

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, Biological Sciences, Chemical Abstracts, EBSCOhost Biological Abstracts, EBSCOhost Wildlife & Ecology Studies Worldwide, Elsevier BV Scopus, Elsevier BV EMBASE, Index Medicus, Excerpta Medica, Index Veterinarius, MEDLINE, National Library of Medicine PubMed, Parasitology Database, Poultry Abstracts, Review of Medical and Veterinary Entomology, Thomson Reuters Biological Abstracts, Thomson Reuters BIOSIS Previews, Thomson Reuters Science Citation Index Expanded, Thomson Reuters Web of Science, Tropical Diseases Bulletin, Veterinary Science Database, Virology and AIDS Abstracts, 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 25.12.2020.
Формат 60×90/8.

Тираж 50 экз. Печ. л. 10,5.
Отпечатано в типографии
«Буки Веди». www.bukivedi.com.
E-mail: info@bukivedi.com.

© ФБУН ЦНИИ эпидемиологии
Роспотребнадзора, 2020

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

ВОПРОСЫ ВИРУСОЛОГИИ

(VOPROSY VIRUSOLOGII)

ДВУХМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Основан в 1956 г.

6

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)

Корзяя 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)

Нетёсов 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.; 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)

Шестопапов 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, Biological Sciences, Chemical Abstracts, EBSCOhost Biological Abstracts, EBSCOhost Wildlife & Ecology Studies Worldwide, Elsevier BV Scopus, Elsevier BV EMBASE, Index Medicus, Excerpta Medica, Index Veterinariarius, 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 (on the Web of Science platform)

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 of Epidemiology,
111123, 3A, Novogireevskaya St.,
Moscow, Russian Federation.
Phone/fax: +7(925) 011-87-79.
E-mail: publisher@crie.ru

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

EDITORIAL OFFICE:

111123, 3A, Novogireevskaya St.,
Moscow, Russian Federation.
Phone/fax: +7(925) 011-87-79.
E-mail: 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 December 25, 2020.
Print format 60×90/1/8.
Circulation 50 copies.

Produced at the Buki Vedi
Printing House.
115093, 1, 1st Party lane, Moscow,
Russian Federation.
E-mail: info@bukivedi.com.
www.bukivedi.com
© Central Research Institute
of Epidemiology, 2020

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

PROBLEMS OF VIROLOGY

(VOPROSY VIRUSOLOGII)

SCIENTIFIC THEORETICAL JOURNAL ISSUED
ONCE IN TWO MONTHS

Published since 1956

6

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. — DSc, 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

ОБЗОРЫ

Соколова Т.М.Вирус гепатита С (*Flaviviridae: Hepacivirus: Hepacivirus C*): регуляция сигнальных реакций врождённого иммунитета 307**Куц А.А., Кистенёва Л.Б., Климова Р.Р., Чешик С.Г.**

Роль герпесвирусов в заболеваниях урогенитального тракта и бесплодии у женщин 317

Кальнов С.Л., Верховский О.А., Цибезов В.В., Алексеев К.П., Чудакова Д.А., Филатов И.Е., Гребенникова Т.В.

Прижизненная диагностика прионных болезней 326

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Львов Д.К., Бурцева Е.И., Колобухина Л.В., Федякина И.Т., Бовин Н.В., Игнатьева А.В., Краснослободцев К.Г., Феодоритова Е.Л., Трушаклова С.В., Бреслав Н.В., Меркулова Л.Н., Мукашева Е.А., Хлопова И.Н., Воронина О.Л., Аксёнова Е.И., Кунда М.С., Рыжова Н.Н., Вартамян Н.В., Кистенёва Л.Б., Кириллов И.М., Прошина Е.С., Росаткевич А.Г., Кружкова И.С., Заплатников А.Л., Базарова М.В., Сметанина С.В., Харламов М.В., Карпов Н.Л., Шихин А.В.

Особенности циркуляции вирусов гриппа и ОРВИ в эпидемическом сезоне 2019–2020 гг. в отдельных регионах России 335

Сарбанди Н., Хоссейни С.М., Вакили К., Фатхи М., Дерави Н., Вайезджалали М.Отсутствие случаев передачи вируса гепатита В (*Hepadnaviridae: Orthohepadnavirus: Hepatitis B virus*) госпитализированным пациентам с психическими расстройствами от медицинского персонала или членов семьи 350**Лавертьева И.Н., Шамсутдинова О.А., Чугуева И.И., Карал-оглы Д.Д., Вышемирский О.И.**Изучение тератогенности вакцинного штамма вируса краснухи «Орлов-В» (*Matonaviridae: Rubivirus: Rubella virus*) в опыте на обезьянах макак-резус* 357**Морозова О.В., Сашина Т.А., Новикова Н.А.**Филодинамическая характеристика российской популяции ротавируса А (*Reoviridae: Sedoreovirinae: Rotavirus*) на основе гена VP6 364**Андропова В.Л., Галегов Г.А., Мусияк В.В., Воздвиженская О.А., Левит Г.Л., Краснов В.П.**Антивирусный эффект нового конъюгата пурина LAS-131 в отношении вируса простого герпеса первого типа (*Herpesviridae: Alphaherpesvirinae: Simplexvirus: Human alphaherpesvirus 1*) *in vitro* 373

ИНФОРМАЦИЯ

Акимкин В.Г.

Резолюция Всероссийской научно-практической интернет-конференции с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность — 2020» (Москва, 6–8 октября 2020 г.) 381

Указатель статей, опубликованных в журнале «Вопросы вирусологии» в 2020 г. 383

CONTENTS

REVIEWS

Sokolova T.M.

Hepatitis C virus (*Flaviviridae: Hepacivirus: Hepacivirus C*):
regulation of signaling reactions of innate immunity 307

Kushch A.A., Kisteneva L.B., Klimova R.R., Cheshik S.G.

The role of herpesviruses in diseases of the urogenital tract and infertility in women 317

Kalnov S.L., Verkhovskiy O.A., Tsibezov V.V., Alekseev K.P., Chudakova D.A., Filatov I.E., Grebennikova N.V.

Problems of ante mortem diagnostics of prion diseases 326

ORIGINAL RESEARCHES

L'vov D.K., Burtseva E.I., Kolobukhina L.V., Fedyakina I.T., Bovin N.V., Ignatjeva A.V., Krasnoslobodtsev K.G., Feodoritova E.L., Trushakova S.V., Breslav N.V., Merkulova L.N., Mukasheva E.A., Khlopova I.N., Voronina O.L., Aksyonova E.I., Kunda M.S., Ryzhova N.N., Vartanjan R.V., Kisteneva L.B., Kirillov I.M., Proshina E.S., Rosatkevich A.G., Kruzhkova I.S., Zaplatnikov A.L., Bazarova M.V., Smetanina S.V., Kharlamov M.V., Karpov N.L., Shikhin A.V.

Peculiarities of the influenza and ARVI viruses during epidemic season 2019–2020
in some regions of Russia 335

Sarbandi H., Hosseini S.M., Vakili K., Fathi M., Deravi N., Vaezjalali M.

Hepatitis B Virus (*Hepadnaviridae: Orthohepadnavirus: Hepatitis B virus*) among Hospitalized Mentally Disabled
Patients is not transmitted by their nurses or family members 350

Lavrent'eva I.N., Shamsutdinova O.A., Chugueva I.I., Karal-ogly D.D., Vyshemirskii O.I.

Study of the teratogenicity of the vaccine strain of the Rubella virus «Orlov-V»
(*Matonaviridae: Rubivirus: Rubella virus*) in experience on rhesus macaques* 357

Morozova O.V., Sashina T.A., Novikova N.A.

Philodynamic characteristics of the Russian population of rotavirus A (*Reoviridae: Sedoreovirinae: Rotavirus*)
based on the VP6 gene 364

Andronova V.L., Galegov G.A., Musiyak V.V., Vozdvizhenskaya O.A., Levit G.I., Krasnov V.P.

Antiviral effect of novel purine conjugate LAS-131 against Herpes simplex virus type 1
(*Herpesviridae: Alphaherpesvirinae: Simplexvirus: Human alphaherpesvirus 1*) *in vitro* 373

INFORMATION

Akimkin V.G.

Resolution of the All-Russian Scientific and Practical Internet Conference with International Participation
«Molecular Diagnostics and Biosafety-2020» (Moscow, October 6–8, 2020) 381

Index of articles published in the journal «Problems of Virology» in 2020 383

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

ОБЗОРЫ

© СОКОЛОВА Т.М., 2020



Вирус гепатита С (*Flaviviridae: Hepacivirus: Hepacivirus C*): регуляция сигнальных реакций врождённого иммунитета

Соколова Т.М.

Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского, ФГБУ «Национальный центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва, Россия

Изучение регуляции сигнальных реакций врождённого иммунитета вирусом гепатита С (ВГС) поможет раскрыть причины перехода острой формы заболевания в хроническое течение. Рассмотрены молекулярные механизмы активации рибонуклеиновой кислотой ВГС рецепторов TLRs (Toll-like) и RLRs (RIG-like) врождённого иммунитета и процессов сигнальной трансдукции, приводящей к синтезу интерферона и воспалительных цитокинов. Подробно проанализированы ингибирующие эффекты неструктурных и структурных белков ВГС на сигнальные реакции иммунитета. Представленная информация является результатом анализа литературных данных, опубликованных в международных базах преимущественно за последние 5 лет. В заключение сигнальные рецепторы предлагаются как мишени для разработки новых противовирусных препаратов с иммунотерапевтической активностью.

Ключевые слова: вирус гепатита С; врождённый иммунитет; сигнальные реакции TLR- и RLR-рецепторов, продукция интерферона и воспалительных цитокинов.

Для цитирования: Соколова Т.М. Вирус гепатита С (*Flaviviridae: Hepacivirus: Hepacivirus C*): регуляция сигнальных реакций врождённого иммунитета. *Вопросы вирусологии*. 2020; 65(6): 307-316.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-6-1>

Для корреспонденции: Соколова Татьяна Михайловна, д-р биол. наук, акад. РАЕН, вед. науч. сотр. лаборатории клеточной инженерии, Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского, ФГБУ «Национальный центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва. E-mail: tmsokolovavir@mail.ru

Финансирование. Работа не имела целевого финансирования.

Конфликт интересов. Автор декларирует отсутствие конфликта интересов.

Поступила 03.07.2020

Принята в печать 30.07.2020

Hepatitis C virus (*Flaviviridae: Hepacivirus: Hepacivirus C*): regulation of signaling reactions of innate immunity

Tatiana M. Sokolova

D.I. Ivanovsky Institute of Virology of National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, 123098, Russia

Studying the regulation of signaling reactions of innate immunity by the hepatitis C virus (HCV) will help to reveal the causes of the transition of the acute form of the disease to a chronic course. The molecular mechanisms of activation by HCV RNA of innate immunity receptors TLR and RLR and signal transduction processes leading to the synthesis of IFN and inflammatory cytokines are considered. The inhibitory effects of non-structural and structural HCV proteins on immune signaling reactions are analyzed in detail. The information presented is the result of an analysis of literature data published in international databases mainly over the past 5 years. In conclusion, signaling receptors are proposed as targets for the development of new antiviral drugs with immunotherapeutic activity.

Keywords: hepatitis C virus; innate immunity; signaling reactions of TLR and RLR receptors, production of IFN and inflammatory cytokines.

For citation: Sokolova T.M. Hepatitis C virus (*Flaviviridae: Hepacivirus: Hepacivirus C*): regulation of signaling reactions of innate immunity. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2020; 65(6): 307-316. (In Russ.)

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-6-1>

For correspondence: Tatiana M. Sokolova, PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Cell Engineering, Academician of RANS, D.I. Ivanovsky Institute of Virology of National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, 123098, Russia. E-mail: tmsokolovavir@mail.ru

Information about the authors:Sokolova T.M., <https://orcid.org/0000-0003-0957-4513>**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.**Conflict of interest.** The author declare no conflict of interest.

Received 03 July 2020

Accepted 30 July 2020

Вирус гепатита С (ВГС), представитель рода *Hepacivirus* семейства *Flaviviridae*, характеризуется высокой генетической изменчивостью и разнообразием генотипов. Известно 8 генотипов и 67 подтипов вируса с разным географическим распространением, кроме того, у инфицированных ВГС могут появляться новые варианты (квазивиды) [1, 2]. По данным ВОЗ, число инфицированных ВГС в мире на февраль 2020 г. составило порядка 71 млн [3]. Разработка нескольких вариантов профилактических вакцин пока не дала ожидаемых результатов [4]. Характерной особенностью развития ВГС-инфекции является переход острой формы заболевания в хроническое течение у 80% пациентов с риском развития цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы. Вирусная стратегия установления персистентной инфекции включает множество механизмов ускользания от реакций врождённого иммунитета [5–9]. Несмотря на заметный прогресс в знаниях, механизмы действия ВГС на врождённый иммунитет и клеточную регуляцию требуют дальнейшего изучения. Прежде всего это относится к сигнальным реакциям клеток на вирусные структуры с участием специальной группы рецепторов врождённого иммунитета.

Сегодня для лечения больных ВГС используют противовирусные препараты (АВП) прямого действия – ингибиторы белков вирусной репликации [10]. АВП эффективно удаляют вирус из организма больного, но из-за высокой стоимости не всем доступны. Поэтому для лечения ВГС продолжают применять препараты рекомбинантных α -интерферонов (ИФН- α), часто в сочетании с химиопрепаратом рибавирином [11]. Порядка 30–50% ВГС-носителей, чаще с генотипом 1b, проявляют резистентность к ИФН-терапии. Длительный приём АВП может вызывать нежелательные эффекты на состояние иммунной системы пациентов и активность иммунокомпетентных клеток, играющих важную роль в патогенезе ВГС [12, 13], в связи с этим поиск новых эффективных средств лечения ВГС продолжается. Для изучения действия вирусных структур на клеточные процессы используют чувствительные линии гепатоцитов, частично или полностью воспроизводящие вирусную репликацию (наиболее известные HepG2/miR-122 и Huh7,5) [14, 15]. Параллельно применяют метод сокультивирования ВГС-инфицированных гепатоцитов с макрофагами (Мф) и дендритными клетками (Дк). Такой подход расширяет возможности анализа действия ВГС на реакции врождённого и адаптивного иммунитета в тканях организма и раскрывает механизмы вирусной персистенции [6].

Сигнальные реакции врождённого иммунитета на ВГС

При контакте клеток с вирусами первоочередное значение имеют рецепторы врождённого иммунитета PRRs (pattern recognition receptors), которые узнают вирусные структуры и включают сигналы клеточной защиты [16, 17]. Наиболее изученными являются семейства TLRs (Toll-like) и RLRs (RIG-like), члены которых взаимодействуют с вирусными РНК. Серин-треониновая киназа PKR также взаимодействует с двуспиральной РНК (дсРНК) ВГС и регулирует сигнальный процесс [18, 19].

Сигнальные реакции вызывает проникающая в гепатоциты геномная РНК ВГС, которая является агонистом цитоплазматических хеликаз RIG1 и MDA5 и эндосомальных рецепторов TLR3 и TLR7 (рис. 1, А, В) [7, 8]. Ведущая роль в иммунном ответе, особенно на раннем сроке инфекции, принадлежит хеликазам RIG1 и MDA5 с участием регуляторной хеликазы LGP2 [20, 21]. Процессы взаимодействия РНК с хеликазами сопровождаются биохимическими и структурными изменениями: олигомеризацией ферментов, убиквитинацией каспазных доменов CARD1/2 и фосфорилированием. Хеликазы отличаются тропностью к дсРНК разной длины. MDA5 имеет более открытую конформацию и преимущественно взаимодействует с длинными дсРНК. RIG1 связывает короткие дсРНК и односпиральные РНК (осРНК) с 5'-ppp концами. В Huh7-гепатоцитах с полноценной ВГС-инфекцией преобладает активация хеликазы MDA5, а в гепатоцитах HepG2 с abortивной ВГС-инфекцией активируется хеликаза RIG-I. Сигналы хеликаз RIG1 и MDA5 передаются общему адаптору – митохондриальному белку MAVS (другие названия VISA, IPS1, Cardif) [22].

