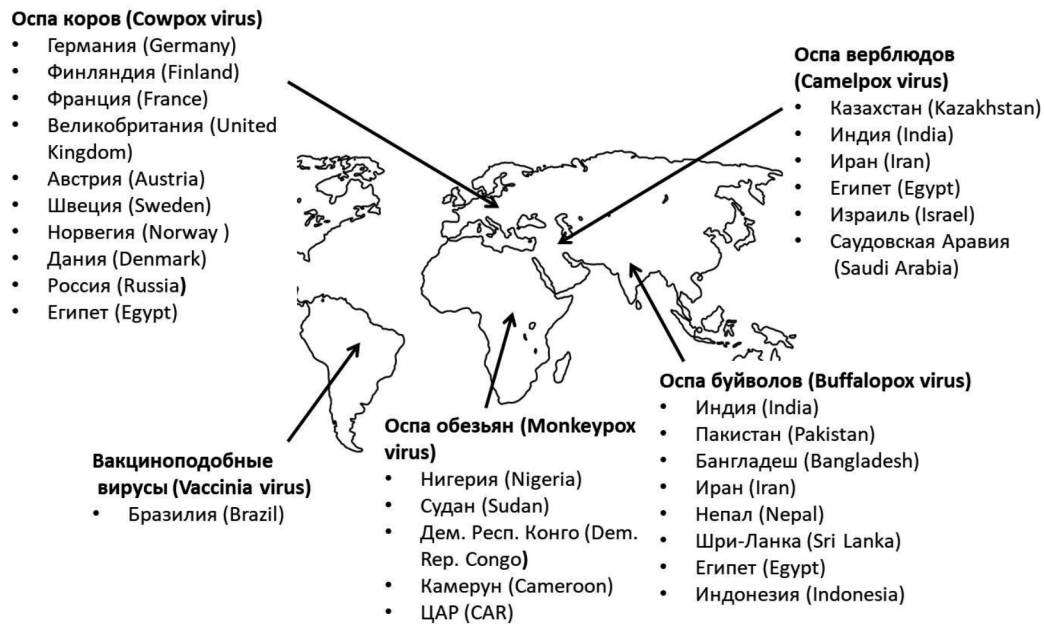
**Примечание.** \*Использована одна из существующих схем. Некоторые расхождения в хронологии не имеют принципиального значения в рамках обсуждаемой проблемы.  
**Note.** \*One of the existing schemes was used. Some discrepancies in chronology are not of fundamental importance in the framework of the problem under discussion.

ния, другими словами, экологии вирусов, определяет изменения популяционного генофонда – его эволюцию. Популяция является единицей эволюции. Изучение популяционного генофонда и направленности его изменений имеет исключительно важное значение в раскрытии причин, ведущих к возникновению эпизоотий и эпидемий [3]. Как происходит выплеск вирусных популяций из обычных экологических ниш, где популяции сохраняются в период между эпидемиями, почему меняются свойства популяций? Ответы на эти вопросы необходимы для прогноза возникновения чрезвычайных эпидемических ситуаций. Поэтому необходимы системные исследования по раскрытию основных закономерностей, обеспечивающих сохранение вирусов в биосфере, выявлению молекулярно-генетическими методами путей их эволюционной изменчивости, определению основных законов движения генетического материала в вирусных популяциях и формирования их генофонда.

В процессе эволюции складываются наиболее удачные с точки зрения сохранения видов взаимоотношения между вирусами и хозяевами [3, 4], что чаще всего соответствует среднему уровню вирулентности возбудителя и восприимчивости хозяина. Например, персистенция вирусов в организме птиц и летучих мышей обеспечивает их диссеминацию на огромной территории в период сезонных миграций. Эпидемии и эпизоотии чаще всего являются лишь эпизодом в существовании вирусной популяции. Они происходят, например, в случае вирусов гриппа А (H5N1) при перемещении от диких птиц к домашним. Циркулирующие среди диких птиц в результате длительной (возможно, на протяжении десятков миллионов лет) взаимной адаптации низковирулентные штаммы трансформируются в высоковирулентные, в частности, в результате замены E627K в белке PB2 [5].

За последние 120 лет в мире, в том числе и в России, возникли и распространились не менее 10 пандемий и панзоотий, вызванных зоонозными вирусами с воздушно-капельным (алиментарным у птиц) путём заражения. Летальность среди людей была в пределах 0,1–50%, среди домашних птиц – 20–90%. Жертвами стали порядка 500 млн человек (табл. 2), экономический ущерб превысил сотни миллиардов, возможно, триллионы долларов. В природных биомах эти или генетически близкие возбудители циркулируют среди грызунов (вирус оспы – *Poxviridae*; *Orthopoxvirus*), птиц (вирусы гриппа – *Orthomyxoviridae*; *Alphainfluenzavirus*), летучих мышей (коронавирусы – *Coronaviridae*, *Betacoronavirus*; подроды *Merbecovirus* и *Sarbecovirus*).

Семейство *Orthomyxoviridae*, возможно, начало формироваться (род *Isavirus*) с силурийского периода палеозойской эры (более 400 млн лет назад) в связи с появлением рыб. В карбоне (378–325 млн лет назад) с появлением наземных членистоногих (*Arthropoda*) могли появиться представители родов *Thogotovirus* и *Quarantavirus*. В меловом периоде мезозойской эры (110–135 млн лет назад) стало возможным формиро-



**Рис. 1.** Активизация очагов существующих ортопоксвирусов в мире после ликвидации натуральной оспы.  
**Fig. 1.** Activation of foci of existing Orthopoxviruses in the world after the eradication of smallpox.

вание рода *Alphainfluenzavirus*, представители которого тесно связаны с птицами (см. **табл. 1**).

В карбоне могли возникнуть поксвирусы (подсемейство *Entomopoxvirinae*), адаптированные к насекомым (*Insecta*). Дальнейшая эволюция поксвирусов (подсемейство *Chordopoxvirinae*) продолжалась в популяциях грызунов (*Rodentia*) в палеоцене (75–70 млн лет назад) с дальнейшей эволюцией в популяциях парноногих (*Artiodactyla*) в эоцене (70–60 млн лет назад). Окончательное разделение поксвирусов на роды произошло уже в современную эпоху четвертичного периода около 500 тыс. лет назад (**табл. 3, рис. 1**) [6–9]. Основными природными хозяевами остались грызуны (*Rodentia*) (см. **табл. 2**). Они служат основным природным резервуаром для ортопоксвирусов. Природные очаги расположены на огромной территории — от тропических пустынь до субарктической тундры (см. **рис. 1**) [9]. Теоретически возможен возврат проникновения вируса натуральной оспы, как это по крайней мере трижды происходило в прошлом [6–10]. Кстати, использование вируса оспы террористами, по мнению американских аналитиков, сравнимо по ущербу со взрывом водородной бомбы [11]. Летальность при заболеваемости оспой достигает 40–60% при воздушно-капельном пути заражения.

Очевидно, что подобный ход эволюции зоонозных ортопоксвирусов нельзя исключить в будущем, с постепенным переходом от диких животных к домашним, а затем и к человеку [8–10, 12]. Тревогу вызывают участвовавшие в последние годы, включая 2020 г., массовые вспышки оспы обезьян среди людей в Африке. Исследования показали, что природным резервуаром вируса являются грызуны — по крайней мере 4 вида белок (*Sciuridae: Rodentia*) в Западной и Центральной

Африке, у которых установлено заболевание при бессимптомном течении инфекции. Таким образом, оспа обезьян фактически — оспа белок и других грызунов [13–21]. В последние годы в Бразилии, Индии, Пакистане регистрируются вспышки среди домашних животных и контактирующих с ними людей, вызываемые зоонозными осповирусами, связанными с грызунами. Мы изолировали осповирус Мурман от полевки экономки *Microtus oeconomus* в незаселенной Ловозерской тундре Кольского полуострова [22]. На основе секвенирования генома выявлены 11 изолированных в Африке, Азии и Америке ортопоксвирусов. По расчету специалистов из новосибирского ФБУН ГНЦ «Вектор» Роспотребнадзора, произведенному на основании анализа скорости накопления мутаций в геноме, разделение поксвирусов из вируса-прародителя началось около 500 тыс. лет назад. Расчеты показали, что эволюционно близкие к вирусу натуральной оспы виды оспы верблюдов и африканских гололапых песчанок (*Tatera*) выделились из единого предка около 4 тыс. лет назад [6, 7, 23, 24]. Все это определяет возможность выплеска вируса в популяцию людей на фоне практического отсутствия коллективного иммунитета (**рис. 2**) [9]. Последствия будут катастрофическими. Это определяет необходимость разработок противооспенной вакцины четвертого поколения и эффективных и безопасных химиопрепаратов.

Особенно опасны вирусы с высокой степенью изменчивости генома — в первую очередь, вирусы семейства *Orthomyxoviridae*. Четыре рода вирусов гриппа (*Alphainfluenzavirus*, *Betainfluenzavirus*, *Gammainfluenzavirus* и *Deltainfluenzavirus*) передаются респираторным путём и вызывают ежегодные эпидемии и пандемии среди людей, а при передаче через воду и корм — эпизоотии и панзоотии диких и до-





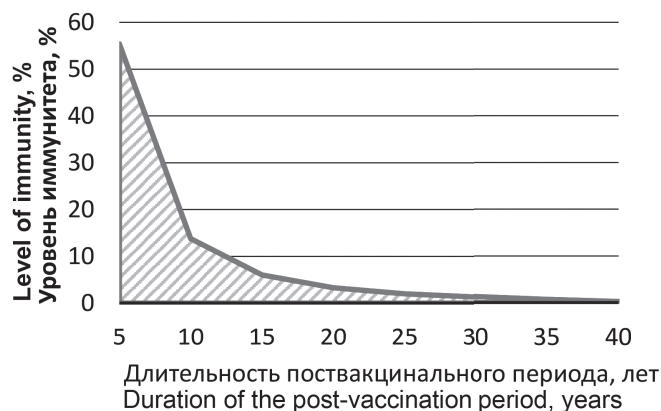


Рис. 2. Продолжительность противооспенного поствакцинального иммунитета.

Fig. 2. Duration of smallpox post-vaccination immunity.

машных животных, прежде всего птиц. Вирусы родов *Thogotovirus* и *Quaranjavirus*, обнаруженные и на территории России, передаются чувствительным позвоночным животным и человеку через укусы иксодовых и аргасовых клещей. Вирусы рода *Isavirus* поражают рыб (рис. 3) [9].

Наибольшее значение в рамках проблемы новых инфекций имеют вирусы гриппа А. Сегментированный геном содержит 8 генов, кодирующих вирусные белки, что создает условия для рекомбинаций генов в случае одновременной репликации двух и более вирусов в одном организме. Возникающие рекомбинанты, обеспечивая высокую степень изменчивости, могут иметь различные биологические и антигенные свойства, что помогает им (в случае включения в популяционный генофонд) преодолевать защитные клеточные системы хозяина и обеспечивает в ряде случаев возникновение панзоотий и пандемий [25].

Вирусы гриппа А широко распространены в биосфере, по последним данным, даже в океанском план-

ктоне, но основным природным резервуаром являются птицы. Эти популяционные взаимосвязи прочно установилось с мелового периода мезозойской эры (100–130 млн лет назад). И лишь 2–10 тыс. лет до н. э., с возникновением первых цивилизаций, вирусы гриппа А, изменив рецепторную аффинность с  $\alpha 2-3$  на  $\alpha 2-6$ , приобрели способность к респираторной передаче среди людей с возникновением эпидемий, а позднее – пандемий. В наши дни людей на Земле на несколько порядков больше, чем можно было бы ожидать для популяций млекопитающих нашего размера. Это идеальные условия для возникновения пандемий. Природные очаги вирусов гриппа широко распространены и в настоящее время. Обследование нами территории Северной Евразии выявило циркуляцию среди птиц 15 из 18 известных субтипов вирусов гриппа А, в том числе H5, с которым связана возникшая в 2003 г. тяжелейшая эпизоотия, а затем панзоотия среди домашних птиц (рис. 4) [25]. Погибли и были уничтожены сотни миллионов птиц в странах Юго-Восточной Азии и Океании. Заражались и гибли люди (см. табл. 3) [26]. В апреле 2005 г. на озере Кукунор в провинции Цинхай КНР, в северо-восточной части Тибетского плато, вспыхнула эпизоотия среди диких птиц. Во время весеннего перелета вирусные штаммы переместились на север, вдоль Джунгарского миграционного русла, между Тянь-Шанем и Монгольским Алтаем, связывающего Юго-Восточную Азию со Средней Азией и Западной Сибирью. Западно-Сибирские высоковирулентные штаммы HPAI формируют достаточно компактную генетическую Цинхай-Сибирскую группу 2.2.

В начале апреля 2008 г. вирус проник с мигрирующими птицами на территорию юга Приморского края, распространившись далее на север. С появлением Уссурийского клэйда в Северной Евразии сформировались генетические кластеры: Цинхай-Сибирский кластер (2.2) — в западном, Уссурийский (2.3.2) — в восточном секторе Северной Евразии

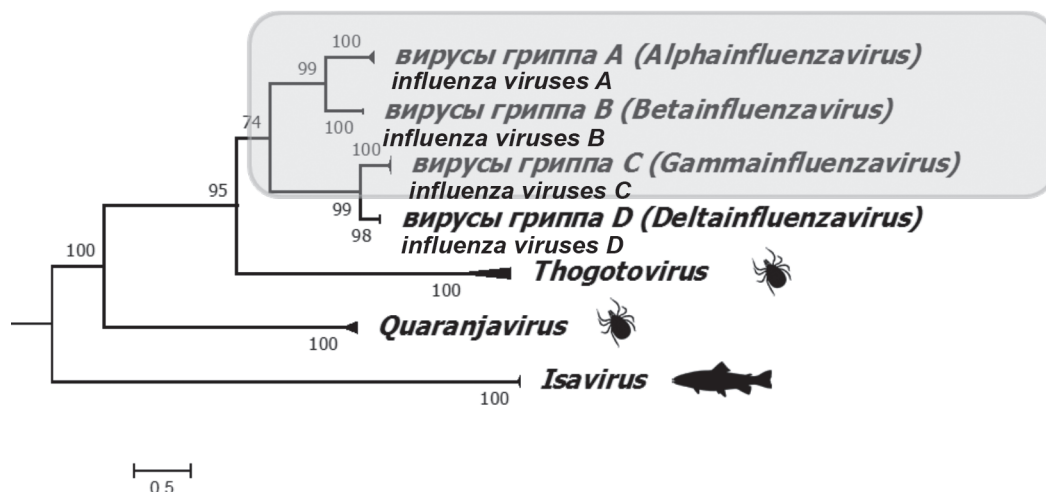


Рис. 3. Филогенетическая структура семейства Orthomyxoviridae.

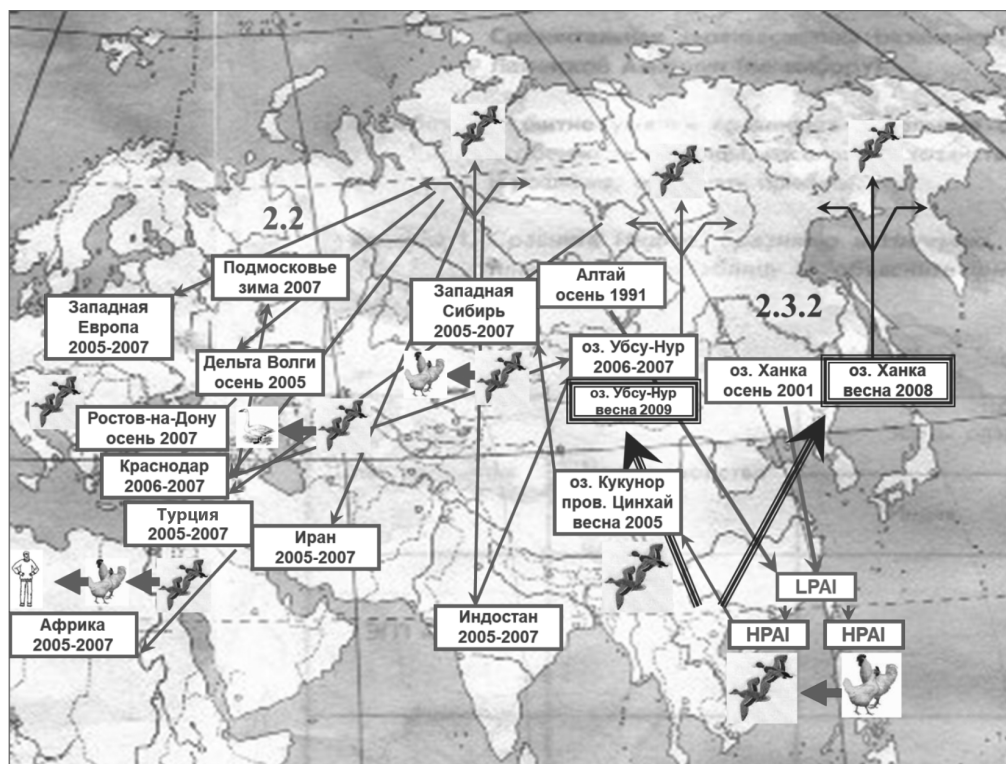
Fig. 3. Phylogenetic structure of the Orthomyxoviridae family.

Таблица 3. Вирусные пандемии (панзоотики) зоонозного происхождения с респираторным (алиментарным) заражением (1900–2020 гг.)  
Table 3. Viral pandemics (panzootics) of zoonotic origin with a respiratory (alimentary) infection (1900–2020)

Период Date range	Возбудитель Infection agent		Заболевание Disease			Источники инфекции Source of infection			
	семейство/подсемейство family/subfamily	род/подрод genus/subgenus	вирус virus	название name	место обнаружения location	летальность, % lethality, %	погибло number of deaths	природный резервуар natural reservoir	промежуточные хозяева вируса intermediate hosts
В XX в. до 1977 г.	<i>Poxviridae</i>	<i>Orthoroxvirus</i>	<i>Varicella major virus</i>	Натуральная оспа	Индостан повсеместно	40–50	300 млн (в XX в.)	Грызуны	Буйволы, обезьяны
1918–1919 гг.	<i>Orthomyxoviridae</i>	<i>Alpha influenza virus</i>	A/H1N1	«Испанка» грипп	США повсеместно	0,5	100 млн	Птицы водного комплекса	Домашние птицы
1956–1958 гг.			A/H2N2	«Азиатский» грипп	КНР повсеместно	0,02	> 4 млн	То же Ibid	–
С 1968 г. по настоящее время			A/H3N2	«Гонконгский» грипп	КНР повсеместно	0,01	> 1 млн	–	–
С 2009 г. по настоящее время			A/H1N1/pdm09	«Пандемический» грипп	Мексика, США повсеместно	0,1	> 5 млн	–	–
С 2003 г. по настоящее время			A/H5N1	Грипп птиц*	КНР**	50	455	–	–
С 2013 г. по настоящее время			A/H7N9	Грипп птиц*	КНР	40	615	–	–
С 2014 г. по настоящее время			H5N6	Грипп птиц*	КНР	30	77	–	–
С 2012 г. по настоящее время	<i>Coronaviridae</i> <i>Coronavirinae</i>	<i>Betacoronavirus</i> <i>Merbecovirus</i>	MERS-Cov	Ближневосточный респираторный синдром MERS-Cov	Саудовская Аравия, Объединенные Арабские Эмираты	35	876	Летучие мыши	Верблюды
2002–2003 гг.		<i>Betacoronavirus</i> <i>Sarbecovirus</i>	SARS-Cov	Тяжелый острый респираторный синдром SARS-Cov	КНР*	11	100 тыс.	То же	Циветты и другие животные, экологически связанные с летучими мышами
С 2019 г. по настоящее время			SARS-Cov-2	COVID-19	КНР повсеместно	2,0–4,5	Более 1 млн	–	Панголины и другие животные, экологически связанные с летучими мышами
Всего							Около 500 млн		

Примечание. \*Эпидемические вспышки. \*\*Панзоотии. Ежегодно от гриппа погибают 250–600 тыс. человек.

Note. \*Epidemic outbreaks. \*\*Panzootics. Flu kills 250–600 thousand people every year.



**Рис. 4.** Последствия проникновения высоковирулентного вируса гриппа А (H5N1) в Северную Евразию (весна 2005 г. – весна 2008 г.).  
**Fig. 4.** Consequences of the penetration of a highly virulent A (H5N1) influenza virus into Northern Eurasia (spring 2005 – spring 2008).

(рис. 4). Смертность от птичьего гриппа H5N1 в мире среди людей продолжает оставаться очень высокой — 60%. Это выше, чем при натуральной оспе. На июль 2020 г. в мире выявлено 879 случаев среди людей в 16 странах Юго-Восточной Азии, Египте. Вирус продолжает циркулировать в природных биомах на территории России [27, 28].

Инфекционный процесс начинается с прикрепления вируса гриппа к клеточному рецептору – производному сиаловой кислоты, присоединенному к галактозе или глюкозамину  $\alpha 2-3$ - или  $\alpha 2-6$ -связью, которая опознается вирусами гриппа в зависимости от хозяйской принадлежности. Вирусы гриппа человека инфицируют клетки, на которых представлены  $\alpha 2-6$ -рецепторы, расположенные на назальной слизистой оболочке. Содержание этих рецепторов постепенно убывает в ряду: носоглотка, трахея, бронхи, бронхиолы.  $\alpha 2-3$ -Рецепторы выявлены на бронхиальных и альвеолярных клетках с убыванием вверх по респираторному тракту, а у птиц – на клетках эпителия кишечника [27]. Новый пандемический вирус H1N1pdm09, появившийся на границе Мексики и США, является реассортантом двух свиных вирусов американского и евро-азиатского генотипов. Вирус сменил рецепторную специфичность с  $\alpha 2-3$  на  $\alpha 2-6$ , получив возможность репродукции в верхних отделах респираторного тракта, и приобрел тем самым уникальную способность вирусов гриппа к неограниченному распространению с заметной смертностью среди людей (см. табл. 3).

Рост вирулентности, в частности, связан с мутацией в рецепторсвязывающем сайте 222 гемагглютинина HA1 с заменой аспарагиновой кислоты на глицин или аспарагин. Вирус в этом случае меняет рецепторную специфичность с  $\alpha 2-6$  на  $\alpha 2-3$  и приобретает способность к поражению нижних отделов респираторного тракта, вызывая пневмонию с летальным исходом. Мы провели генетическую экспертизу свыше 100 материалов от больных с летальным исходом. Смерть наступила во всех случаях от первичной пневмонии. В 70% случаев секвенирование выявило мутанты пандемического вируса в легочной ткани умерших пациентов, невакцинированных и не получавших на ранних сроках противовирусных препаратов. Мутанты при этом потеряли способность ( $\alpha 2-6$  аффинность рецепторов) к респираторной передаче. В случае её сохранения ( $\alpha 2-3$ – $\alpha 2-6$ ) последствия могут быть катастрофическими, экспериментальная возможность таких событий доказана [29, 30].

С февраля 2013 г., т.е. в начале сезона весенней миграции птиц, в Китае была выявлена заболеваемость людей, этиологически связанная с другим вирусом птичьего гриппа А – H7N9. На середину сентября 2019 г. лабораторно подтверждены 1567 случаев заражения людей с 40% летальностью, как при натуральной оспе. Вирус появился в результате реассортации вирусов гриппа А диких птиц. Он был занесен на территорию России дикими птицами с образованием природных очагов инфекции. Затем вирус был доставлен мигрирующими птицами из Азиатской тундры на



**Таблица 4.** Генетические клады вируса гриппа А птиц субтипов H5, H7, H9, H1  
**Table 4.** Genetic clades of subtypes A(H5), A(H7), A(H9), and A(H1) of Influenza virus A

Генетический клайд (подтип) Genetic clade (subtype)	Хозяин (птицы) Host (birds)	Распространение Distribution	Наличие кандидата в вакцинные процедуры Availability of vaccine candidate	
1.	H5N1	Дикие и домашние	Евразия, Африка	+
1.1.	H5N1	Домашние	Юго-Восточная Азия	+
1.1.2.	H5N1	Дикие	Юго-Восточная Азия	+
2.1.1.	H5N1	Домашние	КНР	+
2.1.3.2.	H5N1	Домашние	Юго-Восточная Азия	+
2.1.3.2a	H5N1	Домашние	Юго-Восточная Азия	+
2.2.	H5N1	Дикие, домашние	КНР, РФ, Евразия, Африка	+
2.2.1.	H5N1	Домашние	Африка (Египет), Азия (Турция)	+
2.2.1.1.	H5N1	Домашние	Африка (Египет)	+
2.2.1.2.	H5N1	Дикие и домашние	Евразия, Африка (Египет)	+
2.3.2.1.	H5N1	Дикие	КНР	+
2.3.2.1a	H5N1	Домашние	Индия, КНР, Непал, Бангладеш, РФ	+
2.3.1.1c	H5N1	Домашние	Юго-Восточная Азия, Африка (Камерун)	+
2.3.2.1a	H5N1	Дикие, домашние	Бангладеш*, Индия*, Непал	+
2.3.2.1в			КНР	+
2.3.2.1с	H5N1	Домашние	Юго-Восточная Азия	+
2.3.4.4h	H5N8	Дикие и домашние	КНР*, Лаос, Япония, Вьетнам*, Египет*	+
2.3.4.2.	H5N8	Домашние, дикие	Бангладеш, КНР, Казахстан, Ирак*	+
2.3.4.4a	H5N8	Дикие и домашние	Азия, Европа, Африка, Америка, Польша*	+
2.3.4.4с	H5N2	Дикие и домашние	КНР*, Южная Корея, Вьетнам, Япония, Филиппины	+
2.3.4.4е	H5N2/N8	Домашние	КНР, Камбоджа*, Болгария*, Германия*	–
2.3.4.4.б	H5N8	Дикие, домашние	Чехия*, Грузия, Нидерланды, Черногория, Венгрия*, РФ*	–
7.1.	H7N9	Домашние	Вьетнам	+
7.2.	H7N9/N2	Дикие	КНР, Нидерланды*	+
	H7N4	Домашние	КНР	–
	H9N2	Дикие, домашние	Азия, Африка	+
	H1N2	Домашние (свиньи)	США*, Бразилия*, Германия*	–

\* Циркуляция в 2020 г.  
\* Circulation in 2020.

Тихоокеанское побережье Америки, а впоследствии по миграционным руслам за 2–3 года проник в центральную и восточную части континента [9].

Необходимо заблаговременное изготовление кандидатов вакцинных штаммов для использования при будущих гриппозных пандемиях. К настоящему времени в мире биоинженеры уже сконструировали порядка 20 вакцинных штаммов ко всем известным генетическим кладам вируса H5 и другим зоонозным вирусам гриппа А (табл. 4) [31]. Основные исследования проведены в США, существенный вклад внесли китайские и британские исследователи. В РФ получен только один штамм [32]. Наличие этих штаммов не предотвратит катастрофу, но минимизирует последствия.

Необходима также дальнейшая разработка противовирусных химиопрепаратов с новым механизмом действия. Весьма перспективен, в частности, Балоксавир (Baloxavir Marboxil), разработанный фирмой Roche в 2018 г., блокирующий на ранней стадии репликацию вируса за счет ингибирования эндонуклеазы полимеразного комплекса. Препарат уже зарегистрирован в США, Японии и ряде других стран и необходим в качестве резерва.

Нами была проанализирована ситуация с вирусом рода *Betacoronavirus* (*Coronaviridae: Coronavirinae*)

[33, 34]. Основным природным резервуаром вирусов подсемейства *Coronavirinae* являются летучие мыши (см. табл. 2) [35–42]. Причём сходные с эпидемическими вирусы выделены, помимо Китая, от летучих мышей в Западной Европе [43–45], Америке [46,47], Африке [48, 49].

Взаимная адаптация популяций летучих мышей и коронавирусов могла начаться в третичном периоде кайнозойской эры (110–85 млн лет назад) с последующим формированием подсемейства *Orthocoronavirinae*. В отряд Рукокрылых (*Chiroptera*) входит не менее 16 семейств, 170 родов и около 850 видов, он занимает по числу видов второе место после грызунов. Рукокрылые служат очень важным природным резервуаром для зоонозных вирусов. Накопился огромный популяционный генофонд, позволяющий распространяться представителям этого подсемейства (*Coronavirinae*) среди птиц и млекопитающих, включая людей, хищных, непарноногих, парноногих, грызунов, зайцеобразных, насекомоядных (см. табл. 2). Представители подсемейства *Letovirinae*, адаптированные к земноводным (*Amphibia*), возможно, относятся к реликтовым видам, формирование которых могло начаться в девоне палеозойской эры (около 400 млн лет назад) (см. табл. 1 и 2).

**Таблица 5.** Примеры современного распространения вирусов среди различных представителей эукариотов

**Table 5.** Examples of present distribution of viruses among different representatives of Eukaryotes

семейство family	Вирусы Viruses геном genome	Хозяева Hosts						
		водо- росли <i>Algae</i>	расте- ния <i>Plantae</i>	простей- шие <i>Protozoa</i>	грибы <i>Fungi</i>	животные <i>Animalia</i>		человек Homo
						беспозвоноч- ные <i>Invertebrata</i>	позвоноч- ные <i>Vertebrata</i>	
<i>Endornaviridae</i>	Двунитчатая РНК, 14–18 тыс. н.о. dsRNA, linear, 14–18 kb	+	+	–	+	–	–	–
<i>Reoviridae</i>	Двунитчатая РНК, 9–12 сегментов, 19–32 тыс. н.о. dsRNA, 9–12 segments, 19–32 kb	–	+	+	+	+	+	+
<i>Metaviridae</i>	Однонитчатая РНК(+), линейная, 4–10 тыс. н.о., наличие обратной транскриптазы ssRNA(+), 4–10 kb, presence of reverse transcriptase	–	+	–	+	+	–	–
<i>Pseudoviridae</i>	Однонитчатая РНК(+), линейная, 5–9 тыс. н.о., наличие обратной транскриптазы ssRNA(+), linear, 5–9 kb, presence of reverse transcriptase	+	+	–	+	+	–	–
<i>Rhabdoviridae</i>	Однонитчатая РНК(–), линейная, 11–15 тыс. н.о. ssRNA(–), linear, 11–15 kb	–	+	–	–	+	+	+
<i>Iridoviridae</i>	Двунитчатая ДНК, 140–300 тыс. н.о. dsDNA, linear, 140–300 kb	–	–	–	–	+	+	–
<i>Herpesviridae</i>	Двунитчатая ДНК, линейная, 125–241 тыс. н.о. dsDNA, linear 124–241 kb	–	–	–	–	+	+	+

Возникшая в 2019 г. пандемия, вызванная вирусом SARS-Cov-2, совместными усилиями будет существенно ослаблена. Но нет причин для исчезновения вызвавшего её этиологического агента. Вероятно, SARS-Cov-2, снизив вирулентность, останется циркулировать в популяциях людей в обозримом будущем в качестве сезонного респираторного вируса, наряду с коронавирусами, принадлежащими роду *Alphacoronavirus* (подрод *Duvinacovirus*, HCoV), и другими сезонными респираторными вирусами: семейства *Orthomyxoviridae* (вирусы гриппа A/H1N1pdm2009, A/H3N2, B); семейства *Paramyxoviridae* (*Paramyxovirinae*) рода *Rubulavirus* (HPIV-2,4), рода *Respirovirus* (HPIV-1,3 – вирусы парагриппа человека), рода *Pneumovirus* (HRSV – респираторно-синцитиальный вирус человека), рода *Metapneumovirus* (HMPV – метапневмовирус человека); семейства – *Picornaviridae* рода *Enterovirus* (HEV-D – энтеровирус D человека), 152 серотипа (прежде HRV – риновирус человека); семейства *Adenoviridae* рода *Mastadenovirus*, в который входят 54 серотипа 7 аденовирусов человека (HAdV-A, HAdV-B, HAdV-C, HAdV-D, HAdV-E, HAdV-F, HAdV-G); семейства *Parvoviridae* рода *Bocavirus* (HBV – бокавирус человека) (см. табл. 2). Все сезонные вирусы с респираторной передачей у человека относятся к семействам, представители которых имеют очень широкий круг хозяев, особенно среди млекопитающих (см. табл. 2).

Технология метагеномного секвенирования (или next generation sequencing), основанная на секвени-

ровании совокупной нуклеиновой кислоты и дальнейшем биоинформационном анализе, предоставила новые возможности быстрой идентификации уже изолированных вирусов и для поиска новых вирусов непосредственно в биопробах. Современными методами изучена таксономия 80 зоонозных вирусов, изолированных в результате многолетнего мониторинга в разных экосистемах Северной Евразии. По результатам этой работы показано, что на территории Северной Евразии циркулируют зоонозные вирусы, принадлежащие как минимум к 17 родам и 8 семействам. Проведен филогенетический анализ выделенных штаммов [27]. Современные методы дают возможность анализировать вирусом, т.е. всю совокупность вирусов, ассоциированных с хозяином. Таким образом, метагеномное секвенирование дает возможность быстро идентифицировать новые или дивергентные вирусы, определять возможный источник появления новых зоонозных инфекций, анализировать структуру виroma животных с целью контроля изменений в его структуре, приводящих к появлению новых патогенов, проводить геномный анализ дивергентных штаммов для усовершенствования молекулярных методов диагностики. Современные молекулярно-генетические методы могут служить универсальным инструментом для диагностики вирусных инфекций непосредственно в клинических образцах [9].

Исследования по экологии вирусов, направленные на изучение закономерностей межпопуляционных взаимоотношений между зоонозными вирусами и их

позвоночными хозяевами в различных экосистемах, проводились в СССР с 1970-х гг. Существовала обширная программа, курируемая Всесоюзным центром экологии, НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского [50]. Некоторые направления исследований Центра были сравнимы с деятельностью американской Epidemic Intelligence Service [51–53]. Основными задачами были изучение экологии и эволюции зоонозных вирусов, угрожающих биобезопасности, и анализ их возможностей распространения в рамках климатических поясов и различных ландшафтных зон от Арктики до субтропиков [54, 55]. Структура Всесоюзного центра экологии включала более 20 опорных баз, работавших по единой программе унифицированными методами. Самостоятельным блоком были исследования по птицам в рамках Всесоюзного орнитологического комитета, курируемого Институтом биологии РАН и Институтом вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН [56]. Близкие по задачам исследования за рубежом проводились в виде обширной программы по изучению птиц Азии [57]. Другим специфическим направлением было изучение особенностей циркуляции вирусов в высоких широтах, причем было установлено циркумполярное распространение ряда уникальных зоонозных вирусов [58]. Была реализована отдельная программа по экологии вирусов гриппа в природных экосистемах и при появлении нового пандемического вируса A/H1N1pdm2009 [25–28].

Приведём примеры распространения вирусов среди разных представителей эукариотов (табл. 5) [60]. По крайней мере, представителям семейств *Reoviridae* и *Rhabdoviridae* удалось в результате длительной эволюции присоединить к числу хозяев простейших, растения и других эукариотов, включая человека.

Филогенетический анализ выявляет связи семейств *Iridoviridae* и *Ascoviridae* (вирусы насекомых *Lepidoptera*), *Mimiviridae* (вирусы простейших) и *Poxviridae*; у семейства *Herpesviridae* с *Myoviridae* (вирусы архей и бактерий). Можно предположить переход вирусов *Adenoviridae* от пресмыкающихся к птицам и парнопытным. У представителей семейства *Reoviridae* некоторое сходство обнаружено с *Totyviviridae* (вирусы вызывают латентную инфекцию грибов и простейших) и *Cystoviridae* (вирусы патогенных для растений бактерий). В семействе *Reoviridae* наиболее древними были вирусы морских простейших (*Mimoreovirus*), рыб (*Aquareovirus*), растений (*Orizavirus*, *Fijivirus*) и насекомых-переносчиков (*Idnareovirus*, *Dinovernavirus*, *Phytoreovirus*), грибов (*Mycoreovirus*) [59]. Существенно позднее сформировались вирусы позвоночных – птиц, млекопитающих (включая человека) при наличии членистоногих переносчиков (*Coltivirus*, *Orbivirus*, *Seadornavirus*) или, при их отсутствии, с респираторным и алиментарным путями передачи (*Orthoreovirus*, *Rotavirus*), что заняло не менее 550 млн лет (см. табл. 1).

Приведенные примеры указывают на зависимость формирования популяционного генофонда вирусов от эволюции их хозяев, что, в свою очередь, определяется изменчивостью среды обитания (геологические катаклизмы, состояние Мирового океана и атмосфе-

ры, климата и т. д.). При трантаксонном переходе вирусов популяционный генофонд, в частности, обеспечивал изменение путей заражения от контактного (у архей, бактерий, водорослей, грибов, простейших) к трансмиссивному через членистоногих (у растений и позвоночных), фекально-оральному (позвоночные, человек), респираторному (человек).

Процесс появления новых вирусных инфекций человека определяется высокой генетической изменчивостью вирусов и экологическими особенностями их природного резервуара [60]. Основным механизмом адаптации вирусов к человеку связан с рекомбинациями и мутациями в определенных регионах вирусного генома. Молекулярные факторы патогенности вирусов могут включать гены рецептор-связывающих белков, репликативного комплекса и другие регионы. Однако, как именно происходит появление и отбор таких вариантов на популяционном уровне, остается недостаточно изученным. Неизвестно, какие именно рецепторы используют вирусы в природных биомах и какую роль в преодолении межтаксонного барьера играет промежуточный хозяин.

Описание вирусного разнообразия в природных биомах и изучение эволюционных процессов, приводящих к появлению новых вирусных инфекций, являются актуальными фундаментальными задачами и имеют серьёзное прикладное значение в контроле появления новых и возвращающихся вирусных инфекций и минимизации последствий их появления. Очевидно, что чрезвычайные эпидемические ситуации, значительно более серьёзные, чем COVID-19, будут возникать и в обозримом будущем. Это требует объединения усилий, желательно на международном уровне, направленных на минимизацию последствий возникающих катаклизмов. Для этого необходимо проведение постоянного мониторинга популяционных генофондов потенциально опасных вирусов, прежде всего способных к респираторной передаче.