Особое значение в сигнальных реакциях RIG-хеликазы имеет белок STING (stimulator IFN-gamma), локализованный в эндоплазматическом ретикулуме (ER) [23]. Первоначально STING считали сенсором ДНК-структур, но в дальнейшем показано участие его в иммунном ответе на вирусные РНК, в том числе на РНК ВГС. Репликация РНК ВГС осуществляется в структурах мембранной сети (membranous web) ER с образованием (+) и (-) форм РНК, которые активируют взаимодействие STING с киназой TBK1 [24].

Наряду с цитоплазматическими хеликазами RIG1 и MDA5 в узнавании РНК ВГС участвуют эндосомальные рецепторы TLR3 и TLR7 [25]. Разные виды дсРНК, геномные и репликативные формы РНК, взаимодействуя с этими TLRs, вызывают структурные перестройки и димеризацию рецепторов [26]. Адапторами TLR3 и TLR7 являются белки TRIF (TIR-domain-containing adaptor protein IFN- β) и MyD88 (myeloid

differentiation factor 88) соответственно. Секретия из гепатоцитов репликативных форм вирусных РНК вызывает в соседних клетках состояние иммунной толерантности [27]. Транспорт вирусных РНК в составе экзосом в плазматоидные Дк, напротив, приводит к активации рецептора TLR7 и RIG-сигналов и, соответственно, продукции ИФН [28, 29].

Сигнальные каскады RIG1/MDA5-хеликаз и TLR3/TLR7-рецепторов в гепатоцитах имеют характерные профили, между которыми существуют перекрёсты с участием факторов TRAF3/6 и активированных киназ IKK, TBK, MKK, IRAK, TAK. Киназы фосфорилируют факторы транскрипции NFκB, IRF3 и IRF7, которые после транслокации в ядро клеток взаимодействуют с промоторами генов ИФН типа 1 (β и α) и ИФН типа 3 (λ) [5–8].

Синтезированные ИФН продолжают сигнальный процесс в тех же или соседних клетках, связываясь со специфическими рецепторами (рис. 1, С). Рецепторы

ИФН типов 1 и 3 отличаются составом (IFNAR1/R2 и IFNLR1/IL10R2 соответственно) и уровнем представленности в разных типах клеток, но внутриклеточные пути передачи сигналов у обоих типов ИФН похожи [30]. ИФН играют ключевую роль в антивирусном механизме врождённого иммунитета, так как индуцируют синтез белков и ферментов, подавляющих вирусную репликацию. Процесс взаимодействия ИФН типов 1 и 3 с рецепторами и образование комплексов с тирозиновыми киназами JAK1 и TYK2 регулируется белками-супрессорами USP18 и SOCS3. При активации JAK1 и TYK2 индуцируются факторы транскрипции STAT1/2 (signal transduction activator transcription), к ним присоединяется фактор IRF9, и формируется транскрипционный комплекс ISGF3 (IFN-stimulation genes factor), который транспортируется в ядро. ISGF3 активирует транскрипцию большой группы клеточных генов, имеющих в промоторах последовательность ISRE [31]. Среди ИФН-стимулированных генов (ISG) –

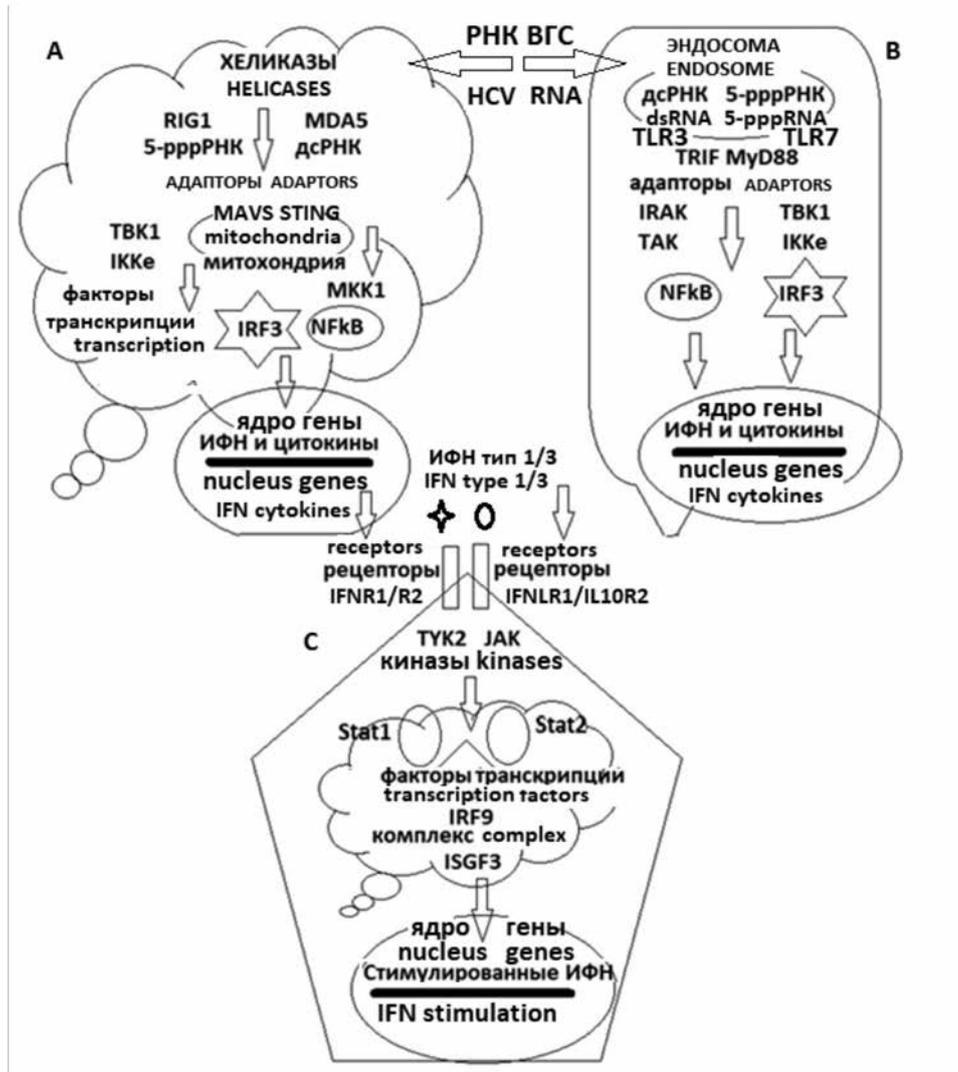


Рис. 1. (А, В, С). Сигнальные реакции врождённого иммунитета, индуцированные РНК ВГС и ИФН типов 1 и 3.

Fig. 1. (A, B, C). Signal reactions of innate immunity induced by HCV RNA and IFN type 1 and 3.

транскрипционные факторы IRF3 и IRF7, рецепторы врождённого иммунитета TLR3 и TLR7, хеликазы RIG1 и MDA5, противовирусные белки-ферменты GTPase (белки Mx), PKR (protein kinase dsRNA-dependent), OAS (2'-5'-oligoadenylatesynthetase), RNase-L. Таким образом, сигнальные реакции индукции и действия ИФН существуют в тесной взаимосвязи. Уровни продукции ИФН типа 3 в клетках печени значительно выше, чем ИФН типа 1. При терапевтическом применении рекомбинантные препараты ИФН-λ вызывают меньше побочных эффектов по сравнению с рекомбинантными ИФН-α. Показано, что лечебный эффект подтипа 3 ИФН-λ (IL28B) ассоциирован с генетическим полиморфизмом.

Структура РНК ВГС обладает выраженными ИФН-индуцирующими свойствами [32]. Геном ВГС представлен осРНК позитивной полярности длиной 9,7 kb, которая отличается от клеточных видов мРНК особым строением 5'- и 3'-концов и наличием нескольких уникальных регуляторных дсРНК-участков (рис. 2). На 5'-конце РНК ВГС нет «кэп»-структуры и, подобно многим вирусным РНК, содержится 5'-ppp. В 5'-нетранслируемом районе (5'UTR) находится сайт присоединения микроРНК122 (miR-122). МикроРНК защищает вирусный геном от действия клеточных фосфатаз и способствует вирусной репликации [33]. В 5'UTR локализован рибосомсвязывающий сайт IRES (internal ribosome entry site) с дсРНК-петлями, инициирующими трансляцию. Протяжённая открытая рамка считывания (ORF) структурных и неструктурных белков начинается старт-кодоном AUG. В генах структурных и неструктурных белков также имеются регуляторные участки дсРНК. На 3'-конце РНК ВГС расположен цис-действующий репликативный элемент (CRE), но отсутствует полиА-последовательность, характерная для клеточных мРНК. В хвостовом участке (3'X-tail) генома расположены дсРНК-сигналы репликации и консервативная протяжённая последовательность U/UC из 98 нуклеотидов, активатор RIG1-хеликазы [34].

Структура IRES активирует дсРНК-зависимую протеинкиназу (PKR), фосфорилирующую фактор инициации трансляции eIF2. PKR является одним из ферментов противовирусного действия ИФН, играющим важную роль в иммунном ответе и сигнальной регуляции процессов трансляции и транскрипции [35]. Выключение экспрессии PKR геном редактированием CRISPR/Cas9 усиливает вирусную репликацию. ДсРНК-участки РНК ВГС участвуют во взаимодействии PKR с вирусным белком NS5A. Когда это происходит вблизи участка IRES, трансляция вирусной РНК переключается на репликацию [36].

Геномная РНК транслируется в форме полипротеина, который затем расщепляется клеточными и вирусными протеазами на структурные белки Core, E1, E2 и p7 (виropорин) и неструктурные белки NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B (см. рис. 2). Белкам ВГС как регуляторам сигнальных реакций врождённого иммунитета в большей степени присущи ингибирующие свойства [5, 9, 37]. Иммунные реакции на липополисахарид (TLR4-лиганд) и синтетический комплекс polyUC (TLR3-лиганд) в Дк и лимфоцитах ВГС-инфицированных пациентов снижены. Нарушены сигнальные реакции TLR-адаптора MyD88, транскрипционного фактора NF-κB и синтез провоспалительных цитокинов IL-8, IL-6, TNF-α и NO. После взаимодействия TLR2 с Core-белком в гепатоцитах возникает состояние гомо- и кросс-толерантности [38]. Важно отметить, что TLR2 активируется только мономером Core-белка, поэтому внеклеточные вирусные частицы ускользают от иммунного распознавания. Толерантность инфицированных вирусом моноцитов может быть устранена обработкой ИФН-γ, эндотоксином и моноклональными антителами к TLR2 и TLR4.

Протеаза NS2 играет важную роль в сборке и почковании вирионов и активно участвует во взаимодействии с другими белками. NS2 подавляет фосфорилирование транскрипционного фактора IRF3, взаимодействуя с сигнальными киназами IKKε и TBK1 [39].

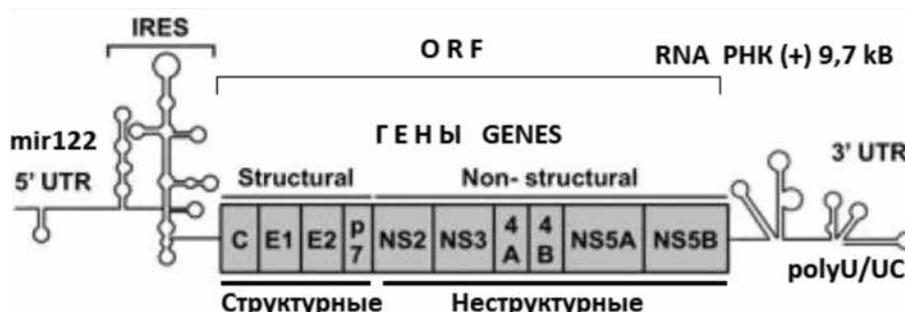


Рис 2. Геном ВГС и кодируемые белки.

РНК (+) кодирует 10 вирусных белков. Открытая рамка считывания (ORF) фланкирована 5'- и 3'-нетранслируемыми регионами (UTRs), имеет внутренний рибосомсвязывающий сайт инициации трансляции (IRES). Полипротеин расщепляется клеточными и вирусными протеазами на структурные (C, E1, E2) и неструктурные (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5B) белки.

Fig. 2. HCV genome and encoded proteins.

RNA (+) encodes 10 viral proteins. The open reading frame (ORF) is flanked by 5'- and 3'-untranslated regions (UTRs), has an internal ribosome entry site (IRES) for initiation of translation. Polyprotein is cleaved by cellular and viral proteases into structural (C, E1, E2) and non-structural (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5B) proteins.

NS2 ингибирует апоптоз в клетках, действуя на проапоптотический белок CIDE-B, и вызывает арест клеточного цикла в S-фазе, снижая экспрессию циклина A. Недавно было показано, что NS2 взаимодействует с малыми ингибиторными РНК и подавляет РНК-интерференцию [40].

Мультифункциональный белок NS3 обладает протеазной, нуклеозид-трифосфатазной (NTPase) и РНК-хеликазной активностью. NS3 играет важную роль в вирусной репликации и сборке вирионов [41]. Вместе с ко-фактором NS4A белок NS3 подавляет сигнальные реакции TLR3- и RIG1-рецепторов, расщепляя их адаптерные белки TRIF [42] и MAVS [43]. Комплекс NS3/4A инактивирует E3 убиквитинлигазу Riplet (активатора RIG-I хеликазы) [44]. Связываясь с убиквитиновым комплексом LUBAC (linear ubiquitin chain assembly complex), NS3 нарушает активацию адаптера NF- κ B NEMO (NF- κ B essential modulator) [45]. В результате снижается синтез ИФН типов 1 и 3, TNF- α и других воспалительных цитокинов и хемокинов (RANTES, IP-10, IL-8).

Белок NS4B подавляет индукцию ИФН, взаимодействуя с белком STING [46–48]. STING – трансмембранный белок эндоплазматического ретикулума (ER), имеющий цитоплазматический домен для связывания ДНК- и РНК-содержащих вирусов. Связывание STING с киназой TBK1 или митохондриальным белком MAVS необходимо в сигнальном процессе индукции ИФН. При вирусной репликации контакт зависит от динамического состояния митохондриально-ассоциированной мембраны (MAM) [49]. Ингибирующее действие белка NS4B на экспрессию STING сильнее выражено у ВГС генотипа 2a. Белок NS4B также ингибирует TLR3-опосредованный dsРНК-сигнал, вызывая деградацию адапторного белка TRIF с участием каспазы-8 [50]. ВГС-инфекция и NS4B вызывают ER-стресс, сопровождающийся продукцией активных форм кислорода (ROS) и изменением Ca²⁺-обмена. ER-стресс с участием киназы PTK (protein-tyrosine kinase) приводит к активации фактора NF κ B и повышению клеточной выживаемости [51].

Белок NS5A представлен в клетках фосфопротеинами p56 и p58, соотношение между которыми важно для репликации вируса и регуляции иммунного ответа. NS5A белок обладает РНК-связывающей активностью. NS5A включается в мембрану ER, где взаимодействует с G/U-богатыми участками РНК ВГС и экранирует РНК от узнавания хеликазами RIG-I и MDA-5 [52]. В составе NS5A имеется регион ISDR (IFN sensitivity determining region), мутации в котором влияют на уровень репликации вирусной РНК и эффективность ИФН-терапии [53]. ISDR NS5A взаимодействует с TLR-адаптором MyD88 и ингибирует присоединение к адаптору киназы IRAK1. В результате подавляются активация транскрипционных факторов NF κ B и IRF3, продукция ИФН и цитокинов [54]. Предполагают, что NS5A нарушает ядерную транслокацию фактора транскрипции IRF7 и его взаимодействие с промотором гена ИФН- β [55]. Белок NS5A

локализован в цитоплазме, но имеет сигнал ядерной транслокации PPRKKRTVV и может влиять на перенос в ядро других белков. Взаимодействуя со STAT1, NS5A нарушает его фосфорилирование и ядерную транслокацию и подавляет JAK/STAT-сигналы действия ИФН типа 1 [56]. NS5A также взаимодействует с ядерным цитоплазматическим шапероном NAP1L1 (nucleosome assembly protein 1-like 1), регулятором иммунного ответа на уровне транскрипции [57]. Протеасомная деградация NAP1L1 нарушает его ядерную транслокацию и транскрипцию генов сигнальных рецепторов RIG-I и TLR3.

Мишенями действия белка NS5A также являются ИФН-стимулируемые противовирусные белки – ферменты PKR, 2'-5'-олигоденилатсинтетазы (OAS) и рибонуклеаза L (RNase L) [7, 58]. Мутации вирусной резистентности к противовирусным ферментам и АВП прямого действия (ингибиторы вирусной репликации) ассоциированы с белком NS5A. Взаимодействие с регионом ISDR NS5A тормозит деградацию вирусной РНК и увеличивает её трансляцию. ИФН-резистентные штаммы ВГС генотипов 1a и 1b имеют в геноме меньше сайтов узнавания RNase L, чем ИФН-чувствительные штаммы генотипов 2 и 3. Кроме того, экспрессия NS5A белка увеличивает продукцию воспалительного цитокина IL-8, который ослабляет противовирусное действие ИФН. У пациентов с хроническим гепатитом, чувствительных и не чувствительных к ИФН, повышен уровень сывороточного IL-8 [59]. В клеточной культуре IL-8-позитивные клетки ассоциированы с хронической ВГС-инфекцией. NS5A блокирует TNF-индуцированный апоптоз и активацию каспазы 3, разрушающую poly(ADP-ribose) [60]. Стабильная экспрессия NS5A в клеточной линии гепатомы Huh7 снижает чувствительность к TNF- α и нарушает индукцию каспаз-3, -8 и -9.

Core-белок формирует капсид вириона и как основной антиген широко используется в диагностике ВГС-инфекции. У трансгенной мыши сверхэкспрессия Core-белка приводит к злокачественной трансформации клеток и гепатоцеллюлярной карциноме. С участием TLR2-сигналов Core-белок ингибирует поляризацию макрофагов M1 и M2 [61]. Core-белок по-разному действует на фактор NF κ B и регулируемые им воспалительные процессы. Core снижает продукцию ИФН лимфоцитами крови, индуцированную TLR9 лигандом CpG, но усиливает синтез TNF- α , IL-10 и гибель плазмацитоидных Дк [62]. Белок Core интерферирует с ИФН-индуцируемыми Jak/STAT-сигналами [63]. Нарушения STAT-активности наблюдаются у трансгенной мыши с ВГС и в клетках печени инфицированных пациентов. Core-белок, связываясь со STAT1, подавляет образование комплекса ISGF3 и синтез противовирусных генов. Core-белок также снижает экспрессию фактора IRF7 и продукцию ИФН, но не затрагивает синтез факторов IRF1 и -561, участвующих в иммунной защите [64]. Core-белок стимулирует активность супрессора цитокиновых сигналов SOCS3, негативного регулятора киназы JAK [65]. У инфицированных ВГС пациентов, не отвеча-

ющих на лечение рекомбинантным ИФН, экспрессия SOCS3 повышена. Core-белок играет существенную роль в воспалении, являясь специфическим агонистом белка NLRP3 комплекса инфламмосомы [66]. В макрофагах печени Core вызывает продукцию и освобождение активного IL-1 β , нарушает кальциевый обмен и индуцирует оксидативный стресс [67]. Вирус-индуцированный ER-стресс повышает экспрессию фосфатазы PP2A (protein phosphatase 2A), ингибирующей активность STAT1. Подавление аргининметилтрансферазы PRMT1 способствует ассоциации STAT1 с белковым ингибитором PIAS1 (protein inhibitor of activated STAT1). Кроме того, Core-белок нарушает сигнальный путь инсулина, и этим объясняется инсулинорезистентность пациентов с хронической ВГС-инфекцией [68].

Е2 гликопротеин оболочки участвует в проникновении и взаимодействии вируса с клеточными рецепторами CD81, SR-B1 (scavenger рецептор) и VLDLR (рецептор липопротеина низкой плотности) [69]. Е2 имеет регион PePHD (PKR/eIF-2 α phosphorylation homology domain), который подавляет антивирусные эффекты PKR. Такая молекулярная мимикрия и наличие в PePHD мотива RGQQ указывают на вирусную резистентность к ИФН [70]. Е2 также ингибирует PKR-связанную киназу PERK, предотвращая её взаимодействие с eIF2 α .

Мембранный белок p7 (виropирин) действует как ионный канал при вирусной продукции и нарушает иммунный ответ [71]. Взаимодействие белка p7 с ИФН-стимулированным белком IFI16-16 снижает мембранный потенциал и ингибирует его функцию. В макрофагах виropирин активирует комплекс инфламмосомы NLRP3 и каспазы-1, участвующий в созревании и секреции провоспалительных цитокинов IL-1b и IL-18.

Заключение

Врождённый иммунитет имеет решающее значение для восприимчивости к вирусной инфекции и последующего её развития. Вирусная стратегия нарушения регуляции сигнальных реакций врождённого иммунитета приводит к хронизации инфекционного процесса и развитию состояния иммунной толерантности. ВГС вызывает иммунную дисрегуляцию для вирусной персистенции, используя эволюционные особенности структуры вирусных РНК и белков и механизмы их взаимодействия с клеточными факторами. Имунокомпетентные клетки печени (Дк и макрофаги) участвуют в регуляции вызванного ВГС врождённого иммунного ответа, но детальные механизмы их взаимодействия пока не совсем ясны. Внутриклеточные сенсоры вирусных структур RIG-I/MDA5, TLR3/7 и PKR, необходимые для распознавания РНК ВГС, имеют перекрёстные взаимосвязи и регулируются ИФН. В дальнейшем ещё предстоит выяснить, как это происходит при вирусной инфекции и можно ли устранить ингибирующее действие неструктурных и структурных белков ВГС, сочетая применение АВП прямого действия с агонистами сигнальных реакций врождённого иммунитета. Возможно, это позволит

не только подавить репликацию вируса, но и преодолеть состояние иммунной клеточной толерантности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Tsukiyama-Kohara K., Kohara M. Hepatitis C virus: viral quasi-species and genotypes. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 19(1): 23. <https://doi.org/10.3390/ijms19010023>
2. Borgia S.M., Hedskog C., Parhy B., Hyland R.H., Stamm L.M., Brainard D.M., et al. Identification of a novel hepatitis C virus genotype from Punjab, India: expanding classification of hepatitis C Virus into 8 genotypes. *J. Infect. Dis.* 2018; 218(11): 1722–9. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy401>
3. ВОЗ. Гепатит С. Available at: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c>
4. Duncan J.D., Urbanowicz R.A., Tarr A.W., Ball J.K. Hepatitis C virus vaccine: challenges and prospects. *Vaccines (Basel)*. 2020; 8(1): 90. <https://doi.org/10.3390/vaccines8010090>
5. Ferreira A.R., Ramos B., Nunes A., Ribeiro D. Hepatitis C virus: evading the intracellular innate immunity. *J. Clin. Med.* 2020; 9(3): 790. <https://doi.org/10.3390/jcm9030790>
6. Chigbu D.I., Loonawat R., Sehgal M., Patel D., Jain P. Hepatitis C virus infection: host-virus interaction and mechanisms of viral persistence. *Cells*. 2019; 8(4): 376. <https://doi.org/10.3390/cells8040376>
7. Wong M.T., Chen S.S.L. Emerging roles of interferon-stimulated genes in the innate immune response to hepatitis C virus infection. *Cell. Mol. Immunol.* 2016; 13(1): 11–35. <https://doi.org/10.1038/cmi.2014.127>
8. Xu Y., Zhong J. Innate immunity against hepatitis C virus. *Curr. Opin. Immunol.* 2016; 42: 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2016.06.009>
9. Chen S., Wu Z., Wang M., Cheng A. Innate immune evasion mediated by flaviviridae non-structural proteins. *Viruses*. 2017; 9(10): 291. <https://doi.org/10.3390/v9100291>
10. Spengler U. Direct antiviral agents (DAAs) – A new age in the treatment of hepatitis C virus infection. *Pharmacol. Ther.* 2018; 183: 118–26. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.10.009>
11. Sung P.S., Shin E.C. Interferon response in hepatitis C virus-infected hepatocytes: issues to consider in the era of direct-acting antivirals. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(7): 2583. <https://doi.org/10.3390/ijms21072583>
12. Ning G., Li Y.T., Chen Y.M., Zhang Y., Zeng Y.F., Lin C.S. Dynamic changes of the frequency of classic and inflammatory monocytes subsets and natural killer cells in chronic hepatitis C patients treated by direct-acting antiviral agents. *Can. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2017; 36:12403. <https://doi.org/10.1155/2017/36124030>
13. Черных Е.Р., Олейник Е.А., Леплина О.Ю., Старостина Н.М., Останин А.А. Дендритные клетки в патогенезе вирусного гепатита С. *Инфекция и иммунитет*. 2019; 9(2): 239–52. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2019-2-239-252>
14. Ramirez S., Bukh J. Current status and future development of infectious cell-culture models for the major genotypes of hepatitis C virus: Essential tools in testing of antivirals and emerging vaccine strategies. *Antiviral Res.* 2018; 158: 264–87. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2018.07.014>
15. Masalova O.V., Lesnova E.I., Solyev P.N., Zakirova N.F., Prassolov V.S., Kochetkov S.N., et al. Modulation of cell death pathways by hepatitis C virus proteins in Huh7.5 hepatoma cells. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18: 2346. <https://doi.org/10.3390/ijms18112346>
16. Brubaker S.W., Bonham K.S., Zanoni I., Kagan J.C. Innate immune pattern recognition: a cell biological perspective. *Annu. Rev. Immunol.* 2015; 33: 257–90. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032414-112240>
17. Соколова Т.М. Иммунное узнавание вирусных нуклеиновых кислот приводит к индукции интерферонов (ИФН) и воспалительных цитокинов. В кн.: Ершов Ф.И., Наровлянский А.Н., ред. *Сборник научных трудов «Интерферон–2011»*. М.; 2012: 52–62.
18. Yang D.R., Zhu H.Z. Hepatitis C Virus and antiviral innate immunity: who wins at tug-of-war? *World. J. Gastroenterol.* 2015; 21(13): 3786–800. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i13.3786>
19. Arnaud N., Dabo S., Maillard P., Budkowska A., Kallimpakou K.I., Mavromara P., et al. Hepatitis C virus controls interferon production through PKR activation. *PLoS One*. 2010; 5(5): e10575. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010575>

20. Brisse M., Ly H. Comparative structure and function analysis of the RIG-I-like receptors: RIG-I and MDA5. *Front. Immunol.* 2019; 10: 1586. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01586>
21. Hei L., Zhong J. Laboratory of Genetics and Physiology 2 (LGP2) plays an essential role in hepatitis C virus infection-induced interferon responses. *Hepatology.* 2017; 65(5): 1478–91. <https://doi.org/10.1002/hep.29050>
22. Bender S., Reuter A., Eberle F., Einhorn E., Binder M., Bartschlag R. Activation of type I and III interferon response by mitochondrial and peroxisomal MAVS and inhibition by hepatitis C virus. *PLoS Pathog.* 2015; 11(11): e1005264. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005264>
23. Ran Y., Shu H.B., Wang Y.Y. MIRA/STING: a central and multifaceted mediator in innate immune response. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2014; 25(6): 631–9. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2014.05.003>
24. Ding Q., Cao X., Lu J., Huang B., Liu Y.J., Kato N., et al. Hepatitis C virus NS4B blocks the interaction of STING and TBK1 to evade host innate immunity. *J. Hepatol.* 2013; 59(1): 52–8. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.03.019>
25. Ashfaq U.A., Iqbal M.S., Khaliq S. Role of toll-like receptors in hepatitis C virus pathogenesis and treatment. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.* 2016; 26(4): 353–62. <https://doi.org/10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2016017455>
26. Zhang Z., Ohto U., Shimizu T. Toward a structural understanding of nucleic acid-sensing Toll-like receptors in the innate immune system. *FEBS Letters.* 2017; 591: 3167–81. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.12749>
27. Grünvogel O., Colasanti O., Lee J.Y., Klöss V., Belouzard S., Reustle A., et al. Secretion of hepatitis C virus replication intermediates reduces activation of toll-like receptor 3 in hepatocytes. *Gastroenterology.* 2018; 154 (8): 2237–51.e16. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.03.020>
28. Dreux M., Garaigorta U., Boyd B., Decembre E., Chung J., Whitten-Bauer C., et al. Short-range exosomal transfer of viral RNA from infected cells to plasmacytoid dendritic cells triggers innate immunity. *Cell. Host Microbe.* 2012; 12(4): 558–70. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2012.08.010>
29. Szabo A., Rajnavolgyi E. Collaboration of Toll-like and RIG-I-like receptors in human dendritic cells: tRIGgering antiviral innate immune responses. *Am. J. Clin. Exp. Immunol.* 2013; 2(3): 195–207.
30. Bruening J., Weigel B., Gerold G.J. The role of type iii interferons in hepatitis C virus infection and therapy. *Immunol. Res.* 2017; 7232361. <https://doi.org/10.1155/2017/7232361>
31. Wang W., Xu L., Su J., Peppelenbosch M.P., Pan Q. Transcriptional regulation of antiviral interferon-stimulated genes. *Trends Microbiol.* 2017; 25(7): 573–84. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.01.001>
32. Li Y., Yamane D., Masaki T., Lemon S.M. The yin and yang of hepatitis C: synthesis and decay of HCV RNA. *Nat. Rev. Microbiol.* 2015; 13(9): 544–58. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3506>
33. Amador-Cañizares Y., Bernier A., Wilson J.A., Sagan S.M. MiR-122 does not impact recognition of the HCV genome by innate sensors of RNA but rather protects the 5' end from the cellular pyrophosphatases, DOM3Z and DUSP11. *Nucleic Acids Res.* 2018; 46(10): 5139–58. <https://doi.org/10.1093/nar/gky273>
34. Schnell G., Loo Y.M., Marcotrigiano J., Gale M. Uridine composition of the poly-U/UC tract of HCV RNA defines non-self recognition by RIGI. *PLoS Pathog.* 2012; 8(8): e1002839. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002839>
35. Dabo S., Meurs E.F. dsRNA-dependent protein kinase PKR and its role in stress, signaling and HCV infection. *Viruses.* 2012; 4(11): 2598–635. <https://doi.org/10.3390/v4112598>
36. Toroney R., Nallagatla S.R., Boyer J.A., Cameron C.E., Bevilacqua P.C. Regulation of PKR by HCV IRES RNA: Importance of domain II and NS5A. *J. Mol. Biol.* 2010; 400(3): 393–412. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2010.04.059>
37. Imran M., Waheed Y., Manzoor S., Bilal M., Ashraf W., Ali M., et al. Interaction of hepatitis C virus proteins with pattern recognition receptors. *Viol. J.* 2012; 9: 126. <https://doi.org/10.1186/1743-422x-9-126>
38. Chung H., Watanabe T., Kudo M., Chiba T. Hepatitis C virus core protein induces homotolerance and cross-tolerance to toll-like receptor ligands by activation of toll-like receptor 2. *J. Infect. Dis.* 2010; 202(6): 853–61. <https://doi.org/10.1086/655812>
39. Kaukinen P., Sillanpää M., Nousiainen L., Melen K., Julkunen I. Hepatitis C virus NS2 protease inhibits host cell antiviral response by inhibiting IKKepsilon and TBK1 functions. *J. Med. Virol.* 2013; 85(1): 71–82. <https://doi.org/10.1002/jmv.23442>
40. Zhou H., Qian Qi., Shu T., Xu J., Kong J., Mu J., et al. Hepatitis C virus NS2 protein suppresses RNA interference in cells. *Viol. Sin.* 2019; 35(4): 1–9. <https://doi.org/10.1007/s12250-019-00182-5>
41. Yan Y., He Y., Boson B., Wang X., Cosset F. L., Zhong J.A. Point mutation in the N-terminal amphipathic helix $\alpha(0)$ in NS3 promotes hepatitis virus assembly by altering core localization to the endoplasmic reticulum and facilitating virus budding. *J. Virol.* 2017; 91(6): e02399–16. <https://doi.org/10.1128/JVI.02399-16>
42. Ferreon J.C., Ferreon C.M., Li K., Lemon S.M. Molecular determinants of TRIF proteolysis mediated by the hepatitis C virus NS3/4A protease. *J. Biol. Chem.* 2005; 280(21): 20483–92. <https://doi.org/10.1074/jbc.M500422200>
43. Ferreira A.R., Magalhães A.C., Camões F., Gouveia A., Vieira M., Kagan J.C., et al. Hepatitis C virus NS3–4A inhibits the peroxisomal MAVS-dependent antiviral signaling response. *J. Cell Mol. Med.* 2016; 20(4): 750–7. <https://doi.org/10.1111/jcmm.12801>
44. Vazquez C., Tan C.Y., Horner S.M. Hepatitis C virus infection is inhibited by a non-canonical antiviral signaling pathway targeted by NS3-NS4A. *J. Virol.* 2019; 93(23) e00725-19. <https://doi.org/10.1128/JVI.00725-19>
45. Chen Y., He L., Peng Y., Shi X., Chen J., Zhong J., et al. The hepatitis C virus protein NS3 suppresses TNF-stimulated activation of NF- κ B by targeting LUBAC. *Sci. Signal.* 2015; 8(403): ra118. DOI: <https://doi.org/10.1126/scisignal.aab2159>
46. Nitta S., Sakamoto N., Nakagawa M., Kakinuma S., Mishima K., Kusano-Kitazume A., et al. Hepatitis C virus NS4B protein targets STING and abrogates RIG-I-mediated type I interferon-dependent innate immunity. *Hepatology.* 2013; 57(1): 46–58. <https://doi.org/10.1002/hep.26017>
47. Ding Q., Cao X., Lu J., Huang B., Liu Y.J., Kato N., et al. Hepatitis C virus NS4B blocks the interaction of STING and TBK1 to evade host innate immunity. *J. Hepatol.* 2013; 59(1): 52–8. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.03.019>
48. Yi G., Wen Y., Shu C., Han Q., Konan K.V., Li P., et al. The hepatitis C virus NS4B Can suppress STING accumulation to evade innate immune responses. *J. Virol.* 2015; 90(1): 254–65. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.01720-15>
49. Horner S.M., Liu H.M., Park H.S., Briley J., Gale M. Mitochondrial-associated endoplasmic reticulum membranes (MAM) form innate immune synapses and are targeted by hepatitis C virus. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2011; 108(35): 14590–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.1110133108>
50. Liang Y., Cao X., Ding Q., Zhao Y., He Z., Zhong J. Hepatitis C virus NS4B induces the degradation of TRIF to inhibit TLR3-mediated interferon signaling pathway. *PLoS Pathog.* 2018; 14(5): e1007075. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007075>
51. Kong L., Li S., Huang M., Xiong Y., Zhang Q., Ye L., et al. The roles of endoplasmic reticulum overload response induced by HCV and NS4B protein in human hepatocyte viability and virus replication. *PLoS One.* 2015; 10(4): e0123190. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123190>
52. Hiet M.S., Bauhofer O., Zayas M., Roth H., Tanaka Y., Schirmacher P., et al. Control of temporal activation of hepatitis C virus-induced interferon response by domain 2 of nonstructural protein 5A. *J. Hepatol.* 2015; 63(4): 829–37. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.04.015>
53. Sugiyama R., Murayama A., Nitta S., Yamada N., Tasaka-Fujita M., Masaki T., et al. Interferon sensitivity-determining region of hepatitis C virus influences virus production and interferon signaling. *Oncotarget.* 2018; 9(5): 5627–40. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23562>
54. Abe T., Kaname Y., Hamamoto I., Tsuda Y., Wen X., Taguwa S., et al. Hepatitis C virus nonstructural protein 5A modulates the Toll-like receptor-MyD88-dependent signaling pathway in macrophage cell lines. *J. Virol.* 2007; 81(17): 8953–66. <https://doi.org/10.1128/JVI.00649-07>
55. Chowdhury J.B., Kim H., Ray R., Ray R.B. Hepatitis C virus NS5A protein modulates IRF-7-mediated interferon- β signaling. *J. Interferon Cytokine Res.* 2014; 34(1): 16–21. <https://doi.org/10.1089/jir.2013.0038>
56. Kumthip K., Chusri P., Jilg N., Zhao L., Fusco D.N., Zhao H., et al. Hepatitis C virus NS5A disrupts STAT1 phosphorylation and sup-