## Литература

1. Львов Д.К. Рождение и развитие вирусологии – история изучения новых и возвращающихся инфекций. *Вопросы вирусологии*. 2012; (S1): 5–20.
2. Жданов В.М., Львов Д.К. *Эволюция возбудителей инфекционных болезней*. М.: Медицина; 1984.
3. Львов Д.К. Экология вирусов. *Вестник Академии медицинских наук СССР*. 1983; (12): 71–82.
4. Бухарин О.В., Литвин В.Ю. *Патогенные бактерии в природных экосистемах*. Екатеринбург; 1997.
5. Suarez D.L. Influenza A Virus. In: *Avian Influenza*. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.; 2009: 1–22. <https://doi.org/10.1002/9780813818634.ch1>
6. Shchelkunov S.N. How long ago did smallpox virus emerge? *Arch. Virol.* 2009; 154(12): 1885–71. <https://doi.org/10.1007/s00705-009-0536-0>
7. Щелкунов С.Н. Возможен ли возврат оспы. *Молекулярная медицина*. 2011; (4): 36–41.
8. Зверев В.В., Гинцбург А.Л., Пальцев А.М., Львов Д.К., Маренникова С.С. Натуральная оспа – дремлющий вулкан. *Вопросы вирусологии*. 2008; 53(4): 1–9.
9. Львов Д.К., Борисевич С.В., Альховский С.В., Бурцева Е.И. Актуальные подходы анализа вирусных геномов в интересах биобезопасности. *Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение*. 2019; (8): 96–101. <https://doi.org/10.24411/2305-3496-2019-00001>

10. Щелкунов С.Н., Щелкунова Г.А. Нужно быть готовыми к возврату оспы. *Вопросы вирусологии*. 2019; 64(5): 206–14. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2019-64-5-206-214>
11. Meltzer M., Damon I., LeDuc J.W., Millar J.D. Modeling potential responses to smallpox as a bioterrorist weapon. *Emerg. Infect. Dis.* 2001; 7(6): 959–69. <https://doi.org/10.3201/eid0706.010607>
12. Борисевич С.В., Маренникова С.С., Стова Л.Ф., Петров А.А., Кратков В.Т., Мехлай А.А. Оспа буйволов. *Вопросы вирусологии*. 2016; 61(5): 200–4. <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2016-61-5-200-204>
13. Di Giulio D.B., Eckburg P.V. Human monkeypox: an emerging zoonosis. *Lancet Infect. Dis.* 2004; 4(4): 15–25. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(03\)00856-9](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(03)00856-9)
14. Formenty P., Muntasir M.O., Damon I., Chowdhary V., Opoka M.L., Monimart C., et al. Human monkeypox outbreak caused by novel virus belonging to Congo Basin clade, Sudan, 2005. *Emerg. Infect. Dis.* 2010; 16(10): 1539–45. <https://doi.org/10.3201/eid1610.100713>
15. Rimoin A.W., Mulembakani P.M., Johnston S.C., Lloyd Smith J.O., Kitalu N.K., Kinkela T.L., et al. Major increase in human monkeypox incidence 30 years after smallpox vaccination campaigns cease in the Democratic Republic of Congo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010; 107(37): 16262–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.1005769107>
16. Khodakevich L., Szczeniowski M., Manbu-ma-Disu, Jezek Z., Marennikova S., Nakano J., et al. The role of squirrels in sustaining monkeypox virus transmission. *Trop. Geogr. Med.* 1987; 39(2): 115–22.
17. Ladnyj I.D., Ziegler P., Kima E. A human infection caused by monkeypox virus in Basankusu Territory, Democratic Republic of the Congo. *Bull. World Health Organ.* 1972; 46(5): 593–7.
18. Levine R.S., Peterson A.T., Yorita K.L., Carroll D., Damon I.K., Reynolds M.G. Ecological niche and geographic distribution of human monkeypox in Africa. *PLoS One.* 2007; 2(1): e176. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000176>
19. Nakazawa Y., Emerson G.L., Carroll D.S., Zhao H., Li Y., Reynolds M.G., et al. Phylogenetic and ecologic perspectives of a monkeypox outbreak, southern Sudan, 2005. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(2): 237–45. <https://doi.org/10.3201/eid1902.121220>
20. Tesh R.B., Watts D.M., Sbrana E., Siirin M., Popov V.L., Xiao S.Y. Experimental infection of ground squirrels (*Spermophilus tridecemlineatus*) with monkeypox virus. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(9): 1563–7. <https://doi.org/10.3201/eid1009.040310>
21. Guarner J., Johnson B.J., Paddock C.D., Shieh W.J., Goldsmith C.S., Reynolds M.G., et al. Monkeypox transmission and pathogenesis in prairie dogs. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(3): 426–31. <https://doi.org/10.3201/eid1003.030878>
22. Львов Д.К., Громашевский В.Л., Маренникова С.С. и др. Изоляция поксвируса (Poxviridae, Poxvirus) от полевки-экономки *Microtus (M.) oeconomus* Pall., 1778 в лесотундре Кольского полуострова. *Вопросы вирусологии*. 1998; 43(1): 24–92.
23. Emerson G.L., Li Y., Frace M.A., Olsen-Rasmussen M.A., Kristova M.L., Govil D., et al. The phylogenetics and ecology of the orthopoxviruses endemic to North America. *PLoS One.* 2009; 4(10): e7666. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007666>
24. Foege W.H. *House on fire: the fight to eradicate smallpox. Volume 21.* California; 2011: 1–218.
25. Львов Д.К. Грипп и другие новые и возвращающиеся инфекции Северной Евразии: глобальные последствия. *Федеральный справочник здравоохранения России*. 2010; (11): 209–19.
26. Klenk K.D., Matrosovich M.H., Stech J., eds. *Avian Influenza. Volume 27.* Basel: Karger Medical and Scientific Publishers; 2008.
27. Lvov D.K., Shchelkanov M.Y., Alkhovsky S.V., Deryabin P.G. *Zoonotic viruses of Northern Eurasia: Taxonomy and ecology.* London: Academic Press Elsevier; 2015.
28. Lvov D.K., Shchelkanov M.Y., Prilipov A.G., Vlasov N.A., Fedyakina I.T., Deryabin P.G., et al. Evolution of highly pathogenic avian influenza H5N1 virus in natural ecosystems of northern Eurasia (2005–08). *Avian Dis.* 2010; 54(1 Suppl.): 483–95. <https://doi.org/10.1637/8893-042509-review.1>
29. Herfst S., Schrauwen E.J., Linster M., Chutinimitkul S., de Wit E., Munster V.J., et al. Airborne transmission of influenza A/H5N1 virus between ferrets. *Science.* 2012; 336(6088): 1534–41. <https://doi.org/10.1126/science.1213362>
30. Imai M., Watanabe T., Hatta M., Das S.C., Ozawa M., Shinya K., et al. Experimental adaptation of an influenza H5 HA confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets. *Nature.* 2012; 486(7403): 420–8. <https://doi.org/10.1038/nature10831>
31. WHO. Antigenic and genetic characteristics of zoonotic influenza viruses and development of candidate vaccine viruses for pandemic preparedness 28 Available at: [https://www.who.int/influenza/vaccines/virus/characteristics\\_virus\\_vaccines/en/](https://www.who.int/influenza/vaccines/virus/characteristics_virus_vaccines/en/)
32. Львов Д.К., Алипер Т.И., Дерябин П.Г., Забережный А.Д., Гребенникова Т.В., Сергеев В.А. Вакцина против гриппа птиц инактивированная эмульгированная ФЛУ ПРОТЕКТ Н5 и способ профилактики гриппа птиц. Патент РФ №23503350; 2009.
33. Львов Д.К., Альховский С.В., Колобухина Л.В., Бурцева Е.И. Этиология эпидемической вспышки COVID-19 в г. Ухань (провинция Хубэй, Китайская Народная Республика), ассоциированной с вирусом 2019-nCoV (Nidovirales, Coronaviridae, Coronavirinae, Betacoronavirus, подрод Sarbecovirus): уроки эпидемии SARS-CoV. *Вопросы вирусологии*. 2020; 65(1): 6–16. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-1-6-15>
34. Львов Д.К., Альховский С.В. Истоки пандемии COVID-19: экология и генетика коронавируса (Betacoronavirus: Coronaviridae) SARS-CoV, SARS-CoV-2 (подрод Sarbecovirus), MERS-CoV (подрод Merbecovirus). *Вопросы вирусологии*. 2020; 65(2): 62–70. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-2-62-70>
35. Li W., Shi Z., Yu M., Ren W., Smith C., Epstein J.H., et al. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science.* 2005; 310(5748): 676–9. <https://doi.org/10.1126/science.1118391>
36. Fan Y., Zhao K., Shi Z.L., Zhou P. Bat coronaviruses in China. *Viruses.* 2019; 11(3): 210. <https://doi.org/10.3390/v11030210>
37. Wang L.F., Shi Z., Zhang S., Field H., Daszak P., Eaton B.T. Review of bats and SARS. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(12): 1834–40. <https://doi.org/10.3201/eid1212.060401>
38. Hu B., Zeng L.P., Lou Y.X., Ge X.Y., Zhang W., Li B., et al. Discovery of a rich gene pool of bat SARS-related coronaviruses provides new insights into the origin of SARS coronavirus. *PLoS Pathog.* 2017; 13(11): e1006698. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006698>
39. Ge X.Y., Wang N., Zhang W., Hu B., Li B., Zhang Y.Z., et al. Co-existence of multiple coronaviruses in several bat colonies in an abandoned mineshaft. *Virology.* 2016; 51(1): 31–40. <https://doi.org/10.1007/s12250-016-3713-9>
40. Corman V.M., Ithete N.L., Richards L.R., Schoeman M.C., Preiser W., Drosten C., et al. Rooting the phylogenetic tree of middle east respiratory syndrome coronavirus by characterization of a conspecific virus from an african bat. *J. Virol.* 2014; 88(19): 11297–303. <https://doi.org/10.1128/jvi.01498-14>
41. Yang L., Wu Z., Ren X., Yang F., Zhang J., He G., et al. MERS-Related Betacoronavirus in *Vespertilio superans* Bats, China. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20(7): 1260–2. <https://doi.org/10.3201/eid2007.140318>
42. Zhou P., Yang X.L., Wang X.G., Hu B., Zhang L., Zhang W., et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature.* 2020; 579(7798): 270–3. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>
43. Rihtharič D., Hostnik P., Steyer A., Grom J., Toplak I. Identification of SARS-like coronaviruses in horseshoe bats (*Rhinolophus hipposideros*) in Slovenia. *Arch. Virol.* 2010; 155(7798): 507–14. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>
44. Ar Gouilh M., Puechmaille S.J., Diancourt L., Vandenbogaert M., Serra-Cobo J., Lopez Roig M., et al. SARS-CoV related Betacoronavirus and diverse Alphacoronavirus members found in western old-world. *Virology.* 2018; 517: 88–97. <https://doi.org/10.1016/j.viro.2018.01.014>
45. Balboni A., Palladini A., Bogliani G., Battilani M. Detection of a virus related to betacoronaviruses in Italian greater horseshoe bats. *Epidemiol. Infect.* 2011; 139(2): 216–9. <https://doi.org/10.1017/s0950268810001147>
46. Donaldson E.F., Haskew A.N., Gates J.E., Huynh J., Moore C.J., Frieman M.B. Metagenomic analysis of the viromes of three North American bat species: viral diversity among different bat species that share a common habitat. *J. Virol.* 2010; 84(24): 13004–18. <https://doi.org/10.1128/jvi.01255-10>
47. Dominguez S.R., O'Shea T.J., Oko L.M., Holmes K.V. Detection of group 1 coronaviruses in bats in North America. *Emerg. Infect. Dis.* 2007; 13(9): 1295–300. <https://doi.org/10.3201/eid1309.070491>
48. Tong S., Conrardy C., Ruone S., Kuzmin I.V., Guo X., Tao Y., et al. Detection of novel SARS-like and other coronaviruses in bats

- from Kenya. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15(3): 482–5. <https://doi.org/10.3201/eid1503.081013>
49. Annan A., Baldwin H.J., Corman V.M., Klose S.M., Owusu M., Nkrumah E.E., et al. Human betacoronavirus 2c EMC/2012-related viruses in bats, Ghana and Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(3): 456–9. <https://doi.org/10.3201/eid1903.121503>
  50. Львов Д.К., ред. Методические рекомендации. Организация эколого-эпидемиологического мониторинга территорий Российской Федерации с целью противоэпидемической защиты населения и войск. М.; 1993.
  51. Goodman R.A., Bauman C.F., Gregg M.B., Videtto J.F., Stroup D.F., Chalmers N.P. Epidemiologic field investigations by the Centers for Disease control and Epidemic Intelligence Service, 1946–87. *Public Heal. Rep.* 1990; 105(6): 604–10.
  52. Langmuir A.D. The epidemic intelligence service of the center for disease control. *Public Heal. Rep.* 1980; 95(5): 470–7.
  53. Langmuir A.D., Andrews J.M. Biological warfare defense. 2. The epidemic intelligence service of the communicable disease center. *Am. J. Public Heal. Nations Heal.* 1952; 42(3): 235–8. <https://doi.org/10.2105/ajph.42.3.235>
  54. Львов Д.К., Дерябин П.Г., Аристова В.А., Бутенко А.М., Галкина И.В., Громашевский В.Л. и др. *Атлас распространения возбудителей природно-очаговых вирусных инфекций на территории Российской Федерации.* М.; 2001.
  55. Lvov D.K. Ecological sounding of the USSR territory for natural foci of arboviruses. *Sov. Med. Rev. Ser. E Virol. Rev.* 1993; 3(5): 1–47.
  56. Львов Д.К., Ильичев В.Д. *Миграция птиц и перенос возбудителей инфекции.* М.: Наука; 1979.
  57. McClure H.E. *Migration and survival of the birds of Asia.* Bangkok; 1974.
  58. Lvov S.D. Natural virus foci in high latitudes of Eurasia. *Sov. Med. Rev. Ser. E Virol. Rev.* 1993; 3(5): 137–85.
  59. King A.M.Q., Adams M., Carsters E.B., Lefkowitz E., eds. *Virus taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* London-Waltham, MA: Academic Press; 2012.
  60. Daszak P., Cunningham A.A., Hyatt A.D. Emerging infectious diseases of wildlife – threats to biodiversity and human health. *Science.* 2000; 287(5452): 443–9. <https://doi.org/10.1126/science.287.5452.443>
  61. Sanfaçon H., Gorbalenya A.E., Knowles N.J., Chen Y.P. Order Picornavirales. In: King A.M.Q., Adams M., Carsters E.B., Lefkowitz E., eds. *Virus taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* London-Waltham, MA: Academic Press; 2012: 835–9.
  62. Lang A.S., Culley A.I., Suttle C.A. Genome sequence and characterization of a virus (HaRNAV) related to picorna-like viruses that infects the marine toxic bloom-forming alga *Heterosigma akashiwo*. *Virology.* 2003; 310: 359–71. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2003.10.015>
  63. Easton A.J., Pringle C.R. Order mononegavirales. In: King A.M.Q., Adams M., Carsters E.B., Lefkowitz E., eds. *Virus taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* London-Waltham, MA: Academic Press; 2012: 653–7.
- ### References
1. L'vov D.K. Birth and development of virology – the history of emerging-reemerging viral infection investigation. *Voprosy virusologii.* 2012; (S1): 5–20. (in Russian)
  2. Zhdanov V.M., L'vov D.K. *Evolution of Agents of Infectious Diseases [Evolyutsiya vzbuditeley infektsionnykh bolezney].* Moscow: Meditsina; 1984. (in Russian)
  3. L'vov D.K. Ecology of viruses. *Vestnik Akademii meditsinskikh nauk SSSR.* 1983; (12): 71–82. (in Russian)
  4. Bukharin O.V., Litvin V.Yu. *Pathogenic Bacterias in Natural Ecosystems [Patogennyye bakterii v prirodnykh ekosistemakh].* Ekaterinburg; 1997. (in Russian)
  5. Suarez D.L. Influenza A Virus. In: *Avian Influenza.* Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.; 2009: 1–22. <https://doi.org/10.1002/9780813818634.ch1>
  6. Shchelkunov S.N. How long ago did smallpox virus emerge? *Arch. Virol.* 2009; 154(12): 1885–71. <https://doi.org/10.1007/s00705-009-0536-0>
  7. Shchelkunov S.N. Whether re-emergence of smallpox could be? *Molekulyarnaya meditsina.* 2011; (4): 36–41. (in Russian)
  8. Zverev V.V., Gintsburg A.L., Pal'tsev A.M., L'vov D.K., Marennikova S.S. Smallpox is a dormant volcano. *Voprosy virusologii.* 2008; 53(4): 1–9. (in Russian)
  9. L'vov D.K., Borisevich S.V., Al'khovskiy S.V., Burtseva E.I. Relevant approaches to analysis of viral genomes for biosafety. *Infektsionnye bolezni: Novosti. Mneniya. Obuchenie.* 2019; (8): 96–101. <https://doi.org/10.24411/2305-3496-2019-00001> (in Russian)
  10. Shchelkunov S.N., Shchelkunova G.A. We should be prepared to smallpox re-emergence. *Voprosy virusologii.* 2019; 64(5): 206–14. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2019-64-5-206-214> (in Russian)
  11. Meltzer M., Damon I., LeDuc J.W., Millar J.D. Modeling potential responses to smallpox as a bioterrorist weapon. *Emerg. Infect. Dis.* 2001; 7(6): 959–69. <https://doi.org/10.3201/eid0706.010607>
  12. Borisevich S.V., Marennikova S.S., Stovba L.F., Petrov A.A., Kratkov V.T., Mekhlay A.A. Buffalo-pox. *Voprosy virusologii.* 2016; 61(5): 200–4. <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2016-61-5-200-204> (in Russian)
  13. Di Giulio D.B., Eckburg P.B. Human monkeypox: an emerging zoonosis. *Lancet Infect. Dis.* 2004; 4(4): 15–25. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(03\)00856-9](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(03)00856-9)
  14. Formenty P., Muntasir M.O., Damon I., Chowdhary V., Opoka M.L., Monimart C., et al. Human monkeypox outbreak caused by novel virus belonging to Congo Basin clade, Sudan, 2005. *Emerg. Infect. Dis.* 2010; 16(10): 1539–45. <https://doi.org/10.3201/eid1610.100713>
  15. Rimoin A.W., Mulembakani P.M., Johnston S.C., Lloyd Smith J.O., Kisalu N.K., Kinkela T.L., et al. Major increase in human monkeypox incidence 30 years after smallpox vaccination campaigns cease in the Democratic Republic of Congo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010; 107(37): 16262–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.1005769107>
  16. Khodakevich L., Szczeniowski M., Manbu-ma-Disu, Jezek Z., Marennikova S., Nakano J., et al. The role of squirrels in sustaining monkeypox virus transmission. *Trop. Geogr. Med.* 1987; 39(2): 115–22.
  17. Ladnyj I.D., Ziegler P., Kima E. A human infection caused by monkeypox virus in Basankusu Territory, Democratic Republic of the Congo. *Bull. World Health Organ.* 1972; 46(5): 593–7.
  18. Levine R.S., Peterson A.T., Yorita K.L., Carroll D., Damon I.K., Reynolds M.G. Ecological niche and geographic distribution of human monkeypox in Africa. *PLoS One.* 2007; 2(1): e176. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000176>
  19. Nakazawa Y., Emerson G.L., Carroll D.S., Zhao H., Li Y., Reynolds M.G., et al. Phylogenetic and ecologic perspectives of a monkeypox outbreak, southern Sudan, 2005. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(2): 237–45. <https://doi.org/10.3201/eid1902.121220>
  20. Tesh R.B., Watts D.M., Sbrana E., Siirin M., Popov V.L., Xiao S.Y. Experimental infection of ground squirrels (*Spermophilus tridecemlineatus*) with monkeypox virus. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(9): 1563–7. <https://doi.org/10.3201/eid1009.040310>
  21. Guarnier J., Johnson B.J., Paddock C.D., Shieh W.J., Goldsmith C.S., Reynolds M.G., et al. Monkeypox transmission and pathogenesis in prairie dogs. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(3): 426–31. <https://doi.org/10.3201/eid1003.030878>
  22. L'vov D.K., Gromashevskiy V.L., Marennikova S.S., et al. Isolation of Poxvirus (Poxviridae, Poxvirus) from vole *Microtus (M.) oeconomus* Pall., 1778 in forest-tundra of Cola peninsula. *Voprosy virusologii.* 1998; 43(1): 24–92. (in Russian)
  23. Emerson G.L., Li Y., Frace M.A., Olsen-Rasmussen M.A., Khristova M.L., Govil D., et al. The phylogenetics and ecology of the orthopoxviruses endemic to North America. *PLoS One.* 2009; 4(10): e7666. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007666>
  24. Foege W.H. *House on fire: the fight to eradicate smallpox.* Volume 21. California; 2011: 1–218.
  25. L'vov D.K. Influenza and other new and recurrent infections of Northern Eurasia: global implications. *Federal'nyy spravochnik zdravookhraneniya Rossii.* 2010; (11): 209–19. (in Russian)
  26. Klenk K.D., Matrosovich M.H., Stech J., eds. *Avian Influenza. Volume 27.* Basel: Karger Medical and Scientific Publishers; 2008.
  27. Lvov D.K., Shchelkanov M.Y., Alkhovskiy S.V., Deryabin P.G. *Zoonotic viruses of Northern Eurasia: Taxonomy and ecology.* London: Academic Press Elsevier; 2015.
  28. Lvov D.K., Shchelkanov M.Y., Prilipov A.G., Vlasov N.A., Fedyakina I.T., Deryabin P.G., et al. Evolution of highly pathogenic

- avian influenza H5N1 virus in natural ecosystems of northern Eurasia (2005-08). *Avian Dis.* 2010; 54(1 Suppl.): 483–95. <https://doi.org/10.1637/8893-042509-review.1>
29. Herfst S., Schrauwen E.J., Linster M., Chutinimitkul S., de Wit E., Munster V.J., et al. Airborne transmission of influenza A/H5N1 virus between ferrets. *Science.* 2012; 336(6088): 1534–41. <https://doi.org/10.1126/science.1213362>
  30. Imai M., Watanabe T., Hatta M., Das S.C., Ozawa M., Shinya K., et al. Experimental adaptation of an influenza H5 HA confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets. *Nature.* 2012; 486(7403): 420–8. <https://doi.org/10.1038/nature10831>
  31. WHO. Antigenic and genetic characteristics of zoonotic influenza viruses and development of candidate vaccine viruses for pandemic preparedness 28 Available at: [https://www.who.int/influenza/vaccines/virus/characteristics\\_virus\\_vaccines/en/](https://www.who.int/influenza/vaccines/virus/characteristics_virus_vaccines/en/)
  32. L'vov D.K., Aliper T.I., Deryabin P.G., Zaberezhnyy A.D., Grebennikova T.V., Sergeev V.A. Vaccine against birds flu, inactivated and emulgated FLU PROTECT H5 and method of prevention of bird flu. Patent RF №23503350; 2009. (in Russian)
  33. L'vov D.K., Al'khovskiy S.V., Kolobukhina L.V., Burtseva E.I. Etiology of epidemic outbreaks Covid-19 in Wuhan, Hubei province, People's Republic of China associated with 2019-NCoV (Nidovirales, Coronaviridae, Coronavirinae, Betacoronavirus, subgenus Sarbecovirus): lessons of SARS-Cov outbreak. *Voprosy virusologii.* 2020; 65(1): 6–16. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-1-6-15> (in Russian)
  34. L'vov D.K., Al'khovskiy S.V. Source of the COVID-19 pandemic: ecology and genetics of coronaviruses (Betacoronavirus: Coronaviridae) SARS-CoV, SARS-CoV-2 (subgenus Sarbecovirus), and MERS-CoV (subgenus Merbecovirus). *Voprosy virusologii.* 2020; 65(2): 62–70. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-2-62-70> (in Russian)
  35. Li W., Shi Z., Yu M., Ren W., Smith C., Epstein J.H., et al. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science.* 2005; 310(5748): 676–9. <https://doi.org/10.1126/science.1118391>
  36. Fan Y., Zhao K., Shi Z.L., Zhou P. Bat coronaviruses in China. *Virus.* 2019; 11(3): 210. <https://doi.org/10.3390/v11030210>
  37. Wang L.F., Shi Z., Zhang S., Field H., Daszak P., Eaton B.T. Review of bats and SARS. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(12): 1834–40. <https://doi.org/10.3201/eid1212.060401>
  38. Hu B., Zeng L.P., Lou Y.X., Ge X.Y., Zhang W., Li B., et al. Discovery of a rich gene pool of bat SARS-related coronaviruses provides new insights into the origin of SARS coronavirus. *PLoS Pathog.* 2017; 13(11): e1006698. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006698>
  39. Ge X.Y., Wang N., Zhang W., Hu B., Li B., Zhang Y.Z., et al. Co-existence of multiple coronaviruses in several bat colonies in an abandoned mineshaft. *Virology.* 2016; 51(1): 31–40. <https://doi.org/10.1007/s12250-016-3713-9>
  40. Corman V.M., Ithete N.L., Richards L.R., Schoeman M.C., Preiser W., Drosten C., et al. Rooting the phylogenetic tree of middle east respiratory syndrome coronavirus by characterization of a conspecific virus from an african bat. *J. Virol.* 2014; 88(19): 11297–303. <https://doi.org/10.1128/jvi.01498-14>
  41. Yang L., Wu Z., Ren X., Yang F., Zhang J., He G., et al. MERS-Related Betacoronavirus in *Vespertilio superans* Bats, China. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20(7): 1260–2. <https://doi.org/10.3201/eid2007.140318>
  42. Zhou P., Yang X.L., Wang X.G., Hu B., Zhang L., Zhang W., et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature.* 2020; 579(7798): 270–3. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>
  43. Rihtarič D., Hostnik P., Steyer A., Grom J., Toplak I. Identification of SARS-like coronaviruses in horseshoe bats (*Rhinolophus hipposideros*) in Slovenia. *Arch. Virol.* 2010; 155(7798): 507–14. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>
  44. Ar Gouilh M., Puechmaile S.J., Diancourt L., Vandenbogaert M., Serra-Cobo J., Lopez Roig M., et al. SARS-CoV related Betacoronavirus and diverse Alphacoronavirus members found in western old-world. *Virology.* 2018; 517: 88–97. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2018.01.014>
  45. Balboni A., Palladini A., Bogliani G., Battilani M. Detection of a virus related to betacoronaviruses in Italian greater horseshoe bats. *Epidemiol. Infect.* 2011; 139(2): 216–9. <https://doi.org/10.1017/S0950268810001147>
  46. Donaldson E.F., Haskew A.N., Gates J.E., Huynh J., Moore C.J., Frieman M.B. Metagenomic analysis of the viromes of three North American bat species: viral diversity among different bat species that share a common habitat. *J. Virol.* 2010; 84(24): 13004–18. <https://doi.org/10.1128/jvi.01255-10>
  47. Dominguez S.R., O'Shea T.J., Oko L.M., Holmes K.V. Detection of group 1 coronaviruses in bats in North America. *Emerg. Infect. Dis.* 2007; 13(9): 1295–300. <https://doi.org/10.3201/eid1309.070491>
  48. Tong S., Conrardy C., Ruone S., Kuzmin I.V., Guo X., Tao Y., et al. Detection of novel SARS-like and other coronaviruses in bats from Kenya. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15(3): 482–5. <https://doi.org/10.3201/eid1503.081013>
  49. Annan A., Baldwin H.J., Corman V.M., Klose S.M., Owusu M., Nkrumah E.E., et al. Human betacoronavirus 2c EMC/2012-related viruses in bats, Ghana and Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(3): 456–9. <https://doi.org/10.3201/eid1903.121503>
  50. L'vov D.K., ed. *Organization of Ecological-Epidemiological Monitoring in Russian Federation for Anti-Epidemic Defense of the Civilians and Army [Metodicheskie rekomendatsii. Organizatsiya ekologo-epidemiologicheskogo monitoringa territoriy Rossiyskoy Federatsii s tsel'yu protivoepidemicheskoy zashchity naseleniya i voyskj].* Moscow; 1993. (in Russian)
  51. Goodman R.A., Bauman C.F., Gregg M.B., Videtto J.F., Stroup D.F., Chalmers N.P. Epidemiologic field investigations by the Centers for Disease control and Epidemic Intelligence Service, 1946–87. *Public Heal. Rep.* 1990; 105(6): 604–10.
  52. Langmuir A.D. The epidemic intelligence service of the center for disease control. *Public Heal. Rep.* 1980; 95(5): 470–7.
  53. Langmuir A.D., Andrews J.M. Biological warfare defense. 2. The epidemic intelligence service of the communicable disease center. *Am. J. Public Heal. Nations Heal.* 1952; 42(3): 235–8. <https://doi.org/10.2105/ajph.42.3.235>
  54. L'vov D.K., Deryabin P.G., Aristova V.A., Butenko A.M., Galkina I.V., Gromashevskiy V.L., et al. *Atlas of Distribution of Natural Foci Virus Infections on the Territory of Russian Federation [Atlas rasprostraneniya vozбудiteley prirodno-ochagovykh virusnykh infektsiy na territorii Rossiyskoy Federatsii].* Moscow; 2001. (in Russian)
  55. Lvov D.K. Ecological sounding of the USSR territory for natural foci of arboviruses. *Sov. Med. Rev. Ser. E Virol. Rev.* 1993; 3(5): 1–47.
  56. L'vov D.K., Il'ichev V.D. *Migration of Birds and the Transfer of the Infectious Agents [Migratsiya ptits i perenos vozбудiteley infektsii].* Moscow: Nauka; 1979. (in Russian)
  57. McClure H.E. *Migration and survival of the birds of Asia.* Bangkok; 1974.
  58. Lvov S.D. Natural virus foci in high latitudes of Eurasia. *Sov. Med. Rev. Ser. E Virol. Rev.* 1993; 3(5): 137–85.
  59. Daszak P., Cunningham A.A., Hyatt A.D. Emerging infectious diseases of wildlife – threats to biodiversity and human health. *Science.* 2000; 287(5452): 443–9. <https://doi.org/10.1126/science.287.5452.443>
  60. King A.M.Q., Adams M., Carsters E.B., Lefkowitz E., eds. *Virus taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* London-Waltham, MA: Academic Press; 2012.
  61. Sanfaçon H., Gorbalenya A.E., Knowles N.J., Chen Y.P. Order Picornavirales. In: King A.M.Q., Adams M., Carsters E.B., Lefkowitz E., eds. *Virus taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* London-Waltham, MA: Academic Press; 2012: 835–9.
  62. Lang A.S., Culley A.I., Suttle C.A. Genome sequence and characterization of a virus (HaRNAV) related to picorna-like viruses that infects the marine toxic bloom-forming alga *Heterosigma akashiwo*. *Virology.* 2003; 310: 359–71. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2003.10.015>
  63. Easton A.J., Pringle C.R. Order mononegavirales. In: King A.M.Q., Adams M., Carsters E.B., Lefkowitz E., eds. *Virus taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* London-Waltham, MA: Academic Press; 2012: 653–7.

## ОБЗОРЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020



### Обзор законодательства в области обращения персонализированных препаратов бактериофагов

Ландышев Н.Н.<sup>1</sup>, Воронько Я.Г.<sup>1</sup>, Тимошина О.Ю.<sup>2,3</sup>, Суслина С.Н.<sup>1</sup>, Акимкин В.Г.<sup>3</sup>,  
Мирошников К.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Медицинский институт, 117198, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН», 117997, Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, 111123, Москва, Россия

Наблюдаемая во всем мире тенденция распространения устойчивости патогенных микроорганизмов к антибиотикам диктует необходимость поиска альтернативных решений для лечения и контроля бактериальных инфекций. Одним из перспективных решений считается фаготерапия – использование бактериофагов, вирусов бактерий, которые в процессе цикла размножения уничтожают клетки хозяев. Одна из особенностей бактериофагов, одновременно являющаяся и достоинством, и недостатком терапевтического подхода, – их высокая специфичность в отношении бактериальных хозяев. В большинстве случаев инфекционный диапазон бактериофагов ограничен таксономическим видом или даже группой штаммов внутри вида бактерий. Наиболее перспективным вариантом фаготерапии является изготовление персонализированных препаратов из набора индивидуальных охарактеризованных фагов. Регистрация препаратов с варибельным составом выходит за рамки стандартизированных процедур регуляторных органов. В настоящем обзоре был проведен анализ текущих законодательных норм фармацевтического рынка стран, занимающих первые 10 позиций по валовому внутреннему продукту, с точки зрения регистрации фаговых препаратов. Также нами были обозначены процедуры, которые эти страны могут внедрить в фаготерапии в повседневную практику.

**Ключевые слова:** бактериофаги; обращение лекарственных средств; регистрация лекарственных средств; персонализированная фаготерапия; обзор.

**Для цитирования:** Ландышев Н.Н., Воронько Я.Г., Тимошина О.Ю., Суслина С.Н., Акимкин В.Г., Мирошников К.А. Обзор законодательства в области обращения персонализированных препаратов бактериофагов. *Вопросы вирусологии*. 2020; 65(5): 259-266. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-5-2>

**Для корреспонденции:** Мирошников Константин Анатольевич, доктор химических наук, главный научный сотрудник, зав. лабораторией молекулярной биоинженерии ФГБУН «Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН», 117997, Москва. E-mail: [kmi@ibch.ru](mailto:kmi@ibch.ru), [kmi@bk.ru](mailto:kmi@bk.ru)

**Участие авторов:** все авторы в равной мере участвовали в выработке концепции обзорной статьи и её написании.  
**Финансирование.** Работа Тимошиной О.Ю. поддержана грантом РФФИ №19-34-90034. Другие авторы не имели целевого финансирования.

**Конфликт интересов:** Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила 05.08.2020  
Принята в печать 01.09.2020

### A review of the regulatory framework for personalized bacteriophages registration

Nikolay N. Landyshev<sup>1</sup>, Yana G. Voronko<sup>1</sup>, Olga Yu. Timoshina<sup>2,3</sup>, Svetlana N. Suslina<sup>1</sup>, Vasilii G. Akimkin<sup>3</sup>,  
Konstantin A. Miroshnikov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Medicine, RUDN University, Moscow, 117198, Russia;

<sup>2</sup>Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 117997, Russia;

<sup>3</sup>Central Research Institute for Epidemiology of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Moscow, 111123, Russia

The increasing trend in antimicrobial resistance of pathogenic bacteria dictates the need for alternative solutions. Bacteriophages are bacterial viruses that kill their hosts during the lifecycle. The high specificity of phages makes the production of personalized cocktails the best option. Registration of drugs with variable composition lies beyond the current legal policies. In the present review, we studied the regulatory framework of the top 10 world economies from the point of personalized bacteriophages registration. We underlined procedures that countries can learn from each other.

**Keywords:** bacteriophages; drug approval; personalized medicine; review.

**For citation:** Landyshev N.N., Voronko Y.G., Timoshina O.Yu., Suslina S.N., Akimkin V.G., Miroshnikov K.A. A review of the regulatory framework for personalized bacteriophages registration. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2020; 65(5): 259-266. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-5-2>

**For correspondence:** Konstantin A. Miroshnikov, Ph.D., D. Sci, Major research associate, Head of Laboratory of molecular bioengineering, Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, 117997, Russia. E-mail: [kmi@ibch.ru](mailto:kmi@ibch.ru), [kmi@bk.ru](mailto:kmi@bk.ru)

**Information about the authors:**

Landyshev N.N., <https://orcid.org/0000-0002-9289-6849>

Voronko Y.G., <https://orcid.org/0000-0003-0779-5742>

Timoshina O.Yu., <https://orcid.org/0000-0001-8727-9734>

Akimkin V.G., <https://orcid.org/0000-0003-4228-9044>

Miroshnikov K.A., <https://orcid.org/0000-0002-4468-4091>

**Contribution:** all the authors have equally contributed to the development of the review article concept and to the writing of the article.

**Acknowledgments.** Work of Olga Yu. Timoshina is supported by RFBR grant 19-34-90034. Other authors have no specific financial support.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 05 August 2020

Accepted 01 September 2020

## Введение

Вопрос устойчивости патогенных микроорганизмов к антибиотикам был впервые обозначен в 1945 г. первооткрывателем пенициллина Александром Флемингом [1]. Новые классы антибиотиков, появившиеся благодаря успехам молекулярной биологии и синтетической химии, стали временным решением проблемы. Однако широкое бесконтрольное применение антибиотиков привело к повсеместному распространению и расширению количества мультирезистентных, экстремально резистентных и панрезистентных штаммов возбудителей бактериальных инфекций. По прогнозам, к 2050 г. количество смертей от устойчивых к антибиотикам бактерий может превысить количество смертей от онкологических заболеваний [2].

Литические бактериофаги (фаги) – вирусы, инфицирующие бактерии и разрушающие их клетки в процессе жизненного цикла, – являются альтернативным инструментом в борьбе с патогенами. Первые попытки применения фагов для лечения бактериальных инфекций (фаготерапии) были предприняты непосредственно после их открытия, и в 1920–1930-х гг. фаготерапия достаточно активно применялась в медицинской практике. Однако на тот момент были мало изучены природа взаимодействия фага и бактерии, принципы культивирования фагов, создания и применения фаговых препаратов. Созданные в 1940-х гг. антибиотики значительно превосходили фаговые препараты по эффективности, воспроизводимости действия и простоте применения [3]. Вследствие этого во второй половине XX в. фаготерапия ограничено применялась только в странах бывшего СССР и Польше. Вопрос о регистрации препаратов бактериальных вирусов с переменным составом перед регуляторами фармацевтического рынка не возникал. Отсутствие общепринятых подходов является существенной преградой для выхода препаратов бактериофагов на мировой фармацевтический рынок, хотя фаготерапевтический подход в последние десятилетия серьезно рассматривается мировой медициной. Цель данного обзора – анализ законодательных норм лиди-

рующих по уровню валового внутреннего продукта стран с точки зрения новых подходов к созданию препаратов бактериофагов. Список стран был составлен на основании оценки Международного валютного фонда [4]. Помимо этого, нами были проанализированы инновационные регистрационные подходы, реализованные в некоторых странах, и перспективы их конверсии.

## Персонализированные препараты бактериофагов

Существует два принципиальных подхода к созданию препаратов бактериофагов. Образно их сравнивают с магазинами готового платья (Prêt-à-Porter) и ателье (Sur-mesure) [5]. Традиционный подход подразумевает создание препаратов бактериофагов с максимально широким спектром инфекционного действия с фиксированным составом. Необходимо отметить, что методы производства и регистрации таких препаратов глубоко исследованы и внедрены в практику. Однако практическое применение фиксированных комбинаций сопряжено с рядом существенных недостатков. Первым из них является способность бактерии к изменчивости и приобретению резистентности к конкретному фагу в процессе терапии. В большинстве случаев такой процесс приводит к снижению патогенности микроорганизма и повышает вероятность эрадикации возбудителя средствами иммунной системы пациента [6, 7]. Таким образом, при необходимости повторной фаготерапии препарат широкого спектра не будет обладать требуемым терапевтическим эффектом. Другим недостатком является сложность взаимодействия бактериофага и иммунной системы пациента. Результаты многочисленных исследований не позволяют однозначно утверждать о влиянии антител против бактериофагов на эффективность инфицирования бактериальных клеток, но вероятность того, что повторное применение препарата не окажет необходимого эффекта, сохраняется [8, 9]. Ещё одним недостатком фиксированных коктейлей является широта фаготипов некоторых патогенов. Например,



комбинация нескольких генетически похожих фагов достаточно эффективна против большинства клинических изолятов *Staphylococcus aureus*, но в то же время препарат, включающий 14 разнородных фагов, не давал стабильного эффекта при лечении инфекций, вызванных *E. coli* [6]. Выходом могут быть производство и регистрация широкого спектра коктейлей с фиксированным составом, адаптированных к циркулирующим в определенной географической области или медицинском центре штаммам. Однако это влечёт значительный рост затрат на создание таких лекарств.

Второй, «персонализированный», подход подразумевает применение препарата из одного или нескольких фагов против штамма патогена у конкретного пациента или когорты пациентов с инфекцией, вызванной одним типом возбудителя, чувствительного к этому препарату. Этот подход лишен вышеперечисленных недостатков. Выбор компонентов индивидуального препарата осуществляется из широкой панели исчерпывающе охарактеризованных фагов. Возможен промышленный выпуск индивидуальных фагов, которые будут комбинироваться медицинским персоналом непосредственно перед введением пациенту. Альтернативно бактериофаги могут выпускаться биотехнологическим предприятием в виде готовых фармацевтических субстанций, комбинировать которые будут производственные отделы аптек по требованиям лечебно-профилактических учреждений.

### Регуляторные парадигмы регистрации бактериофагов

Существующий в настоящее время механизм регистрации фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов заметно ограничивает возможность реализации персонализированных подходов [10]. Регистрация одного лекарственного средства требует длительных клинических испытаний и существенных инвестиций, сумма которых может достигать 2,6 млрд долл. [11]. В случае синтезированных низкомолекулярных соединений или биомолекул окупаемость инвестиций обеспечивается патентной защитой, однако, как следует из судебной практики, бактериофаги не могут являться объектом патентования [12]. Для того чтобы разрешить данное противоречие и повысить интерес игроков фармацевтического рынка к разработке таких препаратов, регуляторы должны внедрить изменённые механизмы регистрации бактериофагов медицинского назначения. Благодаря процессам интеграции и гармонизации международного фармацевтического пространства перед регуляторными органами открывается возможность использования зарубежного опыта, что может ускорить процесс создания одновременно надёжной и гибкой системы экспертизы препаратов бактериофагов. Однако опубликованные к настоящему времени работы рассматривают подходы, реализованные в ограниченном количестве стран, что препятствует реализации упомянутых возможностей [3, 10].