- presses type I interferon signaling. *J. Virol.* 2012; 86(16): 8581–91. <https://doi.org/10.1128/JVI.00533-12>
57. Çevik R.E., Cesarec M., Da A., Filipe S., Licastro D., Mclauchlan J., et al. Hepatitis C virus NS5A targets nucleosome assembly protein NAP1L1 to control the innate cellular response. *J. Virol.* 2017; 91(18): e00880–17. <https://doi.org/10.1128/JVI.00880-17>
 58. Nitta S., Asahina Y., Matsuda M., Yamada N., Sugiyama R., Masaki T., et al. Effects of resistance-associated NS5A mutations in hepatitis C virus on viral production and susceptibility to antiviral reagents. *Sci. Rep.* 2016; 6: 34652. <https://doi.org/10.1038/srep34652>
 59. Polyak S.J., Khabar K.S., Rezeiq M., Gretch D.R. Elevated levels of interleukin-8 in serum are associated with hepatitis C virus infection and resistance to interferon therapy. *J. Virol.* 2001; 75(13): 6209–11. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.13.6209-6211.2001>
 60. Miyasaka Y., Enomoto N., Kurosaki M., Sakamoto N., Kanazawa N., Kohashi T., et al. Hepatitis C virus nonstructural protein 5A inhibits tumor necrosis factor- α -mediated apoptosis in Huh7 cells. *J. Infect. Dis.* 2003; 188(10): 1537–44. <https://doi.org/10.1086/379253>
 61. Zhang Q., Wang Y., Zhai N., Song H., Li H., Yang Y., et al. HCV core protein inhibits polarization and activity of both M1 and M2 macrophages through the TLR2 signaling pathway. *Sci. Rep.* 2016; 6: 36160. <https://doi.org/10.1038/srep36160>
 62. Dolganiuc A., Chang S., Kodys K., Mandrekar P., Bakis G., Cormier M., et al. Hepatitis C virus (HCV) core protein-induced, monocyte-mediated mechanisms of reduced IFN- α and plasmacytoid dendritic cell loss in chronic HCV infection. *J. Immunol.* 2006; 177(10): 6758–68. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.10.6758>
 63. Luquin E., Larrea E., Civeira M.P., Prieto J., Aldabe R. HCV structural proteins interfere with interferon- α Jak/STAT signalling pathway. *Antiviral Res.* 2007; 76(2): 194–7. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2007.06.004>
 64. Stone A.E.L., Mitchell A., Brownell J., Miklin D.J., Golden-Mason L., Polyak S.J., et al. Hepatitis C virus core protein inhibits interferon production by a human plasmacytoid dendritic cell line and dysregulates interferon regulatory factor-7 and Signal Transducer and Activator of Transcription (STAT) 1 protein expression. *PLoS One.* 2014; 9(5): e95627. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095627>
 65. Bode J.G., Ludwig S., Ehrhardt C., Albrecht U., Erhardt A., Schaper F., et al. IFN- α antagonistic activity of HCV core protein involves induction of suppressor of cytokine signaling-3. *FASEB J.* 2003; 17(3): 488–90. <https://doi.org/10.1096/fj.02-0664fje>
 66. Negash A.A., Olson R.M., Griffin S., Gale M. Modulation of calcium signaling pathway by hepatitis C virus core protein stimulates NLRP3 inflammasome activation. *PLoS Pathog.* 2019; 15(2): e1007593. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007593>
 67. Ivanov A.V., Smirnova O.A., Petrushanko I.Yu., Ivanova O.N., Karpenko I.L., Alekseeva E., et al. HCV core protein uses multiple mechanisms to induce oxidative stress in human hepatoma Huh7 cells. *Viruses.* 2015; 7(6): 2745–70. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007593>
 68. Parvaiz F., Manzoor S., Tariq H., Javed F., Fatima K., Qadri I. Hepatitis C virus infection: molecular pathways to insulin resistance. *Virol. J.* 2011; 8: 474. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-8-474>
 69. Cao L., Yu B., Kong D., Cong Q., Yu T., Chen Z., et al. Functional expression and characterization of the envelope glycoprotein E1E2 heterodimer of hepatitis C virus. *PLoS Pathog.* 2019; 15(5): e1007759. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007759>
 70. Bolcic F., Sede M., Moretti F., Westergaard G., Vazquez M., Laufer N., et al. Analysis of the PKR- ϵ 2 α phosphorylation homology domain (PePHD) of hepatitis C virus genotype 1 in HIV-coinfected patients by ultra-deep pyrosequencing and its relationship to responses to pegylated interferon-ribavirin treatment. *Arch. Virol.* 2012; 157(4): 703–11. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1230-1>
 71. Qi H., Chu V., Wu N.C., Chen Z., Truong S., Brar G., et al. Systematic identification of anti-interferon function on hepatitis C virus genome reveals p7 as an immune evasion protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2017; 114(8): 2018–23. <https://doi.org/10.1073/pnas.1614623114>
 2. Borgia S.M., Hedskog C., Parhy B., Hyland R.H., Stamm L.M., Brainard D.M., et al. Identification of a novel hepatitis C virus genotype from Punjab, India: expanding classification of hepatitis C Virus into 8 genotypes. *J. Infect. Dis.* 2018; 218(11): 1722–9. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy401>
 3. WHO. Hepatitis C. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c>
 4. Duncan J.D., Urbanowicz R.A., Tarr A.W., Ball J.K. Hepatitis C virus vaccine: challenges and prospects. *Vaccines (Basel).* 2020; 8(1): 90. <https://doi.org/10.3390/vaccines8010090>
 5. Ferreira A.R., Ramos B., Nunes A., Ribeiro D. Hepatitis C virus: evading the intracellular innate immunity. *J. Clin. Med.* 2020; 9(3): 790. <https://doi.org/10.3390/jcm9030790>
 6. Chigbu D.I., Loonawat R., Sehgal M., Patel D., Jain P. Hepatitis C virus infection: host-virus interaction and mechanisms of viral persistence. *Cells.* 2019; 8(4): 376. <https://doi.org/10.3390/cells8040376>
 7. Wong M.T., Chen S.S.L. Emerging roles of interferon-stimulated genes in the innate immune response to hepatitis C virus infection. *Cell. Mol. Immunol.* 2016; 13(1): 11–35. <https://doi.org/10.1038/cmi.2014.127>
 8. Xu Y., Zhong J. Innate immunity against hepatitis C virus. *Curr. Opin. Immunol.* 2016; 42: 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2016.06.009>
 9. Chen S., Wu Z., Wang M., Cheng A. Innate immune evasion mediated by flaviviridae non-structural proteins. *Viruses.* 2017; 9(10): 291. <https://doi.org/10.3390/v9100291>
 10. Spengler U. Direct antiviral agents (DAAs) – A new age in the treatment of hepatitis C virus infection. *Pharmacol. Ther.* 2018; 183: 118–26. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.10.009>
 11. Sung P.S., Shin E.C. Interferon response in hepatitis C virus-infected hepatocytes: issues to consider in the era of direct-acting antivirals. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(7): 2583. <https://doi.org/10.3390/ijms21072583>
 12. Ning G., Li Y.T., Chen Y.M., Zhang Y., Zeng Y.F., Lin C.S. Dynamic changes of the frequency of classic and inflammatory monocytes subsets and natural killer cells in chronic hepatitis C patients treated by direct-acting antiviral agents. *Can. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2017; 36:12403. <https://doi.org/10.1155/2017/36124030>
 13. Chernykh E.R., Oleynik E.A., Leplina O.Yu., Starostina N.M., Ostanin A.A. Dendritic cells in the pathogenesis of viral hepatitis C. *Infektsiya i immunitet.* 2019; 9(2): 239–52. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2019-2-239-252> (in Russian)
 14. Ramirez S., Bukh J. Current status and future development of infectious cell-culture models for the major genotypes of hepatitis C virus: Essential tools in testing of antivirals and emerging vaccine strategies. *Antiviral Res.* 2018; 158: 264–87. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2018.07.014>
 15. Masalova O.V., Lesnova E.I., Solyev P.N., Zakirova N.F., Prassolov V.S., Kochetkov S.N., et al. Modulation of cell death pathways by hepatitis C virus proteins in Huh7.5 hepatoma cells. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18: 2346. <https://doi.org/10.3390/ijms18112346>
 16. Brubaker S.W., Bonham K.S., Zanon I., Kagan J.C. Innate immune pattern recognition: a cell biological perspective. *Annu. Rev. Immunol.* 2015; 33: 257–90. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032414-112240>
 17. Sokolova T.M. Immune recognition of viral nucleic acids leads to the induction of interferons and inflammatory cytokines. In: Ershov F.I., Narovlyanskiy A.N., eds. *Collection of Proceedings «Interferon-2011» [Sbornik nauchnykh trudov «Interferon-2011»]*. Moscow; 2012: 52–62. (in Russian)
 18. Yang D.R., Zhu H.Z. Hepatitis C Virus and antiviral innate immunity: who wins at tug-of-war? *World. J. Gastroenterol.* 2015; 21(13): 3786–800. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i13.3786>
 19. Arnaud N., Dabo S., Maillard P., Budkowska A., Kalliampakou K.I., Mavromara P., et al. Hepatitis C virus controls interferon production through PKR activation. *PLoS One.* 2010; 5(5): e10575. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010575>
 20. Brisse M., Ly H. Comparative structure and function analysis of the RIG-I-like receptors: RIG-I and MDA5. *Front. Immunol.* 2019; 10: 1586. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01586>
 21. Hei L., Zhong J. Laboratory of Genetics and Physiology 2 (LGP2) plays an essential role in hepatitis C virus infection-induced interferon responses. *Hepatology.* 2017; 65(5): 1478–91. <https://doi.org/10.1002/hep.29050>
 22. Bender S., Reuter A., Eberle F., Einhorn E., Binder M., Bartschlag R. Activation of type I and III interferon response by

REFERENCES

1. Tsukiyama-Kohara K., Kohara M. Hepatitis C virus: viral quasi-species and genotypes. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 19(1): 23. <https://doi.org/10.3390/ijms19010023>