### Страны, в которых отсутствует возможность регистрации персонализированных коктейлей бактериофагов

*Китай.* Регулятором национального фармацевтического рынка является NMPA (National Medical Products Administration) Китайской Народной Республики. Обращение лекарственных препаратов закреплено в законе Drug Administration Law, нормативным документом для процесса регистрации является Provisions for drug regulation. В стране действует национальная фармакопея ChP.

В соответствии с требованиями закона при подаче заявления на регистрацию заявитель обязан указывать полный состав препарата и его физико-химические свойства (статьи 11 и 12 Provisions for drug regulation). Особых механизмов регистрации биологических препаратов не предусмотрено. Бактериофаги не включены в государственную фармакопею и, следовательно, не рассматриваются регуляторными органами как потенциальные лекарственные средства. Экстемпоральное изготовление лекарственных препаратов не является распространённой практикой на китайском фармацевтическом рынке в связи с недостаточным развитием системы лекарственного обеспечения населения [13].

Таким образом, Китай, являясь вторым по размеру фармацевтическим рынком в мире [14], закрыт для обращения персонализированных препаратов бактериофагов.

*Бразилия.* Национальным регулятором фармацевтического рынка является ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). В стране приняты следующие нормативные документы в области регистрации биофармацевтиков: закон 6.360 от 1976 г., директивы RDC 55/2010 в области маркетингового разрешения и RDC 55/2010 в области показателей качества.

Согласно данному законодательству, бактериофаги классифицируются как биофармацевтики (статья 2 RDC 55/2010). Пункт XVIII статьи 30, пункт 4 статьи 31 и часть II статьи 34 раздела V закона 6.360 гласят, что в составе регистрационного досье должны быть представлены полный состав биофармацевтика, сведения о первичной, вторичной, третичной и четвертичной структурах действующего вещества, а также физико-химические и иммунологические характеристики. Указаний на возможность регистрации препаратов с переменным составом в данных законах нет.

Практика экстемпорального изготовления лекарственных препаратов является широко распространённой в Бразилии [15]. Обращение фармацевтических субстанций регулируется директивой RDC 57/2009. Согласно части 5 приложения к данной директиве, заявление о регистрации субстанции должно содержать сведения о структуре активного ингредиента и его физико-химических свойствах. Подача заявлений на регистрацию фармацевтических субстанций с переменным составом не предусмотрена.

Необходимо отметить, что в стране реализована программа так называемого «сострадательного использования» (compassionate use), основанная на ста-

ть 37 Хельсинкской декларации и законодательно закреплённая в директиве Resolution 38 от 13 августа 2013 г. Согласно этой программе, пациент может получить доступ к незарегистрированным препаратам, если его состояние является редким или серьёзным. Нам не удалось обнаружить в медицинской литературе описанных примеров использования бактериофагов в рамках указанной программы.

По оценкам экспертов, неизменно высокие затраты на лечение бедных слоёв населения Бразилии диктуют необходимость в выводе на рынок недорогих препаратов, однако существующие регуляторные механизмы делают появление на этом рынке бактериофагов невозможным [16].

### **Страны, в которых может быть упрощена регистрация препаратов бактериофагов по факту регистрации в другой стране**

*Канада.* Регулятором фармацевтического рынка на федеральном уровне в Канаде является подразделение Министерства здравоохранения Health Products and Food Branch. Основным законодательный акт в области обращения лекарств – Food and Drug Regulations. Бактериофаги включены в указанный закон как возможные терапевтические агенты. Однако нормативная база состоит из определения бактериофагов (пункт C.04.137) и указаний на срок хранения (пункт C.04.138). Требований к составу, показателям качества и степени вариабельности фаговых композиций не имеется. Существенным дополнением к закону является уведомление Notice – Mandatory use of the Electronic Common Technical Document (eCTD). Данный документ вводит электронную форму общего технического документа eCTD как обязательную для отправки заявления на регистрацию. Такая форма предусматривает регистрацию препаратов с фиксированным составом и не даёт возможностей для вариабельности.

Экстемпоральное изготовление лекарств в Канаде регулируется правилами Policy on Manufacturing and Compounding Drug Products in Canada (POL-0051). Согласно подпункту j правила 5.1, экстемпоральные лекарства могут быть изготовлены только из ингредиентов, официально зарегистрированных в Канаде или представленных в фармакопеех других стран (международной, американской, французской, китайской, британской, канадской и национальном формуляре). Несмотря на то что в данный момент ни в одном из указанных документов нет частных или общих статей на препараты бактериофагов, появление таковых даёт право на изготовление персонализированных препаратов на территории Канады.

Таким образом, канадский рынок закрыт для производства персонализированных бактериофагов, но открыт для непрямой регистрации фармацевтических субстанций.

*Япония.* Главным регулятором фармацевтического рынка является PMDA (Pharmaceuticals and medical devices agency). Правила в области обращения лекарственных средств изложены в законе The Law on Securing Quality, Efficacy and Safety of Products including Pharmaceuticals and Medical Devices (PMD Act).

Согласно уведомлению Notification 899, после 1 июля 2003 г. заявление на маркетинговое разрешение нового препарата должно соответствовать форме M4: The Common technical document, выпущенной Международным союзом по гармонизации (ICH). Модуль 3 данной формы требует предоставить последовательность аминокислот, посттрансляционные формы, информацию о биологической активности, чистоте и иммунохимических свойствах регистрируемого препарата. Возможность регистрации препарата с вариабельным составом не предусмотрена.

Однако пункт (II) статьи 14-3 PMD Act разрешает министру здравоохранения выдавать маркетинговое разрешение в случае, если препарат получил его в стране, система регистрации препаратов которой эквивалентна японской. Список таких стран утверждается кабинетом министров.

Практика экстемпорального изготовления лекарств регулируется положением Guidelines for Pharmaceutical Manufacturing in the Hospital and Use within the Hospital. Согласно данному документу, лекарства, являющиеся инвазивными для организма пациента (например, в инъекционных формах) или изготавливаемые путём смешивания готовых препаратов, могут состоять только из препаратов, одобренных фармацевтическим законодательством.

Таким образом, несмотря на отсутствие эффективных механизмов регистрации биологических препаратов с персонализированным составом, японский фармацевтический рынок открыт для косвенного выхода путём регистрации вариабельных коктейлей бактериофагов в других странах.

### **Страны, в которых бактериофаги применяются в рамках «сострадательного использования»**

*США.* Фармацевтический рынок США регулирует FDA (Food and Drug Administration), полномочия по регистрации биологических препаратов возложены на департамент в составе администрации – CBER (Center for Biologics Evaluation). Нормативная база для регулирования регистрации биологических продуктов изложена в секции 351 закона Public Health Service Act, а также в параграфе 355 закона Federal Food, Drug, and Cosmetic Act (FFDCA).

Согласно пункту (B)(1)(c) параграфа 355 FFDCA, регистрационное досье на новый лекарственный препарат должно содержать полную информацию о его составе. Возможность указать вариативный состав не предусмотрена.

Следует отметить, что на территории США существует ряд прецедентов по использованию терапии бактериофагами в рамках доктрины «сострадательного использования», которая носит название Expanded access to experimental biologics. Однако указанный механизм не является достаточным основанием для широкого внедрения медицинских бактериофагов. Подробный обзор перспектив «сострадательного использования» бактериофагов можно найти в научной литературе [17].

Существует ряд регуляторных механизмов, которые могут быть использованы как основа модерниза-

ции регистрационных требований к персонализированным коктейлям бактериофагов. На конец 2019 г. в США зарегистрированы так называемые «нестандартизованные экстракты аллергенов». Они отличаются от обычных экстрактов отсутствием федеральных стандартных образцов, с которыми препарат можно было бы сравнивать по составу. Высокая клиническая эффективность указанных экстрактов послужила причиной создания особых механизмов регистрации. Так, эксперты FDA принимали положительное решение по результатам описания одного клинического случая, если в него была включена группа сравнения, или двух или более подробно описанных случаев без групп сравнения [18].

Практика экстемпорального изготовления лекарственных препаратов в США регламентируется параграфом 353a FFDCА. Согласно положениям этого параграфа, индивидуальные лекарственные средства могут быть изготовлены из готовых препаратов или субстанций, включенных в состав национального формуляра USP-NF. Поскольку бактериофаги не фигурируют в составе данного формуляра, экстемпоральное изготовление коктейлей невозможно.

Несмотря на то что в настоящее время в США не существует устойчивого подхода к регистрации коктейлей бактериофагов с переменным составом, применение фагов в рамках «сострадательного использования», существующие альтернативные механизмы регистрации биологических препаратов и высокий уровень осведомленности регуляторов существенно повышают вероятность выхода персонализированных фагопрепаратов на национальный фармацевтический рынок.

**Индия.** Регулятором национального фармацевтического рынка выступает CDSCO (Central Drug Standard Control Organization). Принципы обращения лекарственных средств закреплены в законе Rules and regulations of drug and cosmetics act.

Указанный закон признаёт бактериофаги как терапевтические агенты и относит к списку C препаратов (пункт 14, Schedule C). Пункт (с) правила 122 закона гласит, что препараты списков C и C(1) должны удовлетворять требованиям части XI списка F, однако в действующей редакции закона данная часть исключена. Такое отсутствие нормативной документации в области контроля качества препятствует регистрации препаратов бактериофагов в стране. Однако введение стандартов, допускающих возможность производства коктейлей переменного состава, разрешит регуляторный парадокс и закончит формирование механизмов регистрации.

Также интересным регуляторным прецедентом является открытость системы регистрации внешнему миру. Согласно статье 122 акта, клинические исследования могут быть опущены в тех случаях, когда новое лекарство уже разрешено к применению и используется на протяжении нескольких лет в других странах. Возможность использования данной статьи определяется CDSCO в каждом конкретном случае.

Другим фактором, который может положительно повлиять на конструктивное изменение механизмов

регистрации персонализированных фагопрепаратов, является практика «сострадательного использования» бактериофагов организацией Vitalis phage therapy (Индия). На данный момент некоммерческая организация не проводит терапию самостоятельно, но является посредником института бактериофагов им. Элиавы (Грузия), предоставляя возможность согражданам получить медицинскую помощь в случаях инфекций, вызванных полирезистентными бактериями.

Возможность выхода персонализированных коктейлей бактериофагов на рынок в рамках экстемпорально изготовленных препаратов существенно ограничена слабой инфраструктурой, недостаточной нормативной базой и низкой квалификацией персонала в данной области [19].

Таким образом, сочетание опыта применения бактериофагов в рамках «сострадательного использования» и возможностей для построения механизма регистрации персонализированных коктейлей вкупе с высокими темпами роста фармацевтического рынка делают Индию привлекательной страной для развития фаготерапии.

### **Страны, в которых статус препаратов бактериофагов не определён**

*Участники Европейского Союза.* На момент написания настоящей публикации процесс выхода Великобритании из ЕС не завершился, а локальные регуляторы фармацевтического рынка не сформировали собственные парадигмы регистрации, отличные от общеевропейских. В свете этого Великобритания рассматривается в рамках регуляторного ландшафта ЕС. Руководство фармацевтическим рынком Европейского союза осуществляет ЕМА (European Medicines Agency). Для законодательных норм ЕС характерны одновременные унификация в области ключевых положений и региональная диверсификация в области частных практик. Основы обращения лекарственных средств изложены в директиве Directive 2001/83/EC – European Commission. Требования к регистрационному досье изложены в руководстве A guideline on summary of product characteristics (SmPC). В качестве стандартизованной принята форма регистрационного досье M4: The Common technical document.

Пункт 8.3 (с) указанной директивы, а также требования руководства и формы досье не предусматривают вариативности состава препарата, заявляемого на регистрацию. Потенциальным механизмом регистрации персонализированных коктейлей бактериофагов может стать «подход с определением риска», введённый в действие руководством Guideline on the risk-based approach according to annex I, part IV of Directive 2001/83/EC applied to advanced therapy medicinal products. Данный подход позволяет ограничивать степень необходимых доклинических и клинических испытаний для получения маркетингового разрешения, но применяется только для группы препаратов АТМР (advanced therapy medicinal product), описанной в положении EC Regulation (EC) 1394/2007 of the European parliament and the council от 13 ноя-

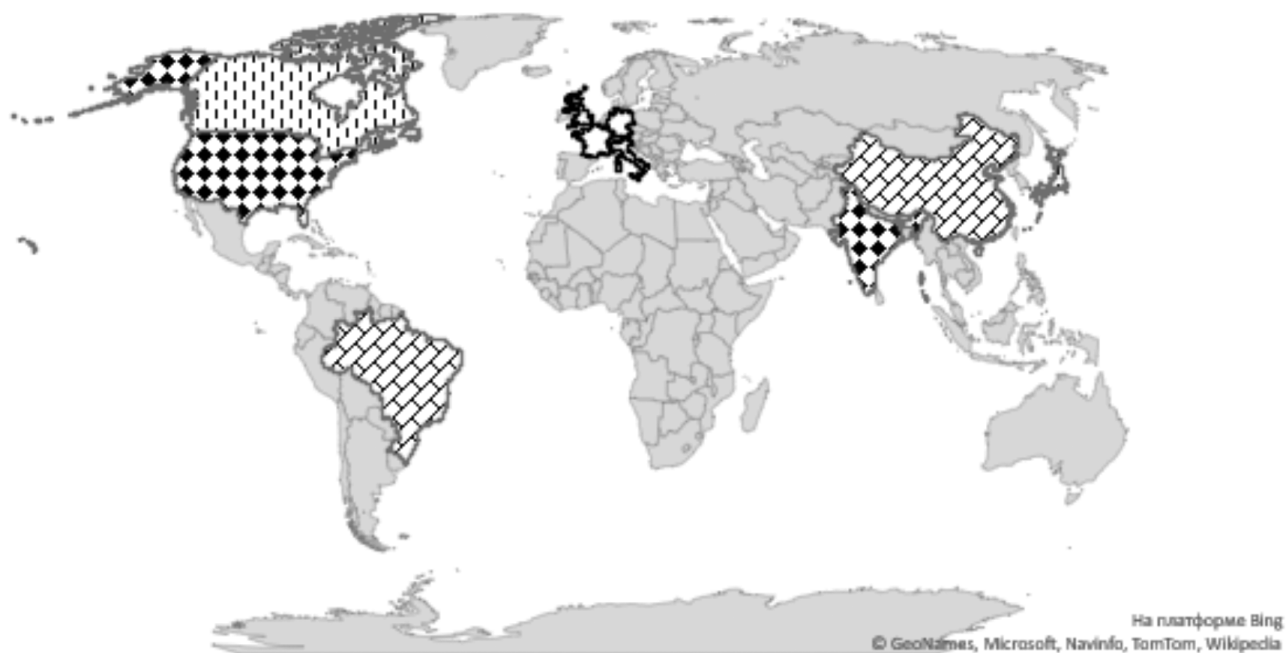
бря 2007 г. На сегодняшний день нет официального заявления ЕМА о том, включаются ли бактериофаги в указанную группу, однако европейские эксперты фармацевтического рынка высказываются против такого включения [10, 20, 21].

Руководство Data requirements for multi-strain dossiers for Inactivated vaccines against avian influenza (AI), blue tongue (BT) and foot-and-mouth disease (FMD) определяет несколько регуляторных концепций, которые могут стать основой для развития механизмов регистрации персонализированных препаратов бактериофагов. Первой концепцией является «мультиштаммовое досье» для регистрации ветеринарных вакцин. При подаче заявления на регистрацию заявитель должен указать максимальное количество штаммов, которые могут входить в её состав. Разрешение выдаётся на целое досье, в рамках которого владелец может производить разные штаммы для адаптации к существующей эпидемиологической обстановке. Внутри досье информация, общая для всех возможных штаммов, заявляется однократно. Другой концепцией является понятие «гомологичных групп» для аллергенных экстрактов. Так как определение всех необходимых параметров для каждого индивиду-

дуального аллергена или их смесей не представляется возможным, заявитель имеет право экстраполировать данные о стабильности, безопасности, качестве и эффективности с одного репрезентативного источника на всех членов гомологичной группы.

Практика экстенпорального изготовления лекарственных препаратов в странах Европейского союза регламентируется резолюцией Совета Европы Resolution CM/Res(2016)1 on quality and safety assurance requirements for medicinal products prepared in pharmacies for the special needs of patients. Индивидуальные препараты могут быть изготовлены только из заранее зарегистрированных фармацевтических субстанций. Обзор судебной практики, обуславливающей данное положение, изложен в публикации [22].

Пользуясь возможностью диверсификации регионального законодательства, органы управления здравоохранения Бельгии внедрили в стране систему изготовления персонализированных фаговых коктейлей с использованием концепции магистральной формулы. При этом отсутствие регистрации индивидуальных бактериофагов на территории ЕС обходится разрешением, получаемым в сертифицированных национальных лабораториях. Указанная процедура



- Отсутствие механизмов регистрации / Lack of registration procedure
- Упрощённая после регистрации в другой стране / Simplified registration after recognition in other countries
- Применяется «сострадательное использование» / Compassionate use
- Неопределённый / Not determined

Рис. 1. Статус механизмов регистрации и использования персонализированных препаратов бактериофагов.

Fig. 1. The current status of personalized bacteriophages use and registration mechanisms.

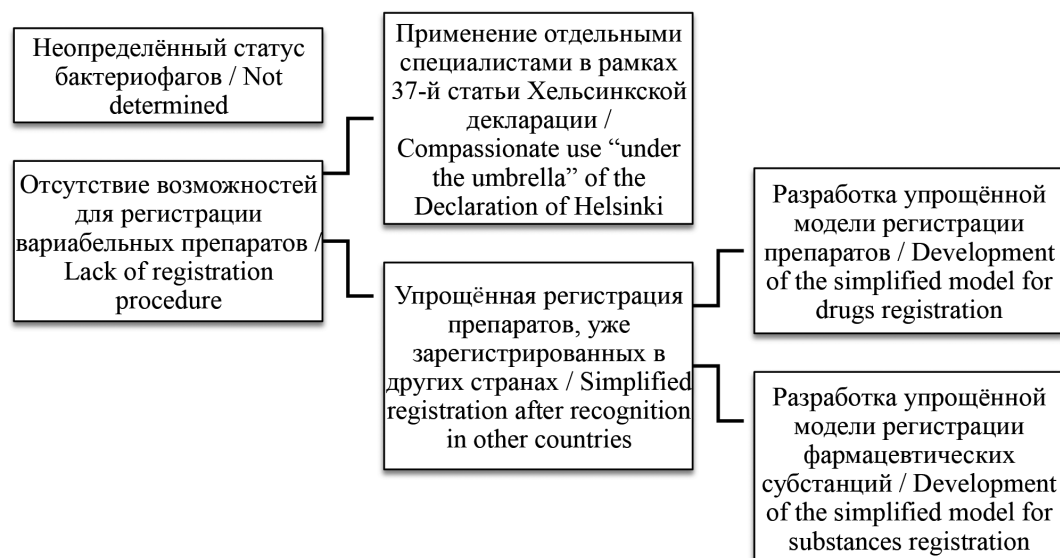


Рис. 2. Модель развития регистрационных механизмов в области персонализированных препаратов бактериофагов.

Fig. 2. The model of registration mechanisms development in the area of personalized bacteriophages therapeutics.

может стать основой для конверсии принципа магистральной формулы в других странах организации. Подробное описание истории, целей и процедуры внедрения бельгийской стратегии может быть найдено в публикации [23].

### Траектория развития механизмов регистрации препаратов медицинских бактериофагов

Как следует из представленных данных, текущий статус законодательства в области обращения персонализированных препаратов бактериофагов в рассмотренных странах варьирует от отсутствия регистрационных механизмов до разработанных на локальном уровне стандартов, позволяющих вводить такие препараты в клиническую практику (рис. 1). На основании опыта государств, рассмотренных в данном обзоре, мы сформулировали следующую модель развития регистрационных процессов в указанной области (рис. 2). Безусловно, такой сценарий действий не является строго детерминированным, и регуляторные органы могут напрямую внедрять успешный зарубежный опыт на национальных фармацевтических рынках. Однако, несмотря на указанные выше процессы гармонизации (например, широкое распространение общего технического документа в регистрационном досье), исторический опыт и сложившиеся десятилетиями парадигмы фармацевтической экспертизы биологических препаратов потребуют от законодательных органов нестандартных решений.

### Заключение

Персонализированные препараты бактериофагов являются наиболее перспективным методом терапии устойчивых к антибиотикам инфекций. Несмотря на увеличивающийся интерес к данной тематике

за рубежом, на данный момент большинство рассмотренных стран не располагает регуляторными механизмами, позволяющими регистрировать такие препараты. Однако открытость рынков ряда государств к регистрации препаратов, одобренных к обращению в других странах, и существующие альтернативные подходы регистрации некоторых биопрепаратов могут стать основой для внедрения персонализированной фаготерапии в обозримом будущем.

### Литература/References

1. Fleming A. *Penicillin. Nobel lectures, physiology or medicine 1942–1962*. Amsterdam, NL: Elsevier Publishing; 1964.
2. O'Neill J. *Tackling drug-resistant infections globally: Final report and recommendations*. London: HM Government and Wellcome Trust; 2018.
3. Cisek A.A., Dąbrowska I., Gregorczyk K.P., Wyżewski Z. Phage therapy in bacterial infections treatment: one hundred years after the discovery of bacteriophages. *Curr. Microbiol.* 2017; 74(2): 277–83. <https://doi.org/10.1007/s00284-016-1166-x>
4. International Monetary Fund. *World Economic Outlook: Global Manufacturing Downturn, Rising Trade Barriers*. Washington: International Monetary Fund, Publication Services; 2019.
5. Pirnay J.P., De Vos D., Verbeken G., Merabishvili M., Chanishvili N., Vanechoutte M., et al. The phage therapy paradigm: Prêt-à-porter or sur-mesure? *Pharm. Res.* 2011; 28(4): 934–7. <https://doi.org/10.1007/s11095-010-0313-5>
6. McCallin S., Oechslin F. Bacterial resistance to phage and its impact on clinical therapy. In: Górski A., Międzybrodzki R., Borysowski J., eds. *Phage Therapy: A Practical Approach*. Cham: Springer International Publishing; 2019: 59–88.
7. Oechslin F. Resistance development to bacteriophages occurring during bacteriophage therapy. *Viruses*. 2018; 10(7): 351. <https://doi.org/10.3390/v10070351>
8. Van Belleghem J.D., Dąbrowska K., Vanechoutte M., Barr J.J., Bollyky P.L. Interactions between bacteriophage, bacteria, and the mammalian immune system. *Viruses*. 2019; 11(1): 10. <https://doi.org/10.3390/v11010010>
9. Hodyra-Stefaniak K., Miernikiewicz P., Drapała J., Drab M., Jonczyk-Matysiak E., Lecion D., et al. Mammalian Host-Versus-Phage immune response determines phage fate in vivo. *Sci. Rep.* 2015; 5: 14802. <https://doi.org/10.1038/srep14802>

10. Fauconnier A. Phage therapy regulation: From night to dawn. *Viruses*. 2019; 11(4): 352. <https://doi.org/10.3390/v11040352>
11. Sullivan T. A tough road: cost to develop one new drug is \$2.6 billion; approval rate for drugs entering clinical development is less than 12%. *Policy and Medicine*. 2019. Available at: <https://www.policymed.com/2014/12/a-tough-road-cost-to-develop-one-new-drug-is-26-billion-approval-rate-for-drugs-entering-clinical-de.html>
12. Todd K. The promising viral threat to bacterial resistance: The uncertain patentability of phage therapeutics and the necessity of alternative incentives. *Duke Law J*. 2018; 68(4): 767–805.
13. Mossialos E., Ge Y., Hu J., Wang L. *Pharmaceutical Policy in China Challenges and Opportunities for Reform*. Copenhagen: WHO; 2016: 1–212.
14. Wu J.Z., Hsu Y.C. Decision analysis on entering the China pharmaceutical market: Perspectives from Taiwanese companies. *Comput. Ind. Eng*. 2018; 125: 751–63. <https://doi.org/10.1016/j.cie.2018.05.054>
15. de Souza Rp., Guedes H. The compounding pharmacy in Brazil: A pharmacist's perspective. *Int. J. Pharm. Compd*. 2009; 13(1): 87–8.
16. Bertoldi A.D., Wagner A.K., Emmerick I.C.M., Chaves L.A., Stephens P., Ross-Degnan D. The Brazilian private pharmaceutical market after the first ten years of the generics law. *J. Pharm. Policy Pract*. 2019; 12: 18. <https://doi.org/10.1186/s40545-019-0179-9>
17. McCallin S., Sacher J.C., Zheng J., Chan B.K. Current state of compassionate phage therapy. *Viruses*. 2019; 11(4): 343. <https://doi.org/10.3390/v11040343>
18. Slater J.E., Menzies S.L., Bridgewater J., Mosquera A., Zinderman C.E., Ou A.C., et al. The US Food and Drug Administration review of the safety and effectiveness of nonstandardized allergen extracts. *J. Allergy Clin. Immunol*. 2012; 129(4): 1014–9. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.01.066>
19. Gandesiri S., Srujana M.P., Reddy Y.P., Rathinavelu M. Assessment of knowledge, attitude and perception towards good pharmacy practice in community pharmacists of India. *World J. Pharm. Res*. 2015; 4990(5): 1738–46.
20. Huys I., Pirnay J.P., Lavigne R., Jennes S., De Vos D., Casteels M., et al. Paving a regulatory pathway for phage therapy. Europe should muster the resources to financially, technically and legally support the introduction of phage therapy. *EMBO Rep*. 2013; 14(11): 951–4. <https://doi.org/10.1038/embor.2013.163>
21. Henein A. What are the limitations on the wider therapeutic use of phage? *Bacteriophage*. 2013; 3(2): e24872. <https://doi.org/10.4161/bact.24872>
22. Scheepers H.P.A., Langedijk J., Neerup Handlos V., Walser S., Schutjens M.H., Neef C. Legislation on the preparation of medicinal products in European pharmacies and the Council of Europe Resolution. *Eur. J. Hosp. Pharm*. 2017; 24(4): 224–9. <https://doi.org/10.1136/ejhpharm-2016-001016>
23. Pirnay J.P., Verbeken G., Ceyssens P.J., Huys I., de Vos D., Ameloot C., et al. The magistral phage. *Viruses*. 2018; 10(2): 64. <https://doi.org/10.3390/v10020064>

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ



© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

### Анализ циркуляции коронавируса человека

Яцышина С.Б., Мамошина М.В., Шипулина О.Ю., Подколзин А.Т., Акимкин В.Г.

ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, 111123, Москва, Россия

**Введение.** Появление в конце 2019 г. нового коронавируса SARS-CoV-2, ставшего причиной пандемии, породило массу вопросов относительно эпидемиологии нового заболевания COVID-19 и известных ранее инфекций, вызываемых коронавирусами, которым по причине более лёгкого течения заболеваний уделяли мало внимания.

**Цель** данной работы – многолетнее ретроспективное исследование распространённости и особенностей циркуляции эпидемических коронавирусов человека в Москве при проведении рутинного скрининга.

**Материал и методы.** Методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме реального времени исследовали на РНК эпидемических коронавирусов человека (HCoV) мазки из носо- и ротоглотки 16 511 больных острой респираторной инфекцией (ОРИ) в возрасте от 1 мес до 95 лет (58,3% составили дети), собранные с января 2016 г. по март 2020 г., и мазки 505 условно-здоровых детей, собранные в 2008, 2010 и 2011 гг.

**Результаты.** HCoV обнаруживали у 2,6–6,1% обследованных больных в год, статистически значимо чаще у взрослых по сравнению с детьми, без различий по полу. На пике заболеваемости в декабре 2019 г. HCoV обнаружены у 13,7% обследованных, что в 2 раза выше среднемноголетнего уровня данного месяца. У больных ОРИ детей до 6 лет HCoV выявляли статистически значимо чаще, чем у здоровых (3,7 vs 0,7%,  $p = 0,008$ ).

**Заключение.** HCoV циркулируют ежегодно, демонстрируя в Московском регионе зимне-весеннюю сезонность с пиком в декабре. За годы наблюдения эпидемическая активность HCoV росла до максимальных значений в декабре 2019 г. – феврале 2020 г., снизившись в марте до среднемноголетнего уровня. На фоне растущего количества случаев завоза SARS-CoV-2 в Москву в марте 2020 г. частота выявления HCoV резко понизилась, что, по-видимому, отражает наличие конкуренции между разными коронавирусами и подтверждает специфичность выявления HCoV использованным в данной работе диагностическим набором.

**Ключевые слова:** коронавирусы; полимеразная цепная реакция; сезонность; эпидемическая активность.

**Для цитирования:** Яцышина С.Б., Мамошина М.В., Шипулина О.Ю., Подколзин А.Т., Акимкин В.Г. Анализ циркуляции коронавируса человека. *Вопросы вирусологии.* 2020; 65(5): 267-275.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-5-3>

**Для корреспонденции:** Яцышина Светлана Борисовна, канд. биол. наук, руководитель Научной группы по разработке новых методов диагностики ОРЗ, ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, 111123, Москва. E-mail: [svetlana.yatsyshina@pcr.ms](mailto:svetlana.yatsyshina@pcr.ms)

**Участие авторов:** Яцышина С.Б. – дизайн исследования, анализ результатов и написание текста; Мамошина М.В. – статистическая обработка данных, оформление списка литературы; Шипулина О.Ю. – организация и проведение лабораторных исследований; Подколзин А.Т. – концепция и дизайн исследования; Акимкин В.Г. – организация выполнения исследования.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 02.06.2020  
Принята в печать 31.08.2020

### Analysis of human coronaviruses circulation

Svetlana B. Yatsyshina, Marina V. Mamoshina, Olga Yu. Shipulina, Alexandr T. Podkolzin, Vasilij G. Akimkin

Central Research Institute for Epidemiology of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Moscow, 111123, Russia

**Introduction.** The novel SARS-CoV-2 coronavirus, which emerged at the end of 2019 and caused a worldwide pandemic, triggered numerous questions about the epidemiology of the novel COVID-19 disease and about well-known coronavirus infections, which used to be given little attention due to their mild symptoms.

**The purpose:** The routine screening-based multiyear retrospective observational study of prevalence and circulation patterns of epidemic-prone human coronaviruses in Moscow.

**Material and methods.** The real-time polymerase chain reaction was used to detect RNA of human coronaviruses (HCoV) in nasal and throat swabs from 16,511 patients with acute respiratory infection (ARI), aged 1 month to 95

years (children accounted for 58.3%) from January 2016 to March 2020, and swabs from 505 relatively healthy children in 2008, 2010 and 2011.

**Results.** HCoV were yearly found in 2.6–6.1% of the examined patients; the detection frequency was statistically higher in adults than in children, regardless of sex. At the height of the disease incidence in December 2019, HCoVs were detected in 13.7% of the examined, demonstrating a two-fold increase as compared to the multi-year average for that month. The statistical frequency of HCoV detection in ARI pediatric patients under 6 years was significantly higher than in their healthy peers (3.7 vs 0.7%,  $p = 0.008$ ).

**Conclusion.** HCoVs circulate annually, demonstrating a winter-spring seasonal activity pattern in the Moscow Region and reaching peak levels in December. Over the years of observation, the HCoV epidemic activity reached maximum levels in December 2019 – February 2020 and decreased in March to the multi-year average. Amid a growing number of SARS-CoV-2 cases imported to Moscow in March 2020, the HCoV detection frequency dropped sharply, which, apparently, can be explained by the competition between different coronaviruses and by the specificity of HCoV detection with the diagnostic test kit used in this study.

**Keywords:** coronaviruses; polymerase chain reaction; seasonality; epidemic activity.

**For citation:** Yatsyshina S.B., Mamoshina M.V., Shipulina O.Yu., Podkolzin A.T., Akimkin V.G. Analysis of human coronaviruses circulation. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2020; 65(5): 267-275. (In Russ., in Engl.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-5-3>

**For correspondence:** Svetlana B. Yatsyshina, PhD. Sci. Biol., Head of the Scientific Group on the Development of New Diagnostic Methods of ARI diagnostics, Central Research Institute of Epidemiology. Moscow, 111123, Russia. E-mail: [svetlana.yatsyshina@pcr.ms](mailto:svetlana.yatsyshina@pcr.ms)

**Information about the authors:**

Yatsyshina S.B., <https://orcid.org/0000-0003-4737-941X>

Mamoshina M.V., <https://orcid.org/0000-0002-1419-7807>

Shipulina O.Yu., <https://orcid.org/0000-0003-4679-6772>

Podkolzin A.T., <https://orcid.org/0000-0002-0044-3341>

Akimkin V.G., <https://orcid.org/0000-0003-4228-9044>

**Contribution:** Yatsyshina S.B. – research design, analysis of the results and writing of the text; Mamoshina M.V. – statistical data processing, drawing up the list of references; Shipulina O.Yu. – organization and conduct of laboratory research; Podkolzin A.T. – research concept and design; Akimkin V.G. – organization of research.

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 2 June 2020  
Accepted 31 August 2020

## Введение

Коронавирусы, как возбудители инфекций животных и человека, широко распространены в природе. Они относятся к семейству *Coronaviridae*, подсемейству *Orthocoronavirinae*, в котором выделяют 4 рода: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Deltacoronavirus* и *Gammacoronavirus* [1]. Представители родов *Gammacoronavirus* и *Deltacoronavirus* инфицируют преимущественно птиц. Вирусы родов *Alphacoronavirus* и *Betacoronavirus* обнаруживают у млекопитающих.

Коронавирусы человека (HCoV), циркулирующие ежегодно в популяции людей, т. е. эпидемические коронавирусы, вызывают острые респираторные инфекции (ОРИ) [2], затрагивающие, как правило, верхние дыхательные пути [3–6]. В редких случаях они ассоциируются с поражением нижних дыхательных путей [7], описаны случаи выделения коронавирусов человека от больных пневмонией [8].

Среди эпидемических коронавирусов человека (HCoVs) в настоящее время выделяют 4 вида.

*Human coronavirus 229E* (род *Alphacoronavirus* подрод *Duvinacovirus*) и *Betacoronavirus 1* (ранее назывался HCoV-OC43; род *Betacoronavirus* подрод *Embecovirus*) известны с середины 1960-х гг. *Human coronavirus NL63* (род *Alphacoronavirus*, подрод *Setracovirus*) и *Human coronavirus HKU1* (род *Betacoronavirus* под-

род *Embecovirus*) были открыты в 2004 и 2005 гг. соответственно.

Вирионы коронавирусов представляют собой частицы размером 120 нм, сферической формы, содержащие нуклеокапсид (геномную РНК, связанную с нуклеопротеином (N)) спиральной формы, покрытый липидной мембраной со встроенными белками: гликопротеином (spike, S), формирующим булавовидные отростки, гемагглютинин-эстеразой (HE), мембранным протеином (M) и малым мембранным протеином оболочки (E) [9]. Проникновение в клетки слизистых оболочек происходит посредством связывания гликопротеина S со специфичными рецепторами, причём коронавирусы животных и разные виды HCoVs используют для этого различные рецепторы [10].

Геном коронавирусов, самый протяжённый среди всех РНК-содержащих вирусов, представлен однонитевой линейной молекулой РНК положительной полярности размером 27–32 тыс. нуклеотидов.

В результате рекомбинации РНК коронавирусов разных видов могут появляться новые варианты, приобретающие нехарактерный тканевый тропизм, более высокую вирулентность и способность преодолевать межвидовой барьер [11–13]. Подобные рекомбинационные события между геномами коро-



навирусов летучих мышей и других животных, закреплённые естественным отбором, способствовали появлению в популяции людей высоковирулентных для человека коронавирусов: SARS-CoV, возбудителя тяжёлого острого респираторного синдрома (ТОРС) [14, 15], MERS-CoV, возбудителя ближневосточного респираторного синдрома [16], и SARS-CoV-2, возбудителя COVID-19 [17], в 2002, 2012 и 2019 гг. соответственно.

HCoV, по-видимому, также возникли в результате рекомбинационных событий с участием разных видов коронавирусов млекопитающих [18, 19], с которыми они имеют общего предка, существовавшего миллионы лет назад [20].

Сведения об эпидемиологии инфекции, вызванной HCoV, отрывочны: полученные в разные годы в отдельных группах пациентов, они не позволяют однозначно судить о сезонности коронавирусной инфекции и распространённости HCoV в различных возрастных группах больных ОРВИ. Разные исследователи сообщают о зимних, весенних или летних подъёмах заболеваемости [21–27].

Долгосрочные исследования циркуляции коронавирусов человека в России не проводили.

**Целью** данной работы стало многолетнее ретроспективное исследование распространённости эпидемических коронавирусов человека в Москве при проведении рутинного скрининга методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с детекцией в режиме реального времени.

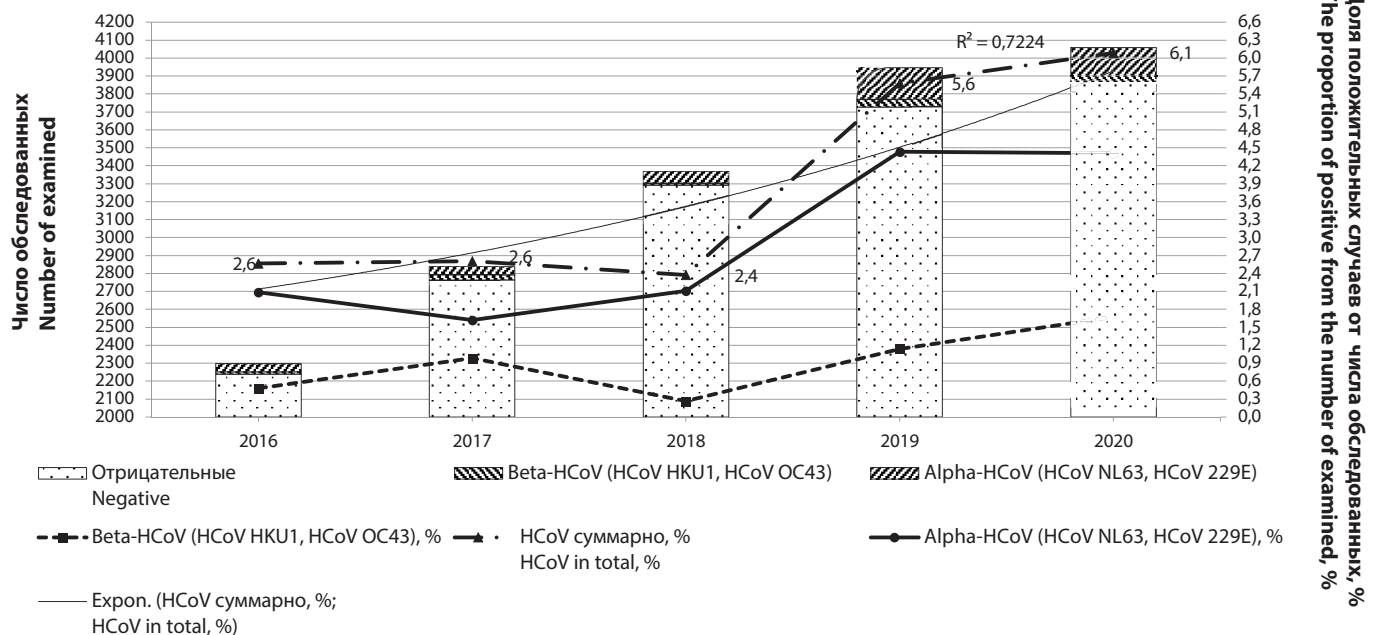
## Материал и методы

Исследовали мазки из носо- и ротоглотки 16 511 пациентов с симптомами ОРВИ, собранные с января 2016 г. по март 2020 г. в процессе рутинного скрининга по определению этиологии ОРВИ в Москве. Известно о возрасте 16 385 человек, о поле 16 404 обследованных. Возраст больных варьировал от 1 мес до 95 лет, 58,3% обследованных составили дети в возрасте от 1 мес до 18 лет.

В анализ также включены результаты исследования мазков из носо- и ротоглотки, собранных в 2008, 2010 и 2011 гг. у 505 условно-здоровых детей без признаков респираторной инфекции на момент обследования в возрасте от 1 мес до 18 лет (56,2% младше 6 лет) [28].

РНК HCoV обнаруживали с дифференциацией по родам: *Alphacoronavirus* (HCoV NL63 и HCoV 229E) и *Betacoronavirus* (HCoV HKU1, HCoV OC43) методом ПЦР с детекцией в режиме реального времени с помощью набора реагентов «АмплиСенс ОРВИ-скрин-FL» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора) по инструкции производителя на приборах для ПЦР с детекцией в режиме реального времени: Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия), Rotor-Gene Q (QIAGEN GmbH, Германия), ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

Мазок из носо- и ротоглотки брали согласно методическим рекомендациям «Лабораторная диагностика гриппа и других ОРВИ методом полимеразной цепной реакции» МР 3.1.0117-17 и клиническим рекомендациям «Лабораторная диагностика гриппа

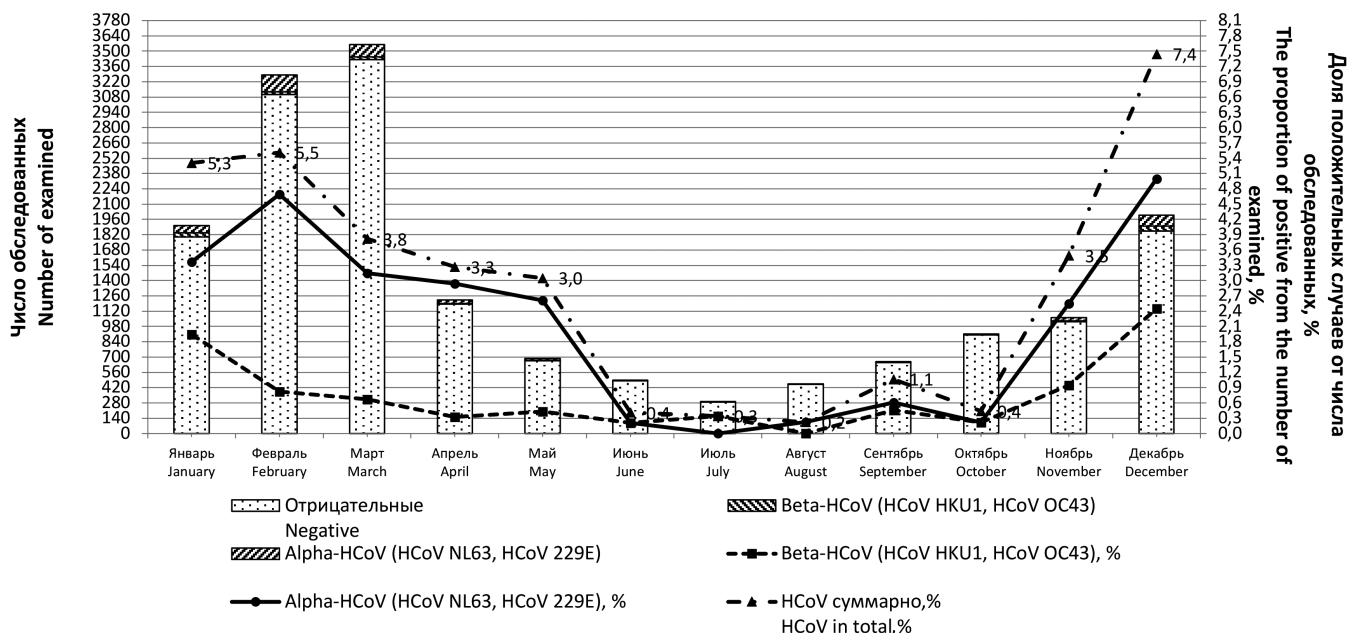


**Рис. 1.** Распространённость эпидемических коронавирусов в динамике за 5 лет.

По оси абсцисс – годы наблюдения (с января 2016 г. по март 2020 г.); по оси ординат слева – абсолютное число обследованных и положительных случаев, справа – доля положительных случаев.

**Fig. 1.** Prevalence of epidemic-prone coronaviruses over 5 years.

The horizontal line – years of observation (from January 2016 to March 2020); the vertical line, on the left – the absolute number of the observed and positive cases; on the right – the proportion of positive cases.



**Рис. 2.** Сезонная распространённость эпидемических коронавирусов за 5 лет наблюдения (с января 2016 г. по март 2020 г.).

По оси абсцисс – месяцы наблюдения. По оси ординат слева – совокупное абсолютное число обследованных и положительных случаев, справа – доля положительных случаев ежемесячно за весь период наблюдения.

**Fig. 2.** Seasonal prevalence of epidemic-prone coronaviruses over 5 years of observation (from January 2016 to March 2020).

The horizontal line – months of observation. The vertical line, on the left – the total absolute number of the observed and positive cases; on the right – the proportion of positive cases per month for the entire observation period.

и других ОРВИ методом полимеразной цепной реакции» (2016 г.)<sup>1</sup>, объединяя в пробирке с 0,5 мл транспортной среды, и хранили до исследования при температуре от +4 до +8 °С не более 3 сут.

Статистический анализ включал проверку распределений на нормальность и расчёт критерия  $\chi^2$  Пирсона с использованием программы SPSS Statistics v. 18, 95% доверительный интервал (ДИ) вычисляли по методу Вальда [29].

### Результаты

НCoVs обнаруживались ежегодно, демонстрируя экспоненциальную динамику увеличения к 2020 г. доли положительных находок с 2,6 до 6,1% числа обследованных больных. Вирусы, относящиеся к роду *Alphacoronavirus* (Alpha-HCoV), ежегодно встречались в 1,5–3 раза чаще, чем *Betacoronavirus* (Beta-HCoV) (рис. 1).

В циркуляции НCoVs наблюдалась выраженная зимне-весенняя сезонность (рис. 2). Подъём заболеваемости, вызванной НCoVs, отмечался с ноября по май, когда они выявлялись более чем у 3% обследованных с ОРВИ; пик приходился на декабрь–февраль (7,4–5,5%). В летние месяцы доля инфицированных НCoVs не превышала 0,5% (см. рис. 2). Частота обнаружения Alpha-HCoV ежемесячно была в несколько раз выше, чем Beta-HCoV.

С ноября 2019 г. по февраль 2020 г. отмечено превышение эпидемической активности НCoVs: уве-

личение частоты выявления в 2 раза относительно среднемноголетнего уровня (СМУ) для каждого месяца наблюдения. На пике подъёма в декабре 2019 г. (рис. 3) частота выявления НCoVs составила 13,7% (СМУ 7,0%), в январе–феврале – 8% (СМУ 3,1 и 4,2%), а в марте резко снизилась до 4,1% (СМУ 4,2%).

Представляет интерес вопрос распространённости инфекции у больных разного пола и возраста.

Суммарная доля коронавирусной инфекции среди больных ОРВИ женщин оказалась выше, чем мужчин (4,6 vs 3,7;  $p = 0,013$ ), однако в разные годы эти показатели варьировали (табл. 1), что не позволяет сделать вывод о наличии статистически значимых различий распространённости НCoVs у лиц разного пола.

Распространённость коронавирусной инфекции у больных ОРВИ разного возраста отражена в табл. 2. Чёткий возрастной пик отсутствует, однако в целом НCoVs статистически чаще выявлялись у взрослых, чем у детей (5,43%; 95% ДИ 4,92–6,0 vs 3,19%; 95% ДИ 2,86–3,56;  $p < 0,01$ ) (рис. 4).

При обследовании группы детей без симптомов ОРВИ НCoVs были обнаружены в 12 (2,1%; 95% ДИ 1,23–4,11%) из 505 случаев, положительные результаты встречались во все сезоны, однако более половины из них (7 случаев) были выявлены весной.

У условно-здоровых детей в возрасте до 6 лет НCoVs выявлялись статистически значимо реже, чем у детей того же возраста с симптомами ОРВИ (0,7% vs 3,7%;  $p = 0,008$ ). Распространённость НCoVs у больных ОРВИ старше 6 лет и условно-здоровых того же возраста не имела статистически значимых различий: 66 (2,4%) из 2803 vs 10 (4,5%) из 221 ( $p = 0,047$ ).

<sup>1</sup>Клинические рекомендации. [https://fedlab.ru/upload/medialibrary/b71/\\_-\\_-\\_-\\_-06122016.pdf](https://fedlab.ru/upload/medialibrary/b71/_-_-_-_-06122016.pdf) (дата обращения: 23.06.2020).

**Обсуждение**

Полученные данные свидетельствуют о том, что НСoVs циркулируют ежегодно, их активность в Московском регионе повышается в зимне-весенний период с пиком в декабре. Выявленный нами характер сезонности согласуется с данными исследования в Норвегии [30], тогда как в Израиле и Гонконге отмечена весенне-летняя активность [27, 31]. По-видимому, это связано с климатическими особенностями регионов, влияющими на циркуляцию НСoVs, как и других респираторных вирусов [32].

Частота выявления НСoVs в нашем исследовании соответствует таковой в других странах [2, 27, 30, 33].

К сожалению, большинство опубликованных исследований касались только детского контингента. В единственном опубликованном исследовании, проведенном в США на выборке больных в возрасте 0–96 лет, средний возраст инфицированных НСoVs составил 22 года [33]. По нашим данным, средний возраст больных, инфицированных НСoVs, – 24 года, медиана – 23 года.

НСoVs обнаружены нами у 2,1% условно-здоровых детей. Сходные с нашими результаты (1,9%) получе-

**Таблица 1.** Частота выявления коронавирусов у больных острыми респираторными инфекциями разного пола  
**Table 1.** Coronavirus detection frequency in female and male patients with acute respiratory infection

Годы Years	Женщины Females				Мужчины Males			
	количество обследованных number of the examined	число лиц с положительным результатом исследования на Beta-НСoV, абс. (%) number of individuals tested positive for Beta-НСoV, abs. (%)	число лиц с положительным результатом исследования на Alpha-НСoV, абс. (%) number of individuals tested positive for Alpha-НСoV, abs. (%)	общее число лиц с положительным результатом исследования на НСoV, абс. (%) total number of individuals tested positive for НСoV, abs. (%)	количество обследованных number of the examined	число лиц с положительным результатом исследования на Beta-НСoV, абс. (%) number of individuals tested positive for Beta-НСoV, abs. (%)	число лиц с положительным результатом исследования на Alpha-НСoV, абс. (%) number of individuals tested positive for Alpha-НСoV, abs. (%)	общее число лиц с положительным результатом исследования на НСoV, абс. (%) total number of individuals tested positive for НСoV, abs. (%)
2016	1115	7 (0,63; 95% ДИ* 0,25–1,29)	29 (2,60; 95% ДИ 1,75–3,71)	36 (3,23; 95% ДИ 2,27–4,44)	1167	4 (0,34; 95% ДИ 0,09–0,88)	18 (1,54; 95% ДИ 0,92–2,43)	22 (1,89; 95% ДИ 1,19–2,84)
2017	1352	10 (0,74; 95% ДИ 0,36–1,36)	21 (1,55; 95% ДИ 0,96–2,36)	31 (2,29; 95% ДИ 1,56–3,24)	1453	18 (1,24; 95% ДИ 0,74–1,95)	25 (1,72; 95% ДИ 1,12–2,53)	43 (2,96; 95% ДИ 2,15–3,97)
2018	1687	5 (0,30; 95% ДИ 0,1–0,69)	45 (2,67; 95% ДИ 1,95–3,55)	50 (2,96; 95% ДИ 2,21–3,89)	1671	4 (0,24; 95% ДИ 0,07–0,61)	26 (1,56; 95% ДИ 1,02–2,27)	30 (1,80; 95% ДИ 1,21–2,55)
2019	1966	29 (1,48; 95% ДИ 0,99–2,11)	104 (5,29; 95% ДИ 4,34–6,37)	133 (6,77; 95% ДИ 5,69–7,97)	1955	16 (0,82; 95% ДИ 0,47–1,33)	70 (3,58; 95% ДИ 2,8–4,5)	86 (4,40; 95% ДИ 3,53–5,4)
2020 (январь–март) (January–March)	2085	39 (1,87; 95% ДИ 1,33–2,55)	87 (4,17; 95% ДИ 3,36–5,12)	126 (6,04; 95% ДИ 5,06–7,15)	1953	29 (1,48; 95% ДИ 1,0–2,13)	91 (4,66; 95% ДИ 3,77–5,69)	120 (6,14; 95% ДИ 5,12–7,3)
<b>Всего Total</b>	<b>8205</b>	<b>90 (1,10; 95% ДИ 0,88–1,35)</b>	<b>286 (3,49; 95% ДИ 3,11–3,91)</b>	<b>376 (4,58; 95% ДИ 4,15–5,06)</b>	<b>8199</b>	<b>71 (0,87; 95% ДИ 0,68–1,09)</b>	<b>230 (2,81; 95% ДИ 2,47–3,19)</b>	<b>301 (3,67; 95% ДИ 3,28–4,1)</b>

**Примечание.** \* Здесь и в табл. 2: ДИ – доверительный интервал.

**Note.** \* Here and in table 2: CI – confidence interval.

**Таблица 2.** Распространённость коронавирусов в разных возрастных группах больных острыми респираторными инфекциями  
**Table 2.** Coronavirus prevalence in different age groups of patients with acute respiratory infection

Возраст, годы Age, years	Количество обследованных Number of the examined	Число лиц с положительным результатом исследования на НСoV, абс. (%) Number of individuals tested positive for НСoV, abs. (%)	Число лиц с положительным результатом исследования на Beta-НСoV, абс. (%) Number of individuals tested positive for Beta-НСoV, abs. (%)	Число лиц с положительным результатом исследования на Alpha-НСoV, абс. (%) Number of individuals tested positive for Alpha-НСoV, abs. (%)
< 1	1451	50 (3,45; 95% ДИ 2,57–4,52)	14 (0,96; 95% ДИ 0,53–1,61)	36 (2,48; 95% ДИ 1,74–3,42)
1–2	1259	47 (3,73; 95% ДИ 2,76–4,93)	10 (0,79; 95% ДИ 0,38–1,46)	37 (2,94; 95% ДИ 2,08–4,03)
3–5	4042	142 (3,51; 95% ДИ 2,97–4,13)	37 (0,92; 95% ДИ 0,65–1,26)	105 (2,60; 95% ДИ 2,13–3,14)
6–17	2803	66 (2,35; 95% ДИ 1,83–2,99)	16 (0,57; 95% ДИ 0,33–0,93)	50 (1,78; 95% ДИ 1,33–2,35)
18–44	5003	253 (5,06; 95% ДИ 5,26–5,7)	58 (1,16; 95% ДИ 0,88–1,5)	195 (3,90; 95% ДИ 2,19–4,47)
45–59	1213	83 (6,84; 95% ДИ 5,49–8,41)	20 (1,65; 95% ДИ 1,01–2,54)	63 (5,19; 95% ДИ 4,01–6,6)
> 60	614	35 (5,70; 95% ДИ 4,0–7,84)	4 (0,65; 95% ДИ 0,18–1,66)	31 (5,05; 95% ДИ 3,46–7,09)

ны исследователями из Словении [25]. В Нидерландах HCoVс выявляли у детей контрольной группы с большей частотой (10%) [30].

В нашем исследовании у детей в возрасте до 6 лет с симптоматикой ОРВИ статистически значимо чаще обнаруживались HCoVс, чем у здоровых того же возраста, аналогично данным исследователей из Словении [25]. Тогда как среди детей 6–18 лет частота выявления HCoVс у больных и здоровых была практически одинакова, что совпадает с данными норвежских исследователей [30].

Такие возрастные различия, по-видимому, можно объяснить более лёгким и даже бессимптомным течением инфекции у детей старшего возраста вследствие приобретённого анамнестического иммунитета. У больных ОРВИ взрослых распространённость коро-

навирусной инфекции оказалась выше, чем у детей, что может быть связано со снижением анамнестического иммунитета с возрастом.

Оба рода HCoVс демонстрировали одинаковую сезонность циркуляции, но сезонные подъёмы заболеваемости Beta-HCoV не были столь выраженными по сравнению с Alpha-HCoV, а распространённость первого среди детей и взрослых была практически одинаковой.

По данным сероэпидемиологических исследований, IgG к разным видам HCoVс обнаруживаются довольно часто, особенно у взрослых. От 91 до 100% обследованных в США лиц старше 50 лет имели IgG ко всем четырём HCoVс в сыворотке крови и в 8–30% случаев – секретируемые слизистой носоглотки IgA, что свидетельствует о широкой распространённости

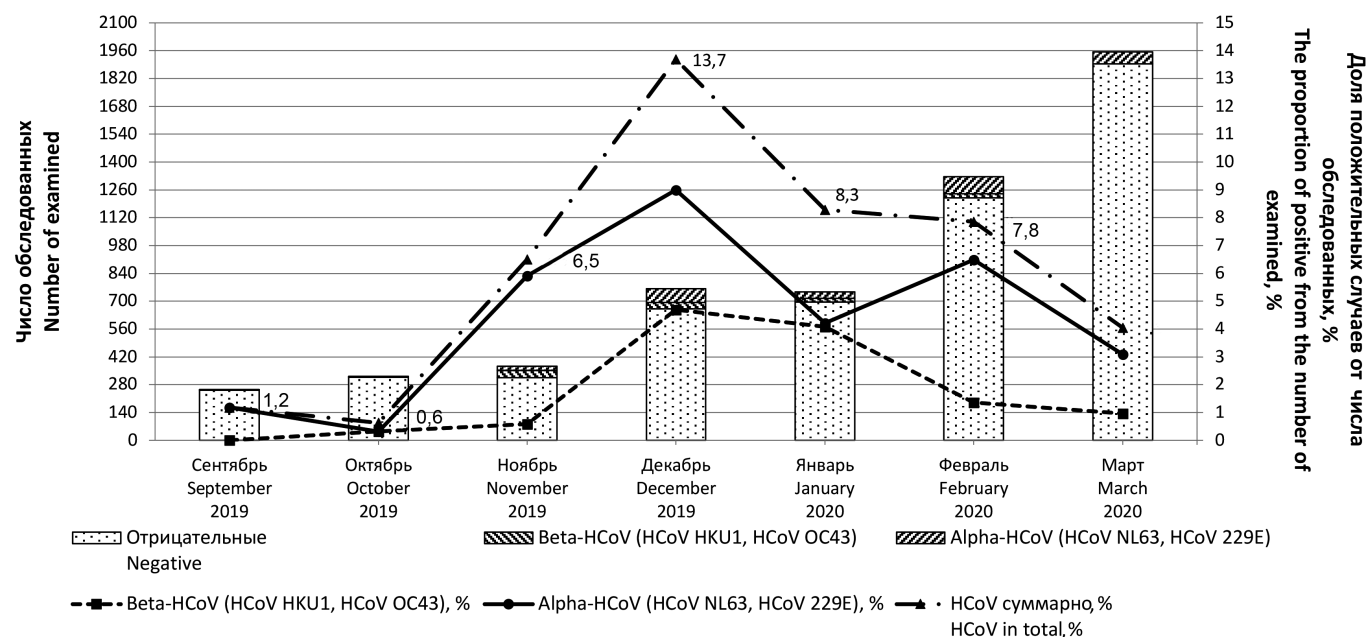


Рис. 3. Распространённость эпидемических коронавирусов с сентября 2019 г. по март 2020 г.

Fig. 3. Prevalence of epidemic-prone coronaviruses from September 2019 to March 2020.

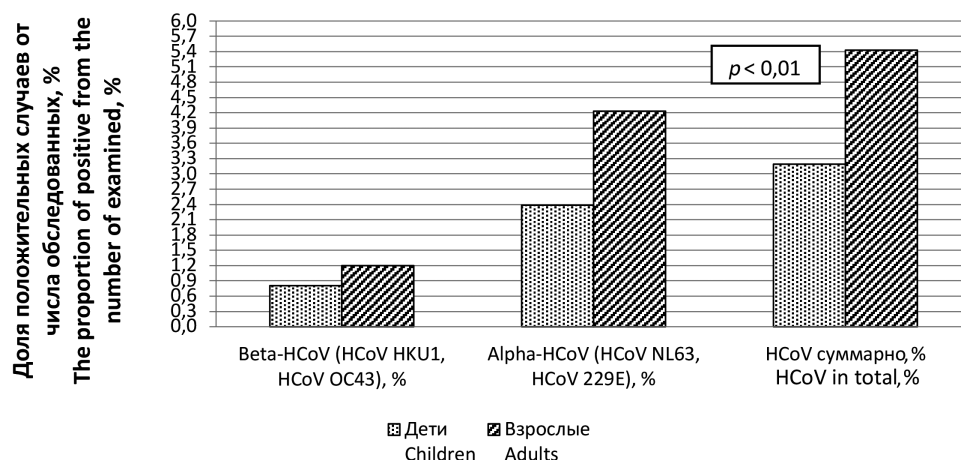


Рис. 4. Распространённость эпидемических коронавирусов у детей и взрослых. Вертикальная шкала – доля положительных случаев.

Fig. 4. Prevalence of epidemic-prone coronaviruses in children and adults. The vertical line – the proportion of positive cases.

инфекции и возможности повторного заражения коронавирусами одного и того же вида [34].

Экспериментальным путём показано отсутствие кросс-реактивности нейтрализующих антител к HCoV разных родов и внутри одного рода Beta-HCoV [35, 36].

Наши данные о более высокой частоте выявления HCoV у взрослых, чем у детей, в совокупности с результатами иммунологических исследований зарубежных коллег позволяют предполагать формирование непродолжительной иммунологической защиты после инфицирования и возможность повторных случаев заражения HCoV разных видов.

Более резкое по сравнению с предыдущими сезонами снижение частоты обнаружения HCoV в марте 2020 г. на фоне роста случаев завоза SARS-CoV-2 в Москву может быть следствием конкуренции между разными коронавирусами и, бесспорно, подтверждает специфичность выявления РНК HCoV использованным в данной работе диагностическим набором.

### Заключение

Проведённое ретроспективное исследование позволило оценить распространённость и выявить особенности циркуляции HCoV в Москве за 5 лет (с 2016 по 2020 гг.). Циркуляция HCoV характеризовалась зимне-весенней сезонностью с преобладанием Alpha-HCoV, без различий по полу. Распространённость HCoV варьировала от 2,6 до 6,1% числа обследованных больных в год с превышением в 2 раза СМУ в эпидемическом сезоне 2019–2020 гг. У детей до 6 лет с симптомами ОРИ HCoV выявлялись статистически значимо чаще, чем у условно-здоровых того же возраста, что свидетельствует о значимости возбудителей для развития инфекции. При инфицировании HCoV детей старшего возраста, возможно, имеющих защитный анамнестический иммунитет, заболевание, по-видимому, протекает в лёгкой и бессимптомной форме, что может объяснять одинаковую частоту выявления вирусов у лиц с наличием и отсутствием респираторной симптоматики. Обнаруженный нами рост частоты выявления HCoV у взрослых можно объяснить отсутствием перекрёстной реакции нейтрализующих антител к разным HCoV и снижением уровня антител с возрастом.

В последние годы эпидемическая активность коронавируса человека нарастала, достигнув максимума в декабре 2019 г. – феврале 2020 г., что совпало с появлением в Китае нового коронавируса SARS-CoV-2, относящегося к роду *Betacoronavirus*. Это совпадение могло быть не случайностью, а закономерным отражением активизации эволюционных процессов в популяции коронавирусов млекопитающих, изучение которых заслуживает отдельного внимания.

### ЛИТЕРАТУРА

- de Groot R.J., Baker S.C., Baric R., Enjuanes L., Gorbalenya A.E., Holmes K.V., et al. Family Coronaviridae. In: King A.M., Lefkowitz E., Adams M.J., Carstens E.B. *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. London, San Diego: Elsevier Academic Press; 2011.

- Cabeça T.K., Granato C., Bellei N. Epidemiological and clinical features of human coronavirus infections among different subsets of patients. *Influenza Other Respir. Viruses*. 2013; 7(6): 1040-7. DOI: <http://doi.org/10.1111/irv.12101>
- Bradburne A.F., Bynoe M.L., Tyrrell D.A. Effects of a «new» human respiratory virus in volunteers. *Br. Med. J.* 1967; 3(5568): 767-9. DOI: <http://doi.org/10.1136/bmj.3.5568.767>
- Esposto S., Bosis S., Niesters H.G.M., Tremolati E., Begliatti E., Rognoni A., et al. Impact of human coronavirus infections in otherwise healthy children who attended an emergency department. *J. Med. Virol.* 2006; 78(12): 1609-15. DOI: <http://doi.org/10.1002/jmv.20745>
- Dare R.K., Fry A.M., Chittaganpitch M., Sawanpanyalert P., Olsen S.J., Erdman D.D. Human coronavirus infections in rural Thailand: a comprehensive study using real-time reverse-transcription polymerase chain reaction assays. *J. Infect. Dis.* 2007; 196(9): 1321-8. DOI: <http://doi.org/10.1086/521308>
- Николаева С.В., Зверева З.А., Каннер Е.В., Яцшина С.Б., Усенко Д.В., Горелов А.В. Клинико-лабораторная характеристика коронавирусной инфекции у детей. *Инфекционные болезни*. 2018; 16(1): 35-9. DOI: <http://doi.org/10.20953/1729-9225-2018-1-35-39>
- Gaunt E.R., Hardie A., Claas E.C.J., Simmonds P., Templeton K.E. Epidemiology and clinical presentations of the four human coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 detected over 3 years using a novel multiplex real-time PCR method. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48(8): 2940-7. DOI: <http://doi.org/10.1128/JCM.00636-10>
- Woo P.C.Y., Lau S.K.P., Chu C., Chan K., Tsoi H., Huang Y., et al. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. *J. Virol.* 2005; 79(2): 884-95. DOI: <http://doi.org/10.1128/JVI.79.2.884-895.2005>
- Dent S., Neuman B.W. Purification of coronavirus virions for Cryo-EM and proteomic analysis. *Methods Mol. Biol.* 2015; 1282: 99-108. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7\\_10](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7_10)
- Gralinski L.E., Baric R.S. Molecular pathology of emerging coronavirus infections. *J. Pathol.* 2015; 235(2): 185-95. DOI: <http://doi.org/10.1002/path.4454>
- Poland A.M., Vennema H., Foley J.E., Pedersen N.C. Two related strains of feline infectious peritonitis virus isolated from immunocompromised cats infected with a feline enteric coronavirus. *J. Clin. Microbiol.* 1996; 34(12): 3180-4.
- Woo P.C., Lau S.K., Huang Y., Yuen K.Y. Coronavirus diversity, phylogeny and interspecies jumping. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. 2009; 234(10): 1117-27. DOI: <http://doi.org/10.3181/0903-MR-94/>
- Lu S., Wang Y., Chen Y., Wu B., Qin K., Zhao J., et al. Discovery of a novel canine respiratory coronavirus support genetic recombination among betacoronavirus1. *Virus Res.* 2017; 237: 7-13. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.virusres.2017.05.006>
- Poon L.L.M., Chu D.K.W., Chan K.H., Wong O.K., Ellis T.M., Leung Y.H.C., et al. Identification of a novel coronavirus in bats. *J. Virol.* 2005; 79(4): 2001-9. DOI: <http://doi.org/10.1128/JVI.79.4.2001-2009.2005>
- Luk H.K.H., Li X., Fung J., Lau S.K.P., Woo P.C.Y. Molecular epidemiology, evolution and phylogeny of SARS coronavirus. *Infect. Genet. Evol.* 2019; 71: 21-30. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.meeid.2019.03.001>
- Abdel-Moneim A.S. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV): evidence and speculations. *Arch. Virol.* 2014; 159(7): 1575-84. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00705-014-1995-5>
- Andersen K.G., Rambaut A., Lipkin W.I., Holmes E.C., Garry R.F. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat. Med.* 2020; 26(4): 450-2. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41591-020-0820-9>
- Corman V.M., Muth D., Niemeyer D., Drosten C. Hosts and sources of endemic human coronaviruses. *Adv. Virus Res.* 2018; 100: 163-88. DOI: <http://doi.org/10.1016/bs.aivir.2018.01.001>
- Ye Z.W., Yuan S., Yuen K.S., Fung S.Y., Chan C.P., Jin D.Y. Zoonotic origins of human coronaviruses. *Int. J. Biol. Sci.* 2020; 16(10): 1686-97. DOI: <http://doi.org/10.7150/ijbs.45472>
- Wertheim J.O., Chu D.K., Peiris J.S., Kosakovsky Pond S.L., Poon L.L. A case for the ancient origin of coronaviruses. *J. Virol.* 2013; 87(12): 7039-45. DOI: <http://doi.org/10.1128/JVI.03273-12>
- Jevšnik M., Uršič T., Zigon N., Lusa L., Krivec U., Petrovec M. Coronavirus infections in hospitalized pediatric patients with acute respiratory tract disease. *BMC Infect. Dis.* 2012; 12: 365. DOI: <http://doi.org/10.1186/1471-2334-12-365>

22. Varghese L., Zachariah P., Vargas C., LaRussa P., Demmer R.T., Furuya Y.E., et al. Epidemiology and clinical features of human coronaviruses in the pediatric population. *J. Pediatric Infect. Dis. Soc.* 2018; 7(2): 151-8. DOI: <http://doi.org/10.1093/jpids/pix027>
23. Monto A.S., Cowling B.J., Peiris J.S.M. Coronaviruses. In: Kaslow R.A., Stanberry L.R., Le Duc J.W., eds. *Viral Infections of Humans: Epidemiology and Control*. Boston, MA: Springer US; 2014: 199-223. DOI: [http://doi.org/10.1007/978-1-4899-7448-8\\_10](http://doi.org/10.1007/978-1-4899-7448-8_10)
24. Dominguez S.R., Robinson C.C., Holmes K.V. Detection of four human coronaviruses in respiratory infections in children: a one-year study in Colorado. *J. Med. Virol.* 2009; 81(9): 1597-604. DOI: <http://doi.org/10.1002/jmv.21541>
25. Jevšnik M., Steyer A., Pokorn M., Mrvič T., Grosek Š., Strle F., et al. The role of human coronaviruses in children hospitalized for acute bronchiolitis, acute gastroenteritis, and febrile seizures: a 2-year prospective study. *PLoS One*. 2016; 11(5): e0155555. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0155555>
26. Vabret A., Dina J., Gouarin S., Petitjean J., Tripey V., Brouard J., et al. Human (non-severe acute respiratory syndrome) coronavirus infections in hospitalised children in France. *J. Paediatr. Child Health*. 2008; 44(4): 176-81. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1440-1754.2007.01246.x>
27. Friedman N., Alter H., Hindiyeh M., Mendelson E., Shemer Avni Y., Mandelboim M. Human coronavirus infections in Israel: epidemiology, clinical symptoms and summer seasonality of HCoV-HKU1. *Viruses*. 2018; 10(10): 515. DOI: <http://doi.org/10.3390/v10100515>
28. Яцышина С.Б., Спичак Т.В., Ким С.С., Воробьева Д.А., Агеева М.Р., Горелов А.В. и др. Выявление респираторных вирусов и атипичных бактерий у больных пневмонией и здоровых детей за десятилетний период наблюдения. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. 2016; 95(2): 43-50.
29. Sauro J., Lewis J. Estimating completion rates from small samples using binomial confidence intervals: comparisons and recommendations. *Proc. Hum. Factors Ergon. Soc. Annu. Meet.* 2005; 49(24): 2100-3. DOI: <http://doi.org/10.1177/154193120504902407>
30. Heimdal I., Moe N., Krokstad S., Christensen A., Skanke L.H., Nordbø S.A., et al. Human coronavirus in hospitalized children with respiratory tract infections: a 9-year population-based study from Norway. *J. Infect. Dis.* 2019; 219(8): 1198-206. DOI: <http://doi.org/10.1093/infdis/jiy646>
31. Chiu S.S., Chan K.H., Chu K.W., Kwan S.W., Guan Y., Poon L.L.M., et al. Human coronavirus NL63 infection and other coronavirus infections in children hospitalized with acute respiratory disease in Hong Kong, China. *Clin. Infect. Dis.* 2005; 40(12): 1721-9. DOI: <http://doi.org/10.1086/430301>
32. Li Y., Reeves R.M., Wang X., Bassat Q., Brooks W.A., Cohen C., et al. Global patterns in monthly activity of influenza virus, respiratory syncytial virus, parainfluenza virus, and metapneumovirus: a systematic analysis. *Lancet Glob. Health*. 2019; 7(8): e1031-45. DOI: [http://doi.org/10.1016/S2214-109X\(19\)30264-5](http://doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30264-5)
33. Biggs H.M., Killerby M.E., Haynes A.K., Dahl R.M., Gerber S.I., Watson J.T. Human coronavirus circulation in the USA, 2014 – 2017. *Open. Forum Infect. Dis.* 2017; 4(Suppl. 1): S311-2. DOI: <http://doi.org/10.1093/ofid/ofx163.727>
34. Gorse G.J., Patel G.B., Vitale J.N., O'Connor T.Z. Prevalence of antibodies to four human coronaviruses is lower in nasal secretions than in serum. *Clin. Vaccine Immunol.* 2010; 17(12): 1875-80. DOI: <http://doi.org/10.1128/CVI.00278-10>
35. Chan C.M., Tse H., Wong S.S.Y., Woo P.C.Y., Lau S.K.P., Chen L., et al. Examination of seroprevalence of coronavirus HKU1 infection with S protein-based ELISA and neutralization assay against viral spike pseudotyped virus. *J. Clin. Virol.* 2009; 45(1): 54-60. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jcv.2009.02.011>
36. McIntosh K., Dees J.H., Becker W.B., Kapikian A.Z., Chanock R.M. Recovery in tracheal organ cultures of novel viruses from patients with respiratory disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1967; 57(4): 933-40. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.57.4.933>
2. Cabeça T.K., Granato C., Bellei N. Epidemiological and clinical features of human coronavirus infections among different subsets of patients. *Influenza Other Respir. Viruses*. 2013; 7(6): 1040-7. DOI: <http://doi.org/10.1111/irv.12101>
3. Bradburne A.F., Bynoe M.L., Tyrrell D.A. Effects of a "new" human respiratory virus in volunteers. *Br. Med. J.* 1967; 3(5568): 767-9. DOI: <http://doi.org/10.1136/bmj.3.5568.767>
4. Esposito S., Bosis S., Niesters H.G.M., Tremolati E., Begliatti E., Rognoni A., et al. Impact of human coronavirus infections in otherwise healthy children who attended an emergency department. *J. Med. Virol.* 2006; 78(12): 1609-15. DOI: <http://doi.org/10.1002/jmv.20745>
5. Dare R.K., Fry A.M., Chittaganpitch M., Sawanpanyalert P., Olsen S.J., Erdman D.D. Human coronavirus infections in rural Thailand: a comprehensive study using real-time reverse-transcription polymerase chain reaction assays. *J. Infect. Dis.* 2007; 196(9): 1321-8. DOI: <http://doi.org/10.1086/521308>
6. Nikolaeva S.V., Zvereva Z.A., Kanner E.V., Yatsyshina S.B., Usenko D.V., Gorelov A.V. A clinical-laboratory characteristic of coronavirus infection in children. *Infektsionnye bolezni*. 2018; 16(1): 35-9. DOI: <http://doi.org/10.20953/1729-9225-2018-1-35-39> (in Russian)
7. Gaunt E.R., Hardie A., Claas E.C.J., Simmonds P., Templeton K.E. Epidemiology and clinical presentations of the four human coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 detected over 3 years using a novel multiplex real-time PCR method. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48(8): 2940-7. DOI: <http://doi.org/10.1128/JCM.00636-10>
8. Woo P.C.Y., Lau S.K.P., Chu C., Chan K., Tsoi H., Huang Y., et al. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. *J. Virol.* 2005; 79(2): 884-95. DOI: <http://doi.org/10.1128/JVI.79.2.884-895.2005>
9. Dent S., Neuman B.W. Purification of coronavirus virions for Cryo-EM and proteomic analysis. *Methods Mol. Biol.* 2015; 1282: 99-108. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7\\_10](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7_10)
10. Gralinski L.E., Baric R.S. Molecular pathology of emerging coronavirus infections. *J. Pathol.* 2015; 235(2): 185-95. DOI: <http://doi.org/10.1002/path.4454>
11. Poland A.M., Vennema H., Foley J.E., Pedersen N.C. Two related strains of feline infectious peritonitis virus isolated from immunocompromised cats infected with a feline enteric coronavirus. *J. Clin. Microbiol.* 1996; 34(12): 3180-4.
12. Woo P.C., Lau S.K., Huang Y., Yuen K.Y. Coronavirus diversity, phylogeny and interspecies jumping. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. 2009; 234(10): 1117-27. DOI: <http://doi.org/10.3181/0903-MR-94>
13. Lu S., Wang Y., Chen Y., Wu B., Qin K., Zhao J., et al. Discovery of a novel canine respiratory coronavirus support genetic recombination among betacoronavirus1. *Virus Res.* 2017; 237: 7-13. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.virusres.2017.05.006>
14. Poon L.L.M., Chu D.K.W., Chan K.H., Wong O.K., Ellis T.M., Leung Y.H.C., et al. Identification of a novel coronavirus in bats. *J. Virol.* 2005; 79(4): 2001-9. DOI: <http://doi.org/10.1128/JVI.79.4.2001-2009.2005>
15. Luk H.K.H., Li X., Fung J., Lau S.K.P., Woo P.C.Y. Molecular epidemiology, evolution and phylogeny of SARS coronavirus. *Infect. Genet. Evol.* 2019; 71: 21-30. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.03.001>
16. Abdel-Moneim A.S. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV): evidence and speculations. *Arch. Virol.* 2014; 159(7): 1575-84. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00705-014-1995-5>
17. Andersen K.G., Rambaut A., Lipkin W.I., Holmes E.C., Garry R.F. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat. Med.* 2020; 26(4): 450-2. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41591-020-0820-9>
18. Corman V.M., Muth D., Niemeyer D., Drosten C. Hosts and sources of endemic human coronaviruses. *Adv. Virus Res.* 2018; 100: 163-88. DOI: <http://doi.org/10.1016/bs.aivir.2018.01.001>
19. Ye Z.W., Yuan S., Yuen K.S., Fung S.Y., Chan C.P., Jin D.Y. Zoonotic origins of human coronaviruses. *Int. J. Biol. Sci.* 2020; 16(10): 1686-97. DOI: <http://doi.org/10.7150/ijbs.45472>
20. Wertheim J.O., Chu D.K., Peiris J.S., Kosakovsky P.S., Poon L.L. A case for the ancient origin of coronaviruses. *J. Virol.* 2013; 87(12): 7039-45. DOI: <http://doi.org/10.1128/JVI.03273-12>
21. Jevšnik M., Uršič T., Zigon N., Lusa L., Krivec U., Petrovec M. Coronavirus infections in hospitalized pediatric patients with acute respiratory tract disease. *BMC Infect. Dis.* 2012; 12: 365. DOI: <http://doi.org/10.1186/1471-2334-12-365>

## REFERENCES

1. de Groot R.J., Baker S.C., Baric R., Enjuanes L., Gorbalenya A.E., Holmes K.V., et al. Family Coronaviridae. In: King A.M., Lefkowitz E., Adams M.J., Carstens E.B. *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. London, San Diego: Elsevier Academic Press; 2011.