- mitochondrial and peroxisomal MAVS and inhibition by hepatitis C virus. *PLoS Pathog.* 2015; 11(11): e1005264. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005264>
23. Ran Y., Shu H.B., Wang Y.Y. MITA/STING: a central and multifaceted mediator in innate immune response. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2014; 25(6): 631–9. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2014.05.003>
 24. Ding Q., Cao X., Lu J., Huang B., Liu Y.J., Kato N., et al. Hepatitis C virus NS4B blocks the interaction of STING and TBK1 to evade host innate immunity. *J. Hepatol.* 2013; 59(1): 52–8. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.03.019>
 25. Ashfaq U.A., Iqbal M.S., Khaliq S. Role of toll-like receptors in hepatitis C virus pathogenesis and treatment. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.* 2016; 26(4): 353–62. <https://doi.org/10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2016017455>
 26. Zhang Z., Ohto U., Shimizu T. Toward a structural understanding of nucleic acid-sensing Toll-like receptors in the innate immune system. *FEBS Letters.* 2017; 591: 3167–81. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.12749>
 27. Grünvogel O., Colasanti O., Lee J.Y., Klöss V., Belouzard S., Reustle A., et al. Secretion of hepatitis C virus replication intermediates reduces activation of toll-like receptor 3 in hepatocytes. *Gastroenterology.* 2018; 154 (8): 2237–51.e16. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.03.020>
 28. Dreux M., Garaigorta U., Boyd B., Decembre E., Chung J., Whitten-Bauer C., et al. Short-range exosomal transfer of viral RNA from infected cells to plasmacytoid dendritic cells triggers innate immunity. *Cell. Host Microbe.* 2012; 12(4): 558–70. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2012.08.010>
 29. Szabo A., Rajnavolgyi E. Collaboration of Toll-like and RIG-I-like receptors in human dendritic cells: tRIGgering antiviral innate immune responses. *Am. J. Clin. Exp. Immunol.* 2013; 2(3): 195–207.
 30. Bruening J., Weigel B., Gerold G.J. The role of type iii interferons in hepatitis C virus infection and therapy. *Immunol. Res.* 2017; 7232361. <https://doi.org/10.1155/2017/7232361>
 31. Wang W., Xu L., Su J., Peppelenbosch M.P., Pan Q. Transcriptional regulation of antiviral interferon-stimulated genes. *Trends Microbiol.* 2017; 25(7): 573–84. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.01.001>
 32. Li Y., Yamane D., Masaki T., Lemon S.M. The yin and yang of hepatitis C: synthesis and decay of HCV RNA. *Nat. Rev. Microbiol.* 2015; 13(9): 544–58. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3506>
 33. Amador-Cañizares Y., Bernier A., Wilson J.A., Sagan S.M. miR-122 does not impact recognition of the HCV genome by innate sensors of RNA but rather protects the 5' end from the cellular pyrophosphatases, DOM3Z and DUSP11. *Nucleic Acids Res.* 2018; 46(10): 5139–58. <https://doi.org/10.1093/nar/gky273>
 34. Schnell G., Loo Y.M., Marcotrigiano J., Gale M. Uridine composition of the poly-U/UC tract of HCV RNA defines non-self recognition by RIGI. *PLoS Pathog.* 2012; 8(8): e1002839. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002839>
 35. Dabo S., Meurs E.F. dsRNA-dependent protein kinase PKR and its role in stress, signaling and HCV infection. *Viruses.* 2012; 4(11): 2598–635. <https://doi.org/10.3390/v4112598>
 36. Toroney R., Nallagatla S.R., Boyer J.A., Cameron C.E., Bevilacqua P.C. Regulation of PKR by HCV IRES RNA: Importance of domain II and NS5A. *J. Mol. Biol.* 2010; 400(3): 393–412. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2010.04.059>
 37. Imran M., Waheed Y., Manzoor S., Bilal M., Ashraf W., Ali M., et al. Interaction of hepatitis C virus proteins with pattern recognition receptors. *Virol. J.* 2012; 9: 126. <https://doi.org/10.1186/1743-422x-9-126>
 38. Chung H., Watanabe T., Kudo M., Chiba T. Hepatitis C virus core protein induces homotolerance and cross-tolerance to toll-like receptor ligands by activation of toll-like receptor 2. *J. Infect. Dis.* 2010; 202(6): 853–61. <https://doi.org/10.1086/655812>
 39. Kaukinen P., Sillanpää M., Nousiainen L., Melen K., Julkunen I. Hepatitis C virus NS2 protease inhibits host cell antiviral response by inhibiting IKKepsilon and TBK1 functions. *J. Med. Virol.* 2013; 85(1): 71–82. <https://doi.org/10.1002/jmv.23442>
 40. Zhou H., Qian Qi., Shu T., Xu J., Kong J., Mu J., et al. Hepatitis C virus NS2 protein suppresses RNA interference in cells. *Virol. Sin.* 2019; 35(4): 1–9. <https://doi.org/10.1007/s12250-019-00182-5>
 41. Yan Y., He Y., Boson B., Wang X., Cosset F. L., Zhong J.A. Point mutation in the N-terminal amphipathic helix $\alpha(0)$ in NS3 promotes hepatitis virus assembly by altering core localization to the endoplasmic reticulum and facilitating virus budding. *J. Virol.* 2017; 91(6): e02399–16. <https://doi.org/10.1128/JVI.02399-16>
 42. Ferreon J.C., Ferreon C.M., Li K., Lemon S.M. Molecular determinants of TRIF proteolysis mediated by the hepatitis C virus NS3/4A protease. *J. Biol. Chem.* 2005; 280(21): 20483–92. <https://doi.org/10.1074/jbc.M500422200>
 43. Ferreira A.R., Magalhães A.C., Camões F., Gouveia A., Vieira M., Kagan J.C., et al. Hepatitis C virus NS3–4A inhibits the peroxisomal MAVS-dependent antiviral signaling response. *J. Cell Mol. Med.* 2016; 20(4): 750–7. <https://doi.org/10.1111/jemm.12801>
 44. Vazquez C., Tan C.Y., Horner S.M. Hepatitis C virus infection is inhibited by a non-canonical antiviral signaling pathway targeted by NS3-NS4A. *J. Virol.* 2019; 93(23) e00725-19. <https://doi.org/10.1128/JVI.00725-19>
 45. Chen Y., He L., Peng Y., Shi X., Chen J., Zhong J., et al. The hepatitis C virus protein NS3 suppresses TNF-stimulated activation of NF- κ B by targeting LUBAC. *Sci. Signal.* 2015; 8(403): ra118. DOI: <https://doi.org/10.1126/scisignal.aab2159>
 46. Nitta S., Sakamoto N., Nakagawa M., Kakinuma S., Mishima K., Kusano-Kitazume A., et al. Hepatitis C virus NS4B protein targets STING and abrogates RIG-I-mediated type I interferon-dependent innate immunity. *Hepatology.* 2013; 57(1): 46–58. <https://doi.org/10.1002/hep.26017>
 47. Ding Q., Cao X., Lu J., Huang B., Liu Y.J., Kato N., et al. Hepatitis C virus NS4B blocks the interaction of STING and TBK1 to evade host innate immunity. *J. Hepatol.* 2013; 59(1): 52–8. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.03.019>
 48. Yi G., Wen Y., Shu C., Han Q., Konan K.V., Li P., et al. The hepatitis C virus NS4B Can suppress STING accumulation to evade innate immune responses. *J. Virol.* 2015; 90(1): 254–65. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.01720-15>
 49. Horner S.M., Liu H.M., Park H.S., Briley J., Gale M. Mitochondrial-associated endoplasmic reticulum membranes (MAM) form innate immune synapses and are targeted by hepatitis C virus. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2011; 108(35): 14590–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.1110133108>
 50. Liang Y., Cao X., Ding Q., Zhao Y., He Z., Zhong J. Hepatitis C virus NS4B induces the degradation of TRIF to inhibit TLR3-mediated interferon signaling pathway. *PLoS Pathog.* 2018; 14(5): e1007075. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007075>
 51. Kong L., Li S., Huang M., Xiong Y., Zhang Q., Ye L., et al. The roles of endoplasmic reticulum overload response induced by HCV and NS4B protein in human hepatocyte viability and virus replication. *PLoS One.* 2015; 10(4): e0123190. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123190>
 52. Hiet M.S., Bauhofer O., Zayas M., Roth H., Tanaka Y., Schirmacher P., et al. Control of temporal activation of hepatitis C virus-induced interferon response by domain 2 of nonstructural protein 5A. *J. Hepatol.* 2015; 63(4): 829–37. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.04.015>
 53. Sugiyama R., Murayama A., Nitta S., Yamada N., Tasaka-Fujita M., Masaki T., et al. Interferon sensitivity–determining region of hepatitis C virus influences virus production and interferon signaling. *Oncotarget.* 2018; 9(5): 5627–40. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23562>
 54. Abe T., Kaname Y., Hamamoto I., Tsuda Y., Wen X., Tagawa S., et al. Hepatitis C virus nonstructural protein 5A modulates the Toll-like receptor-MyD88-dependent signaling pathway in macrophage cell lines. *J. Virol.* 2007; 81(17): 8953–66. <https://doi.org/10.1128/JVI.00649-07>
 55. Chowdhury J.B., Kim H., Ray R., Ray R.B. Hepatitis C virus NS5A protein modulates IRF-7-mediated interferon- β signaling. *J. Interferon Cytokine Res.* 2014; 34(1): 16–21. <https://doi.org/10.1089/jir.2013.0038>
 56. Kumthip K., Chusri P., Jilg N., Zhao L., Fusco D.N., Zhao H., et al. Hepatitis C virus NS5A disrupts STAT1 phosphorylation and suppresses type I interferon signaling. *J. Virol.* 2012; 86(16): 8581–91. <https://doi.org/10.1128/JVI.00533-12>
 57. Çevik R.E., Cesarec M., Da A., Filipe S., Licastro D., Mclauchlan J., et al. Hepatitis C virus NS5A targets nucleosome assembly protein NAP1L1 to control the innate cellular response. *J. Virol.* 2017; 91(18): e00880–17. <https://doi.org/10.1128/JVI.00880-17>
 58. Nitta S., Asahina Y., Matsuda M., Yamada N., Sugiyama R., Masaki T., et al. Effects of resistance-associated NS5A mutations in hepatitis C virus on viral production and susceptibility to antiviral reagents. *Sci. Rep.* 2016; 6: 34652. <https://doi.org/10.1038/srep34652>

59. Polyak S.J., Khabar K.S., Rezeiq M., Gretch D.R. Elevated levels of interleukin-8 in serum are associated with hepatitis C virus infection and resistance to interferon therapy. *J. Virol.* 2001; 75(13): 6209–11. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.13.6209-6211.2001>
60. Miyasaka Y., Enomoto N., Kurosaki M., Sakamoto N., Kanazawa N., Kohashi T., et al. Hepatitis C virus nonstructural protein 5A inhibits tumor necrosis factor- α -mediated apoptosis in Huh7 cells. *J. Infect. Dis.* 2003; 188(10): 1537–44. <https://doi.org/10.1086/379253>
61. Zhang Q., Wang Y., Zhai N., Song H., Li H., Yang Y., et al. HCV core protein inhibits polarization and activity of both M1 and M2 macrophages through the TLR2 signaling pathway. *Sci. Rep.* 2016; 6: 36160. <https://doi.org/10.1038/srep36160>
62. Dolganiuc A., Chang S., Kodys K., Mandrekar P., Bakis G., Cormier M., et al. Hepatitis C virus (HCV) core protein-induced, monocyte-mediated mechanisms of reduced IFN- α and plasmacytoid dendritic cell loss in chronic HCV infection. *J. Immunol.* 2006; 177(10): 6758–68. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.10.6758>
63. Luquin E., Larrea E., Civeira M.P., Prieto J., Aldabe R. HCV structural proteins interfere with interferon- α Jak/STAT signalling pathway. *Antiviral Res.* 2007; 76(2): 194–7. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2007.06.004>
64. Stone A.E.L., Mitchell A., Brownell J., Miklin D.J., Golden-Mason L., Polyak S.J., et al. Hepatitis C virus core protein inhibits interferon production by a human plasmacytoid dendritic cell line and dysregulates interferon regulatory factor-7 and Signal Transducer and Activator of Transcription (STAT) 1 protein expression. *PLoS One.* 2014; 9(5): e95627. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095627>
65. Bode J.G., Ludwig S., Ehrhardt C., Albrecht U., Erhardt A., Schaper F., et al. IFN- α antagonistic activity of HCV core protein involves induction of suppressor of cytokine signaling-3. *FASEB J.* 2003; 17(3): 488–90. <https://doi.org/10.1096/fj.02-0664fje>
66. Negash A.A., Olson R.M., Griffin S., Gale M. Modulation of calcium signaling pathway by hepatitis C virus core protein stimulates NLRP3 inflammasome activation. *PLoS Pathog.* 2019; 15(2): e1007593. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007593>
67. Ivanov A.V., Smirnova O.A., Petrushanko I.Yu., Ivanova O.N., Karpenko I.L., Alekseeva E., et al. HCV core protein uses multiple mechanisms to induce oxidative stress in human hepatoma Huh7 cells. *Viruses.* 2015; 7(6): 2745–70. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007593>
68. Parvaiz F., Manzoor S., Tariq H., Javed F., Fatima K., Qadri I. Hepatitis C virus infection: molecular pathways to insulin resistance. *Virol. J.* 2011; 8: 474. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-8-474>
69. Cao L., Yu B., Kong D., Cong Q., Yu T., Chen Z., et al. Functional expression and characterization of the envelope glycoprotein E1E2 heterodimer of hepatitis C virus. *PLoS Pathog.* 2019; 15(5): e1007759. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007759>
70. Bolcic F., Sede M., Moretti F., Westergaard G., Vazquez M., Laufer N., et al. Analysis of the PKR-eIF2 α phosphorylation homology domain (PePHD) of hepatitis C virus genotype 1 in HIV-coinfected patients by ultra-deep pyrosequencing and its relationship to responses to pegylated interferon-ribavirin treatment. *Arch. Virol.* 2012; 157(4):703–11. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1230-1>
71. Qi H., Chu V., Wu N.C., Chen Z., Truong S., Brar G., et al. Systematic identification of anti-interferon function on hepatitis C virus genome reveals p7 as an immune evasion protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2017; 114(8): 2018–23. <https://doi.org/10.1073/pnas.1614623114>



Роль герпесвирусов в развитии заболеваний уrogenитального тракта и бесплодия у женщин

Куц А.А., Кистенёва Л.Б., Климова Р.Р., Чешик С.Г.

Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва, Россия

В обзоре представлены данные о распространении всех известных герпесвирусов человека (ГВ) в уrogenитальном тракте женщин. Согласно ВОЗ почти у 500 млн людей во всём мире выявлена генитальная инфекция, вызванная ГВ. Эти возбудители обнаруживаются при различных воспалительных заболеваниях в нижних и верхних отделах женского генитального тракта: при вагините, цервиците; у имеющих внематочную беременность – в фаллопиевых трубах; у страдающих бесплодием – в цервикальном канале, эндометрии, яичниках. Вирус простого герпеса 1 типа (ВПГ-1) впервые обнаружен в ооцитах женщин с неудачными попытками экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). ГВ-инфекции (ГВИ) негативно влияют на все стадии репродуктивного процесса от зачатия до рождения ребёнка. Доказано, что ВПГ и цитомегаловирус (ЦМВ), а также вирус герпеса человека 6 типа (ВГЧ-6) в период беременности значительно увеличивают риск спонтанных аборт, преждевременных родов и мертворождений. Внутриутробная ГВИ – одна из ведущих причин врождённых пороков развития.

В работе рассмотрены особенности гуморального и клеточного иммунитета при генитальных инфекциях герпесвирусной этиологии. Интравагинальное заражение ВПГ-2 вызывает изменение клеточного состава слизистой оболочки влагалища; наряду с клетками, мобилизуемыми из крови, защитную роль играют резидентные Т-клетки памяти (T_{RM}), натуральные киллеры (NK-клетки), а также регуляторные Т-клетки (Treg), функция которых – поддержание баланса активности лимфоцитов.

Продолжающееся распространение ГВИ в значительной степени объясняется переходом первичной инфекции в латентную форму с последующей возможностью реактивации, так как латентный возбудитель недоступен для иммунного распознавания и действия лечебных препаратов. В последние годы разработана новая биотехнологическая система редактирования генома CRISPR/Cas9, которая в принципе способна распознавать не только активные, но и латентные вирусы и действовать на них. Первые обнадеживающие результаты открывают возможность разработки в будущем эффективных технологий элиминации ГВ и эрадикации вызываемых ими инфекций.

Ключевые слова: герпесвирусы человека; частота встречаемости; заболевания уrogenитального тракта; бессимптомная герпесвирусная инфекция; невынашивание беременности; женское бесплодие; иммунный ответ при генитальных инфекциях.

Для цитирования: Куц А.А., Кистенёва Л.Б., Климова Р.Р., Чешик С.Г. Роль герпесвирусов в развитии заболеваний уrogenитального тракта и бесплодия у женщин. *Вопросы вирусологии.* 2020; 65(6): 317-325. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-6-2>

Для корреспонденции: Куц Алла Александровна, д-р биол. наук, профессор, руководитель лаборатории, Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва, Россия. E-mail: vitalku@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 30.09.2020
Принята в печать 12.11.2020

The role of herpesviruses in development of diseases of the urogenital tract and infertility in women

Alla A. Kushch, Lidiya B. Kisteneva, Regina R. Klimova, Svyatoslav G. Cheshik

Ivanovsky Institute of Virology of FSBI «National Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya» of the Ministry of Health of Russia, 123098, Moscow, Russia

This review presents the data on the spreading of all known human herpesviruses (HHVs) in female urogenital tract. According to the WHO almost 500 million people worldwide suffer from genital infection caused by HHVs. HHVs were detected in various inflammatory diseases of female upper and lower genital tract (vaginitis and cervicitis), in extrauterine pregnancy (in fallopian tubes), in infertility (cervical channel, endometrium and ovaries). Herpes simplex virus 1 (HSV-1) was identified for the first time in oocytes after failed *in vitro* fertilization (IVF). HHVs produce negative effect on the entire reproductive process from conception to childbirth. It was established that HSV, cytomegalovirus (CMV) and human herpesvirus 6 (HHV-6) markedly increase the risk of spontaneous

abortion, preterm birth and stillbirth. Intrauterine HHV infection is a major cause of congenital malformations. Data on humoral and cell immunity in genital herpesvirus infections (HHVI) are also reviewed. Intravaginal HSV-2 infection changes cell composition of vaginal mucosa, i.e., together with cells mobilized from the blood, protective role is performed by resident memory T-cells (T_{RM}), natural killer cells (NK-cells) and regulatory T-cells (Treg) whose function consists in maintaining the balance of the activities of lymphocytes. Constant HHVI spreading is largely explained by transition of primary infection to potentially reactivating latent form, since latent virus is unavailable to immune recognition and medicines. The genome editing system CRISPR/Cas9 can recognize and modify not only active but also latent viruses. The promising pilot results with the use of this system offer the possibility of developing innovative technologies for HHV elimination and HHVI eradication.