22. Varghese L., Zachariah P., Vargas C., LaRussa P., Demmer R.T., Furuya Y.E., et al. Epidemiology and clinical features of human coronaviruses in the pediatric population. *J. Pediatric Infect. Dis. Soc.* 2018; 7(2): 151-8. DOI: <http://doi.org/10.1093/jpids/pix027>
23. Monto A.S., Cowling B.J., Peiris J.S.M. Coronaviruses. In: Kaslow R.A., Stanberry L.R., Le Duc J.W., eds. *Viral Infections of Humans: Epidemiology and Control*. Boston, MA: Springer US; 2014: 199-223. DOI: [http://doi.org/10.1007/978-1-4899-7448-8\\_10](http://doi.org/10.1007/978-1-4899-7448-8_10)
24. Dominguez S.R., Robinson C.C., Holmes K.V. Detection of four human coronaviruses in respiratory infections in children: a one-year study in Colorado. *J. Med. Virol.* 2009; 81(9): 1597-604. DOI: <http://doi.org/10.1002/jmv.21541>
25. Jevšnik M., Steyer A., Pokorn M., Mrvič T., Grosek Š., Strle F., et al. The role of human coronaviruses in children hospitalized for acute bronchiolitis, acute gastroenteritis, and febrile seizures: a 2-year prospective study. *PLoS One*. 2016; 11(5): e0155555. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0155555>
26. Vabret A., Dina J., Gouarin S., Petitjean J., Tripey V., Brouard J., et al. Human (non-severe acute respiratory syndrome) coronavirus infections in hospitalised children in France. *J. Paediatr. Child Health*. 2008; 44(4): 176-81. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1440-1754.2007.01246.x>
27. Friedman N., Alter H., Hindiyeh M., Mendelson E., Shemer Avni Y., Mandelboim M. Human coronavirus infections in Israel: epidemiology, clinical symptoms and summer seasonality of HCoV-HKU1. *Viruses*. 2018; 10(10): 515. DOI: <http://doi.org/10.3390/v10100515>
28. Yatsyshina S.B., Spichak T.V., Kim S.S., Vorob'eva D.A., Ageeva M.R., Gorelov A.V., et al. Revealing of respiratory viruses and atypical bacteria in children with pneumonia and healthy children for ten years of observation. *Pediatriya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo*. 2016; 95(2): 43-50. (in Russian)
29. Sauro J., Lewis J. Estimating completion rates from small samples using binomial confidence intervals: comparisons and recommendations. *Proc. Hum. Factors Ergon. Soc. Annu. Meet.* 2005; 49(24): 2100-3. DOI: <http://doi.org/10.1177/154193120504902407>
30. Heimdal I., Moe N., Krokstad S., Christensen A., Skanke L.H., Nordbø S.A., et al. Human coronavirus in hospitalized children with respiratory tract infections: a 9-year population-based study from Norway. *J. Infect. Dis.* 2019; 219(8): 1198-206. DOI: <http://doi.org/10.1093/infdis/jiy646>
31. Chiu S.S., Chan K.H., Chu K.W., Kwan S.W., Guan Y., Poon L.L.M., et al. Human coronavirus NL63 infection and other coronavirus infections in children hospitalized with acute respiratory disease in Hong Kong, China. *Clin. Infect. Dis.* 2005; 40(12): 1721-9. DOI: <http://doi.org/10.1086/430301>
32. Li Y., Reeves R.M., Wang X., Bassat Q., Brooks W.A., Cohen C., et al. Global patterns in monthly activity of influenza virus, respiratory syncytial virus, parainfluenza virus, and metapneumovirus: a systematic analysis. *Lancet Glob. Health*. 2019; 7(8): e1031-45. DOI: [http://doi.org/10.1016/S2214-109X\(19\)30264-5](http://doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30264-5)
33. Biggs H.M., Killerby M.E., Haynes A.K., Dahl R.M., Gerber S.I., Watson J.T. Human coronavirus circulation in the USA, 2014 – 2017. *Open. Forum Infect. Dis.* 2017; 4(Suppl. 1): S311-2. DOI: <http://doi.org/10.1093/ofid/ofx163.727>
34. Gorse G.J., Patel G.B., Vitale J.N., O'Connor T.Z. Prevalence of antibodies to four human coronaviruses is lower in nasal secretions than in serum. *Clin. Vaccine Immunol.* 2010; 17(12): 1875-80. DOI: <http://doi.org/10.1128/CVI.00278-10>
35. Chan C.M., Tse H., Wong S.S.Y., Woo P.C.Y., Lau S.K.P., Chen L., et al. Examination of seroprevalence of coronavirus HKU1 infection with S protein-based ELISA and neutralization assay against viral spike pseudotyped virus. *J. Clin. Virol.* 2009; 45(1): 54-60. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jcv.2009.02.011>
36. McIntosh K., Dees J.H., Becker W.B., Kapikian A.Z., Chanock R.M. Recovery in tracheal organ cultures of novel viruses from patients with respiratory disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1967; 57(4): 933-40. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.57.4.933>



## Противовирусная активность экстрактов базидиомицетов и гуминовых соединений в отношении вируса иммунодефицита человека (*Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus 1*) и вируса простого герпеса (*Herpesviridae: Simplexvirus: Human alphaherpesvirus 1*)

Носик Д.Н.<sup>1</sup>, Носик Н.Н.<sup>1</sup>, Теплякова Т.В.<sup>2</sup>, Лобач О.А.<sup>1</sup>, Киселева И.А.<sup>1</sup>, Кондрашина Н.Г.<sup>1</sup>, Бочкова М.С.<sup>1</sup>, Ананько Г.Г.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт вирусологии имени Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва;

<sup>2</sup>ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»» Роспотребнадзора, 630559, р.п. Кольцово, Новосибирская обл.

**Введение.** Актуальнейшей проблемой современной медицины является борьба с заболеванием, вызываемым вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), – ВИЧ-инфекцией. Применяемые химические соединения улучшили ситуацию для инфицированных, однако они токсичны, нарушают обмен веществ и не могут избавить организм от интегрированного вируса. Появление резистентных штаммов ВИЧ делает эти лечебные средства неэффективными. Часто смерть ВИЧ-инфицированных наступает в результате развития оппортунистических инфекций, вызванных вирусами семейства *Herpesviridae*. Поэтому актуален поиск новых лечебных и профилактических препаратов, менее токсичных, активных в отношении нескольких вирусов одновременно. Базидиомицеты, высшие грибы, являются источником лекарственных соединений, обладающих антимикробными и противовирусными свойствами. Гуминовые соединения (ГС) различной природы также обладают противовирусной активностью.

**Цель** исследования – получение и испытание нетоксичных препаратов из базидиомицета *Inonotus obliquus* и ГС из бурых углей в отношении вирусов, патогенных для человека: ВИЧ и вируса простого герпеса (ВПГ).

**Материал и методы.** На модели лимфобластоидных клеточек МТ-4, инфицированных штаммами ВИЧ, тип 1 (ВИЧ-1), и монослойной культуры клеток *Vero*, инфицированной ВПГ, тип 1 (ВПГ-1), изучена противовирусная активность экстрактов меланина, полученных из культивируемой культуры гриба чага *Inonotus obliquus*, и ГС – из бурого угля Канско-Ачинского месторождения с использованием вирусологических и статистических методов исследования.

**Результаты и обсуждение.** Установлено, что все исследованные соединения не обладали цитотоксическим действием на клетки при концентрации 100 мкг/мл. Показано, что экстракты базидиомицетов и ГС обладают противовирусной активностью в отношении ВИЧ-1 и ВПГ-1. ЭК<sub>50</sub> (50% эффективная концентрация) в отношении ВИЧ-1 составила 3,7–5,0 мкг/мл, индекс селективности – 28–35. Противогерпетическая активность обнаружена при дозе 50–100 мкг/мл. Противовирусная эффективность меланиновых соединений установлена как при «профилактической» (за 2 ч до инфицирования клеток), так и при «лечебной» схеме введения препаратов как в отношении ВИЧ-1, так и ВПГ-1. Наличие противовирусной активности меланина и ГС в отношении РНК-содержащего вируса ВИЧ-1 и ДНК-содержащего вируса ВПГ-1 в нашем исследовании совпадает с результатами ряда авторов в отношении вирусов гриппа, герпеса, ВИЧ, гепатита В, Коксаки, осповакцины, что позволяет высказать предположение о том, что тип нуклеиновой кислоты вируса не играет принципиальной роли в антивирусном действии этих препаратов. Очевидно также, что ГС эффективны как в отношении вирусов с оболочкой, так и безоболочечных вирусов.

**Заключение.** В целом можно заключить, что для меланиновых и гуминовых соединений характерна низкая токсичность при наличии и вирулицидной, и противовирусной активности. Это позволяет рассматривать исследованные соединения как основу для создания безопасных лекарственных средств, эффективных в отношении возбудителей различных вирусных инфекций.

**Ключевые слова:** противовирусная активность; ВИЧ-1; ВПГ-1; базидиомицеты; гуминовые соединения.

**Для цитирования:** Носик Д.Н., Носик Н.Н., Теплякова Т.В., Лобач О.А., Киселева И.А., Кондрашина Н.Г., Бочкова М.С., Ананько Г.Г. Противовирусная активность экстрактов базидиомицетов и гуминовых соединений в отношении вируса иммунодефицита человека (*Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus 1*) и вируса простого герпеса (*Herpesviridae: Simplexvirus: Human alphaherpesvirus 1*). *Вопросы вирусологии*. 2020; 65(5): 276–283. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-5-4>

**Для корреспонденции:** Лобач Ольга Александровна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории противовирусных и дезинфекционных средств Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи», 123098, Москва. E-mail: victoriola@yandex.ru



**Участие авторов:** все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

**Финансирование.** Работа была частично поддержана финансированием по теме ГНЦ ВБ «Вектор» 03-02-14.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила 30.04.2020

Принята в печать 17.09.2020

## Antiviral activity of extracts of basidiomycetes and humic compounds substances against Human Immunodeficiency Virus (*Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus 1*) and Herpes Simplex Virus (*Herpesviridae: Simplexvirus: Human alphaherpesvirus 1*)

Dmitry N. Nosik<sup>1</sup>, Nickolay N. Nosik<sup>1</sup>, Tamara V. Teplyakova<sup>2</sup>, Olga A. Lobach<sup>1</sup>, Irina A. Kiseleva<sup>1</sup>, Nina G. Kondrashina<sup>1</sup>, Marina S. Bochkova<sup>1</sup>, Grigoriy G. Ananko<sup>2</sup>

<sup>1</sup>The D.I. Ivanovsky Institute of Virology FSBI «National Research Center of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya» of the Ministry of Health of Russia, 123098, Moscow;

<sup>2</sup>FBU State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector» of Rospotrebnadzor, 630559, Koltsovo district, Novosibirsk region.

**Introduction.** One of the most urgent problem of modern medicine is the fight against the disease caused by the Human Immunodeficiency Virus (HIV) – HIV infection. The chemical compounds have improved the situation for infected people, but they are toxic, disrupt the metabolism and cannot eliminate the integrated virus from the body. The emergence of resistant HIV strains makes these treatments ineffective. Often, the death of HIV-infected people occurs as a result of the development of opportunistic infections caused by viruses of the *Herpesviridae* family. Therefore, the search for new therapeutic and preventive drugs that are less toxic and active against several viruses at the same time is relevant. *Basidiomycetes*, higher fungi, are a source of medicinal compounds that have antimicrobial properties, as well as antiviral ones. Humic compounds (HS) of various nature also have antiviral activity.

**The aim** of the study was to obtain nontoxic compounds from the basidiomycete *Inonotus obliquus* and humic compounds from brown coals and to test their activity against viruses that are pathogenic to humans: HIV and Herpes Simplex Virus (HSV).

**Material and methods.** The antiviral activity of melanin extracts obtained from the culture of the chaga fungus *Inonotus obliquus* and HS from the brown coal of the Kansko-Achinsk Deposit was studied using a model of MT-4 lymphoblastoid cells infected with HIV type 1 (HIV-1) strains and a monolayer culture of Vero cells infected with HSV type 1 (HSV-1) using virological and statistical research methods.

**Results and discussion.** It was found that all the studied compounds did not have a cytotoxic effect on cells at a concentration of 100 mcg/ml. It was shown that extracts of basidiomycetes and HS have antiviral activity against HIV-1 and HSV-1. EC<sub>50</sub> (50%-effective concentration) for HIV-1 was 3.7–5.0 mcg/ml, selectivity index 28–35. Antiherpetic activity was detected at a dose of 50–100 mcg/ml. The antiviral effectiveness of melanin compounds was established both in the «preventive» (2 hours before cell infection) and in the «therapeutic» regimen of drug administration, both for HIV-1 and HSV-1. The presence of antiviral activity of melanin and HS in relation to the RNA-containing HIV-1 virus and DNA-containing HSV-1 virus in our study coincides with the results of a number of authors in relation to influenza viruses, herpes virus, HIV, hepatitis B virus, Coxsackievirus, smallpox vaccine virus, which suggests that the type of nucleic acid in the virus does not play a fundamental role in the antiviral action of these drugs. It is also clear that HS is effective against both enveloped and non-enveloped viruses.

**Conclusion.** In general, it can be concluded that melanin and humic compounds are characterized by low toxicity in the presence of both virucidal and antiviral activity. This allows us to consider the studied compounds as the basis for creating safe medicines that are effective against pathogens of various viral infections.

**Keywords:** antiviral activity; HIV-1; HSV-1; basidiomycetes; humic compounds.

**For citation:** Nosik D.N., Nosik N.N., Teplyakova T.V., Lobach O.F., Kiseleva I.A., Kondrashina N.G., Bochkova M.S., Ananko G.G. Antiviral activity of extracts of basidiomycetes and humic compounds against Human Immunodeficiency Virus (*Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus 1*) and Herpes Simplex Virus (*Herpesviridae: Simplexvirus: Human alphaherpesvirus 1*). *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2020;65(5): 276-283. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-5-4>

**For correspondence:** Olga A. Lobach, Cand. Sci. Biol., senior researcher at the Laboratory of antiviral and disinfection agents of The D.I. Ivanovsky Institute of Virology FSBI «National Research Center of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya» of the Ministry of Health of Russia, 123098, Moscow. E-mail: [victoriola@yandex.ru](mailto:victoriola@yandex.ru)

**Information about the authors:**

Nosik D.N., <http://orcid.org/0000-0001-5757-5671>

Nosik N.N., <http://orcid.org/0000-0003-1943-6536>

Teplyakova T.V., <http://orcid.org/0000-0003-4754-5051>

Lobach O.A., <http://orcid.org/0000-0001-9351-6433>

Kiseleva I.A., <http://orcid.org/0000-0003-3693-6081>

Kondrashina N.G. <http://orcid.org/0000-0003-3985-3839>

Bochkova M.S., <http://orcid.org/0000-0001-9295-8379>

Ananko G.G., <http://orcid.org/0000-0001-6570-5501>

**Contribution:** the authors contributed equally to this article.

**Acknowledgements.** The work was partially supported by funding on the topic of FBU VB «Vector» 03-02-14.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 30 April 2020

Accepted 17 September 2020

## Введение

Актуальнейшей проблемой современной медицины является борьба с заболеванием, вызываемым вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), – ВИЧ-инфекцией, которая за короткий срок привела к заражению и смерти миллионов человек. Применяемые химические соединения улучшили ситуацию для инфицированных, однако они токсичны для человека, нарушают обмен веществ и не могут избавить организм от интегрированного вируса [1–3]. Появление резистентных штаммов ВИЧ делает эти лечебные средства неэффективными. Течение ВИЧ-инфекции тесно связано с развитием оппортунистических инфекций, и часто смерть больных наступает в результате развития вирусных инфекций, вызванных вирусами семейства *Herpesviridae*.

В связи с этим актуален поиск новых лечебных и профилактических препаратов, менее токсичных, активных в отношении нескольких вирусов одновременно, способных также атаковать резервуары вируса, пока недоступные для проникновения существующих лекарств. Поэтому заявление, прозвучавшее во Всемирной Организации Здравоохранения еще в 1989 г. о необходимости обратить внимание на возможности этномедицины, фитотерапии и использование натуральных продуктов для борьбы с ВИЧ/СПИДом, и сегодня не потеряло своей актуальности [3].

Базидиомицеты, высшие грибы, используемые в пищу, являются источником лекарственных соединений, обладающих антимикробными свойствами, в том числе противовирусными [4]. Большинство исследователей связывают эти эффекты с наличием в грибах меланинов – высокомолекулярных гетерогенных полимеров, представленных в виде черных и коричневых пигментов. Темный цвет меланинов определяется тем, что они не излучают поглощенный видимый или невидимый свет, а преобразуют энергию во вращательную и вибрационную активность внутри молекулы, рассеивая ее в виде тепла. Свободные электроны, способные к обменно-взаимодействию, определяют антиоксидантные свойства меланинов [5].

Меланины повышают толерантность грибов к экологическим стрессам, улучшая их выживаемость. Они защищают грибковые структуры от ультрафиолетового излучения, повышенной температуры, высыхания, окислителей, токсичных соединений и атак микробов благодаря своей хелатирующей способности [5, 6]. Имеется ряд данных о непосредственном взаимодействии молекул меланина с вирионами, находящимися в межклеточной среде [7]. Имеется также предположение, что экстракт чаги ингибировал

репродукцию вируса простого герпеса (ВПГ-1), воздействуя на вирусные гликопротеины [8].

Гуминовые соединения (ГС) (производное от латинского *humus* – «земля» или «почва») различной природы также обладают широким спектром активностей, поскольку сами являются важнейшими компонентами биосферы. Они участвуют в миграции катионов, снижают негативное действие токсичных веществ, влияют на развитие организмов и тепловой баланс планеты [9].

Установлена противовирусная активность ГС в отношении различных вирусов с оболочкой и без липидной оболочки: вируса гриппа А, ВПГ-1, цитомегаловируса, ВИЧ, вируса Коксаки [10, 11].

**Целью** данных исследований было получение и испытание нетоксичных препаратов из базидиомицета *Inonotus obliquus* и ГС из бурых углей в отношении ряда вирусов, патогенных для человека, таких как ВИЧ-1 и ВПГ-1.

## Материал и методы

**Вирусы.** В качестве источника ВИЧ использовали штамм ВИЧ-1<sub>899А</sub> (субтип В; Германия), штамм ВИЧ-1<sub>ИБ735</sub> (субтип В; Россия), штамм ВИЧ-1<sub>ИБ741</sub> (субтип АЕ; Россия) из коллекции штаммов ВИЧ Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России.

В работе использовали ВПГ-1, штамм Л2, полученный из Государственной коллекции вирусов Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России.

**Клетки.** Для работы с ВИЧ использовали перевиваемые лимфобластоидные клетки человека МТ-4. Для работы с ВПГ использовали перевиваемую культуру клеток почки зеленых мартышек *Vero*. Клеточные культуры получены из коллекции культур клеток Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России.

**Исследование цитотоксического действия препаратов.** Исследуемые образцы добавляли к клеткам в различных концентрациях. Инкубировали клетки при 37°C в атмосфере с 5% CO<sub>2</sub> и 98% влажности 1–5 дней (в зависимости от типа клеток). Учет результатов: определение жизнеспособности и количества клеток при помощи красителя.

**Исследование противовирусного действия образцов в отношении ВИЧ-1.** Внесение исследуемого образца в различных дозах проводили одновременно с инфицированием вирусом в дозе 0,01 ТЦИД<sub>50</sub>/клетку (50% тканевая цитопатическая инфекционная доза) или при предварительной 2-часовой инкуба-

ции. Инкубацию клеток проводили в течение 5 дней при 37°C в атмосфере с 5% CO<sub>2</sub> и 98% влажности. Учет результатов осуществляли окрашиванием клеток с помощью тетразолиевого красителя (методом МТТ) со спектрофотометрией и световой микроскопией – исследованием цитопатического эффекта вируса (ЦПЭ) и вирус-индуцируемого синцития (синцитий – конгломерат нескольких клеток с общей клеточной оболочкой, образовавшейся в результате слияния их мембран), определением антигена вируса в культуральной жидкости инфицированных клеток.

Степень защиты клеток от цитодеструктивного действия вируса определяли по формуле:

$$\% \text{ защиты} = \frac{A - B}{K - B} \times 100,$$

где А – число жизнеспособных клеток в опытной группе;  
В – то же в инфицированной культуре (контроль вируса);

К – то же в неинфицированной культуре (контроль клеток).

Определение антигена вируса в культуральной жидкости инфицированных клеток проводили методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческого набора GENSCREEN™ ULTRA HIV Ag-Ab фирмы BIO-RAD согласно инструкции изготовителя. Результаты учитывали с помощью фотометра Stat Fax-3200 производства США при длине волны 450/630 нм. Чувствительность тест-системы – менее 25 пкг/мл.

*Исследование противовирусного действия образцов в отношении ВПГ-1.* В монослойную культуру клеток *Vero* вносили испытуемые образцы в различных концентрациях с вирусом в дозе 100 ТЦИД<sub>50</sub> одновременно или за 2 ч до инфицирования. Контролем служили клетки, не обработанные исследуемыми веществами и инфицированные ВПГ-1. Опытные и контрольные клетки в 96-луночных панелях помещали в инкубатор при 37°C и 5,0% CO<sub>2</sub> до поражения 100% клеток в контроле. Учет проводили микроскопически и методом МТТ (с помощью тетразолиевого красителя).

*Получение культуральных меланинов (образцы 14-23, 15-48, 15-54, 16-32, 16-42).* Для получения меланинов в глубинной культуре использовали штамм гриба чага *Inonotus obliquus* F-1244, выращенный на глюкозо-триптонной среде следующего состава, г/л: глюкоза – 30; триптон – 2,5; дрожжевой экстракт – 1,25; КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub> – 1,1; К<sub>2</sub>НРО<sub>4</sub> – 4,4; MgSO<sub>4</sub> – 0,25; рН 7,0–8,0. Культивирование осуществлялось в 0,75 л колбах на качалке при 200 об./мин, 26°C в течение 12 сут, до максимального накопления меланинов. Для выделения меланинов, секретированных в среду, сначала фильтрованием отделяли мицелий, а затем меланины осаждали соляной кислотой. Меланины из мицелия экстрагировали 2% NaOH, отделяли экстракт центрифугированием, а затем меланины также осаждали соляной кислотой. Меланины подвергали очистке посредством 6-кратного переосаждения. После очистки и высушивания препарат меланина представлял собой черные кристал-

лы с ярким мерцающим блеском. После измельчения кристаллов меланин представлял собой темно-бурый порошок.

*Получение образцов ГС (образцы 12-47, 14-46, 14-75, 14-80, 14-82, 16-35).* В качестве источника ГС использовали бурый уголь Канско-Ачинского месторождения, предварительно измельченный в мельнице (размер частиц до 0,25 мм). Для получения водорастворимых соединений порошок обрабатывали 2,5% раствором аммиака в гомогенизаторе, с последующим отделением нерастворимой фракции и очисткой ГС методом 6-кратного переосаждения по методике, описанной ранее [12].

*Методы статистической обработки результатов.* Статистический анализ данных описательной статистики и определения коэффициента Стьюдента проводили с помощью программы BioStat 2009 (AnalystSoft). Уровень значимости (α) был равен 0,05.

## Результаты исследования

### 1. Антитретовирусная активность гуминовых и меланиновых веществ в культуре клеток

Результаты антитретовирусной активности образцов представлены в **табл. 1–2**.

Полученные данные (см. **табл. 1**) показали, что наименьшей цитотоксичностью обладал образец 14-82. При концентрации 50–400 мкг/мл жизнеспособность клеток составила 97,7–95,9% соответственно по сравнению с контролем. Наибольшая цитотоксичность обнаружена у образца 15-54 – при концентрации 400 мкг/мл жизнеспособность клеток составила 69,2%. В целом все исследованные соединения не обладали цитотоксическим действием на клетки при концентрации 100 мкг/мл. СТ<sub>50</sub> (50% среднетоксичная концентрация) для соединений 16-32 и 16-35 составила 140 и 130 мкг/мл соответственно.

Противовирусная активность в отношении ВИЧ-1 обнаружена у образцов 12-47, 14-23, 14-46, 14-75, 14-80, 14-82, 16-32, 16-35 при концентрации 10–400 мкг/мл. Наибольшей противовирусной активностью в отношении ВИЧ-1 обладали образцы 16-32, 16-35 – при концентрации 10 мкг/мл отмечена 92,4–94,1% защита клеток от ЦПЭ вируса и отсутствовали вирус-индуцированные синцитии, а также обнаружено снижение на 60,3–81,6% уровня вирусного антигена в культуральной жидкости ВИЧ-инфицированных клеток. ЭК<sub>50</sub> (50% эффективная концентрация) препарата 16-32 – 3,7 мкг/мл, 16-35 – 5,0 мкг/мл. Индекс селективности для препарата 16-32 – 35, 16-35 – 28. При этом препараты были эффективны в отношении штаммов ВИЧ-1 разных субтипов, выделенных в разных регионах мира (Западная Европа и Россия) (см. **табл. 2**).

### 2. Противогерпетическая активность гуминовых и меланиновых веществ в культуре клеток

Результаты исследования противогерпетической активности гуминовых и меланиновых веществ представлены в **таблицах 3 и 4**.

В отношении ВПГ-1 также наблюдался про-

**Таблица 1.** Исследование противовирусной активности образцов на модели клеток человека (MT-4), инфицированных ВИЧ-1

**Table 1.** Study of antiviral activity of samples on a model of human cells (MT-4) infected with HIV-1

Образец Sample	Концентрация, мкг/мл Concentration, mcg/ml	Без вируса (токсичность) No virus (toxicity)	**ВИЧ-инфекция **HIV-infection		
		*жизнеспособность клеток, % *Cell viability, %	ЦПЭ-синцитии, % CPE- syncytia, %	защита клеток, % Cell protection, %	снижение уровня вирусного антигена, % Reduction of the level of viral antigen, %
12-47	150	91,4 ± 0,02	0	68,0 ± 0,01	74,9 ± 0,01
	125	93,2 ± 0,02	0	60,8 ± 0,02	67,6 ± 0,03
	100	98,4 ± 0,03	0	50,4 ± 0,03	65,1 ± 0,02
	75	98,8 ± 0,02	0	46,7 ± 0,02	63,7 ± 0,03
	50	99,2 ± 0,04	10	31,2 ± 0,04	52,0 ± 0,04
	25	99,4 ± 0,05	100	12,8 ± 0,05	34,4 ± 0,05
14-23	150	89,0 ± 0,02	0	73,6 ± 0,01	66,8 ± 0,03
	125	90,4 ± 0,01	0	71,9 ± 0,02	61,0 ± 0,02
	100	97,2 ± 0,03	0	63,4 ± 0,01	58,3 ± 0,04
	75	97,8 ± 0,02	0	63,2 ± 0,02	58,1 ± 0,04
	50	98,6 ± 0,04	10	37,8 ± 0,03	54,9 ± 0,05
	25	99,8 ± 0,05	10	29,5 ± 0,04	5,7 ± 0,02
14-46	150	92,0 ± 0,03	0	79,9 ± 0,01	63,2 ± 0,02
	125	93,0 ± 0,02	0	78,0 ± 0,02	54,7 ± 0,04
	100	97,3 ± 0,02	0	60,7 ± 0,02	51,3 ± 0,05
	75	97,8 ± 0,03	0	59,3 ± 0,04	50,1 ± 0,03
	50	98,4 ± 0,03	0	54,2 ± 0,05	48,6 ± 0,04
	25	98,8 ± 0,04	10	49,9 ± 0,05	36,0 ± 0,05
14-75	400	85,8 ± 0,03	0	89,0 ± 0,02	98,2 ± 0,01
	200	87,4 ± 0,03	0	88,6 ± 0,01	97,7 ± 0,02
	100	87,9 ± 0,04	10	68,9 ± 0,02	58,1 ± 0,05
	50	89,0 ± 0,05	100	47,0 ± 0,03	5,1 ± 0,05
14-80	400	89,9 ± 0,02	0	89,0 ± 0,02	97,3 ± 0,03
	200	91,1 ± 0,03	0	85,8 ± 0,03	96,6 ± 0,04
	100	92,7 ± 0,04	10	68,1 ± 0,04	32,3 ± 0,05
	50	94,3 ± 0,05	100	21,7 ± 0,05	7,2 ± 0,01
14-82	400	95,9 ± 0,03	0	95,6 ± 0,01	98,4 ± 0,02
	200	96,4 ± 0,03	0	86,7 ± 0,02	97,3 ± 0,03
	100	96,8 ± 0,03	0	84,3 ± 0,04	96,4 ± 0,03
	50	97,7 ± 0,04	10	59,1 ± 0,04	23,8 ± 0,02
15-48	400	81,1 ± 0,05	10	27,0 ± 0,03	1,1 ± 0,05
	200	82,2 ± 0,05	100	13,5 ± 0,03	0,8 ± 0,04
	100	83,3 ± 0,03	100	5,7 ± 0,05	0,7 ± 0,03
	50	83,6 ± 0,04	100	5,3 ± 0,05	0,2 ± 0,05
15-54	400	69,2 ± 0,04	100	7,1 ± 0,04	4,4 ± 0,05
	200	70,1 ± 0,02	100	3,2 ± 0,05	3,8 ± 0,05
	100	70,8 ± 0,04	100	0,2 ± 0,05	2,1 ± 0,05
	50	71,2 ± 0,05	100	0	0,5 ± 0,04
Контроль клеток Cell Control		100	0	–	–
Контроль вируса Virus Control		–	100	–	–

**Примечание:** \* – жизнеспособность клеток по отношению к интактному контролю клеток, %; \*\* – внесение препаратов одновременно с инфицированием.

**Note:** \* – cell viability in comparison to intact control cells, %; \*\* – introduction of compounds simultaneously with infection.

тивовирусный эффект исследованных соединений: 12-47, 14-46, 15-48, 15-54, 16-32 (см. табл. 3, 4). В контрольных культурах клеток (инфицированных ВПГ-1 и не обработанных исследуемыми соединениями) через 48 ч развивался вирус-индуцированный ЦПЭ. ГС (образцы №12-47 и 14-46) защищали клетки от цитопатического действия ВПГ-1 при ми-

нимальных концентрациях 100 мкг/мл для №12-47 и 150 мкг/мл – для №14-46 (см. табл. 4). В случае меланиновых соединений противовирусный эффект был несколько выше – противогерпетическая активность отмечена уже при дозе препарата 50 мкг/мл. Предварительная инкубация клеток с препаратом в течение 2 ч увеличивала противовирусный эффект.

**Таблица 2.** Противовирусная активность образцов водного раствора ГС и меланина из жидкой биомассы штамма чаги F-1244 на модели клеток человека, инфицированных различными штаммами ВИЧ-1 (концентрация 10 мкг/мл)

**Table 2.** Antiviral activity of samples of an aqueous solution of humic compound and melanin from the liquid biomass of the F-1244 chaga strain on a model of human cells infected with various HIV-1 strains (concentration 10 mcg/ml)

Образец Sample	Защита клеток от цитодеструктивного действия вируса, % Protection of cells from the cytodestructive action of the virus, %		
	Штаммы вируса иммунодефицита человека Human Immunodeficiency Virus strains		
	ВИЧ-1 <sub>899A</sub> (субтип В) HIV-1 <sub>899A</sub> (subtype B)	ВИЧ-1 <sub>IB735</sub> (субтип В) HIV-1 <sub>IB735</sub> (subtype B)	ВИЧ-1 <sub>IB741</sub> (субтип АЕ) HIV-1 <sub>IB741</sub> (subtype АЕ)
Гуминовое соединение Humic compound (16-35)	92,7 ± 0,02	93,2 ± 0,02	93,2 ± 0,03
Меланин Melanin (16-32)	81,9 ± 0,03	82,3 ± 0,04	92,4 ± 0,02

Таблица 3. Противогерпетическое действие гуминовых соединений в культуре клеток Vero

Table 3. Antiherpetic effect of humic compounds in Vero cell culture

Концентрации испытуемых веществ, мкг/мл Concentrations of the tested substances, mcg/ml	Защита от цитопатического действия 100 ТЦИД <sub>50</sub> ВПГ-1, % Protection from cytopathic action 100 TCID <sub>50</sub> HSV-1, %		
	№12-47	№14-46	Контроль ВПГ-1 Control HSV-1
100,0	100,0 ± 0,0	75,0 ± 0,04	0,0
150,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	0,0
200,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	0,0
300,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	0,0

**Таблица 4.** Противогерпетическое действие меланиновых веществ в культуре клеток Vero

**Table 4.** Antiherpetic effect of melanin substances in Vero cell culture

Схема применения испытуемых веществ Scheme of application of the tested substances	Концентрация веществ, мкг/мл The concentration of substances, mcg/ml	Степень защиты клеток от 100 ТЦИД <sub>50</sub> вируса, % The degree of protection of cells from 100 TCID <sub>50</sub> virus, %			
		контроль Control	15-48	15-54	16-32
Одновременно с инфицированием Simultaneously with the infection	50	0	87,5 ± 0,02	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
	100	0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
	250	0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
За 2 ч до инфицирования 2 hours before infection	50	0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
	100	0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
	250	0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0

## Обсуждение

Желание использовать возможности природы для борьбы с инфекционными заболеваниями у человечества было всегда. С древних времен люди лечились травами, растениями, грибами, минералами и т.п.

Поэтому в конце прошлого и начале этого века многие грибы исследовали на противовирусную активность и обнаружили в некоторых из них соединения, обладающие противовирусным эффектом в отношении патогенных для человека вирусов [4–7, 13].

Экстракты из базидиальных грибов подавляли репродукцию вирусов гриппа, ортопоксвирусов, ВПГ 1 и 2 типов, вируса Западного Нила, ВИЧ, вируса гепатита В [13–17].

Особый интерес представляют соединения из гриба чага, *Inonotus obliquus*, который содержит широкий спектр биологически активных веществ, основным компонентом которых является меланин.

В разных научных коллективах получены сходные данные о выраженном антиретровирусном и противогерпетическом эффекте соединений из *Inonotus obliquus* [17–20]. Эффективные в отношении ВИЧ-1 ингибирующие концентрации препаратов расположены в пределах 0,5–100 мкг/мл и, несомненно, зависят от технологических моментов получения соединений.

Следует отметить, что противовирусная активность меланиновых соединений установлена как при профилактической (за 2 ч до инфицирования клеток), так и при лечебной схеме введения препаратов как в отношении ВИЧ-1, так и ВПГ-1.

У препаратов, полученных из базидиомицетов, имеется также вирулицидная активность. В работе И.А. Разумова и соавт. (2010) [21] описана противовирусная активность водных экстрактов и полисахаридных фракций, полученных из мицелия и плодовых тел высших грибов. Однако из схемы экспериментов следует, что вирусы первоначально инкубировались с исследуемыми соединениями

ми в течение 1 ч, а затем эту суспензию вносили в культуру клеток. Это означает, что фактически исследована вирулицидная активность веществ, т.к. препараты, действующие на вирус вне клетки, называют вирулицидными, а препараты, действующие внутри клетки, – противовирусными.

Источниками гуминовых кислот служат бурый уголь, торф, лечебные грязи. В этих случаях обнаружена противовирусная активность в отношении вирусов гриппа человека и птиц, вирусов герпеса, ВИЧ [6, 9, 10, 22]. Время добавления препаратов показывает, что ГС обладают противовирусной активностью как на стадии проникновения ВИЧ в клетку, так и на стадии обратной транскрипции РНК в ДНК, а также на стадии интеграции вирусной ДНК в геном клетки-хозяина [11, 23, 24]. Влияние полимера гуминовой кислоты на раннюю стадию репликации герпесвируса было подтверждено результатами экспериментов на животных [25].

Нами также подтверждена противовирусная эффективность ГС, полученных на основе бурого угля Канско-Ачинского месторождения, в отношении ВИЧ-1 и ВПГ-1.

Наличие у ГС из угля вирулицидной активности, по нашему мнению, требует экспериментального уточнения. В работе Г.В. Корнилаевой и соавт. (2010) [26] предлагается применение этих препаратов в качестве микробицидных средств в связи с их высоким индексом селективности. В описании исследований указывается, что клетки предварительно инкубировали с соединениями, затем заражали вирусом (ВИЧ-1) и после 24 ч инкубации клеток с вирусом в присутствии препаратов не связавшийся вирус удаляли низкоскоростным центрифугированием. Это означает, что контакта вируса с препаратом вне клетки не было.

Анализируя наш опыт, а также опыт коллег в исследованиях активности веществ при одновременном инфицировании клеток и добавлении препаратов на определенный период времени, необходимо отметить, что фактически изучались два вида активности: противовирусная и вирулицидная. С одной стороны, действие соединений на вирус вне клетки – вирулицидный эффект, а с другой – на вирус, который попал в клетку, – противовирусный эффект.

Только в случае внесения препарата в уже зараженные клетки можно говорить об «истинно» противовирусном действии. Однако и здесь требуется уточнение – если исследуемое вещество осталось в культуральной среде до момента учета результатов, то вполне вероятно возможность действия препарата вне клетки на вирионы, выходящие из инфицированных клеток, что представляет собой вирулицидный эффект.

Результаты исследования противовирусной активности меланина и ГС в отношении РНК-содержащего вируса ВИЧ-1 и ДНК-содержащего вируса ВПГ-1 в нашем исследовании совпадают с результатами ряда авторов в отношении вирусов гриппа, герпеса, ВИЧ, гепатита В, Коксаки, осповакцины [8, 10, 11, 13–16, 18, 22–25], что позволяет высказать

предположение о том, что тип нуклеиновой кислоты у вируса не играет принципиальной роли в антивирусном действии этих препаратов. Очевидно также, что ГС эффективны как в отношении вирусов с оболочкой, так и безоболочечных вирусов.

### Заключение

В целом можно заключить, что для меланиновых и гуминовых соединений характерна низкая токсичность при наличии и вирулицидной, и противовирусной активности. Это позволяет рассматривать исследованные соединения как основу для создания безопасных лекарственных средств, эффективных в отношении возбудителей различных вирусных инфекций.

### Литература

1. *Руководство по применению антиретровирусных препаратов у взрослых и подростков, инфицированных ВИЧ-1*. М.: Р.Валент; 2011.
2. Носик Д.Н., Носик Н.Н. *ВИЧ-инфекция: профессиональный риск и экстренная профилактика*. М.; 2004.
3. Смирнов Ю.А., Носик Н.Н., Носик Д.Н. Подходы к фитотерапии ВИЧ-инфекции. *Традиционная медицина*. 2017; 4(51): 26–34.
4. Теплякова Т.В. *Высшие грибы Западной Сибири – перспективные объекты для биотехнологии лекарственных препаратов*. Новосибирск; 2014.
5. Lopusiewicz L. Isolation, characterisation and biological activity of melanin from *Exidia nigricans*. *World Sci. News*. 2018; 91: 111–29.
6. Попов А.И., Зеленков В.Н., Теплякова Т.В. Биологическая активность и биохимия гуминовых веществ. Часть 1. Биохимический аспект (обзор литературы). *Вестник Российской Академии естественных наук*. 2016; 16(1): 11–8.
7. Ананько Г.Г., Казачинская Е.И., Косогова Т.А., Теплякова Т.В. Механизмы антигерпетической активности меланина чаги (*Inonotus obliquus*). В кн.: Дьяков Ю.Т., Сергеев Ю.В., ред. *Современная микология в России. Материалы четвертого съезда микологов России. Том 7*. М.; 2017: 395–7.
8. Pan H.H., Yu X.T., Li T., Wu H.L., Jiao C.W., Cai M.H., et al. Aqueous extract from a Chaga medicinal mushroom, *Inonotus obliquus* (higher Basidiomycetes), prevents Herpes Simplex Virus entry through inhibition of viral-induced membrane fusion. *Int. J. Med. Mushrooms*. 2013; 15(1): 29–38. <https://doi.org/10.1615/intjmedmushr.v15.i1.40>
9. Попов А.И., Зеленков В.Н., Теплякова Т.В. Биологическая активность и биохимия гуминовых веществ. Часть 2. Медико-биологический аспект. Обзор литературы. *Вестник Российской Академии естественных наук*. 2016; 16(5): 9–15.
10. Jacob K.K., Prashob P.K.J., Chandramohanakumar N. Humic substances as a potent biomaterials for therapeutic and drug delivery system – a review. *Int. J. App. Pharm.* 2019; 11(3): 1–4. <https://doi.org/10.22159/ijap.2019v11i3.14121>
11. Kornilaeva G.V., Simiavin A.E., Schultze A., Germann A., Moog C., Von Briesen H., et al. The differential Anti-HIV effect of a new humic substance-derived preparation in diverse cells of the immune system. *Acta Naturae*. 2019; 11(2): 68–76. <https://doi.org/10.32607/20758251-2019-11-2-68-76>
12. Теплякова Т.В., Ананько Г.Г., Ильичева Т.Н., Казачинская Е.И., Носик Н.Н., Носик Д.Н. и др. Противовирусное средство на основе гуминовых кислот. Патент РФ №2678986; 2019.
13. Рытик П.Г., Горовой Л.Ф., Кучеров И.И., Сенюк О.Ф. Антиретровирусная активность некоторых видов базидиальных грибов. *СПИД, рак и общественное здоровье*. 2007; 11(1): 59–61.
14. Brandt C.R., Pirano F. Mushroom antiviral. *Recent Res. Dev. Antimicrob. Agent Chemother.* 2000; 4(1): 11–26.
15. Теплякова Т.В., Булычев Л.Е., Косогова Т.А., Ибрагимов Ж.Б., Юрганова И.А., Кабанов А.С. и др. Противовирусная активность экстрактов из базидиальных грибов в отношении ортопоксвирусов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; (3): 99–101.
16. Gao Y., Zhou Sh., Huang M., Xu A. Antibacterial and antiviral value of the genus *Ganoderma* P.Karst. Species (Aphylllophoromycetidae): a review. *Int. J. Med. Mushroom*. 2003; 5(3): 235–46. <https://doi.org/10.1615/InterJMedicMush.v5.i3.20>

17. Теплякова Т.В., Гашникова Н.М., Балахнин С.М., Косогова Т.А. Антиретровирусная активность экстрактов из чаги, меланина и гуминовых соединений. В кн.: *Современная микология в России. Материалы 3-го съезда микологов России. Том 3. М.*; 2012: 419–20.
18. Разумов И.А., Казачинская Е.А., Пучкова Л.И., Косогова Т.А., Горбунова И.А., Локтев В.Б. и др. Протективная активность водных экстрактов из высших грибов при экспериментальной герпесвирусной инфекции у белых мышей. *Антибиотики и химиотерапия*. 2013; 58(9-10): 8–12.
19. Полковникова М.В., Носик Н.Н., Гараев Т.М., Кондрашина Н.Г., Финогенова М.П., Шибнев В.А. Изучение противогерпетических свойств экстрактов из березового гриба *Inonotus obliquus*. *Вопросы вирусологии*. 2014; 59(2): 45–8.
20. Шибнев В.А., Гараев Т.М., Финогенова М.П., Калнина Л.Б., Носик Д.Н. Противовирусное действие водных экстрактов березового гриба *Inonotus obliquus* на вирус иммунодефицита человека. *Вопросы вирусологии*. 2015; 60(2): 35–8.
21. Разумов И.А., Косогова Т.А., Казачинская Е.А., Пучкова Л., Щербакова Н.С., Горбунова И.А. и др. Противовирусная активность водных экстрактов и полисахаридных фракций, полученных из мицелия и плодовых тел высших грибов. *Антибиотики и химиотерапия*. 2010; 55(9-10): 14–8.
22. Ilycheva T.N., Balakhnin S.M., Gashnikova N.M., Durymanov A.G., Anan'ko G.G., Kosogova T.A., et al. Antiviral Activity of Humic Substances. In: Third International Conference of CIS IHSS on Humic Innovative Technologies Tenth International Conference daRostim «Humic Substances and Other Biologically Active Compounds in Agriculture» HIT-daRostim-2014. Moscow; 2014.
23. Schneider J., Weis R., Maenner C., Kary B., Werner A., Stubert B.J., et al. Inhibition of HIV-1 in cell culture by synthetic humate analogues derived from hydroquinone: mechanism of inhibition. *Virology*. 1996; 218(2): 389–95. <https://doi.org/10.1006/viro.1996.0208>
24. Zhernov Y., Karamov E., Perminova I., Khaitov M.R., Khaitov R.M. Humic substance-based antivirals: antiretroviral activity, mechanisms of action, and impact on mucosal immunity. *Allergy*. 2017; 72(S103): 164–5.
25. Neyts J., Snoeck R., Wutzler P., Cushman M., Klöcking R., Helbig B., et al. Poly (hydroxy) carboxylates as selective inhibitors of Cytomegalovirus and Herpes simplex virus replication. *Antivir. Chem. Chemother*. 1992; 3(4): 215–22.
26. Корнилаева Г.В., Перминова И.В., Гилязова А.В., Хаметова К.М., Каратов Э.В. Гуминовые вещества как перспективные соединения для создания микробицидных препаратов. *Российский иммунологический журнал*. 2010; 4(3): 255–60.
27. J. Med. Mushrooms. 2013; 15(1): 29–38. <https://doi.org/10.1615/intjmedmushr.v15.i1.40>
28. Popov A.I., Zelenkov V.N., Teplyakova T.V. Biological activity and biochemistry of humic substances. Part 2. Medico-biological aspect (a review). *Vestnik Rossiyskoy Akademii estestvennykh nauk*. 2016; 16(5): 9–15. (in Russian)
29. Jacob K.K., Prashob P.K.J., Chandramohanakumar N. Humic substances as a potent biomaterials for therapeutic and drug delivery system – a review. *Int. J. App. Pharm*. 2019; 11(3): 1–4. <https://doi.org/10.22159/ijap.2019v11i3.31421>
30. Kornilava G.V., Siniavin A.E., Schultz A., Germann A., Moog C., Von Briesen H., et al. The differential Anti-HIV effect of a new humic substance-derived preparation in diverse cells of the immune system. *Acta Naturae*. 2019; 11(2): 68–76. <https://doi.org/10.32607/20758251-2019-11-2-68-76>
31. Teplyakova T.V., Anan'ko G.G., Il'icheva T.N., Kazachinskaya E.I., Nosik N.N., Nosik D.N., et al. Antiviral agent based on humic acids. Patent RF № 2678986; 2019. (in Russian)
32. Rytik P.G., Gorovoy L.F., Kucherov I.I., Senyuk O.F. Anti-Retroviral activity of some types of basidial fungi. *SPID, rak i obshchestvennoe zdorov'e*. 2007; 11(1): 59–61. (in Russian)
33. Brandt C.R., Pirano F. Mushroom antiviral. *Recent Res. Dev. Antimicrob. Agent Chemother*. 2000; 4(1): 11–26.
34. Teplyakova T.V., Bulychev L.E., Kosogova T.A., Ibragimova Zh.B., Yurganova I.A., Kabanov A.S., et al. Antiviral activity of extracts from basidiomycetes for orthopoxviruses. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2012; (3): 99–101. (in Russian)
35. Gao Y., Zhou Sh., Huang M., Xu A. Antibacterial and antiviral value of the genus *Ganoderma* P.Karst. Species (Aphyllophoromycetidae): a review. *Int. J. Med. Mushroom*. 2003; 5(3): 235–46. <https://doi.org/10.1615/InterJMedMush.v5.i3.20>
36. Teplyakova T.V., Gashnikova N.M., Balakhnin S.M., Kosogova T.A. Anti-Retroviral activity of extracts from chaga, melanin and humic compounds. In: *Modern Mycology in Russia. Materials of the 3rd Congress of mycologists of Russia. Volume 3 [Sovremennaya mikologiya v Rossii. Materialy 3-go s'ezda mikologov Rossii. Tom 3]*. Moscow; 2012: 419–20. (in Russian)
37. Razumov I.A., Kazachinskaya E.A., Puchkova L.I., Kosogova T.A., Gorbunova I.A., Loktev V.B., et al. Protective activity of aqueous extracts from higher mushrooms against Herpes simplex virus type-2 on albino mice model. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 2013; 58(9-10): 8–12. (in Russian)
38. Polkovnikova M.V., Nosik N.N., Garaev T.M., Kondrashina N.G., Finogenova M.P., Shibnev V.A. A study of the antiherpetic activity of the chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) extracts in the vero cells infected with the herpes simplex virus. *Voprosy virusologii*. 2014; 59(2): 45–8. (in Russian)
39. Shibnev V.A., Garaev T.M., Finogenova M.P., Kalnina L.B., Nosik D.N. Antiviral activity of aqueous extracts of the birch fungus *Inonotus obliquus* on the human immunodeficiency virus. *Voprosy virusologii*. 2015; 60(2): 35–8. (in Russian)
40. Razumov I.A., Kosogova T.A., Kazachinskaya E.A., Puchkova L., Shcherbakova N.S., Gorbunova I.A., et al. Antiviral activity of aqueous extracts and polysaccharide fractions from mycelium and fruit bodies of higher fungi. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 2010; 55(9-10): 14–8. (in Russian)
41. Ilycheva T.N., Balakhnin S.M., Gashnikova N.M., Durymanov A.G., Anan'ko G.G., Kosogova T.A., et al. Antiviral Activity of Humic Substances. In: Third International Conference of CIS IHSS on Humic Innovative Technologies Tenth International Conference daRostim «Humic Substances and Other Biologically Active Compounds in Agriculture» HIT-daRostim-2014. Moscow; 2014.
42. Schneider J., Weis R., Maenner C., Kary B., Werner A., Stubert B.J., et al. Inhibition of HIV-1 in cell culture by synthetic humate analogues derived from hydroquinone: mechanism of inhibition. *Virology*. 1996; 218(2): 389–95. <https://doi.org/10.1006/viro.1996.0208>
43. Zhernov Y., Karamov E., Perminova I., Khaitov M.R., Khaitov R.M. Humic substance-based antivirals: antiretroviral activity, mechanisms of action, and impact on mucosal immunity. *Allergy*. 2017; 72(S103): 164–5.
44. Neyts J., Snoeck R., Wutzler P., Cushman M., Klöcking R., Helbig B., et al. Poly (hydroxy) carboxylates as selective inhibitors of Cytomegalovirus and Herpes simplex virus replication. *Antivir. Chem. Chemother*. 1992; 3(4): 215–22.
45. Kornilava G.V., Perminova I.V., Gilyazova A.V., Khametova K.M., Karatov E.V. Humic acids as the promising ingredient for microbicides design. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal*. 2010; 4(3): 255–60. (in Russian)

## REFERENCES

1. *Guidelines for the use of antiretroviral drugs in adults and adolescents infected with HIV-1 [Rukovodstvo po primeneniyu antiretrovirusnykh preparatov u vzroslykh i podrostkov, infitsirovannykh VICH-1]*. Moscow: R.Valent; 2011. (in Russian)
2. Nosik D.N., Nosik N.N. *HIV Infection: Occupational Risk and Emergency Prevention [VICH-infektsiya: professional'nyy risk i ekstremnaya profilaktika]*. Moscow; 2004. (in Russian)
3. Smirnov Yu.A., Nosik N.N., Nosik D.N. Approaches to phytotherapy of HIV infection. *Traditsionnaya meditsina*. 2017; 4(51): 26–34. (in Russian)
4. Teplyakova T.V. *Higher Mushrooms of Western Siberia – Promising Objects for Biotechnology of Medicinal Products [Vysshie griby Zapadnoy Sibiri – perspektivnye ob"ekty dlya biotekhnologii lekarstvennykh preparatov]*. Novosibirsk; 2014. (in Russian)
5. Lopusiewicz L. Isolation, characterisation and biological activity of melanin from *Exidia nigricans*. *World Sci. News*. 2018; 91: 111–29.
6. Popov A.I., Zelenkov V.N., Teplyakova T.V. Biological activity and biochemistry of humic substances. Part 1. Biochemical aspect (a review). *Vestnik Rossiyskoy Akademii estestvennykh nauk*. 2016; 16(1): 11–8. (in Russian)
7. Anan'ko G.G., Kazachinskaya E.I., Kosogova T.A., Teplyakova T.V. Mechanisms of antiherpetic activity of chaga melanin (*Inonotus obliquus*). In: D'yakov Yu.T., Sergeev Yu.V., ed. *Modern Mycology in Russia. Materials of the fourth Congress of mycologists of Russia. Volume 7 [Sovremennaya mikologiya v Rossii. Materialy chetvertogo s'ezda mikologov Rossii. Tom 7]*. Moscow; 2017: 395–7. (in Russian)
8. Pan H.H., Yu X.T., Li T., Wu H.L., Jiao C.W., Cai M.H., et al. Aqueous extract from a Chaga medicinal mushroom, *Inonotus obliquus* (higher Basidiomycetes), prevents Herpes Simplex Virus entry through inhibition of viral-induced membrane fusion. *Int.*

## Интерферон-регулирующая активность противовирусного лекарственного средства *целагрип* и его влияние на экспрессию генов врожденного иммунитета и образование активных форм кислорода у больных фолликулярной лимфомой

Наровлянский А.Н.<sup>1</sup>, Полосков В.В.<sup>1</sup>, Иванова А.М.<sup>1</sup>, Кравченко С.К.<sup>2</sup>, Бабаева Ф.Э.<sup>2</sup>, Сычевская К.А.<sup>2</sup>, Мезенцева М.В.<sup>1</sup>, Суетина И.А.<sup>1</sup>, Руссу Л.И.<sup>1</sup>, Измestьева А.В.<sup>1</sup>, Оспельникова Т.П.<sup>1</sup>, Сарымсаков А.А.<sup>3</sup>, Ершов Ф.И.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, 125167, Москва, Россия;

<sup>3</sup>Институт химии и физики полимеров Академии наук Республики Узбекистан, 100128, Ташкент, Узбекистан

**Введение.** Лекарственные средства из группы индукторов интерферона (IFN) «включают» синтез интерферонов 1-го типа (IFN-I) и индуцируют экспрессию IFN-стимулированных генов (ISG), которые регулируют реакции врожденного иммунитета и защищают хозяина от инфекционных агентов и опухолевой патологии. **Цель** исследования – определить роль лекарственного средства (ЛС) *целагрип* (ЦА) в активации генов врожденного иммунитета и влиянии на продукцию активных форм кислорода у больных фолликулярной лимфомой (ФЛ). **Задачи:** изучить интенсивность продукции активных форм кислорода (АФК) и уровень экспрессии генов *IFN-α2*, *IFN-λ1*, *ISG15*, *BCL2*, *P53(TP53)* и *USP18* в ответ на обработку ЦА клеток крови больных ФЛ.

**Материал и методы.** В исследовании участвовали первичные онкологические пациенты с диагнозом ФЛ и здоровые добровольцы, у которых выполнен кинетический анализ динамики продукции АФК клетками крови и определена экспрессия группы генов методом полимеразной цепной реакции в реальном времени в ответ на обработку ЦА.

**Результаты и обсуждение.** Выявлено статистически достоверное снижение продукции АФК клетками крови больных ФЛ и здоровых добровольцев в присутствии ЦА ( $P < 0,05$ ). Кратность стимуляции генов *ISG15*, *P53(TP53)* и *USP18* в группе больных ФЛ значительно превышала таковую в группе здоровых добровольцев. При обработке ЦА клеток крови становится возможным разделить больных ФЛ на группы с положительным и отрицательным ответом в соответствии с уровнем экспрессии гена *USP18*.

**Выводы.** ЦА снижает продукцию АФК и одновременно стимулирует активность генов врожденного иммунитета *ISG15*, *P53(TP53)* и *USP18* в клетках крови больных ФЛ.

**Ключевые слова:** индуктор интерферона; фолликулярная лимфома; активные формы кислорода; экспрессия генов; интерферон-стимулированные гены.

**Для цитирования:** Наровлянский А.Н., Полосков В.В., Иванова А.М., Кравченко С.К., Бабаева Ф.Э., Сычевская К.А., Мезенцева М.В., Суетина И.А., Руссу Л.И., Измestьева А.В., Оспельникова Т.П., Сарымсаков А.А., Ершов Ф.И. Интерферон-регулирующая активность противовирусного лекарственного средства *целагрип* и его влияние на экспрессию генов врожденного иммунитета и образование активных форм кислорода у больных фолликулярной лимфомой. *Вопросы вирусологии*. 2020; 65(5): 284-293.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-5-5>

**Для корреспонденции:** Наровлянский Александр Наумович, д-р биол. наук, проф., глав. науч. сотр. ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва. E-mail: [narovl@yandex.ru](mailto:narovl@yandex.ru)

**Участие авторов:** Наровлянский А.Н., Ершов Ф.И., Кравченко С.К., Иванова А.М., Сарымсаков А.А. – формулировка идеи, цели, задач, анализ литературы и экспериментальных данных, обсуждение, написание и оформление; Кравченко С.К., Бабаева Ф.Э., Сычевская К.А. – осуществление клинической части исследований; Полосков В.В., Иванова А.М., Мезенцева М.В., Оспельникова Т.П., Руссу Л.И., Измestьева А.В., Суетина И.А. – экспериментальная работа, статистическая обработка, оформление.

**Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований по проекту (гранту) № 18-515-41001/19.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 28.08.2020

Принята в печать 01.09.2020



## Interferon-regulating activity of the *celagrip* antiviral drug and its influence on formation of reactive oxygen species and expression of innate immunity genes in the follicular lymphoma patients

Alexander N. Narovlyansky<sup>1</sup>, Vladislav V. Poloskov<sup>1</sup>, Alla M. Ivanova<sup>1</sup>, Sergej K. Kravchenko<sup>2</sup>, Fatima E. Babayeva<sup>2</sup>, Kseniya A. Sychevskaya<sup>2</sup>, Marina V. Mezentseva<sup>1</sup>, Irina A. Suetina<sup>1</sup>, Leonid I. Russu<sup>1</sup>, Anna V. Izmes't'eva<sup>1</sup>, Tatiana P. Ospelnikova<sup>1</sup>, Abdushukur A. Sarymsakov<sup>3</sup>, Feliks I. Ershov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, 123098, Russia;

<sup>2</sup>National Research Center for Hematology, Moscow, 125167, Russia;

<sup>3</sup>Institute of Polymer Chemistry and Physics, Tashkent, 100128, Uzbekistan

**Introduction.** Medicines from the group of interferon inducers (IFNs) "switch on" the synthesis of type 1 interferons (IFN-I) and induce the expression of IFN-stimulated genes (ISGs) that regulate innate immunity reactions and protect the host from infectious agents and the tumour pathology.

The **purpose** of the study was to determine the role of the drug *celagrip* (CA) in the activation of innate immunity genes and the effect on the production of reactive oxygen species (ROS) in patients with follicular lymphoma (FL). Objectives: to study the intensity of ROS production and the level of expression of the *IFN-α2*, *IFN-λ1*, *ISG15*, *BCL2*, *P53(TP53)* and *USP18* genes in response to the treatment of blood cells of patients with FL with the preparation of CA.

**Material and methods.** The study involved primary cancer patients diagnosed with follicular lymphoma (FL) and healthy volunteers. A kinetic analysis of the dynamics of production of reactive oxygen species (ROS) was performed in whose blood cells, and the expression of the group of genes was determined by real-time PCR in response to CA processing.

**Results and discussion.** ROS production by blood cells of patients with FL and volunteers in the presence of CA significantly decreased ( $P < 0.05$ ). The level of gene expression of *ISG15*, *P53(TP53)* and *USP18* in the group of patients with FL was significantly higher than that in the group of volunteers. When treating blood cells with CA, it becomes possible to divide patients with FL into groups with a positive and negative response in accordance with the level of expression of the *USP18* gene. We divided FL patients into groups with a positive and negative response in accordance with the level of *USP18* gene expression after treatment of blood cells with CA.

**Conclusions.** The CA drug reduces the production of ROS and simultaneously stimulates the activity of the innate immunity genes *ISG15*, *P53(TP53)* and *USP18* in the blood cells of patients with FL.

**Keywords:** *interferon inducer; follicular lymphoma, reactive oxygen species; gene expression; interferon-stimulated genes.*

**For citation:** Narovlyansky A.N., Poloskov V.V., Ivanova A.M., Kravchenko S.K., Sychevskaya K.A., Babaeva F.E., Mezentseva M.V., Suetina I.A., Russu L.I., Izmes't'eva A.V., Ospelnikova T.P., Sarymsakov A.A., Ershov F.I. Interferon-regulating activity of the *celagrip* antiviral drug and its influence on formation of reactive oxygen species and expression of innate immunity genes in the follicular lymphoma patients. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2020; 65(5): 284-293. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-5-5>

**For correspondence:** Alexander N. Narovlyansky, DBS, Chief Researcher of the Cytokine Laboratory, National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, 123098, Russia. E-mail: [narovi@yandex.ru](mailto:narovi@yandex.ru)

### Information about the authors:

Narovlyansky A.N., <http://orcid.org/0000-0003-0601-7148>

Poloskov V.V., <http://orcid.org/0000-0003-0001-2493>

Ivanova A.M., <http://orcid.org/0000-0002-6008-7967>

Kravchenko S.K., <https://orcid.org/0000-0002-7721-2074>

Sychevskaya K.A., <https://orcid.org/0000-0001-8053-9724>

Babaeva F.E., <https://orcid.org/0000-0002-5404-9024>

Mezentseva M.V., <http://orcid.org/0000-0001-7346-5536>

Suetina I.A., <http://orcid.org/0000-0003-2878-0590>

Russu L.I., <http://orcid.org/0000-0001-6353-9917>

Izmes't'eva A.V., <http://orcid.org/0000-0002-0035-324X>

Ospelnikova T.P., <http://orcid.org/0000-0002-1580-6096>

Sarymsakov A.A., <http://orcid.org/0000-0003-4562-7280>

Ershov F.I. <http://orcid.org/0000-0002-4780-7560>

**Contribution:** Narovlyansky A.N., Ershov F.I., Kravchenko S.K., Ivanova A.M., Sarymsakov A.A. – formulation of ideas, goals, objectives, analysis of literature and experimental data, discussion, writing and design; Kravchenko S.K., Babaeva F.E., Sychevskaya K.A. – implementation of the clinical part of research; Poloskov V.V., Ivanova A.M., Mezentseva M.V., Ospelnikova T.P., Russu L.I., Izmes't'eva A.V., Suetina I.A. – experimental work, computer data processing, design.

**Acknowledgments.** This work was financially supported by the Russian Foundation for Basic Research for the project (grant) No. 18-515-41001/19.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 28 August 2020  
Accepted 01 September 2020

## Введение

Лекарственные средства (ЛС) из группы индукторов интерферона (IFN) «включают» синтез интерферонов 1-го типа (IFN-I) и вызывают экспрессию IFN-стимулированных генов (*ISG*), которые регулируют реакции врожденного иммунитета и защищают хозяина от инфекционных агентов и опухолевой патологии [1–3].

Установлено, что стимулированный IFN продукт гена 15 (*ISG15*) представляет собой убиквитин-подобный белок, который в процессе, называемом ISGylation, ковалентно связывается с целевыми белками через каскад ферментов. Кроме того, *ISG15* существует в свободной форме как внутриклеточный и как секретруемый белок [4]. Большинство функций *ISG15* и ISGylation связаны с ответом на патоген, а также с участием в ряде ключевых клеточных процессов: трансляции белка, реорганизации цитоскелета, секреции экзосом, аутофагии, поддержании стабильности генома и предупреждении развития злокачественных новообразований [5, 6]. С функционированием *ISG15* тесно связана убиквитин-специфическая протеаза 18 (*USP18*), которая противодействует ISGylation и к тому же является критическим отрицательным регулятором IFN-ответа [7]. *USP18* индуцируется при окислительном стрессе и защищает клетки от окислительного стресс-индуцированного апоптоза, по-видимому, через регулирование P53 и каспазы 3 [8].

Активные формы кислорода (АФК) образуются в различных клеточных компартментах и играют важную роль в сигнальных путях. Избыточный уровень АФК приводит к развитию ряда патологий, в том числе злокачественных новообразований, сердечно-сосудистых, нейродегенеративных и метаболических нарушений. Окислительный стресс может способствовать возникновению опухоли, ее прогрессированию и сопротивлению терапии через повреждение ДНК, перепрограммирование клеточного метаболизма и передачу сигналов. Повышенная продукция АФК может также вызывать гибель опухолевых клеток [9].

Нами ранее было показано [10], что новое противовирусное ЛС *целагрип* [*«celagrip»* (ЦА)], которое разрешено Минздравом Республики Узбекистан (РУ) в качестве профилактического и лечебного средства при гриппе и ОРВИ [11], может регулировать экспрессию генов ряда цитокинов в клетках лимфомы Бёркитта (ЛБ) – IFN- $\lambda$ , интерлейкинов (IL)-1 $\beta$ , -6, -8 и -10. Также нами была обнаружена взаимосвязь IFN-индуцирующего действия ЦА с экспрессией гена *ISG15* и продукцией АФК в перевиваемых культурах клеток ЛБ, продуцирующих и не продуцирующих антигены вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ) [12]. Однако исследования в вышеуказанных работах были проведены только с использованием перевиваемых линий клеток. В настоящей работе изучено действие IFN-индуцирующего ЛС ЦА на экспрессию ряда генов врожденного иммунитета и продукцию АФК в клетках крови больных фолликулярной лимфомой (ФЛ).

**Цель** исследования – определить роль ЦА в активации генов врожденного иммунитета и влиянии на продукцию АФК у больных ФЛ. Задачи: изучить интенсивность продукции АФК и уровень экспрессии генов *IFN- $\alpha$ 2*, *IFN- $\lambda$ 1*, *ISG15*, *BCL2*, *P53(TP53)* и *USP18* в ответ на обработку ЦА клеток крови больных ФЛ.

## Материал и методы

В исследовании принимали участие 14 первичных онкологических пациентов 32–72 лет (4 мужчины и 10 женщин), ранее не получавших лечение. Диагноз: ФЛ 1–2 цитологических типов у 9 и 3А/Б – у 5 пациентов, с обширным вовлечением в патологический процесс различных лимфоузлов, костей, костного мозга.

Параллельно была сформирована группа сравнения относительно здоровых добровольцев без онкологических заболеваний, 3 мужчины и 2 женщины 18–24 лет. У всех здоровых добровольцев и больных изучили уровень спонтанной продукции АФК и продукцию АФК в присутствии ЦА при концентрациях в реакционной смеси 0,5 и 0,05 мг/мл, а также определяли уровень экспрессии генов *IFN- $\alpha$ 2*, *IFN- $\lambda$ 1*, *ISG15*, *BCL2*, *P53(TP53)* и *USP18*.

**Взятие крови:** кровь больных ФЛ и здоровых добровольцев в стерильных условиях забирали из локтевой вены утром натощак в вакуумную пробирку (V = 5 мл) с гепарином натрия для хемилюминесцентного метода и с цитратом натрия для проведения обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ). Все исследования выполняли в день забора крови.

**Соблюдение этических стандартов.** Всех пациентов обследовали после поступления в стационар согласно правовым аспектам оказания медицинской помощи с получением от них информированного письменного согласия. Больные проходили обследование и лечение в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России в отделении интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов с круглосуточным и дневным стационарами.

**Препарат.** ЦА является натриевой солью сополимера (1→4)-6-0-карбоксиметил- $\beta$ -D-глюкозы, (1→4)- $\beta$ -D-глюкозы, (2→24)2,3,14,15,21,24,29,32-октагидрокси-23-(карбоксиметоксиметил)-7,10-диметил-4,13-ди(2-пропил)-19,22,26,30,31-пентаоксагенацикло [23,3,2,2<sup>16</sup>O<sup>5,28</sup>O<sup>9,18</sup>O<sup>12,17</sup>] дотриактоната 1,3,5(28),6,6(27),9(18),10,12(17),13,15-декаена; препарат предоставлен Институтом химии и физики полимеров Академии наук Республики Узбекистан.

**Определение уровня экспрессии генов *IFN- $\alpha$ 2*, *IFN- $\lambda$ 1*, *ISG15*, *BCL2*, *P53(TP53)* и *USP18*.** Цельную кровь больных ФЛ ( $n = 14$ ) и добровольцев ( $n = 5$ ) разводили в 3 раза в среде RPMI-1640 с глютамином, содержащей 10% сыворотки эмбрионов крупного рогатого скота и антибиотики. Разведенную кровь разливали по 1,8 мл и добавляли по 200 мкл ЦА с расчётом получения конечных концентраций 0,5 и 0,05 мг/мл, в контрольный образец добавляли 200 мкл

среды RPMI-1640. Пробы инкубировали в термостате в течение 2 ч. Затем образцы центрифугировали при 1000 об./мин 10 мин. Осадки лизировали с помощью лизирующего буфера из набора «РНК-экстран» от компании «Синтол».

**Олигонуклеотидные ПЦР-праймеры.** Использовали готовые структуры олигонуклеотидных праймеров, ранее рассчитанные в программе Primer 3 Blast NCBI GB и апробированные к исследованным видам мРНК: P53(TP53) [13], IFN- $\alpha$ 2, BCL2 [14], IFN- $\lambda$ 1, ISG15 [15], USP18 [16], глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (GAPDH) [17]. Синтез олигонуклеотидов осуществлён фирмой «Синтол» (Россия).

**Выделение РНК.** Суммарную РНК выделяли с помощью готового набора для выделения РНК «РНК-экстран» от компании «Синтол».

**Реакция ОТ.** Реакцию ставили с помощью готового набора для проведения ОТ компании «Синтол» с универсальным праймером random 6 согласно инструкции по применению. Полученные кДНК хранили при  $-70^{\circ}\text{C}$ .

**ОТ-ПЦР-PV** проводили на амплификаторе CFX-96, как описано ранее [12]. Обработка данных амплификации выполнена в программе CFX Manager Software Gene expression analysis (Bio-Rad, США) в автоматическом режиме. Определены стандартные отклонения величин  $\text{Cq} \pm \text{SD}$  логарифмической фазы и изменения уровней в опытных пробах ( $\Delta\text{Cq} \pm \text{SD}$ ). Ген «домашнего хозяйства» GAPDH был использован как стабильный референс-нормализатор геной экспрессии. Изменения геной активности ( $2\Delta\text{Cq}$ ) оценивали относительно контроля (контрольного образца), принятого равным 1. Специфичность ДНК-продуктов устанавливали по Т-плавления.

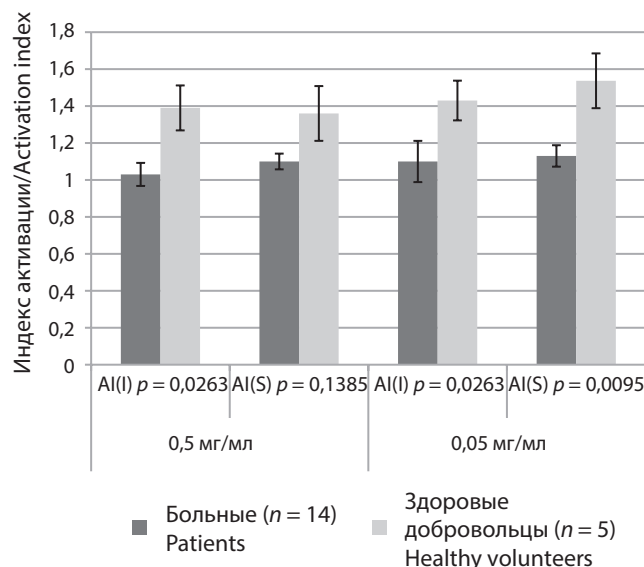
**Кинетический анализ динамики продукции АФК** клетками крови у больных ФЛ и здоровых добровольцев проводили хемилюминесцентным методом [18] в присутствии люминола (конечное разведение в реакции  $5,6 \times 10^{-4}$  M). Постановку реакции проводили в 96-луночных планшетах в объеме 200 мкл/луночку. В каждом постановочном варианте проводили не менее 3 повторов, из которых рассчитывали средний показатель. Оценку спонтанной и индуцированной ЦА хемилюминесценции осуществляли в течение 90 мин при температуре  $37^{\circ}\text{C}$  на приборе Synergy H1 (BioTek, USA). При измерении учитывали максимальные показатели спонтанной и индуцированной интенсивности свечения (I), а также площадь (S) под кривой динамики свечения за период наблюдения. Для определения интенсивности продукции АФК в каждом временном периоде определяли индекс активации (activation index – AI) в соответствии с формулой:  $\text{AI(I)} = I_{\text{опыт}} / I_{\text{спон}}$  или  $\text{AI(S)} = S_{\text{опыт}} / S_{\text{спон}}$ .

**Статистическую обработку результатов** проводили непараметрическим методом с использованием программного обеспечения Microsoft Excel 2010 (14.0.6024.10000) и статистической программы BioStat (версия 7). Различия в группах оценивали по U-критерию Манна–Уитни, а также согласно серийному критерию Вальда–Вольфовица для двух независимых выборок;  $P < 0,05$ .

## Результаты

### Продукция АФК клетками крови больных ФЛ и здоровых добровольцев.

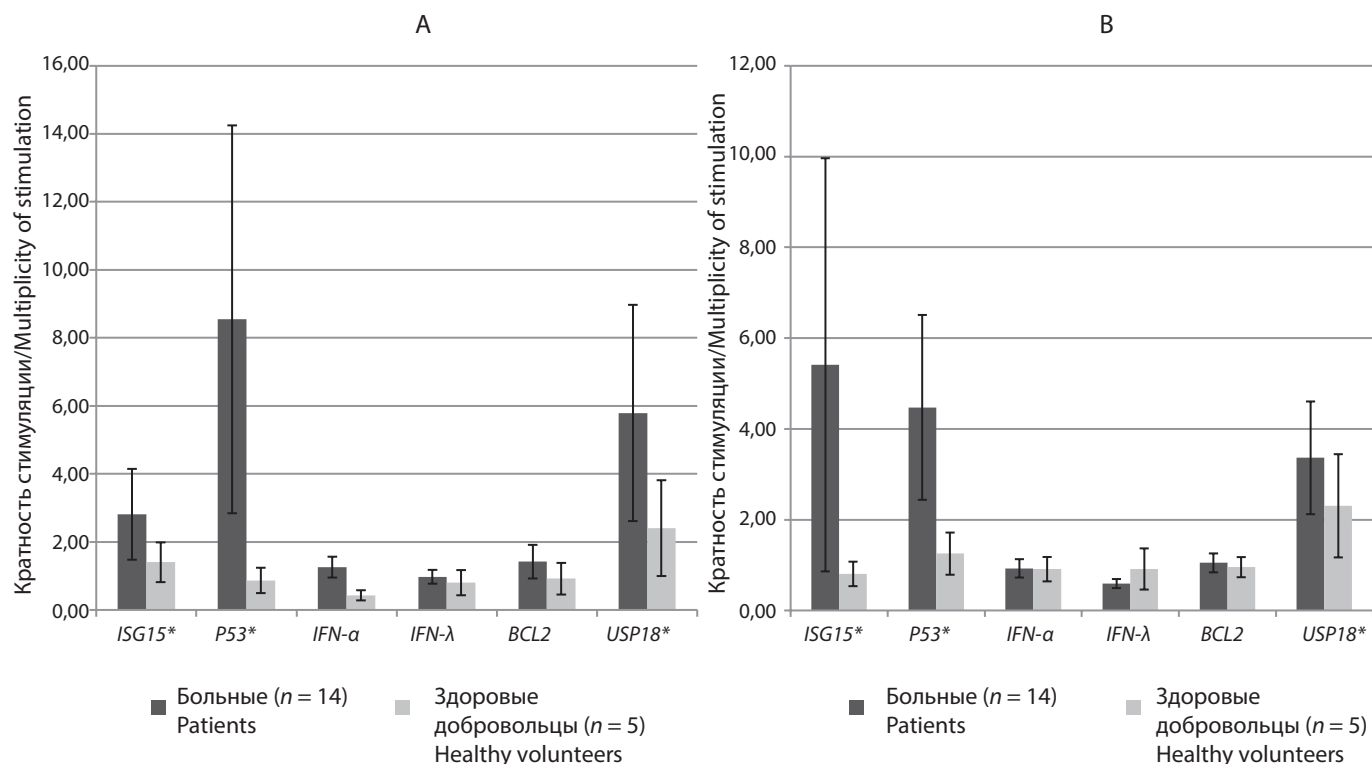
Сравнили продукцию АФК клетками крови больных ФЛ и здоровых добровольцев по показателям I и S в присутствии ЦА в двух концентрациях (0,5 и 0,05 мг/мл). Выявили статистически достоверное снижение показателей AI(I) и AI(S) (рис. 1) у больных ФЛ по сравнению с добровольцами ( $P < 0,05$ ).



**Рис. 1.** Продукция АФК клетками крови больных ФЛ ( $n = 14$ ) и здоровых добровольцев ( $n = 5$ ) по показателям AI(I) и AI(S) в присутствии ЦА за период измерения ( $t = 90$  мин). Выявлено статистически достоверное снижение AI(I) и AI(S) при обработке ЦА (0,5 и 0,05 мг/мл) клеток крови больных ФЛ по сравнению со здоровыми добровольцами ( $P < 0,05$ ). Оценку спонтанной и индуцированной ЦА хемилюминесценции осуществляли на приборе Synergy H1 (BioTek, USA). AI определяли в соответствии с формулой  $\text{AI(I)} = I_{\text{опыт}} / I_{\text{спон}}$  или  $\text{AI(S)} = S_{\text{опыт}} / S_{\text{спон}}$ , где I – максимальные показатели спонтанной и индуцированной интенсивности свечения; S – площадь под кривой динамики спонтанного и индуцированного свечения за период наблюдения.

По оси абсцисс – обозначение показателей и концентрации лекарственного средства *целагрип*; по оси ординат – значение индекса активации. АФК – активные формы кислорода; ФЛ – фолликулярная лимфома; AI – индекс активации; ЦА – *целагрип*.

**Fig. 1.** Production of ROS by blood cells of patients with FL ( $n = 14$ ) and healthy volunteers ( $n = 5$ ) by the indicators of AI (I) and AI (S) in the presence of the CA for the measurement period ( $t = 90$  min). A statistically significant decrease in the AI (I) and AI (S) indices was revealed during the treatment with CA (0.5 and 0.05 mg/ml) of blood cells of patients with FL compared with healthy volunteers ( $P < 0.05$ ). Evaluation of spontaneous and induced CA chemiluminescence was carried out using a Synergy H1 device (BioTek, USA). The AI was determined in accordance with the formula  $\text{AI (I)} = I_{\text{expert}} / I_{\text{spon}}$  or  $\text{AI (S)} = S_{\text{expert}} / S_{\text{spon}}$ , where I are the maximum indices of spontaneous and induced luminescence intensity; S is the area under the curve of the dynamics of spontaneous and induced luminescence over the observation period. On X-axis – designation of indicators and concentration of the CA; on Y-axis the value of the activation index. ROS – Reactive Oxygen Species; FL – Follicular Lymphoma; AI – activation index; CA – *celastrol*.