Key words: *human herpesvirus; frequency of infection; diseases of the urogenital tract; asymptomatic herpesvirus infection; miscarriage; female infertility; immune response in genital infections.*

For citation: Kushch A.A., Kisteneva L.B., Klimova R.R., Cheshik S.G. The role of herpesviruses in development of diseases of the urogenital tract and infertility in women. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2020; 65(6): 317-325 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-656-2>

For correspondence: Alla A. Kushch, D.Sci. (Biol.), Prof., Head of the laboratory of the ID.I. Ivanovsky Institute of Virology, FSBI «National Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya» of the Ministry of Health of Russia, 123098, Moscow, Russia.
E-mail: vitalku@mail.ru

Information about authors:

Kushch A.A., <http://orcid.org/0000-0002-3396-5533>

Kisteneva L.B., <http://orcid.org/0000-0001-7336-409X>

Klimova R.R., <http://orcid.org/0000-0002-4147-8444>

Cheshik S.G., <https://orcid.org/0000-0001-7639-7268>

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 30.09.2020

Accepted 12.11.2020

Введение

Герпесвирусы (ГВ), широко распространённые в человеческой популяции, могут вызывать у лиц со сниженным иммунитетом тяжёлые заболевания с неблагоприятным исходом. Иммуносупрессивное действие ГВ приводит к снижению сопротивляемости организма биогенным угрозам и увеличивает риски развития тяжёлой соматической патологии. Это приводит к инвалидизации и длительному снижению работоспособности, отражаясь на экономических показателях. Пожизненная персистенция этих возбудителей в организме обусловлена способностью трансформации литической формы инфекции в латентную, недоступную для иммунного распознавания. Происходящая под действием многочисленных внутренних и внешних факторов реактивация особенно опасна для беременных, новорождённых, пациентов, инфицированных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), и онкологических больных. Герпесвирусные инфекции (ГВИ) имеют важное значение в перинатальной патологии, приводя к нарушению эмбриогенеза, спонтанным абортam, плацентарной недостаточности, врождённой патологии плода и новорождённого [1, 2]. Распределение женщин репродуктивного возраста по группам в зависимости от активности ГВИ даёт ориентиры в отношении оказания им лечебной помощи: при реактивированной и персистирующей формах инфекции женщины составляют группу риска, им необходима специальная подготовка к очередной беременности. В зависимости от сроков гестации, на которых произошло инфицирование, поражения пло-

да варьируют от blasto- и эмбриопатий, часто сопровождающихся ранним прерыванием беременности, до поздних фетопатий с поражением различных органов и систем новорождённого [3].

В последнее время возрастает число данных о том, что вирусные инфекции органов мочеполовой системы занимают значительное место в структуре причин бесплодия, наблюдаемого у 15% пар репродуктивного возраста, и приблизительно в 50% случаев этиология его остаётся неизвестной. Идиопатическое бесплодие представляет серьёзную проблему, так как эмпирическое лечение в подобных случаях не приводит к успеху. Известно, что в органах репродуктивного тракта были обнаружены все известные ГВ человека [4]. Инфицирование ими половых клеток способствует вертикальной передаче вируса, может стать причиной самопроизвольного аборта или внутриутробной инфекции плода. Кроме того, присутствие этих патогенов в репродуктивном тракте повышает риск заражения другими инфекционными агентами, в том числе ВИЧ. Особую актуальность проблема вирусного инфицирования половых клеток приобрела в связи с развитием вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), эффективность которых пока недостаточно высока.

В то же время профилактические вакцины против ГВИ, за исключением ветряной оспы, отсутствуют; терапевтические препараты имеют ряд недостатков, снижающих или нивелирующих их действие. До настоящего времени не решена проблема элиминации латентных вирусов. Приоритетным направлением со-

временной науки является переход к персонализированной медицине с оценкой индивидуального состава виroma макроорганизма и дифференцированным подходом к противовирусной терапии, в том числе таргетными препаратами.

ГВ человека обнаружены в разных органах репродуктивной системы и вызывают заболевания различной степени тяжести. Согласно данным ВОЗ почти у 500 млн людей во всём мире выявлена генитальная инфекция, вызванная ГВ [5]. Так, генитальный герпес (ГГ) в настоящее время является самой распространённой инфекцией, передаваемой половым путём (ИППП).

В различных отделах урогенитального тракта мужчин и женщин обнаружены вирусы, относящиеся к разным таксономическим группам: вирусы гепатита В и С, ВИЧ, аденовирусы, вирус папилломы человека, в том числе высокого канцерогенного риска; энтеровирусы, арбовирусы семейства *Togaviridae* (в том числе вирус краснухи) и семейства *Flaviviridae* (в том числе вирус Зика), 9 типов герпесвирусов человека.

Одни из самых крупных поражающих человека вирусов, ГВ содержат ДНК-геном и потенциально способны кодировать более 20 белков, препятствующих их распознаванию и уничтожению иммунной системой. Продукция патогенного вируса при литической инфекции сопровождается разрушением заражённой клетки. При трансформации в неактивное (латентное) состояние эти возбудители пожизненно присутствуют в клетках организма. Под влиянием многочисленных факторов внешней и внутренней среды они могут реактивироваться, вызывая клинически выраженные заболевания, нередко – с тяжёлыми последствиями и летальным исходом.

Большое количество генов определяет способность ГВ хорошо адаптироваться к хозяину. При инфицировании иммунокомпетентных лиц фатальная инфекция встречается редко. С точки зрения выживания вируса она контрпродуктивна, так как не способствует его передаче и распространению в популяции. Вирусные гены должны обеспечивать оптимальный баланс между репликацией вируса и избеганием защитных реакций хозяина с тем, чтобы вирус мог персистировать в организме и сохраняться в популяции. Фатальный исход может наблюдаться при нарушении указанного баланса из-за изменения состояния макроорганизма, снижения иммунитета или при заражении гетерологичного хозяина, например при инфицировании человека герпесвирусом В обезьяны (MCHV-1) [6].

Вирусы простого герпеса в репродуктивном тракте

Распространённость генитальной инфекции, вызванной вирусами простого герпеса 1 (ВПГ-1) или 2 типа (ВПГ-2), увеличивается, и каждый год регистрируют около 21 млн новых случаев [5]. ВПГ-1 и ВПГ-2 обнаружены в разных органах репродуктивной системы и выступают этиологическим фактором заболеваний различной степени тяжести. При внутриутробной передаче ВПГ-1/2 вызывают пороки развития, се-

рьёзные патологии новорождённых, являются одной из ведущих причин слепоты и глухоты, неврологических расстройств и инвалидности. Инфекция ВПГ-2 в 3–6 раз увеличивает риск заражения ВИЧ; реактивация вируса приводит к рекуррентной форме болезни. Кроме того, ВПГ-ассоциированная инфекция является важным фактором риска бактериального вагиноза (БВ) и может сочетаться с бактериально-обусловленными процессами.

Генитальный герпес у женщин

В большинстве случаев причиной заболевания является ВПГ-2. Первичное вагинальное заражение, как правило, происходит без клинических проявлений, однако выделение вируса может происходить и при бессимптомных формах. По данным Tronstein E. с соавт. бессимптомное выделение ВПГ-2 происходит довольно часто – в среднем каждые 10 дней, при этом многие годы оно может не диагностироваться [7]. Бессимптомная персистирующая генитальная инфекция служит основной причиной высокого уровня распространения ВПГ-2. Так, в России за последние 5 лет заболеваемость ГГ выросла в 1,4 раза [8]. Значимой проблемой являются тяжёлые его формы, язвенная болезнь половых органов, частые рецидивы, внутриутробная передача ВПГ и выраженные последствия инфицирования у новорождённых.

В последние 10–15 лет представление о том, что ГГ вызывается только ВПГ-2, пересматривается. Во многих западных странах ВПГ-1 превалирует над ВПГ-2 как причина первичного ГГ. Так, в США вызванная ВПГ-1 генитальная инфекция широко распространена: в 2018 г. 55% обследованных лиц имели АТ к вирусу 1 типа, 20% – 2 типа. В большинстве случаев (>85%) ВПГ-1 передавался орально-генитальным путём, причем 25% инфицированных этим вирусом были симптомными ГГ [9]. Учёными из Австралии описано значительное увеличение количества первых эпизодов аногенитального герпеса, вызванных ВПГ-1 с 2004 г. по 2017 г.: у женщин с 45 до 61%, у мужчин-гетеросексуалов с 38 до 42%; у мужчин, практикующих однополый секс, ВПГ-1 вызывал 2/3 всех случаев аногенитального герпеса [10]. Однако в некоторых регионах мира (Латинская Америка, Карибский бассейн) ГГ значительно реже вызывается ВПГ-1 по сравнению с ВПГ-2 [11].

Вирус Эпштейна–Барр в генитальном тракте женщин

Известно, что вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) инфицирует В-лимфоциты и эпителиальные клетки ротовой области, вызывает инфекционный мононуклеоз (ИМ), лимфомы, рак носоглотки. Многочисленные исследования в разных странах показали, что ВЭБ встречается также в генитальном тракте у женщин без опухолевых маркёров. Частота бессимптомного выделения ДНК возбудителя из цервикального канала по данным разных исследователей варьирует от 7 до 18% [12, 13]. Al-Rawahi G.N. с соавт. описано одно из тяжёлых проявлений острого воспаления,

вызванного этим патогеном, – изъязвление гениталий [14]. По наблюдению Thomas R. с соавт., возможна передача ВЭБ при сексуальном контакте, происходящая чаще оральным путём [13].

Цитомегаловирус в репродуктивном тракте женщин

ЦМВ выявляется при различных воспалительных заболеваниях в нижних и верхних отделах генитального тракта женщин: при вагините, цервиците; у имеющих внеутробную беременность – в фаллопиевых трубах; у страдающих бесплодием – в цервикальном канале, эндометрии, яичниках [15]. Внутриутробная цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) – одна из ведущих причин врождённых пороков развития. В III триместре возбудитель реплицируется в децидуальных и эпителиальных клетках в эндометрии и может передаваться в плаценту. В 86% образцов плаценты от женщин, родивших детей с внутриутробной ЦМВИ, были обнаружены инфицированные клетки [16]. Последствия передачи вируса плоду зависят от его вирулентности, концентрации, способа трансмиссии, генетических факторов, срока гестации, иммунологического статуса матери и плода. У беременных с ВИЧ-1 при обнаружении ЦМВ в цервикальных секретах и крови высок риск появления последнего в грудном молоке. Передача ЦМВ ребёнку с молоком матери доказана и для женщин, не заражённых ВИЧ [17].

Вирус герпеса человека 6 типа в генитальном тракте женщин

Специфические антитела (АТ) класса IgG к вирусу герпеса человека 6 типа (ВГЧ-6) были обнаружены у 100% обследованных женщин, в то время как выделение вируса в генитальном тракте было низким – около 4–10% [18]. В то же время Ohashi M. и соавт. во время беременности наблюдали увеличение частоты определения ДНК ВГЧ-6 к III триместру и предположили, что вирус может передаваться новорождённому [19]. Coulam С.В. с соавт. обнаружили матричную РНК (мРНК) этого агента в биоптатах эндометрия у 37% пациенток с рекуррентными неудачами имплантации после ЭКО и заключили, что ВГЧ-6-инфекция – один из важных факторов, негативно влияющих на имплантацию [20] и служащих одной из причин бесплодия. Подтверждение можно найти в работе, в которой выявлена ДНК ВГЧ-6 в 43% биоптатов эндометрия у имеющих необъяснимое первичное бесплодие, но не у фертильных женщин [4]. Потерю плода у беременных с ВГЧ-6 в генитальном тракте наблюдали и другие авторы, причём в 2 раза чаще, чем у ВГЧ-6-отрицательных [21].

Изучение наличия ВГЧ-6А/В в моноцитах периферической крови здоровых людей и пациентов с лимфолифферативными заболеваниями показало присутствие вирусной ДНК в клетках [22]. Доказано, что при высокой концентрации ВГЧ-6 ДНК может встраиваться в хромосомы человека и передаваться по наследству; в таких случаях вирус выявляется во всех клетках организма. Данный феномен обозначен

как хромосомная интеграция ВГЧ-6А/В (хиВГЧ-6, сиННВ-6) [23].

Внутриутробная передача ГВ

Внутриутробная передача вирусов и заболевание у новорождённого значительно чаще происходят при первичной инфекции во время беременности, чем при заражении переболевших серопозитивных беременных. Ворота проникновения вирусов в ткани плода является плацента. Она служит барьером на пути экзогенного инфицирования эмбриона и плода; при поражении этого органа ГВ развивается вирусный плацентит различной степени тяжести и распространённости – от очагового до диффузного процесса, захватывающего большие участки с образованием состоящих из мононуклеарных клеток инфильтратов. Клеточные элементы (фибробласты, макрофаги, эпителиальные клетки) также могут быть инфицированы и поэтому играют важную роль в трансплацентарной передаче ЦМВ [24]. Иммунная система плаценты должна функционировать на грани толерантности по отношению к полуаллогенному плоду и сохранять активность для защиты его от патогенов; вирусы сдвигают этот баланс. Репликация и размножение ЦМВ в плаценте доказаны экспериментально [2]. Патологические изменения её при ЦМВИ приводят к развитию хронической плацентарной недостаточности, способствующей невынашиванию беременности (НБ), внутриутробной гипотрофии, задержке развития плода, рождению детей в тяжёлом состоянии и снижению показателей по шкале Апгар [25]. При ЦМВ-инфекции в плаценте активируются клетки врождённого иммунитета, значительно изменяются уровни цитокинов и хемокинов [26]. Белки ЦМВ или ВПГ обнаруживаются в образцах плаценты женщин со спонтанными абортми [27].

Невынашивание беременности

Одной из наиболее актуальных проблем современного акушерства является НБ, которое встречается практически у каждой пятой женщины [28]. Материнская инфекция ВПГ и ЦМВ во время беременности увеличивает риск спонтанного аборта, преждевременных родов и мертворождения; частота спонтанных абортов достигает 15%, а преждевременных родов – 7% [29]. Среди причин, с которыми ассоциируют невынашивание, важное значение придаётся инфекционным факторам. Так, Naahr Т. с соавт. связывают спонтанные аборты и НБ с БВ [30]. Данные о влиянии ГВИ на неблагоприятные исходы беременности противоречивы. Одни исследователи не нашли связи между бессимптомной ЦМВИ у женщин и самопроизвольными абортми. В то же время другие авторы обнаружили, что вирус ВГЧ-6 на ранних сроках гестации создаёт высокий риск потери плода и преждевременных родов [31]. Сидельниковой В.М. с соавт. показано, что при спонтанных абортми на ранних сроках, включая неразвивающуюся беременность, реактивированная форма ЦМВИ выявлялась

достоверно чаще, чем при привычном НБ ($p < 0,05$). Это подтверждает значимость именно данной формы инфекции для возникновения спонтанных аборт в ранние сроки. В то же время привычное невынашивание ассоциировано с персистирующей инфекцией, проявляющейся субклиническим хроническим эндометритом [32].

К аналогичному выводу пришли исследователи на основе метаанализа 25 опубликованных работ [33]. Они доказали, что ВПГ- и ЦМВ-инфекции на фоне беременности значительно увеличивают риск спонтанных аборт, преждевременных родов и мертворождений. Wylie К.М. (2018) продемонстрировано, что в вагинальных мазках 60 беременных были обнаружены бактерии, а также ДНК-геномные вирусы, относящиеся к 5 семействам, включая вирусы папилломы человека и 6 типов герпесвирусов. Важно, что вагинальный вирус у 24 пациенток с преждевременными родами был представлен большим разнообразием вирусов, чем у 36 женщин, родивших в срок. Авторы делают вывод, что вирусы либо самостоятельно, либо в сообществе с бактериями могут служить причиной преждевременных родов [34].

Для объяснения механизма действия бактерий и вирусов в генитальном тракте беременных предложена гипотеза «двойного удара», согласно которой бессимптомная вирусная инфекция матери может создавать условия для проникновения бактерий в плаценту и/или усиливать её реакцию на бактерии, что и приводит к преждевременным родам [35].

В ходе анализа акушерско-гинекологического анамнеза у женщин с различными формами ЦМВИ установлено, что в случае латентной формы самопроизвольным выкидышем закончилась каждая 5-я предыдущая беременность, при персистирующей и реактивированной формах – каждая 2-3-я ($p < 0,01$) и 3-4-я беременности ($p < 0,05$) соответственно. Эти формы инфекции характеризовались более высоким процентом самопроизвольных аборт в анамнезе (16,9 и 14,1% соответственно), чем латентная (8,7%). Неразвивающаяся беременность также чаще наблюдалась при персистирующей и реактивированной ЦМВИ (7,6 и 7,0% соответственно), чем на фоне латентной формы инфекции (3,9%). Доля преждевременных родов при ней составила 6,3%, в группе пациенток с персистирующей формой – 19,4%, с реактивированной – в 16,6% случаев. Дисфункция яичников выявлена у 10% женщин с персистирующей формой ЦМВИ, у 5,1% – с реактивацией возбудителя, у 3,6% – с латентной формой. Особенностью анамнеза пациенток с персистирующей и реактивированной формами был высокий процент гинекологических заболеваний (эрозия шейки матки, сальпингофорит, кольпит, миома матки): 23 и 17,9% соответственно, что выше, чем для латентной формы инфекции – 8,5% ($p < 0,01$ и $p < 0,05$ соответственно). Среди урогенитальных ИППП чаще регистрировались уреаплазмоз (4,5%), гарднереллёз и хламидиоз – суммарно в 2,1% случаев [31].

Женское бесплодие

По данным ВОЗ частота первичного или вторичного бесплодия среди женщин 20–44 лет в 190 странах составила в среднем 12,4% (в РФ >15,5%) за 20 лет (1990–2010 гг.). Количество бесплодных пар в мире возросло с 42 до 48,5 млн [36]. Среди многочисленных причин рассматриваемой патологии инфекционно-воспалительные заболевания занимают одно из первых мест. Возбудители инфекций могут негативно влиять на все стадии репродуктивного процесса от зачатия до рождения ребёнка. Обнаружение ГВ во всех отделах генитального тракта у женщин с бесплодием позволяет предположить их участие в развитии инфертильности.

Значительная часть женщин с бесплодием (около 35%) имеют его трубно-перитонеальную форму (ТПБ). В РФ среди 420 пациенток с ТПБ диагностировали хронические заболевания различных отделов генитального тракта (цервицит, эндометрит, сальпингофорит) и высокий уровень концентрации возбудителей ИППП (40%). Анализ ДНК данных патогенов в цервикальных мазках, биопсийном материале эндометрия и яичников у этих женщин выявил хламидии, уреаплазмы, ВПГ-1/2 и ЦМВ в 80, 38,6, 34,3 и 38,5% случаях соответственно. Изучение состава микрофлоры нижнего и верхнего отделов репродуктивной системы при ТПБ показало, что воспалительные заболевания герпесвирусной этиологии могут быть одной из причин женского бесплодия [37]. В многочисленных работах оценено влияние БВ на успех искусственных репродуктивных технологий (ЭКО) и определено, что он ассоциируется с высоким риском бесплодия и ранних спонтанных аборт [38].

Метаанализ вирусных ДНК показал, что одни бактерии не полностью представляют вагинальное сообщество микроорганизмов [39]. Во влагалище у бессимптомных женщин, направленных на ЭКО, обнаружили целый набор вирусов папилломы человека (ВПЧ), а также герпесвирусов: ЦМВ, ВЭБ, ВГЧ-6, ВГЧ-7 [38]. Представляется важным, что при сравнении исходов ЭКО у 2 групп женщин, предварительно профилактически лечившихся азитромицином и не лечившихся им, установлено, что после назначения препарата увеличивается количество вирусов во влагалище и снижается частота наступления клинической беременности [39].

Абдулмеджидова А.Г. с соавт. впервые продемонстрировали возможность инфицирования ооцитов ВПГ. Результаты были получены при выявлении белков вируса в зрелых половых клетках женщин в ходе процедуры интрацитоплазматической инъекции сперматозоида в ооцит (ИКСИ; ICSI, IntraCyttoplasmic Sperm Injection) [40]. Возбудитель был обнаружен также в фолликулярной жидкости (ФЖ): у 33 (8%) из 404 пациенток, находившихся на лечении бесплодия методом ЭКО, определили ДНК ВПГ. Частота имплантации у инфицированных пациенток составила 6,6%, тогда как при отсутствии ВПГ в ФЖ имплантировались 16% эмбрионов ($p = 0,02$). Выраженное снижение показателя успешной имплантации ассоциировалось

с уменьшением частоты наступления беременности (ЧНБ): у носительниц ВПГ в ФЖ она составила 18%, что существенно отличалось от значения у неинфицированных женщин (31%). Представляет большой интерес тот факт, что инфицированные ооциты не удалось оплодотворить методом ИКСИ.

Реактивация ЦМВ и воспалительные заболевания генитального тракта женщин

ЦМВ может передаваться от инфицированных лиц через биологические жидкости, такие как слюна, кровь, сперма, вагинальный и цервикальный секреты. Реактивации и выделению вируса способствуют изменения внешней и внутренней среды организма под действием различных физических, химических и биологических факторов. Narwani S.C. с соавт. показано, что реактивация вируса происходит и при нарушении нормальной флоры в генитальном тракте, например в случае БВ или ИППП [41]. Об этом же свидетельствуют данные о более частом определении ЦМВ в вагинальных смывах у имеющих БВ, чем у женщин с нормальной генитальной флорой [42]. Реактивация ЦМВ при воспалительных заболеваниях может происходить через взаимодействие Toll-like рецепторов (TLR) на генитальных клетках с TLR-лигандами, экспрессируемыми патогенами [43].

Клеточный и гуморальный иммунный ответ при генитальных инфекциях

Уже в первые часы или дни при генитальных инфекциях в слизистых оболочках мобилизуются иммунные клетки из периферической крови. Важную роль играют дендритные клетки (ДК), которые инфильтрируют слизистые оболочки и представляют вирусные антигены CD8⁺ и CD4⁺ Т-клеткам при первичном и рекуррентном генитальном герпесе. Наряду с клетками, мобилизуемыми из крови, защитную роль играют резидентные Т-клетки памяти (T_{RM}), способные быстро реагировать на реактивацию вируса при рекуррентной генитальной ВПГ-2-инфекции [44]. В инфекционном контроле участвуют также натуральные киллеры (НК-клетки) – часть сложной сети врождённых лимфоидных клеток, и регуляторные Т-клетки (Treg), функция которых – поддержание баланса активности лимфоцитов. Известно, что чрезвычайно высокая активность клеток класса Treg может быть скорее вредной, чем полезной. При первичной ВПГ-2-инфекции в вагинальных и цервикальных секретах повышаются уровни АТ класса IgG и слизистых IgA. Индукция нейтрализующих АТ может защищать от вагинального заражения, участвовать в снижении титра вируса на ранних стадиях первичной инфекции, а также предотвращать вертикальную передачу ВПГ и ЦМВ [45]. В последнее время обсуждается роль не-нейтрализующих АТ, способных как усиливать иммунную защиту, так и ослаблять протективные эффекты [46].

Изучение Posavad С.М. с соавт. Т-клеточного ответа на ВПГ-2 в генитальном тракте серопозитивных женщин показало, что около 3% CD3⁺ Т-клеток, вы-

деленных из слизистой оболочки шейки матки, были специфичны к ВПГ-2; из них приблизительно 91% составляли CD4⁺, тогда как только 4% были CD8⁺ [47]. Это указывает на важную роль резидентных ВПГ-2-специфических CD4⁺ Т-клеток, находящихся в шейке матки, в контроле генитальной ВПГ-2-инфекции. Однако эффективность локального ответа зависит также и от активности CD8⁺-клеток, что установлено при изучении этого клеточного пула в местах рекуррентного выделения вируса [48]. Авторы показали, что низкое их количество ассоциируется с частыми и тяжёлыми эпизодами выделения ВПГ-2.

Первичное интравагинальное заражение ВПГ-2 вызывает изменение состава клеток слизистой оболочки влагалища. Уже на 2-й день в мазках наряду с эпителиальными клетками наблюдаются иммунные клетки: лимфоциты, гранулоциты, моноциты/макрофаги. На ранних сроках наблюдается активация десятков генов, кодирующих белки врождённого иммунного ответа, в том числе цитокины, хемокины. В иммунном ответе участвуют также В-клетки, которые поступают из циркуляции в слизистую оболочку влагалища и секретируют IgG2b, IgG2c и IgA [49]. Это показывает, что циркулирующие В-клетки памяти при заражении быстро мобилизуются и служат источником слизистых АТ в женском репродуктивном тракте [50].

Интерфероны (ИФН) являются важнейшими медиаторами иммунной системы, участвующими в защите организма от инфекций. Основные эффекты их включают противовирусную, антимикробную, антипролиферативную, иммуномодулирующую и радиопротективную активность. ИФН оказывают модулирующее действие на клетки иммунной системы, опосредуют взаимодействие между Т-лимфоцитами и макрофагами, усиливают экспрессию молекул главного комплекса гистосовместимости и цитотоксическую активность клеток иммунной системы, что позволяет подавлять развитие инфекции на ранних этапах. ИФН I типа в ответ на ВПГ-инфекцию индуцируют экспрессию многочисленных генов (интерферон-стимулируемые гены; *interferon-stimulated genes*, ISG), которые участвуют в подавлении репликации вируса и деградации вирусных мРНК [51].

Иммунный ответ при бессимптомной и симптомной ВПГ-инфекции

Для выяснения различий в иммунном ответе на ВПГ-2 у бессимптомных и имеющих симптомы пациентов в работе Srivastava R. с соавт. оценивали интенсивность и широту Т-клеточного ответа на ряд антигенов (АГ) ВПГ-2 [52]. Результаты показали, что у бессимптомных женщин CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетки реагируют с 8 АГ этого вируса, тогда как у симптомных – только с 1. При этом 3 из 8 иммуногенных белков (UL40, UL49 и Us6) индуцировали значительный уровень нейтрализующих АТ, высокий ответ резидентных Т-клеток памяти и защиту от рекуррентной генитальной ВПГ-2-инфекции. Эти результаты важны при создании новых профилактических вакцин против ВПГ, так как ни один из кандидатных вакцинных пре-

паратов, находящихся на разных стадиях испытаний, в настоящее время не рекомендован FDA.

Заключение

Одна из важнейших причин продолжающегося распространения ГВИ определяется переходом первичной инфекции в латентную форму с последующей возможностью реактивации. Латентный вирус недоступен для иммунного распознавания, что препятствует мобилизации защитных механизмов макроорганизма. Кроме того, используемые лечебные препараты также не действуют на возбудитель в этом состоянии. В последние годы появилась новая биотехнологическая система редактирования генома CRISPR/Cas9, которая в принципе способна узнавать не только активные, но и латентные вирусы и действовать на них [53]. Опубликованы работы, показавшие принципиальную возможность редактирования генома ГВ [54]. На клеточных моделях *in vitro* показано, что с помощью CRISPR/Cas9 можно на длительное время ингибировать развитие ГВИ [55]. Эти первые обнадеживающие результаты открывают возможность разработки в будущем эффективных технологий элиминации ГВ и эрадикации инфекций, вызываемых ими.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тютюнник В.Л., Орджоникидзе Н.В., Зыряева Н.А. Перинатальные аспекты цитомегаловирусной инфекции. *Акушерство и гинекология*. 2002; (1): 9–11.
2. Gabrielli L., Losi L., Varani S.L., Lazzarotto T., Eusebi V., Landini M.P. Complete replication of human cytomegalovirus in explants of first trimester human placenta. *J. Med. Virol.* 2001; 64(4): 499–504. <https://doi.org/10.1002/jmv.1077>.
3. Arav-Boger R., Pass R. Viral load in congenital cytomegalovirus infection. *Herpes*. 2007; 14(1): 17–22.
4. Marci R., Gentili V., Bortolotti D., Lo Monte G., Caselli E., Bolzani S., et al. Presence of HHV-6A in Endometrial Epithelial Cells from Women with Primary Unexplained Infertility. *PLoS One*. 2016; 11(7): e0158304. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158304>.
5. Groves M.J. Genital herpes: a review. *Am. Fam. Physician*. 2016; 93(11): 928–34.
6. Knipe D.M., Howley P.M., eds. *Fields Virology*. Philadelphia: Williams & Wilkins; 2013.
7. Tronstein E., Johnston C., Huang M.L., Selke S., Magaret A., Warren T., et al. Genital shedding of herpes simplex virus among symptomatic and asymptomatic persons with HSV-2 infection. *JAMA*. 2011; 305(14): 1441–9. <https://doi.org/10.1001/jama.2011.420>.
8. Барамзина С.В. Комплексный подход к терапии генитального герпеса. *Поликлиника*. 2017; (1-3): 38–40.
9. Ayoub H.H., Chemaitelly H., Abu-Raddad L. Characterizing the transitioning epidemiology of herpes simplex virus type 1 in the USA: model-based predictions. *BMC Med*. 2019; 17(1): 57. <https://doi.org/10.1186/s12916-019-1285-x>.
10. Durukan D., Fairley C.K., Bradshaw C.S., Read T.H., Druce J., Catton M., et al. Increasing proportion of herpes simplex virus type 1 among women and men diagnosed with first-episode anogenital herpes: a retrospective observational study over 14 years in Melbourne, Australia. *Sex. Transm. Infect.* 2019; 95(4): 307–13. <https://doi.org/10.1136/sextrans-2018-053830>.
11. Sukik L., Alyafei M., Harfouche M., Abu-Raddad L. Herpes simplex virus type 1 epidemiology in Latin America and the Caribbean: Systematic review and meta-analyses. *PLoS One*. 2019; 14(4): e0215487. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215487>.
12. Silver M.I., Proma P., Sowjanya P. Shedding of Epstein-Barr virus and cytomegalovirus from the genital tract of women in a periurban community in Andhra Pradesh, India. *J. Clin. Microbiol.* 2011; 49(7): 2435–9. <https://doi.org/10.1128/JCM.02206-10>.
13. Thomas R., Macsween K.F., McAulay K., Clutterbuck D., Anderson R., Reid S., et al. Evidence of shared Epstein-Barr viral isolates between sexual partners, and low level EBV in genital secretions. *J. Med. Virol.* 2006; 78(9): 1204–9. <https://doi.org/10.1002/jmv.20682>.
14. Al-Rawahi G.N., Dobson S.R., Scheifele D.W., Rassekh S.R., Murphy D.J. Severe genital ulceration in an acute Epstein-Barr virus infection. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2011; 30(2): 176–8. <https://doi.org/10.1097/INF.0b013e3181f41b2e>.
15. Batwa S.A., Ashshi A.M., Kamfar F.F. Prevalence of cytomegalovirus, and its effect on the expression of inducible and endothelial nitric oxide synthases in Fallopian tubes collected from women with and without ectopic pregnancy. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2016; 35(1): 103–10. <https://doi.org/10.1007/s10096-015-2514-7>.
16. Uenaka M., Morizane M., Tanimura K., Deguchi M., Deguchi M., Kanzawa M., et al. Histopathological analysis of placentas with congenital cytomegalovirus infection. *Placenta*. 2019; 75: 62–7. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2019.01.003>.
17. Slyker J., Farquhar C., Atkinson C. Compartmentalized cytomegalovirus replication and transmission in the setting of maternal HIV-1 infection. *Clin. Infect. Dis.* 2014; 58(4): 564–72. <https://doi.org/10.1093/cid/cit727>.
18. Baillargeon J., Piper J., Leach C.T. Epidemiology of human herpesvirus 6 (HHV-6) infection in pregnant and nonpregnant women. *J. Clin. Virol.* 2000; 16(3): 149–57. [https://doi.org/10.1016/s1386-6532\(99\)00086-4](https://doi.org/10.1016/s1386-6532(99)00086-4).
19. Ohashi M., Yoshikawa T., Ihira M. Reactivation of human herpesvirus 6 and 7 in pregnant women. *J. Med. Virol.* 2002; 67(3): 354–8. <https://doi.org/10.1002/jmv.10083>.
20. Coulam C.B., Bilal M., Salazar Garcia M.D. Prevalence of HHV-6 in endometrium from women with recurrent implantation failure. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2018; 80(1): e12862. <https://doi.org/10.1111/aji.12862>.
21. Maeda T., Okuno T., Hayashi K., Miyamoto H., Utsunomiya A., Yamada Y., et al. Abortion in human herpesvirus 6 DNA-positive pregnant women. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1997; 16(12): 1176–7. <https://doi.org/10.1097/00006454-199712000-00014>.
22. Cone R.W., Huang M.L., Ashley R., Corey L. Human herpesvirus 6 DNA in peripheral blood cells and saliva from immunocompetent individuals. *J. Clin. Microbiol.* 1993; 31(5): 1262–7. <https://doi.org/10.1128/JCM.31.5.1262-1267.1993>.
23. Мелехина Е.В., Черкасова С.В., Домонова Э.А., Сильвейстрова О.Ю., Кулешов К.В., Гонтарь И.А. и др. Наследуемая хромосомная интеграция *Human betaherpesvirus 6B* у недоношенных новорожденных. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Снегиревского*. 2019; 98(2): 28–34. <https://doi.org/10.24110/0031-403X-2019-98-2-28-34>.
24. Цинзерлинг В.А., Мельникова В.Ф. *Перинатальные инфекции. Практическое руководство*. СПб.: Элби-СПб; 2002.
25. Макаров О.В., Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Бахарева И.В., Ганковская О.А. *Невынашивание беременности, инфекция, врожденный иммунитет*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2007.
26. Weisblum Y., Panet A., Zakay-Rones Z., Vitsenshtein A., Haimov-Kochman R., Goldman-Wohlet D. et al. Human cytomegalovirus induces a distinct innate immune response in the maternal-fetal interface. *Virology*. 2015; 485: 289–96. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.06.023>.
27. Oliveira G.M., Pascoal-Xavier M.A., Moreira D.R., Guimarães V.S., Aguiar R.A., Miranda D.M., et al. Detection of cytomegalovirus, herpes virus simplex, and parvovirus b19 in spontaneous abortion placentas. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2019; 32(5): 768–75. <https://doi.org/10.1080/14767058.2017.1391778>.
28. Giakoumelou S., Wheelhouse N., Cuschieri K., Entrican G., Howie S.E., Horne A. The role of infection in miscarriage. *Hum. Reprod. Update*. 2016; 22(1): 116–33. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv041>.
29. Володин Н.Н. Перинатология. Исторические вехи, перспективы развития. *Вопросы практической педиатрии*. 2006; 1(3): 5–24.
30. Naahr T., Humaidan P., Elbaek H.O. Vaginal microbiota and in vitro fertilization outcomes: development of a simple diagnostic tool to predict patients at risk of a poor reproductive outcome. *J. Infect. Dis.* 2019; 219(11): 1809–17. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy744>.
31. Чешик С.Г., Кистенева Л.Б. Цитомегаловирусная инфекция и спонтанные аборт у женщин I и II триместров беременности. *Вопросы вирусологии*. 2016; 61(2): 74–8. <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2016-61-2-74-78>.
32. Сидельникова В.М., Ходжаева З.С., Агаджанова А.А. *Актуальные вопросы невынашивания беременности*. М.: 2001.
33. Shi T.L., Huang L.J., Xiong Y.Q., Zhong Y.Y., Yang J.J., Fu T., et al. The risk of herpes simplex virus and human cytomegalovirus infection during pregnancy upon adverse pregnancy outcomes: A meta-analysis. *J. Clin. Virol.* 2018; 104: 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2018.04.016>.
34. Wylie K.M., Wylie T.N., Cahill A.G. The vaginal eukaryotic DNA virome and preterm birth. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2018; 219(2): 189.e1-12. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2018.04.048>.