**Рис. 2.** Действие ЦА на экспрессию генов *IFN-α2*, *IFN-λ1*, *ISG15*, *BCL2*, *P53(TP53)* и *USP18* у больных ФЛ ( $n = 14$ ) и здоровых добровольцев ( $n = 5$ ). Экспрессию генов определяли с помощью ОТ-ПЦР-РВ, как описано в разделе «Материал и методы».

**А.** КС генов *ISG15* (КС 2,81), *P53(TP53)* (КС 8,55), *USP18* (КС 5,79) в группе больных ФЛ достоверно превышала КС генов *ISG15* (КС 1,40), *P53(TP53)* (КС 0,87), *USP18* (2,41) в группе здоровых добровольцев при обработке клеток крови ЦА в концентрации 0,5 мг/мл (\* $P < 0,005$  согласно критерию серий Вальда–Вольфовица).

**В.** КС генов *ISG15* (КС 5,41), *P53(TP53)* (КС 4,47), *USP18* (КС 3,36) в группе больных ФЛ достоверно превышала КС генов *ISG15* (КС 0,81), *P53(TP53)* (КС 1,25), *USP18* (2,31) в группе здоровых добровольцев при обработке клеток крови ЦА в концентрации 0,05 мг/мл (\* $P < 0,005$  согласно критерию серий Вальда–Вольфовица).

По оси ординат показана кратность стимуляции генов. По оси абсцисс – название генов интерферонов (IFN) и сигнальных молекул. КС генов *IFN-α2*, *BCL2*, *IFN-λ1* при обработке клеток крови ЦА как у больных ФЛ, так и у здоровых добровольцев не является значимой. ФЛ – фолликулярная лимфома; ЦА – *celagrip*; КС – кратность стимуляции; *IFN-α2* – альфа-2-интерферон; *IFN-λ1* – лямбда-1-интерферон; *ISG15* – ИФН-стимулируемый ген 15; *BCL2* – регулятор апоптоза Bcl-2 (B-cell lymphoma 2); *P53(TP53)* – ген-супрессор (TP53) опухолей; *USP18* – ген, кодирующий убиквитин-специфическую пептидазу 18; ОТ-ПЦР-РВ – обратная транскрипция и полимеразная цепная реакция в режиме реального времени; \*статистически достоверные значения.

**Fig. 2.** The effect of CA on the expression of genes *IFN-α2*, *IFN-λ1*, *ISG15*, *BCL2*, *P53(TP53)* and *USP18* in patients with FL ( $n = 14$ ) and healthy volunteers ( $n = 5$ ). Gene expression was determined by Real-Time qRT-PCR as described in the Material and Methods section.

**A.** MoS of genes *ISG15* (2.81), *P53(TP53)* (8.55), *USP18* (5.79) in the group of FL patients significantly exceeded MoS of genes *ISG15* (1.40), *P53(TP53)* (0.87), *USP18* (2.41) in a group of healthy volunteers when treating blood cells with CA at a concentration of 0.5 mg/ml (\* $P < 0.005$  according to the criterion series of Wald–Wolfowitz).

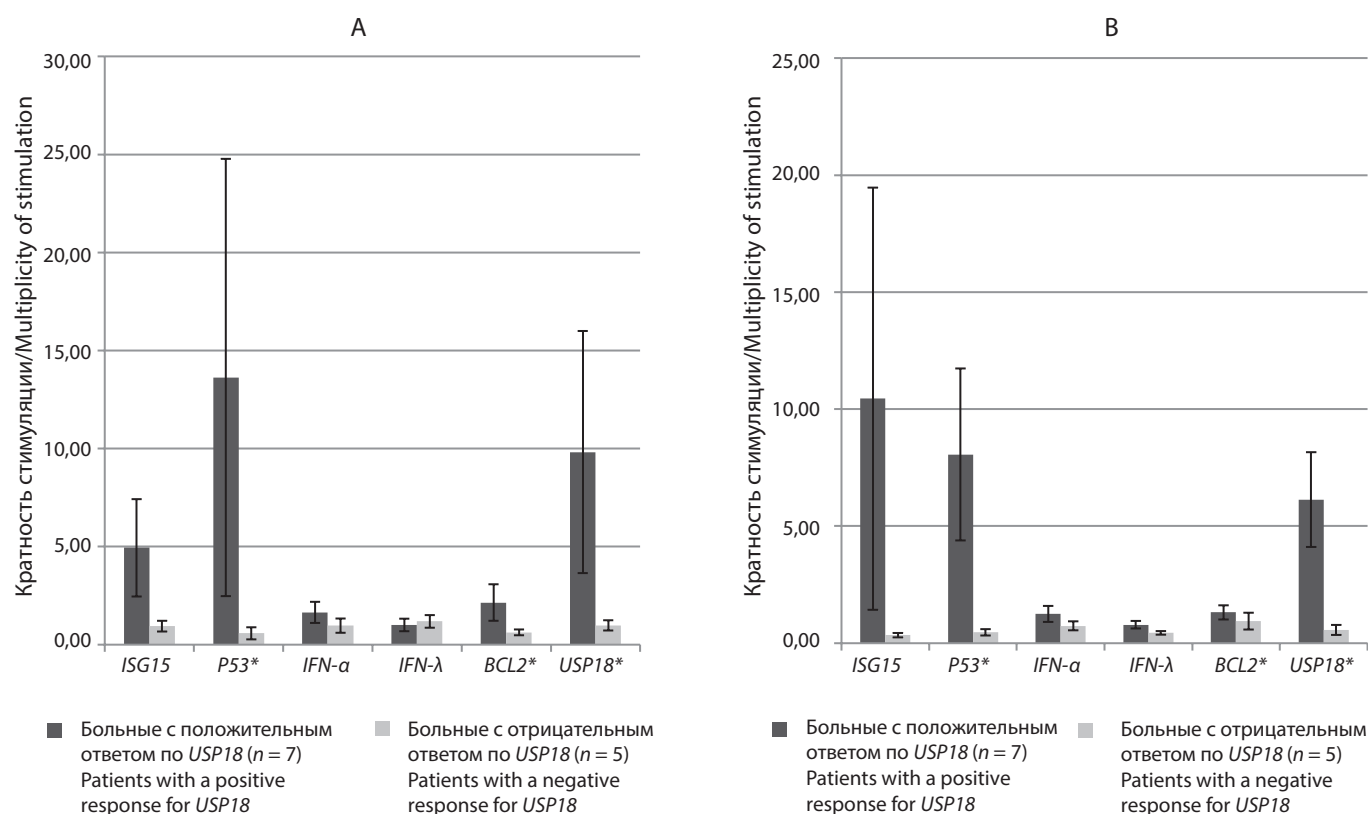
**B.** MoS of genes *ISG15* (5.41), *P53(TP53)* (4.47), *USP18* (3.36) in the group of FL patients significantly exceeded MoS of genes *ISG15* (0.81), *P53(TP53)* (1.25), *USP18* (2.31) in a group of healthy volunteers when treating blood cells with CA at a concentration of 0.05 mg/ml (\* $P < 0.005$  according to the criterion series of Wald–Wolfowitz).

Y-axis shows the multiplicity of gene stimulation. X-axis shows the names of the interferon genes and signaling molecules. FL – Follicular Lymphoma; CA – *celagrip*; MoS – Multiplicity of Stimulation; *IFN-α2* – Alfa-2-Interferon; *IFN-λ1* – Lambda-1-Interferon; *ISG15* – Interferon-stimulated gene 15; *BCL2* – apoptosis regulator (B-cell lymphoma 2); *P53(TP53)* – a tumor suppression, gene that codes for a protein that regulates the cell cycle; *USP18* – a Protein Coding gene of Ubiquitin Specific Peptidase 18; Real-Time qRT-PCR – Real-Time Quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction; \*statistically reliable values.

**Экспрессия группы генов интерферона и сигнальных молекул *IFN-α2*, *IFN-λ1*, *ISG15*, *BCL2*, *P53(TP53)* и *USP18*.** При сравнении генной экспрессии в группах больных ФЛ и добровольцев были выявлены различные уровни стимуляции при обработке ЦА (рис. 2 А, В). Как видно на рис. 2, кратность стимуляции (КС) генов *ISG15* (КС 2,81 и 5,41), *P53(TP53)* (КС 8,55 и 4,47), *USP18* (КС 5,79 и 3,36) в группе больных ФЛ достоверно превышала КС *ISG15* (КС 1,40 и 0,81), *P53(TP53)* (КС 0,87 и 1,25), *USP18* (2,41 и 2,31) в группе здоровых добровольцев при обработке клеток крови ЦА в концен-

трации 0,5 или 0,05 мг/мл соответственно ( $P < 0,005$  согласно критерию серий Вальда–Вольфовица).

При этом не обнаруживается значимой КС генов *IFN-α2*, *BCL2*, *IFN-λ1* при обработке клеток крови ЦА как у больных ФЛ, так и у здоровых добровольцев. КС генов *IFN-α2*, *BCL2*, *IFN-λ1* в ответ на действие ЦА находилась на уровне экспрессии генов в контрольной группе без обработки ЦА (то есть фактически стимуляция отсутствовала), поэтому мы считали такую КС незначимой, и данная группа генов далее не рассматривалась.



**Рис. 3.** Действие ЦА на экспрессию генов *IFN-α2*, *IFN-λ1*, *ISG15*, *BCL2*, *P53(TP53)* и *USP18* в клетках крови больных ФЛ, распределенных в соответствии с положительным ( $n = 7$ ) и отрицательным ( $n = 5$ ) *USP18*-ответом. Генную экспрессию анализировали с помощью ОТ-ПЦР-РВ, как описано в разделе «Материал и методы».

**А.** Обработка клеток крови ЦА в концентрации 0,5 мг/мл. Сравнение КС генов в клетках крови больных ФЛ с положительным и отрицательным ответом по *USP18*: КС по гену *USP18* 9,82 против 0,98;  $*P = 0,0058$ ; КС по гену *ISG15* 4,94 против 0,94;  $P = 0,4649$ ; КС по гену *P53(TP53)* 13,62 против 0,58;  $*P = 0,0424$ .

**В.** Обработка клеток крови ЦА в концентрации 0,05 мг/мл. Сравнение КС генов в клетках крови больных ФЛ с положительным и отрицательным ответом по *USP18*: КС по гену *USP18* 6,14 против 0,57;  $*P = 0,0045$ ; КС по гену *ISG15* 10,45 против 0,34;  $P = 0,1229$ ; КС по гену *P53(TP53)* 8,07 против 0,47;  $*P = 0,0284$ .

По оси ординат показана КС генов. По оси абсцисс – название генов интерферонов и сигнальных молекул. Статистическая обработка согласно U-критерию Манна–Уитни; ФЛ – фолликулярная лимфома; ЦА – целагрип; КС – кратность стимуляции; *IFN-α2* – альфа 2-интерферон; *IFN-λ1* – лямбда-1-интерферон; *ISG15* – ИФН-стимулированный ген 15; *BCL2* – регулятор апоптоза Bcl-2 (B-cell lymphoma 2); *P53(TP53)* – ген-супрессор (*TP53*) опухолей; *USP18* – ген, кодирующий убиквитин-специфическую пептидазу 18; ОТ-ПЦР-РВ – обратная транскрипция и полимеразная цепная реакция в режиме реального времени; \*статистически достоверные значения.

**Fig. 3.** The effect of CA on the expression of genes *IFN-α2*, *IFN-λ1*, *ISG15*, *BCL2*, *P53 (TP53)* and *USP18* genes in the blood cells of FL patients, distributed according to positive ( $n = 7$ ) and negative ( $n = 5$ ) *USP18* responses. Gene expression was determined by Real-Time qRT-PCR as described in the Material and Methods section.

**A.** Treatment of blood cells with CA at a concentration of 0.5 mg/ml. Comparison of MoS genes in blood cells of FL patients with *USP18*-positive and *USP18*-negative responses: MoS for the *USP18* gene is 9.82 versus 0.98;  $P = 0.0058$ ; MoS for the *ISG15* gene 4.94 versus 0.94;  $P = 0.4649$ ; MoS for gene *P53(TP53)* 13.62 versus 0.58;  $P = 0.0424$ .

**B.** Treatment of blood cells with CA at a concentration of 0.05 mg / ml. Comparison of MoS genes in blood cells of FL patients with *USP18*-positive and *USP18*-negative responses: MoS for the *USP18* gene is 6.14 versus 0.57;  $P = 0.0045$ ; MoS for the *ISG15* gene is 10.45 versus 0.34;  $P = 0.1229$ ; MoS for gene *P53(TP53)* is 8.07 против 0.47;  $P = 0.0284$ .

Y-axis shows the multiplicity of gene stimulation. X-axis shows the names of the interferon genes and signaling molecules. Statistical processing according to the Mann–Whitney U-test; FL – Follicular Lymphoma; CA – celagrip; MoS – Multiplicity of Stimulation; *IFN-α2* – Alfa-2-Interferon; *IFN-λ1* – Lambda-1-Interferon; *ISG15* – Interferon-stimulated gene 15; *BCL2* – apoptosis regulator (B-cell lymphoma 2); *P53(TP53)* – a tumor suppression, gene that codes for a protein that regulates the cell cycle; *USP18* – a Protein Coding gene of Ubiquitin Specific Peptidase 18; Real-Time qRT-PCR – Real-Time Quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction; \* statistically reliable values.

**Сравнение кратности стимуляции ЦА генов врожденного иммунитета в клетках крови больных ФЛ, распределенных в соответствии с положительным ( $n = 7$ ) и отрицательным ( $n = 5$ ) *USP18*-ответом. В таблице представлены группы больных ФЛ и здоровых добровольцев, различающихся по КС гена *USP18* в ответ на обработку клеток крови ЦА. При КС**

**>2** больных считали чувствительными к действию ЦА, при КС <2 – не чувствительными к действию ЦА.

Как показано на рис. 3, при обработке клеток крови ЦА у больных ФЛ с положительным ответом по сравнению с больными с отрицательным ответом по гену *USP18* (КС 9,82 против 0,98;  $P = 0,0058$ , при обработке ЦА 0,5 мг/мл – рис. 3, А и КС 6,14 про-

Распределение больных фолликулярной лимфомой (ФЛ) и здоровых добровольцев по кратности стимуляции гена *USP18* в ответ на обработку клеток крови ЦА

Distribution of patients with follicular lymphoma (FL) and healthy volunteers according to the multiplicity of *USP18* gene stimulation in response to the treatment of blood cells with CA

№ п/п	Группа Group	Число больных/здоровых The number of patients / healthy	Кратность стимуляции гена <i>USP18</i> <i>USP18</i> gene stimulation ratio
1	Больные ФЛ, чувствительные к действию ЦА Patients with FL sensitive to CA	7	> 2
2	Больные ФЛ, не чувствительные к действию ЦА Patients with FL, not sensitive to the action of CA	5	< 2
3	Здоровые добровольцы, чувствительные к действию ЦА Healthy volunteers sensitive to CA	2	> 2
4	Здоровые добровольцы, не чувствительные к действию ЦА Healthy volunteers, not sensitive to the action of CA	3	< 2

тив 0,57;  $P = 0,0045$ , при обработке ЦА 0,05 мг/мл – рис. 3, В) также наблюдается высокая КС генов *ISG15* (КС 4,94 против 0,94;  $P = 0,4649$  при обработке ЦА 0,5 мг/мл – рис. 3, А и КС 10,45 против 0,34;  $P = 0,1229$ , при обработке ЦА 0,05 мг/мл – рис. 3, В) и *P53(TP53)* (КС 13,62 против 0,58;  $P = 0,0424$  при обработке ЦА 0,5 мг/мл – рис. 3, А и КС 8,07 против 0,47;  $P = 0,0284$  при обработке ЦА 0,05 мг/мл – рис. 3, В). При этом не отмечено достоверных изменений КС в отношении добровольцев с положительным ответом по гену *USP18* по сравнению с добровольцами с отрицательным ответом по тому же гену (данные не показаны). КС генов *IFN-α2*, *BCL2*, *IFN-λ1* при обработке клеток крови ЦА как у больных ФЛ, так и у здоровых добровольцев не является значимой.

### Обсуждение

В ранее проведенных исследованиях на клеточных культурах, продуцирующих и не продуцирующих антигены ВЭБ, была обнаружена взаимосвязь между генерацией АФК и экспрессией генов врожденного иммунитета *ISG15* и *TP53* при воздействии ЛС ЦА. Данные свидетельствовали о возможном выявлении с помощью ЦА IFN-опосредованных ответов генов врожденного иммунитета при онкопатологии, которые могли бы быть связаны с продукцией АФК. Для проверки этого предположения нами проведены исследования на группе больных ФЛ и сравнительной группе здоровых добровольцев. При этом исследовали ряд генов врожденного иммунитета *IFNα*, *IFNλ*, *ISG15*, *P53(TP53)*, *BCL2* и *USP18*. Полученные данные свидетельствовали о способности противовирусного ЛС ЦА в клетках крови больных ФЛ влиять на образование АФК и экспрессию ряда генов врожденного иммунитета. Показано, что достоверно снижается продукция АФК у больных ФЛ по сравнению со здоровыми добровольцами и возрастает уровень экспрессии генов *USP18*, *ISG15* и *P53(TP53)* при обработке ЦА в концентрациях 0,5 и 0,05 мг/мл.

Известно, что АФК образуются как естественные побочные продукты нормальной клеточной активности [19, 20]. Повышение уровня АФК нарушает гомеостаз, структуру и функции клеток и приводит к окисли-

тельному стрессу. Смещение клеточного окислительно-восстановительного баланса является фактором риска развития различных патологий [21]. АФК могут вызывать нарушения в ДНК-последовательности, делеции, мутации, генные перестройки, приводящие к включению апоптозных сигналов, последующей гибели клеток или инактивации генов-супрессоров опухоли либо к активации протоонкогенов. Напротив, антиканцерогенные средства могут ингибировать образование АФК, окислительное повреждение ДНК, приводя к снижению апоптоза [22]. В нашем исследовании ЦА подавлял образование АФК у больных ФЛ. ФЛ, как хорошо известно, это индолентная лимфома с хорошим ответом на лечение, длительными ремиссиями заболевания и медленным прогрессированием. Медиана выживаемости 80% больных при современном лечении составляет более 15 лет. Тем не менее примерно 20% пациентов составляют прогностически неблагоприятную группу: заболевание рецидивирует в ранние сроки, в течение 1–2 лет от достижения первой ремиссии. Оксидативный стресс, мутации *TP53* и транслокации *MYC*, *Bcl-2* и *Bcl-6* при многих новообразованиях связываются с этиологией и плохим прогнозом [23]. Известно, что риск возникновения неходжкинской лимфомы связан с воспалением, а один из возможных механизмов может включать окислительный стресс, поскольку АФК могут генерировать провоспалительные сигналы [24]. По-видимому, ЦА, подавляя генерацию АФК, у некоторых больных может способствовать снижению продукции провоспалительных цитокинов. Например, при обработке ЦА клеток крови больных ФЛ мы наблюдали (предварительные данные) подавление продукции IL-1 и IL-6 у 3 из 10 больных, у которых выявлялось снижение образования АФК, у остальных наблюдались разнонаправленные изменения.

Одним из ключевых компонентов врожденного иммунного ответа является активация сигнальных путей IFN 1-го типа, которые индуцируются при вирусной инфекции и при развитии рака. IFN 1-го типа как участвует в антивирусном ответе, так и подавляет пролиферацию клеток и способствует апоптозу [25]. *ISG15* индуцируется при действии IFN 1-го типа [26, 27] при вирусной инфекции [28, 29], и может функциониро-

вать как онкогенный белок в случае нарушения регуляции ISG15 [30, 31] и/или как белок-супрессор опухоли [32–34]. Как говорилось выше, ISG15 является убиквитин-подобным белком и осуществляет ISGylation. Было показано, что ISGylation может происходить котрансляционно на вновь синтезированных белках без явной специфичности к мишени [35]. ISGylation является обратимой реакцией, и основным ISG15-деконъюгирующим ферментом *in vivo* считается USP18/UBP43 [36]. Недавние исследования показали, что USP18 может выступать в качестве онкогена при различных видах рака [37]. Известно также [38], что нокдаун USP18 может привести к снижению жизнеспособности клеток и увеличению апоптотической гибели клеток при окислительном стрессе. Показано, что ISGylation P53 играет критическую роль в ингибировании роста клеток и, следовательно, в подавлении развития опухоли в условиях повреждения ДНК [39].

Учитывая, что активность продукта гена USP18 связывается с подавлением ферментативной активности ISG15 и супрессией интерферонового ответа, мы сгруппировали больных ФЛ и здоровых добровольцев по уровню стимуляции гена USP18 на обработку ЦА. Такое разделение было обосновано тем, что как больные ФЛ, так и здоровые добровольцы либо отвечали, либо не отвечали активацией гена USP18 на обработку ЦА (см. табл. 1). Например, у больного 2 с высокой КС по гену USP18 в ответ на обработку ЦА (КС 46,6 и 10,3 при обработке ЦА в концентрациях 0,5 и 0,05 мг/мл соответственно) наблюдали также высокую КС экспрессии генов ISG15 (КС 15,6 и 64,5 при обработке ЦА в концентрациях 0,5 и 0,05 мг/мл соответственно) и P53(TP53) (КС 80,3 и 25,3 при обработке ЦА в концентрациях 0,5 и 0,05 мг/мл соответственно). В то же время у больного 3, у которого не определялась экспрессия гена USP18 в ответ на обработку ЦА (КС 0,6 и 0,7 при обработке ЦА в концентрациях 0,5 и 0,05 мг/мл соответственно), также отсутствовала экспрессия остальных исследованных генов (КС по генам ISG15, P53(TP53), IFN- $\alpha$ , IFN- $\lambda$ , BCL2 находилась в пределах значений 0,01–1,4). Мы выдвинули рабочую гипотезу, что высокая КС гена USP18 может свидетельствовать о подавлении пути проведения ИФН-сигнала, поскольку известно, что USP18 функционирует также как критический отрицательный регулятор ИФН ответа и отменяет вызванную продуктом гена ISG15 ISGylation, которая может стимулировать белок P53 и каспазу-3 и тем самым способствовать апоптозу [8, 36]. В таком случае ЦА, по-видимому, может являться детектирующим агентом, на основании применения которого могут быть определены активность генов врожденного иммунитета и возможность связать их с прогностическими параметрами течения антивирусного или противоопухолевого процесса. Перспективность такого подхода покажут дальнейшие исследования.

### Выводы

1. При сравнении продукции АФК клетками крови больных ФЛ и здоровых добровольцев в присутствии

ЦА выявлено статистически достоверное снижение показателей AI(I) и AI(S) у больных ФЛ по сравнению с добровольцами ( $P < 0,05$ ).

2. КС генов ISG15, P53(TP53) и USP18 в группе больных ФЛ значительно превышала таковую в группе добровольцев ( $P < 0,005$ ). Не обнаруживается значимой КС генов IFN- $\alpha$ 2, BCL2, IFN- $\lambda$ 1 при обработке клеток крови ЦА как у больных ФЛ, так и у здоровых добровольцев.

3. При обработке клеток крови ЦА у больных ФЛ с положительным ответом по гену USP18 также наблюдается высокая КС генов ISG15 и P53(TP53) по сравнению с больными с отрицательным ответом по этому гену.

4. ЦА снижает продукцию АФК и одновременно стимулирует активность генов врожденного иммунитета ISG15, P53(TP53) и USP18 в клетках крови больных ФЛ.

### ЛИТЕРАТУРА

- Schneider W.M., Chevillotte M.D., Rice C.M. Interferon-stimulated genes: a complex web of host defenses. *Annu. Rev. Immunol.* 2014; 32: 513–45. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120231>
- Ершов Ф.И., Киселев О.И. *Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств)*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2005.
- Ершов Ф.И., Наровлянский А.Н. Интерфероны и индукторы интерферонов. В кн.: Хаитов Р.М., Атауллаханов Р.И., Шульженко А.Е., ред. *Иммунотерапия: руководство для врачей*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2018: 123–47.
- Iglesias-Guimarais V., Ahrends T., de Vries E., Knobeloch K.P., Volkov A., Borst J. IFN-stimulated gene 15 IS an Alarmin that boosts the CTL response via an innate, NK Cell-dependent route. *J Immunol.* 2020; 204(8): 2110–21. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1901410>
- Zhao C., Collins M.N., Hsiang T.-Y., Krug R.M. Interferon-induced ISG15 pathway: an ongoing virus-host battle. *Trends Microbiol.* 2013; 21(4): 181–6. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2013.01.005>
- Peng Y.C., Lenschow D.J. ISG15 in antiviral immunity and beyond. *Nat. Rev. Microbiol.* 2018; 16(7): 423–39. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0020-5>
- Fernández D.J., Hess S., Knobeloch K.P. Strategies to target ISG15 and USP18 toward therapeutic applications. *Front. Chem.* 2020; 7: 923. <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00923>
- Keng Po Lai, Cheung A.H.Y., Tse W.K.F. Deubiquitinase Usp18 prevents cellular apoptosis from oxidative stress in liver cells. *Cell Biol. Int.* 2017; 41(8): 914–21. <https://doi.org/10.1002/cbin.10799>
- Alfadda A.A., Sallam R.M. Reactive oxygen species in health and disease. *J. Biomed. Res. Int.* 2012; 2012: 936486. <https://doi.org/10.1155/2012/936486>
- Наровлянский А.Н., Мезенцева М.В., Суетина И.А., Руссу Л.И., Иванова А.М., Полосков В.В. и др. Цитокин-регулирующая активность противовирусного препарата ЦелАгрип в перевиваемых В-клеточных линиях лимфомы Бёркитта. *Вопросы вирусологии*. 2019; 64(4): 165–72. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2019-64-4-165-172>
- Атаханов А.А., Сарымсаков А.А., Рашидова С.Ш. *Наносистемы целлюлозы и серебра: синтез, структура и свойства*. Ташкент; 2016.
- Наровлянский А.Н., Полосков В.В., Иванова А.М., Мезенцева М.В., Суетина И.А., Руссу Л.И. и др. Интерферон-регулирующая активность препарата ЦелАгрип и его влияние на образование активных форм кислорода и экспрессию генов врожденного иммунитета в перевиваемых культурах клеток лимфомы Бёркитта. *Вопросы вирусологии*. 2020; 65(2): 87–94. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-2-87-94>
- Шувапов А.Н., Соколова Т.М., Шаповал И.М., Ершов Ф.И. Модуляция транскрипции клеточных генов препаратом иммуномакс: активация генов интерферонов и интерлейкинов. *Иммунология*. 2014; 35(1): 16–20. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2015-1-7-18>

14. Соколова Т.М., Шувалов А.Н., Колодяжная Л.В., Оспельникова Т.П., Ершов Ф.И. Механизмы действия препарата «Кагоцел» в клетках человека. Сообщение I. Регуляция транскрипции генов системы интерферона и апоптоза. В кн.: Ершов Ф.И., Наровлянский А.Н., ред. *Сборник научных трудов «Интерферон-2011»*. М.; 2012: 389-401.
15. Соколова Т.М., Кособокова Е.Н., Шувалов А.Н., Шаповал И.М., Косоруков В.С., Ершов Ф.И. Активность генов системы интерферона в клетках аденокарциномы толстого кишечника htc116: регуляция рекомбинантными интерферонами альфа-2 из бактериальных и растительных продуцентов. *Российский биотерапевтический журнал*. 2013; 12(3): 39–44.
16. Hashemi S.M.A., Sarvari J., Fattahi M.R., Dowran R., Ramezani A., Hosseini S.Y. Comparison of ISG15, IL28B and USP18 mRNA levels in peripheral blood mononuclear cells of chronic hepatitis B virus infected patients and healthy individuals. *Gastroenterol. Hepatol. Bed Bench*. 2019; 12(1): 38–45.
17. Li L.D., Sun H.F., Liu X.X., Gao S.P., Jiang H.L., Hu X., et al. Down-regulation of NDUFB9 promotes breast cancer cell proliferation, metastasis by mediating mitochondrial metabolism. *PLoS One*. 2015; 10(12): e0144441. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144441>
18. Федоров Г.Н., Леонов С.Д. Особенности хемилюминесценции цельной разведенной крови. Математическая морфология. *Электронный математический и медико-биологический журнал*. 2007; 6(4).
19. Snezhkina A.V., Kudryavtseva A.V., Kardymon O.I., Savva-teeva M.V., Melnikova N.V., Krasnov G.S., et al. ROS generation and antioxidant defense systems in normal and malignant cells. *Oxid. Med. Cell Longev*. 2019; 2019: 6175804. <https://doi.org/10.1155/2019/6175804>
20. Zhang J., Wang X., Vikash V., et al. ROS and ROS-mediated cellular signaling. *Oxid. Med. Cell Longev*. 2016; 2016: 4350965. <https://doi.org/10.1155/2016/4350965>
21. Brieger, K., Schiavonea S., Miller F.J., Krause K.H. Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss Med. Wkly*. 2012; 142: w13659. <https://doi.org/10.4414/smww.2012.13659>
22. Pourahmad J., Salimi A., Seydi E. Role of oxygen free radicals in cancer development and treatment, free radicals and diseases, Rizwan Ahmad, 2016. *IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/64787> Available at: <https://www.intechopen.com/books/free-radicals-and-diseases/role-of-oxygen-free-radicals-in-cancer-development-and-treatment>
23. Peroja P. Oxidative stress in diffuse large B-cell lymphoma and follicular lymphoma, and TP53 mutations and translocations of MYC, Bcl-2 and Bcl-6 in diffuse large B-cell lymphoma. Available at: <http://jultika.oulu.fi/files/isbn9789526218595.pdf>
24. Lightfoot T.J., Skibola C.F., Smith A.G., Forrest M.S., Adamson P.J., Morgan G.J., et al. Polymorphisms in the oxidative stress genes, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase and risk of non-Hodgkin's lymphoma. *Haematologica*. 2006; 91(9): 1222–7.
25. Young J.J., Yoo H.M., Chung C.H. ISG15 and immune diseases. *Biochim. Biophys. Acta*. 2010; 1802(5): 485–96. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2010.02.006>
26. Farrell P.J., Broeze R.J., Lengyel P.L. Accumulation of an mRNA and protein in interferon-treated Ehrlich ascites tumour cells. *Nature*. 1979; 279(5713): 523–5. <https://doi.org/10.1038/279523a0>
27. Haas A.L., Ahrens P., Bright P.M., Ankel H. Interferon induces a 15-kilodalton protein exhibiting marked homology to ubiquitin. *J. Biol. Chem*. 1987; 262(23): 11315–23.
28. Yuan W., Krug R.M. Influenza B virus NS1 protein inhibits conjugation of the interferon (IFN)-induced ubiquitin-like ISG15 protein. *EMBO J*. 2001; 20(3): 362–71. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.3.362>
29. Nielsch U., Pine R., Zimmer S.G., Babiss L.E. Induced expression of the endogenous beta interferon gene in adenovirus type 5-transformed rat fibroblasts. *J. Virol*. 1992; 66(4): 1884–90. <https://doi.org/10.1128/jvi.66.4.1884-1890.1992>
30. Andersen J.B., Aaboe M., Borden E.C., Goloubeva O.G., Hassel B.A., Orntoft T.F. Stage-associated overexpression of the ubiquitin-like protein, ISG15, in bladder cancer. *Br. J. Cancer*. 2006; 94(10): 1465–71. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6603099>
31. Desai S.D., Haas A.L., Wood L.M., Tsai Y.C., Pestka S., Rubin E.H., et al. Elevated expression of ISG15 in tumor cells interferes with the ubiquitin/26S proteasome pathway. *Cancer Res*. 2006; 66(2): 921–8. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-05-1123>
32. Andersen J.B., Hassel B.A. The interferon regulated ubiquitin-like protein, ISG15, in tumorigenesis: friend or foe? *Cytokine Growth Factor Rev*. 2006; 17:411-421. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2006.10.001>
33. Kitareewan S., Pitha-Rowe I., Sekula D., Lowrey C.H., Nemeth M.J., Golub T.R. et al. UBE1L is a retinoid target that triggers PML/RARalpha degradation and apoptosis in acute promyelocytic leukemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002; 99(6): 3806–11. <https://doi.org/10.1073/pnas.052011299>
34. Zhao C., Denison C., Huibregtse J.M., Gygi S., Krug R.M. Human ISG15 conjugation targets both IFN-induced and constitutively expressed proteins functioning in diverse cellular pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2005; 102(29): 10200–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.0504754102>
35. Durfee L.A., Lyon N., Seo K., Huibregtse J.M. The ISG15 conjugation system broadly targets newly synthesized proteins: implications for the antiviral function of ISG15. *Mol. Cell*. 2010; 38(5): 722–32. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.05.002>
36. Malakhov M.P., Malakhova O.A., Kim K.I., Ritchie K.J., Zhang D.E. UBP43 (USP18) specifically removes ISG15 from conjugated proteins. *J. Biol. Chem*. 2002; 277(12): 9976–81. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109078200>
37. Tan Y., Zhou G., Wang X., Chen W., Gao H. USP18 promotes breast cancer growth by upregulating EGFR and activating the AKT/Skp2 pathway. *Int. J. Oncol*. 2018; 53(1): 371–83. <https://doi.org/10.3892/ijo.2018.4387>
38. Lai K.P., Cheung A.H.Y., Tse W.K.F. Deubiquitinase Usp18 prevents cellular apoptosis from oxidative stress in liver cells. *Cell Biol. Int*. 2017; 41(8): 914–21. <https://doi.org/10.1002/cbin.10799>
39. Park J.H., Yang S.W., Park J.M., Ka S.H., Kim J.H., Kong Y.Y., et al. Positive feedback regulation of p53 transactivity by DNA damage-induced ISG15 modification. *Nat. Commun*. 2016; 7: 12513. <https://doi.org/10.1038/ncomms12513>

REFERENCES

1. Schneider W.M., Chevillotte M.D., Rice C.M. Interferon-stimulated genes: a complex web of host defenses. *Annu. Rev. Immunol*. 2014; 32: 513–45. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120231>
2. Ershov F.I., Kiselev O.I. *Interferons and Their Inductors (From Molecules to Drugs) [Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств)]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2005. (in Russian)
3. Ershov F.I., Narovlyanskiy A.N. Interferons and inducers of interferons. In: Khaitov R.M., Ataulkhanov R.I., Shul'zhenko A.E., eds. *Immunotherapy: A Guide for Doctors [Иммунотерапия: руководство для врачей]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2018: 123–47. (in Russian)
4. Iglesias-Guimaraes V., Ahrends T., de Vries E., Knobloch K-P., Volkov A., Borst J. IFN-stimulated gene 15 IS an Alarmin that boosts the CTL response via an innate, NK Cell-dependent route. *J Immunol*. 2020; 204(8): 2110–21. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1901410>
5. Zhao C., Collins M.N., Hsiang T.-Y., Krug R.M. Interferon-induced ISG15 pathway: an ongoing virus-host battle. *Trends Microbiol*. 2013; 21(4): 181–6. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2013.01.005>
6. Perng Y.C., Lenschow D.J. ISG15 in antiviral immunity and beyond. *Nat. Rev. Microbiol*. 2018; 16(7): 423–39. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0020-5>
7. Fernández D.J., Hess S., Knobloch K.P. Strategies to target ISG15 and USP18 toward therapeutic applications. *Front. Chem*. 2020; 7: 923. <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00923>
8. Keng Po Lai, Cheung A.H.Y., Tse W.K.F. Deubiquitinase Usp18 prevents cellular apoptosis from oxidative stress in liver cells. *Cell Biol. Int*. 2017; 41(8): 914–21. <https://doi.org/10.1002/cbin.10799>
9. Alfadda A.A., Sallam R.M. Reactive oxygen species in health and disease. *J. Biomed. Res. Int*. 2012; 2012: 936486. <https://doi.org/10.1155/2012/936486>
10. Narovlyanskiy A.N., Mezentseva M.V., Suetina I.A., Russu L.I., Ivanova A.M., Poloskov V.V., et al. Cytokine-regulating activity of anti-virus preparation Celagripus in Burkitt's lymphoma stable B-cell lines. *Voprosy virusologii*. 2019; 64(4): 165–72. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2019-64-4-165-172> (in Russian)



11. Atakhanov A.A., Sarymsakov A.A., Rashidova S.Sh. *Nanosystems of Cellulose and Silver: Synthesis, Structure and Properties [Nanosistemy tsellyulozy i serebra: sintez, struktura i svoystva]*. Tashkent; 2016. (in Russian)
12. Narovlyanskiy A.N., Poloskov V.V., Ivanova A.M., Mezentseva M.V., Suetina I.A., Russu L.I., et al. Interferon-regulating activity of the CelAgrip drug and its influence on the formation of reactive oxygen species and expression of innate immunity genes in Burkitt's lymphoma cell cultures. *Voprosy virusologii*. 2020; 65(2): 87–94. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-2-87-94> (in Russian)
13. Shuvalov A.N., Sokolova T.M., Shapoval I.M., Ershov F.I. Modulation of cellular gene transcription by drug “immu-nomax”: activation of interferon and interleukine genes. *Immunologiya*. 2014; 35(1): 16–20. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2015-1-7-18> (in Russian)
14. Sokolova T.M., Shuvalov A.N., Kolodyazhnaya L.V., Ospel'nikova T.P., Ershov F.I. The mechanisms of action of the drug “Kagocel” in human cells. Communication 1. Regulation of transcription of genes of the interferon system and apoptosis. In: Ershov F.I., Narovlyanskiy A.N., eds. *Collection of Proceedings «Interferon-2011» [Sbornik nauchnykh trudov «Interferon-2011»]*. Moscow; 2012: 389–401. (in Russian)
15. Sokolova T.M., Kosobokova E.N., Shuvalov A.N., Shapoval I.M., Kosorukov V.S., Ershov F.I. Interferon system gene activity in colon adenocarcinoma cells HCT-116: regulation by interferon-alpha-2B from bacteria or plants. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal*. 2013; 12(3): 39–44. (in Russian)
16. Hashemi S.M.A., Sarvari J., Fattahi M.R., Dowran R., Ramezani A., Hosseini S.Y. Comparison of ISG15, IL28B and USP18 mRNA levels in peripheral blood mononuclear cells of chronic hepatitis B virus infected patients and healthy individuals. *Gastroenterol. Hepatol. Bed Bench*. 2019; 12(1): 38–45.
17. Li L.D., Sun H.F., Liu X.X., Gao S.P., Jiang H.L., Hu X., et al. Down-regulation of NDUFB9 promotes breast cancer cell proliferation, metastasis by mediating mitochondrial metabolism. *PLoS One*. 2015; 10(12): e0144441. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144441>
18. Fedorov G.N., Leonov S.D. Features of chemiluminescence of whole diluted blood. Mathematical morphology. *Elektronnyy matematicheskiy i medikobiologicheskiy zhurnal*. 2007; 6(4). (in Russian)
19. Snezhkina A.V., Kudryavtseva A.V., Kardymon O.I., Savvateeva M.V., Melnikova N.V., Krasnov G.S., et al. ROS generation and antioxidant defense systems in normal and malignant cells. *Oxid. Med. Cell Longev*. 2019; 2019: 6175804. <https://doi.org/10.1155/2019/6175804>
20. Zhang J., Wang X., Vikash V., et al. ROS and ROS-mediated cellular signaling. *Oxid. Med. Cell Longev*. 2016; 2016: 4350965. <https://doi.org/10.1155/2016/4350965>
21. Brieger, K., Schiavonea S., Miller F.J., Krausea K.H. Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss Med. Wkly*. 2012; 142: w13659. <https://doi.org/10.4414/smww.2012.13659>
22. Pourahmad J., Salimi A., Seydi E. Role of oxygen free radicals in cancer development and treatment, free radicals and diseases, Rizwan Ahmad, 2016. *IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/64787> Available at: <https://www.intechopen.com/books/free-radicals-and-diseases/role-of-oxygen-free-radicals-in-cancer-development-and-treatment>
23. Peroja P. Oxidative stress in diffuse large B-cell lymphoma and follicular lymphoma, and TP53 mutations and translocations of MYC, Bcl-2 and Bcl-6 in diffuse large B-cell lymphoma. Available at: <http://jultika.oulu.fi/files/isbn9789526218595.pdf>
24. Lightfoot T.J., Skibola C.F., Smith A.G., Forrest M.S., Adamson P.J., Morgan G.J., et al. Polymorphisms in the oxidative stress genes, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase and risk of non-Hodgkin's lymphoma. *Haematologica*. 2006; 91(9): 1222–7.
25. Young J.J., Yoo H.M., Chung C.H. ISG15 and immune diseases. *Biochim. Biophys. Acta*. 2010; 1802(5): 485–96. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2010.02.006>
26. Farrell P.J., Broeze R.J., Lengyel P.L. Accumulation of an mRNA and protein in interferon-treated Ehrlich ascites tumour cells. *Nature*. 1979; 279(5713): 523–5. <https://doi.org/10.1038/279523a0>
27. Haas A.L., Ahrens P., Bright P.M., Ankel H. Interferon induces a 15-kilodalton protein exhibiting marked homology to ubiquitin. *J. Biol. Chem*. 1987; 262(23): 11315–23.
28. Yuan W., Krug R.M. Influenza B virus NS1 protein inhibits conjugation of the interferon (IFN)-induced ubiquitin-like ISG15 protein. *EMBO J*. 2001; 20(3): 362–71. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.3.362>
29. Nielsch U., Pine R., Zimmer S.G., Babiss L.E. Induced expression of the endogenous beta interferon gene in adenovirus type 5-transformed rat fibroblasts. *J. Virol*. 1992; 66(4): 1884–90. <https://doi.org/10.1128/jvi.66.4.1884-1890.1992>
30. Andersen J.B., Aaboe M., Borden E.C., Goloubeva O.G., Hassel B.A., Orntoft T.F. Stage-associated overexpression of the ubiquitin-like protein, ISG15, in bladder cancer. *Br. J. Cancer*. 2006; 94(10): 1465–71. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6603099>
31. Desai S.D., Haas A.L., Wood L.M., Tsai Y.C., Pestka S., Rubin E.H., et al. Elevated expression of ISG15 in tumor cells interferes with the ubiquitin/26S proteasome pathway. *Cancer Res*. 2006; 66(2): 921–8. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-05-1123>
32. Andersen J.B., Hassel B.A. The interferon regulated ubiquitin-like protein, ISG15, in tumorigenesis: friend or foe? *Cytokine Growth Factor Rev*. 2006; 17:411–421. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2006.10.001>
33. Kitareewan S., Pitha-Rowe I., Sekula D., Lowrey C.H., Nemeth M.J., Golub T.R. et al. UBE1L is a retinoid target that triggers PML/RARalpha degradation and apoptosis in acute promyelocytic leukemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002; 99(6): 3806–11. <https://doi.org/10.1073/pnas.052011299>
34. Zhao C., Denison C., Huibregtse J.M., Gygi S., Krug R.M. Human ISG15 conjugation targets both IFN-induced and constitutively expressed proteins functioning in diverse cellular pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2005; 102(29): 10200–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.0504754102>
35. Durfee L.A., Lyon N., Seo K., Huibregtse J.M. The ISG15 conjugation system broadly targets newly synthesized proteins: implications for the antiviral function of ISG15. *Mol. Cell*. 2010; 38(5): 722–32. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.05.002>
36. Malakhov M.P., Malakhova O.A., Kim K.I., Ritchie K.J., Zhang D.E. UBP43 (USP18) specifically removes ISG15 from conjugated proteins. *J. Biol. Chem*. 2002; 277(12): 9976–81. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109078200>
37. Tan Y., Zhou G., Wang X., Chen W., Gao H. USP18 promotes breast cancer growth by upregulating EGFR and activating the AKT/Skp2 pathway. *Int. J. Oncol*. 2018; 53(1): 371–83. <https://doi.org/10.3892/ijo.2018.4387>
38. Lai K.P., Cheung A.H.Y., Tse W.K.F. Deubiquitinase Usp18 prevents cellular apoptosis from oxidative stress in liver cells. *Cell Biol. Int*. 2017; 41(8): 914–21. <https://doi.org/10.1002/cbin.10799>
39. Park J.H., Yang S.W., Park J.M., Ka S.H., Kim J.H., Kong Y.Y., et al. Positive feedback regulation of p53 transactivity by DNA damage-induced ISG15 modification. *Nat. Commun*. 2016; 7: 12513. <https://doi.org/10.1038/ncomms12513>



## Напряжённость иммунитета против кори у сотрудниц родильного блока в городе Москве

Костинов М.П.<sup>1,2</sup>, Журавлев П.И.<sup>1</sup>, Пахомов Д.В.<sup>1</sup>, Шмитко А.Д.<sup>1</sup>, Полищук В.Б.<sup>1</sup>, Филатов Н.Н.<sup>1,2</sup>, Gladkova Л.С.<sup>3</sup>, Рыжов А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, 105064, Москва, Россия;  
<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, Москва, Россия;  
<sup>3</sup>ГБУЗ «Городская клиническая больница им. Д.Д. Плетнёва Департамента здравоохранения г. Москвы», 105077, Москва, Россия

**Введение.** Корь остаётся актуальной проблемой российского здравоохранения, несмотря на проводимую вакцинопрофилактику, наблюдается рост заболеваемости. Особенно важна профилактика кори в группах риска, а также среди медицинских работников для предотвращения внутрибольничных вспышек инфекции. Продолжительность поствакцинального иммунитета в период элиминации кори изучена недостаточно, поэтому часто лица, переболевшие корью в детстве или имеющие 1–2 прививки против заболевания, с возрастом, в отсутствие естественной бустеризации, утрачивают защитные антитела.

**Цели и задачи.** Изучить напряжённость специфического иммунитета к кори у сотрудниц родильного отделения.

**Материал и методы.** В исследовании участвовала 271 сотрудница родильного блока в возрасте от 21 до 93 лет (262 образца сыворотки). Уровень специфических антител (АТ) класса G (IgG) к вирусу кори в сыворотках крови исследовали методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием стандартного набора реагентов для иммуноферментного количественного определения IgG фирмы «ВЕКТОР-БЕСТ». Результат считался отрицательным, если концентрация IgG-АТ к вирусу кори в исследуемом образце была менее или равна 0,18 МЕ/мл, и положительным – более 0,18 МЕ/мл.

**Результаты.** Среди сотрудниц число серонегативных составило от 0% до 30,8% с максимумом в возрасте 31–35 лет. Наименьшую долю серонегативных и наибольшую долю серопозитивных женщин наблюдали среди представителей пожилого возраста – > 60 лет.

**Обсуждение.** Показана выраженная тенденция к росту доли лиц со средними уровнями АТ с возрастом и к спаду доли лиц с низкими уровнями АТ. Доля серонегативных женщин среди сотрудниц превышала рекомендуемый уровень, что делает возможной внутрибольничную вспышку при заносе инфекции.

**Выводы.** Авторы статьи рекомендуют включить серологическое исследование на напряжённость иммунного ответа против кори в стандарт обследования взрослых перед вакцинацией.

**Ключевые слова:** корь; антитела; вакцинация; иммунный ответ; сотрудницы родильного блока; медицинские работники.

**Для цитирования:** Костинов М.П., Журавлев П.И., Пахомов Д.В., Шмитко А.Д., Полищук В.Б., Филатов Н.Н., Gladkova Л.С., Рыжов А.А. Напряжённость иммунитета против кори у сотрудниц родильного блока в городе Москве. *Вопросы вирусологии.* 2020; 65(5): 294-300.  
DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-5-6>

**Для корреспонденции:** Пахомов Дмитрий Владимирович, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаборатории вакцинопрофилактики и иммунотерапии аллергических заболеваний, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», 105064, Москва. E-mail: [dm\\_pachomov@mail.ru](mailto:dm_pachomov@mail.ru)

**Участие авторов:** все авторы в равной мере участвовали в выработке концепции обзорной статьи и её написании.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 10.04.2020  
Принята в печать 30.07.2020

## Intensity of the immunity against measles in employees of the maternity unit in Moscow

Michail P. Kostinov<sup>1,2</sup>, Pavel I. Zhuravlev<sup>1</sup>, Dmitry V. Pakhomov<sup>1</sup>, Anna D. Shmit'ko<sup>1</sup>, Valentina B. Polishchuk<sup>1</sup>, Nikolay N. Filatov<sup>1,2</sup>, Liliya S. Gladkova<sup>3</sup>, Alexey A. Ryzhov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, 105064, Russia;

<sup>2</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, 119991, Russia;

<sup>3</sup>D.D. Pletnev city Clinical Hospital Of the Moscow Department of Health, Moscow, 10507, Russia;

**Introduction.** Measles remains an urgent problem in Russian healthcare. Despite the ongoing vaccination, there is an increase in the incidence of measles. Prevention of measles is particularly important in high-risk groups, as well as among healthcare professionals to prevent hospital-acquired outbreaks of infection. The duration of post-vaccination immunity during the elimination of measles has not been sufficiently studied, so often people who

have had measles in childhood or have 1–2 vaccinations against the disease lose their protective antibodies with age in the absence of natural boosterization.

**Goals and objectives.** To study the intensity of specific immunity to measles in employees of the maternity unit.

**Material and methods.** The study involved 271 employees of the maternity unit aged 21 to 93 years (262 serum samples). The level of IgG antibodies (Ab) to the measles virus in the blood serum was studied by ELISA using a standard set of reagents for the quantitative determination of IgG by «VECTOR-BEST». The result was considered negative if the concentration of IgG to the measles virus in tested sample was  $\leq 0.18$  IU/ml and positive – if  $> 0.18$  IU/ml.

**Results.** The number of seronegatives ranged from 0% to 30.8% in female employees with its maximum at age of 31–35 years. The lowest proportion of seronegative and the highest proportion of seropositive women were observed among the elderly,  $> 60$  years.

**Discussion.** There is a marked tendency for an increase of the proportion of persons with average Ab levels with age and a decrease of the proportion of persons with low Ab levels. The percentage of seronegative women among employees exceeded the recommended level, which makes it possible for an nosocomial outbreak when an infection is introduced.

**Conclusion.** The authors recommend that serological testing for the intensity of the immune response against measles should be included in the standard of the pre-vaccination screening for adults

**Keywords:** measles; antibodies; vaccination; immune response; employees of the maternity unit; medical workers.

**For citation:** Kostinov M.P., Zhuravlev P.I., Pakhomov D.V., Shmit'ko A.D., Polishchuk V.B., Filatov N.N., Gladkova L.S., Ryzhov A.A. Tension of immunity against measles in employees of the maternity unit in Moscow. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2020; 65(5): 294–300. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-5-6>

**For correspondence:** Dmitry V. Pakhomov, Pf. D., senior research assistant, Laboratory of immunoprophylaxis and immunotherapy of allergic diseases, Mechnikov Research Institute of Sera and Vaccines, Moscow, 105064, Russia. E-mail: [dm\\_pachomov@mail.ru](mailto:dm_pachomov@mail.ru)

**Information about the authors:**

Kostinov M.P., <http://orcid.org/0000-0002-1382-9403>

Zhuravlev P.I., <https://orcid.org/0000-0002-0331-5580>

Pakhomov D.V., <https://orcid.org/0000-0002-4073-6085>

Shmit'ko A.D., <https://orcid.org/0000-0002-7280-6877>

Polishchuk V.B., <https://orcid.org/0000-0003-0533-0909>

Filatov N.N., <https://orcid.org/0000-0003-4857-9624>

Gladkova L.S., <https://orcid.org/0000-0001-6858-0580>

Ryzhov A.A., <https://orcid.org/0000-0002-7759-2003>

**Contribution:** all the authors have equally contributed to the development of the review article concept and to the writing of the article.

**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 10 April 2020

Accepted 30 July 2020

**Введение.** Несмотря на многолетние усилия по элиминации кори, планы ликвидации заболевания к 2015 г., ситуация в России и мире продолжает оставаться напряжённой. После минимальных достигнутых цифр заболеваемости в 2008 г. (всего заболели 27 человек, из них 20 взрослых) наблюдается рост заболеваемости. На фоне очевидных успехов вакцинопрофилактики и снижения заболеваемости также наблюдались снижение интереса медицинских работников и населения к иммунопрофилактике кори и непонимание рисков заболевания. Всё это привело к увеличению заболеваемости корью, вплоть до крупных вспышек и эпидемий. Так, например, в 2019 г. в Демократической Республике Конго было выявлено 310 тыс. случаев заболевания корью, 6 тыс. заболевших умерли.

По оценкам ВОЗ, для ликвидации этой, крупнейшей в прошлом году, эпидемии кори необходимо дополнительно более 40 млн долл. [1]. Наибольшее количество случаев кори регистрируется в бедных и развивающихся странах, откуда происходит распространение инфекции воздушно-капельным путём в благополучные страны.

Одной из особенностей распространения кори на данном этапе является рост заболеваемости среди взрослых, что обусловлено высокими показателями вакцинопрофилактики детского населения. Так, например, в 2001–2014 гг. пациенты взрослого возраста составляли более 50%. При этом, несмотря на успехи медицины в борьбе с другими инфекционными вирусными заболеваниями (ВИЧ, грипп, вирусные гепатиты, герпес и т.д.), специфическая противовирусная терапия кори отсутствует, и единственным средством предотвратить и остановить развитие эпидемии является иммунопрофилактика. Наибольших успехов в полной ликвидации заболеваемости корью достигли страны Северной и Южной Америки.

Ситуация, сложившаяся в России, показывает, что вакцинопрофилактика такой социально значимой инфекции, как корь, была и остаётся стратегическим направлением в борьбе с ней до полной элиминации этого заболевания. В силу очень высокой контагиозности кори (инкубационный период заболевания составляет от 14 до 15 дней, 1 больной заражает 17–20 человек) прервать цепочку передачи инфекции среди

населения возможно только благодаря созданию более высокого популяционного иммунитета, чем это требуется при других инфекциях.

В настоящее время для профилактики кори применяются живые вирусные вакцины, обладающие высокой иммуногенностью, они формируют специфический иммунитет, сопоставимый с таковым после перенесенной инфекции. К тому же иммунитет после вакцинации развивается на несколько дней быстрее, чем это происходит естественным путём [2]. В течение вакцинального процесса формируется как клеточный, так и гуморальный иммунитет, стимулируется синтез интерферона. В связи с тем что анализ клеточного иммунитета производится лишь в научных целях и затруднен, оценка поствакцинального иммунитета к кори осуществляется определением IgG-АТ различными методами [3]. После вакцинации IgA-, IgM- и IgG-АТ выявляются как в сыворотке, так и в секретах слизистых оболочек. В исследовании установлено, что IgG-АТ после повторной вакцинации определяются в защитных титрах не менее 10 лет [4]. Уровень сероконверсии, в зависимости от используемого штамма, составляет 95–99%. Ревакцинация против кори (вакциной с любым вакцинным штаммом) и контакт с диким возбудителем кори приводят к увеличению уровней АТ [3, 5, 6]. При этом следует отметить, что участвовавшие в последние годы случаи выявления кори в подростковых и взрослых (80% всех заболевших) коллективах во многом связаны с усилившимися в стране, особенно в Москве и других крупных городах, миграционными процессами, что существенно повышает риск заражения корью лиц старшего возраста и приумножает число источников инфекции среди этого контингента населения. Стоит отметить, что в последние годы характер эпидемического процесса кори в России всё больше зависит от эпидемической ситуации в сопредельных государствах, и в стране часто регистрируют завозные случаи кори.

Для того чтобы в каждом конкретном случае сделать оптимальный выбор вакцин и дать пациентам обоснованные рекомендации, необходимо не только обладать знаниями о реактогенности и иммуногенности препаратов, но и иметь оперативную информацию об изменениях стратегии и тактики вакцинопрофилактики, о возможных отдалённых последствиях применения того или иного иммунобиологического препарата или отказа от его использования и т.д. В этой связи необходимо увеличить охват первой и второй прививками против кори до максимально возможного, но не менее 95%, определять группы риска, особенно среди взрослого населения до 35 лет, с целью экстренной вакцинации, постоянно повышать качество эпидемиологического надзора на отдельных территориях за счёт усиления контроля работы региональными лабораториями, наладить в региональных лабораториях тестирование всех подозрительных на корь заболеваний, освоить выделение вируса кори от больных и проведение геномного секвенирования новых изолятов вируса кори, циркулирующих на тер-

ритории России, с созданием отечественного банка данных.

По данным предыдущих лет, около 45% заболевших корью составляют взрослые, в том числе – в 15% всех случаев – медицинские работники, 13,7% из них не имеют иммунитета к вирусу кори (при нормативных показателях не более 7%) [7, 8]. Наибольшее количество незащищённых было в группе 18–35 лет – 20%, в том числе с документальным подтверждением одной прививки – 19,3%, что более чем в 2 раза выше нормативного показателя. При этом среди заболевших корью медработников практически половина были привиты.

Среди жителей города Ростова-на-Дону отмечено 12,8% серонегативных лиц среди взрослых в возрасте 22–28 лет, из них 80% были привиты в соответствии с Национальным календарём профилактических прививок [9].

При обследовании женщин 18–45 лет в Москве было выявлено 21,5% и 29,1% беременных и небеременных, серонегативных к кори, соответственно, а уровни защитных АТ составляли 0,6–1,15 МЕ/мл [10–12].

Таким образом, количества серопозитивных взрослых недостаточно для формирования коллективного иммунитета против кори, в такой популяции может возникнуть эпидемия. При этом в литературе не удалось найти данных об уровне специфического иммунитета к вирусу кори у сотрудников акушерско-гинекологической службы. Учитывая их постоянные контакты с беременными, родильницами и новорождёнными, последствия внутрибольничной вспышки кори могут оказаться более тяжёлыми, чем в других случаях.

**Цели и задачи.** Изучить напряжённость специфического иммунитета к кори у сотрудниц родильного отделения.

### Материал и методы

Для исследования были отобраны 262 образца сыворотки крови сотрудниц родблока одного из крупных стационаров города Москвы в 2018 г., согласно Постановлению главного государственного санитарного врача по г. Москве №15 от 07 августа 2017 г. Уровень специфических антител (АТ) класса G (IgG) к вирусу кори в сыворотках крови исследовали методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием стандартного набора реагентов для иммуноферментного количественного определения IgG фирмы «ВЕКТОР-БЕСТ». Оценку специфической активности сыворотки проводили согласно инструкции по применению. Полученные результаты оценивались как положительные или отрицательные. Результат считался отрицательным, если концентрация IgG-АТ к вирусу кори в исследуемом образце была менее или равна 0,18 МЕ/мл и положительными – более 0,18 МЕ/мл. Уровни противокоревых АТ условно распределены на низкие – <1,0 МЕ/мл, средние – 1,0–5,0 МЕ/мл и высокие – > 5,0 МЕ/мл.

Сотрудницы родблока были распределены на 10 групп в зависимости от возраста с интер-

**Таблица 1.** Уровни IgG-антител к вирусу кори у сотрудниц родблока в зависимости от возраста

**Table 1.** Levels of IgG-antibodies to the measles virus in employees of the maternity unit, depending on age

Группа женщин Group of women	Количество Number of participants	Серонегативные результаты (<0,18 МЕ/мл), абс. (%) Seronegative results (<0.18 IU/ml), abs. (%)	Серопозитивные результаты (>0,18 МЕ/мл), абс. (%) Seropositive results (>0.18 IU/ml), abs. (%)	Средний уровень IgG-АТ, МЕ/мл The average level of IgG Ab, IU/ml
1	7	1 (14,3)	6 (85,7)	0,32
2	17	5 (29,4)	12 (70,6)	0,42
3	13	4 (30,8)	9 (69,2)	0,35
4	32	7 (21,9)	25 (78,1)	0,7
5	36	7 (19,4)	29 (80,6)	0,68
6	41	6 (14,6)	35 (85,4)	1,3
7	32	3 (9,4)	29 (90,6)	1,47
8	42	2 (4,7)	40 (95,3)	2,55
9	36	1 (2,8)	35 (97,2)	2,36
10	15	0 (0)	15 (100)	3,47

**Таблица 2.** Распределение уровней антител к вирусу кори среди различных возрастных групп сотрудниц родблока, абс. (%)

**Table 2.** Distribution of antibody levels to the measles virus among different age groups of maternity unit employees, abs. (%)

Уровни IgG-АТ, МЕ/мл IgG-ab levels, UE/ml	Возрастные группы Age groups									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Низкий (<1,0) Low (<1,0)	3 (50)	9 (75)*	6 (66,7)	14 (56)*	13 (44,8)*	13 (37,1)*	10 (34,5)*	7 (17,1)*	7 (20)*	2 (13,3)*
Средний (1,0–5,0) Middle (1,0–5,0)	3 (50)	3 (25)	3 (33,3)	11 (44)	15 (51,7)	22 (62,9)	19 (65,5)	33 (80,5)	27 (77,1)	13 (86,7)
Высокий (>5,0) High (>5,0)	0	0	0	0	1 (3,5)	0	0	1 (2,4)	1 (2,9)	0

\*  $p < 0,05$ .

валом 5 лет, начиная с 21 года. В 1-ю группу вошли 7 женщин – 25 лет, во 2-ю – 17 26–30 лет, в 3-ю – 13 31–35 лет, в 4 – 32 36–40 лет, в 5-ю – 36 41–45 лет, в 6-ю – 41 46–50 лет, в 7-ю – 32 51–55 лет, в 8-ю – 42 56–60 лет, в 9-ю – 36 61–65 лет, в 10-ю – 15 женщин > 65 лет.

Сравнение уровня АТ между возрастными группами проводилось методом Манна–Уитни. Сравнение доли серонегативных респондентов в зависимости от возраста проводилось критерием  $\chi^2$ . Описательная статистика количественных данных представлена медианой и интерквартильным размахом, качественных – долей респондентов с рассматриваемым признаком в группе с указанием 95% доверительного интервала, рассчитанного методом Клоппера–Пирсона.

### Результаты

При исследовании 272 сывороток крови сотрудниц родблока в возрасте от 21 до 93 лет выявлено отсутствие защитных уровней АТ у 13% сотрудниц (табл. 1). Наиболее высокие доли лиц, имеющих АТ ниже защитного уровня, отмечались во 2-й и 3-й возрастной группах и составили 29,4 и 30,8% соответственно, а наиболее низкие – в старших возрастных группах в возрасте от 56 лет, в которых менее 5% респондентов не имеют защитных уровней АТ. Доли

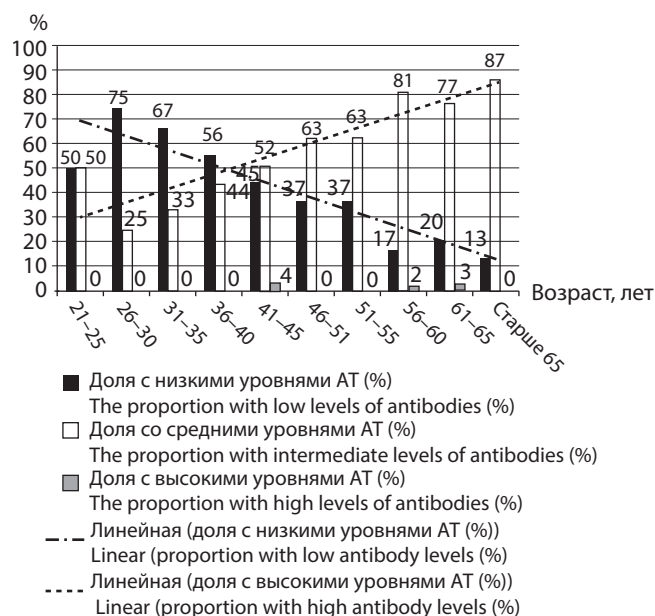
серонегативных лиц достоверно отличались во 2, 3 и 4-й группах при сравнении с 8, 9 и 10-й. В 5-й группе достоверные отличия установлены только при сравнении с 8-й и 9-й группами (табл. 2).

Анализ серопозитивных лиц среди сотрудников родблока с распределением значений уровней противокоревых АТ на низкие, средние и высокие показал, что в группах от 21 до 40 лет регистрируется большее количество сывороток с низкими значениями – от 75,0% до 50% (рисунок, см. табл. 2). Показана выраженная тенденция к росту доли лиц со средними уровнями АТ с возрастом и к спаду доли лиц с низкими уровнями АТ. Так, у лиц в возрастных группах 56–60, 61–65 и старше 65 лет доля лиц со средними уровнями АТ составляет 81, 77, и 87% соответственно. Выявление низких уровней IgG-АТ к вирусу кори у значительной доли (35,6% из 236 обследуемых всех возрастов) лиц вызывает озабоченность, поскольку с возрастом они становятся серонегативными – группой риска по инфицированию корью. В связи с этим сотрудницы больницы указанных возрастных групп нуждаются в последующем мониторинге уровня АТ к вирусу кори для принятия своевременного решения о вакцинации. Статистический анализ распределения уровней АТ в различных возрастных группах сотрудниц родблока с помощью критерия

**Таблица 3.** Степень достоверности различий при распределении уровней антител к вирусу кори среди различных возрастных групп сотрудников родильного блока, %  
**Table 3.** The significance of differences in the distribution of antibody levels to the measles virus among different age groups of employees of the maternity unit, %

Сравниваемые возрастные группы Age groups compared	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	–	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences
2	Нет отличий No differences	–	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	OR = 0,2 (0,05 до 0,86) F = 0,042385 $\chi^2 = 5,14$	OR = 0,18 (0,04 до 0,8) F = 0,036707; $\chi^2 = 5,6$	OR = 12,38 (2,71 до 56,46); F = 0,000698; $\chi^2 = 13,12$	OR = 8 (1,59 до 40,21); F = 0,012063; $\chi^2 = 7,49$	OR = 13 (1,7 до 99,38) F = 0,021488 $\chi^2 = 7,21$
3	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	–	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	OR = 0,1 (0,02 до 0,51); F = 0,005797; $\chi^2 = 9,43$	OR = 8 (1,59 до 40,21); F = 0,012063; $\chi^2 = 7,49$	OR = 0,08 (0,01 до 0,59) F = 0,021488 $\chi^2 = 7,2$
4	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	–	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	OR = 0,16 (0,05 до 0,5); F = 0,002211; $\chi^2 = 10,85$	OR = 0,2 (0,06 до 0,62); F = 0,005979; $\chi^2 = 8,31$	OR = 8,27 (1,53 до 44,62) F = 0,009508 $\chi^2 = 7,11$
5	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	OR = 0,26 (0,09 до 0,78); F = 0,017252; $\chi^2 = 6,1$	OR = 3,47 (1,14 до 10,55) F = 0,031924 $\chi^2 = 5,01$	OR = 5,63 (1,07 до 29,74) F = 0,044748 $\chi^2 = 4,71$
6	Нет отличий No differences	OR = 0,2 (0,05 до 0,86) F = 0,042385 $\chi^2 = 5,14$	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	–	Нет отличий No differences	OR = 0,35 (0,12 до 1,01); F = 0,067549; $\chi^2 = 3,92$	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences
7	Нет отличий No differences	OR = 0,18 (0,04 до 0,8); F = 0,036707; $\chi^2 = 5,6$	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	–	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences
8	Нет отличий No differences	OR = 12,38 (2,71 до 56,46); F = 0,000698; $\chi^2 = 13,12$	OR = 0,1 (0,02 до 0,51); F = 0,005797; $\chi^2 = 9,43$	OR = 0,16 (0,05 до 0,5); F = 0,002211; $\chi^2 = 10,85$	OR = 0,26 (0,09 до 0,78); F = 0,017252; $\chi^2 = 6,1$	OR = 0,35 (0,12 до 1,01); F = 0,067549; $\chi^2 = 3,92$	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences
9	Нет отличий No differences	OR = 8 (1,59 до 40,21); F = 0,012063; $\chi^2 = 7,49$	OR = 0,2 (0,05 до 0,86); F = 0,042385; $\chi^2 = 5,14$	OR = 0,2 (0,05 до 0,86); F = 0,042385; $\chi^2 = 5,14$	OR = 0,26 (0,09 до 0,78); F = 0,017252; $\chi^2 = 6,1$	OR = 0,35 (0,12 до 1,01); F = 0,067549; $\chi^2 = 3,92$	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	–	Нет отличий No differences
10	Нет отличий No differences	OR = 13 (1,7 до 99,38) F = 0,021488 $\chi^2 = 7,2$	OR = 0,08 (0,01 до 0,59) F = 0,021488 $\chi^2 = 7,2$	OR = 8,27 (1,53 до 44,62) F = 0,009508 $\chi^2 = 7,11$	OR = 5,63 (1,07 до 29,74) F = 0,044748 $\chi^2 = 4,71$	OR = 0,35 (0,12 до 1,01); F = 0,067549; $\chi^2 = 3,92$	Нет отличий No differences	Нет отличий No differences	–	Нет отличий No differences

**Примечание.** У всех пациентов низкие уровни IgG-АТ.  
**Note.** All patients had low level of IgG-AT.



Распределение уровней антител к вирусу кори среди различных возрастных групп, %.

Distribution of antibody levels to the measles virus among different age groups, %.

$\chi^2$ -квадрат показал наличие достоверных различий ( $p < 0,05$ ) в долях лиц с низкими уровнями АТ между группами старших возрастов (группы 6–10), где регистрировались от 13 до 37% лиц с низкими уровнями IgG-АТ к вирусу кори, и в группах лиц молодого возраста (2–5), в которых лица с низкими уровнями IgG-АТ к вирусу кори составляли от 45 до 75% числа серопозитивных (табл. 3).

### Обсуждение

Таким образом, полученные нами данные по количеству серонегативных взрослых в целом повторяют данные ранее выполненных исследований [7–12]. С учетом напряжённой эпидемической ситуации по заболеваемости корью и наличия значительной прослойки серонегативных сотрудниц родильного блока (13%), что значительно выше нормативного показателя – 7%, можно предположить возникновение внутрибольничной вспышки кори в случае заноса инфекции. Немаловажную роль в развитии очагов инфекции играют роженицы, среди которых доля серонегативных более 20%, к тому же сопутствующая беременности патология способствует нарушению передачи материнских АТ плоду и ещё большему увеличению когорты незащищённых от вируса кори младенцев на первом году жизни [8, 10, 11]. К тому же соматическая патология у детей и взрослых вызывает снижение специфического иммунитета к кори [13–18].

### Выводы

Первичной мерой иммунопрофилактики кори в данной ситуации является тотальный контроль уровней

защитных АТ у всех работников медицинских организаций. Также необходима разъяснительная работа среди женщин детородного возраста о необходимости вакцинопрофилактики и подготовки к беременности, в том числе проведения серологического контроля напряжённости иммунитета не только к краснухе, но и к кори с последующей вакцинацией в случае необходимости.

### ЛИТЕРАТУРА

- WHO Africa. Deaths from Democratic Republic of the Congo measles outbreak top 6000. Available at: <https://www.afro.who.int/news/deaths-democratic-republic-congo-measles-outbreak-top-6000>
- Katz S.L., Enders J.F. Immunization of children with a live attenuated measles virus. *Am. J. Dis. Child.* 1959; 98(5): 605–7.
- Krugman S., Giles J.P., Friedman H., Stone S. Studies on immunity to measles. *J. Pediatr.* 1965; 66: 471–88. [https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(65\)80112-3](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(65)80112-3)
- LeBaron C.W., Beeler J., Sullivan B.J., Forghani B., Bi D., Beck C., et al. Persistence of measles antibodies after 2 doses of measles vaccine in a postelimination environment. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* 2007; 161(3): 294–301. <https://doi.org/10.1001/archpedi.161.3.294>
- Krugman S. Present status of measles and rubella immunization in the United States: a medical progress report. *J. Pediatr.* 1977; 90(1): 1–12. [https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(77\)80755-5](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(77)80755-5)
- Krugman S. Further-attenuated measles vaccine: characteristics and use. *Rev. Infect. Dis.* 1983; 5(3): 477–81. <https://doi.org/10.1093/clindis/5.3.477>
- Сармометов Е.В., Мокова Н.М., Вольдшмидт Н.Б., Сергеев В.И., Цвирикун О.В., Метелкина Н.А. Оценка напряжённости противокорьевого иммунитета у медицинских работников г. Перми. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2011; 59(4): 45–8.
- Костинов М.П., Филатов Н.Н., Журавлев П.И., Гладкова Л.С., Полищук В.Б., Шмитько А.Д. и др. Возрастные особенности иммунитета к вирусу кори у работников крупного больничного комплекса мегаполиса. *Пульмонология.* 2018; 28(6): 701–7. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2018-28-6-701-707>
- Сылка О.И., Харсеева Г.Г., Леонова И.А. Напряжённость иммунитета к вирусу кори у населения г. Ростова-на-Дону. *Журнал фундаментальной медицины и биологии.* 2013; (1): 41–3.
- Ноздрачева А.В., Семенов Т.А., Марданлы С.Г., Ротанов С.В. Оценка напряжённости гуморального иммунитета к кори и краснухе у беременных женщин в Москве. *Журнал микробиологии.* 2017; (3): 91–8.
- Бочарова И.И., Костинов М.П., Новикова С.В., Шмитько А.Д., Обидина А.А., Цивцивадзе Е.Б. Трансплацентарные антитела к вирусу кори у новорожденных при различном течении беременности у их матерей. *Российский вестник акушера-гинеколога.* 2014; 14(2): 14–8.
- Костинов М.П., Шмитько А.Д., Бочарова И.И., Черданцев А.П., Сависько А.А., Полищук В.Б. Уровень IgG-антител к вирусу кори в пуповинной крови новорожденных с учётом возраста матерей. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2014; 19(3): 30–4.
- Соловьёва И.Л., Костинов М.П., Кусельман А.И. Особенности вакцинации детей с изменённым преморбидным фоном против гепатита В, кори, эпидемического паротита. Ульяновск; 2006.
- Костинов М.П., Зверев В.В. *Вакцинация против гепатита В, гриппа и краснухи взрослых пациентов с хроническими заболеваниями.* М.: МДВ; 2009.
- Костинов М.П., Шмитько А.Д., Соловьёва И.Л., Сависько А.А., Черданцев А.П. Защищены ли от кори дети с аллергическими заболеваниями и часто болеющие после ревакцинации. *Педиатрия.* 2017; 96(4): 140–5. <https://doi.org/10.24110/0031-403X-2017-96-4-140-145>
- Полищук В.Б., Рыжов А.А., Костинов М.П., Магаршак О.О., Шмитько А.Д., Лукачев И.В. и др. Состояние противокорьевого иммунитета у пациентов листа ожидания трансплантации легких. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2016; (4): 55–60.
- Чучалин А.Г., Яснецов В.В., ред. *Федеральное руководство по использованию лекарственных средств (формулярная система, справочное издание).* Выпуск XVII. М.: Видокс; 2016: 745–68.

18. Костинов М.П. Пути повышения эффективности иммунизации против кори детей с аллергическими заболеваниями: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М.; 1988.

## REFERENCES

- WHO Africa. Deaths from Democratic Republic of the Congo measles outbreak top 6000. Available at: <https://www.afro.who.int/news/deaths-democratic-republic-congo-measles-outbreak-top-6000>
- Katz S.L., Enders J.F. Immunization of children with a live attenuated measles virus. *Am. J. Dis. Child.* 1959; 98(5): 605–7.
- Krugman S., Giles J.P., Friedman H., Stone S. Studies on immunity to measles. *J. Pediatr.* 1965; 66: 471–88. [https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(65\)80112-3](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(65)80112-3)
- LeBaron C.W., Beeler J., Sullivan B.J., Forghani B., Bi D., Beck C., et al. Persistence of measles antibodies after 2 doses of measles vaccine in a postelimination environment. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* 2007; 161(3): 294–301. <https://doi.org/10.1001/archpedi.161.3.294>
- Krugman S. Present status of measles and rubella immunization in the United States: a medical progress report. *J. Pediatr.* 1977; 90(1): 1–12. [https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(77\)80755-5](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(77)80755-5)
- Krugman S. Further-attenuated measles vaccine: characteristics and use. *Rev. Infect. Dis.* 1983; 5(3): 477–81. <https://doi.org/10.1093/clinids/5.3.477>
- Sarmometov E.V., Mokova N.M., Vol'dshmidt N.B., Sergevnin V.I., Tsvirkun O.V., Metelkina N.A. Evaluation of measles immunity intensity among medical workers in the city of Perm. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika.* 2011; 59(4): 45–8. (in Russian)
- Kostin M.P., Filatov N.N., Zhuravlev P.I., Gladkova L.S., Polishchuk V.B., Shmit'ko A.D., et al. Age-related immune response to measles virus in staff of a large city hospital. *Pul'monologiya.* 2018; 28(6): 701–7. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2018-28-6-701-707> (in Russian)
- Sylka O.I., Kharseeva G.G., Leonova I.A. Immunity stress for measles vires in the population of Rostov-on-Don. *Zhurnal fundamental'noy meditsiny i biologii.* 2013; (1): 41–3. (in Russian)
- Nozdracheva A.V., Semenenko T.A., Mardanly S.G., Rotanov S.V. Evaluation of intensity of humoral immunity to measles and rubella in pregnant women in Moscow. *Zhurnal mikrobiologii.* 2017; (3): 91–8. (in Russian)
- Bocharova I.I., Kostin M.P., Novikova S.V., Shmit'ko A.D., Obidina A.A., Tsivtsivadze E.B. Transplacental antibodies to measles virus in neonatal infants during different pregnancies in their mothers. *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa.* 2014; 14(2): 14–8. (in Russian)
- Kostin M.P., Shmit'ko A.D., Bocharova I.I., Cherdantsev A.P., Savis'ko A.A., Polishchuk V.B. Measles virus-specific igg-antibodies level in umbilical cord blood according to the maternal age. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni.* 2014; 19(3): 30–4. (in Russian)
- Solov'eva I.L., Kostin M.P., Kusel'man A.I. *Features of Vaccination of Children with Changed Premorbid Background Against Hepatitis B, Measles, Mumps [Osobennosti vaksinatсии detey s izmenennym premorbidnym fonom protiv gepatita V, kori, epidemicheskogo parotita].* Ul'yanovsk; 2006 (in Russian)
- Kostin M.P., Zverev V.V. *Vaccination Against Hepatitis B, Influenza and Rubella in Adult Patients with Chronic Diseases [Vaksinatсия protiv gepatita V, grippa i krasnukhi vzroslykh patientsov s khronicheskimi zabolvaniyami].* Moscow: MDV; 2009. (in Russian)
- Kostin M.P., Shmit'ko A.D., Solov'eva I.L., Savis'ko A.A., Cherdantsev A.P. Are children with allergic diseases and sickly children resistant to measles after revaccination? *Pediatriya.* 2017; 96(4): 140–5. <https://doi.org/10.24110/0031-403X-2017-96-4-140-145> (in Russian)
- Polishchuk V.B., Ryzhov A.A., Kostin M.P., Magarshak O.O., Shmit'ko A.D., Lukachev I.V., et al. Condition of anti-measles immunity in patients on waiting-list for lung transplantation. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2016; (4): 55–60. (in Russian)
- Chuchalin A.G., Yasnetsov V.V., eds. *Federal Guidelines for the Use of Medicines (Formulary System, Reference Publication). Issue XVII [Federal'noe rukovodstvo po ispol'zovaniyu lekarstvennykh sredstv (formulyarnaya sistema, spravochnoe izdanie). Vypusk XVII].* Moscow: Vidoks; 2016: 745–68. (in Russian)
- Kostin M.P. *The ways to increase the effectiveness of immunization against measles in children with allergic diseases: Diss.* Moscow; 1988. (in Russian)