35. Eskew A.M., Stout M.J., Bedrick B.S., Riley J.K., Omurtag K.R., Jimenez P.T., et al. Association of the eukaryotic vaginal virome with prophylactic antibiotic exposure and reproductive outcomes in a subfertile population undergoing in vitro fertilisation: a prospective exploratory study. *BJOG*. 2020; 127(2): 208–16. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.15951>.
36. Mascarenhas M.N., Cheung H., Mathers C.D., Stevens G.A. Measuring infertility in populations: constructing a standard definition for use with demographic and reproductive health surveys. *Popul. Health Metr.* 2012; 10(1): 17. <https://doi.org/10.1186/1478-7954-10-17>.
37. Медведев Б.И., Зайнетдинова Л.Ф., Теплова С.Н. Микрофлора органов репродуктивной системы у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2008; 85(3): 58–61.
38. Wylie K.M., Mihindukulasuriya K.A., Zhou Y., Sodergren E., Storch G.A., Weinstock G.M. Metagenomic analysis of double-stranded DNA viruses in healthy adults. *BMC Biol.* 2014; 12: 71. <https://doi.org/10.1186/s12915-014-0071-7>.
39. Eskew A.M., Stout M.J., Bedrick B.S., Riley J.K., Omurtag K.R., Jimenez P.T., et al. Association of the eukaryotic vaginal virome with prophylactic antibiotic exposure and reproductive outcomes in a subfertile population undergoing in vitro fertilisation: a prospective exploratory study. *BJOG*. 2020; 127(2): 208–16. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.15951>.
40. Абдулмеджидова А.Г., Рог К.В., Завалишина Л.Э., Куш А.А. Интрафолликулярное инфицирование вирусом простого герпеса ооцитов млекопитающих и человека. *Вопросы вирусологии*. 2014; 59(1): 42–6.
41. Harwani S.C., Lurain N.S., Zariffard M.R., Spear G.T. Differential inhibition of human cytomegalovirus (HCMV) by toll-like receptor ligands mediated by interferon-beta in human foreskin fibroblasts and cervical tissue. *Virology*. 2007; 4: 133. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-4-133>.
42. Ross S.A., Boppana S.B. Congenital cytomegalovirus infection: outcome and diagnosis. *Semin. Pediatr. Infect. Dis.* 2005; 16(1): 44–9. <https://doi.org/10.1053/j.spid.2004.09.011>.
43. Zariffard M.R., Harwani S.C., Novak R.M., Graham P.J., Ji X., Spear G.T. Trichomonas vaginalis infection activates cells through toll-like receptor 4. *Clin. Immunol.* 2004; 111(1): 103–7. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2003.12.008>.
44. Shin H., Kumamoto Y., Gopinath S., Iwasaki A. CD301b⁺ dendritic cells stimulate tissue-resident memory CD8⁺ T cells to protect against genital HSV-2. *Nat. Commun.* 2016; 7: 13346. <https://doi.org/10.1038/ncomms13346>.
45. Patel C.D., Backes I.M., Taylor S.A., Jiang Y., Marchant A., Pesola J.M., et al. Maternal immunization confers protection against neonatal herpes simplex mortality and behavioral morbidity. *Sci. Transl. Med.* 2019; 11(487): eaau6039. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aau6039>.
46. Jenks J.A., Goodwin M.L., Permar S.R. The roles of host and viral antibody Fc receptors in herpes simplex virus (HSV) and human cytomegalovirus (HCMV) infections and immunity. *Front. Immunol.* 2019; 10: 2110. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02110>.
47. Posavad C.M., Zhao L., Mueller D.E., Stevens C.E., Huang M.L., Wald A., et al. Persistence of mucosal T-cell responses to herpes simplex virus type 2 in the female genital tract. *Mucosal Immunol.* 2015; 8(1): 115–26. <https://doi.org/10.1038/mi.2014.47>.
48. Schiffer J.T., Abu-Raddad L., Mark K.E. Mucosal host immune response predicts the severity and duration of herpes simplex virus-2 genital tract shedding episodes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010; 107(44): 18973–8. <https://doi.org/10.1073/pnas.1006614107>.
49. Oh J.E., Iijima N., Song E., Lu P., Klein J., Jiang R., et al. Migrant memory B cells secrete luminal antibody in the vagina. *Nature*. 2019; 571(7763): 122–6. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1285-1>.
50. Truong N.R., Smith J.B., Sandgren K.J., Cunningham A.L. Mechanisms of immune control of mucosal HSV infection: a guide to rational vaccine design. *Front. Immunol.* 2019; 10: 373. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00373>.
51. Оспельникова Т.П., Носеикина Е.М., Гайдерова Л.А., Ершов Ф.И. Терапевтический потенциал препаратов альфа-интерферонов при социально значимых заболеваниях человека вирусной этиологии. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2016; 93(5): 109–21.
52. Srivastava R., Roy S., Coulon P.G., Vahed H., Prakash S., Dhanushkodi N., et al. Therapeutic mucosal vaccination of herpes simplex virus 2-infected guinea pigs with ribonucleotide reductase 2 (RR2) protein boosts antiviral neutralizing antibodies and local tissue-resident CD4⁺ and CD8⁺ T_{RM} cells associated with protection against recurrent genital herpes. *J. Virol.* 2019; 93(9): e02309-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.02309-18>.
53. Hsu P.D., Lander E.S., Zhang F. Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. *Cell*. 2014; 157(6): 1262–78. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.05.010>.
54. Bi Y., Sun L., Gao D., Ding C., Li Z., Li Y., et al. High-efficiency targeted editing of large viral genomes by RNA-guided nucleases. *PLoS Pathog.* 2014; 10(5): e1004090. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004090>.
55. Карпов Д.С., Карпов В.Л., Климова Р.Р., Демидова Н.А., Куш А.А. Система CRISPR/Cas9, экспрессируемая с плазмиды, подавляет репликацию вируса простого герпеса 1 типа в культуре клеток Vero. *Молекулярная биология*. 2019; 53(1): 91–100. <https://doi.org/10.1134/S0026898419010051>.

REFERENCES

1. Tyutyunnik V.L., Ordzhonikidze N.V., Zyryaeva N.A. Perinatal aspects of cytomegalovirus infection. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2002; (1): 9–11 (in Russian).
2. Gabrielli L., Losi L., Varani S.L., Lazzarotto T., Eusebi V., Landini M.P. Complete replication of human cytomegalovirus in explants of first trimester human placenta. *J. Med. Virol.* 2001; 64(4): 499–504. <https://doi.org/10.1002/jmv.1077>.
3. Arav-Boger R., Pass R. Viral load in congenital cytomegalovirus infection. *Herpes*. 2007; 14(1): 17–22.
4. Marci R., Gentili V., Bortolotti D., Lo Monte G., Caselli E., Bolzani S., et al. Presence of HHV-6A in Endometrial Epithelial Cells from Women with Primary Unexplained Infertility. *PLoS One*. 2016; 11(7): e0158304. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158304>.
5. Groves M.J. Genital herpes: a review. *Am. Fam. Physician*. 2016; 93(11): 928–34.
6. Knipe D.M., Howley P.M., eds. *Fields Virology*. Philadelphia: Williams & Wilkins; 2013.
7. Tronstein E., Johnston C., Huang M.L., Selke S., Magaret A., Warren T., et al. Genital shedding of herpes simplex virus among symptomatic and asymptomatic persons with HSV-2 infection. *JAMA*. 2011; 305(14): 1441–9. <https://doi.org/10.1001/jama.2011.420>.
8. Baramzina S.V. A comprehensive approach to the treatment of genital herpes. *Poliklinika*. 2017; (1-3): 38–40 (in Russian).
9. Ayoub H.H., Chemaitelly H., Abu-Raddad L. Characterizing the transitioning epidemiology of herpes simplex virus type 1 in the USA: model-based predictions. *BMC Med.* 2019; 17(1): 57. <https://doi.org/10.1186/s12916-019-1285-x>.
10. Durukan D., Fairley C.K., Bradshaw C.S., Read T.H., Druce J., Catton M., et al. Increasing proportion of herpes simplex virus type 1 among women and men diagnosed with first-episode anogenital herpes: a retrospective observational study over 14 years in Melbourne, Australia. *Sex. Transm. Infect.* 2019; 95(4): 307–13. <https://doi.org/10.1136/sextrans-2018-053830>.
11. Sukik L., Alyafei M., Harfouche M., Abu-Raddad L. Herpes simplex virus type 1 epidemiology in Latin America and the Caribbean: Systematic review and meta-analyses. *PLoS One*. 2019; 14(4): e0215487. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215487>.
12. Silver M.I., Proma P., Sowjanya P. Shedding of Epstein-Barr virus and cytomegalovirus from the genital tract of women in a periurban community in Andhra Pradesh, India. *J. Clin. Microbiol.* 2011; 49(7): 2435–9. <https://doi.org/10.1128/JCM.02206-10>.
13. Thomas R., Macsween K.F., McAulay K., Clutterbuck D., Anderson R., Reid S., et al. Evidence of shared Epstein-Barr viral isolates between sexual partners, and low level EBV in genital secretions. *J. Med. Virol.* 2006; 78(9): 1204–9. <https://doi.org/10.1002/jmv.20682>.
14. Al-Rawahi G.N., Dobson S.R., Scheifele D.W., Rassekh S.R., Murphy D.J. Severe genital ulceration in an acute Epstein-Barr virus infection. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2011; 30(2): 176–8. <https://doi.org/10.1097/INF.0b013e3181f41b2e>.
15. Batwa S.A., Ashshi A.M., Kamfar F.F. Prevalence of cytomegalovirus, and its effect on the expression of inducible and endothelial nitric oxide synthases in Fallopian tubes collected from women with and without ectopic pregnancy. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2016; 35(1): 103–10. <https://doi.org/10.1007/s10096-015-2514-7>.
16. Uenaka M., Morizane M., Tanimura K., Deguchi M., Deguchi M., Kanzawa M., et al. Histopathological analysis of placentas with congenital cytomegalovirus infection. *Placenta*. 2019; 75: 62–7. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2019.01.003>.
17. Slyker J., Farquhar C., Atkinson C. Compartmentalized cytomegalovirus replication and transmission in the setting of maternal HIV-1 infection. *Clin. Infect. Dis.* 2014; 58(4): 564–72. <https://doi.org/10.1093/cid/cit727>.

18. Baillargeon J., Piper J., Leach C.T. Epidemiology of human herpesvirus 6 (HHV-6) infection in pregnant and non-pregnant women. *J. Clin. Virol.* 2000; 16(3): 149–57. [https://doi.org/10.1016/s1386-6532\(99\)00086-4](https://doi.org/10.1016/s1386-6532(99)00086-4).
19. Ohashi M., Yoshikawa T., Ihira M. Reactivation of human herpesvirus 6 and 7 in pregnant women. *J. Med. Virol.* 2002; 67(3): 354–8. <https://doi.org/10.1002/jmv.10083>.
20. Coulam C.B., Bilal M., Salazar Garcia M.D. Prevalence of HHV-6 in endometrium from women with recurrent implantation failure. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2018; 80(1): e12862. <https://doi.org/10.1111/aji.12862>.
21. Maeda T., Okuno T., Hayashi K., Miyamoto H., Utsunomiya A., Yamada Y., et al. Abortion in human herpesvirus 6 DNA-positive pregnant women. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1997; 16(12): 1176–7. <https://doi.org/10.1097/00006454-199712000-00014>.
22. Cone R.W., Huang M.L., Ashley R., Corey L. Human herpesvirus 6 DNA in peripheral blood cells and saliva from immunocompetent individuals. *J. Clin. Microbiol.* 1993; 31(5): 1262–7. <https://doi.org/10.1128/JCM.31.5.1262-1267.1993>.
23. Melekhina E.V., Cherkasova S.V., Domonova E.A., Sil'veystrova O.Yu., Kuleshov K.V., Goptar' I.A., et al. Inherited Human betaherpesvirus 6B chromosomal integration in preterm infants. *Pediatriya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo.* 2019; 98(2): 28–34. <https://doi.org/10.24110/0031-403X-2019-98-2-28-34> (in Russian).
24. Tsinzerling V.A., Mel'nikova V.F. *Perinatal Infections. Practical Guide [Perinatal'nye infektsii. Prakticheskoe rukovodstvo]*. St. Petersburg: Elbi-SPb; 2002 (in Russian).
25. Makarov O.V., Koval'chuk L.V., Gankovskaya L.V., Bakhareva I.V., Gankovskaya O.A. *Miscarriage, Infection, Innate Immunity [Nevynashivanie beremennosti, infektsiya, vrozhdennyi immunitet]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2007 (in Russian).
26. Weisblum Y., Panet A., Zakay-Rones Z., Vitenshtein A., Haimov-Kochman R., Goldman-Wohlet D. et al. Human cytomegalovirus induces a distinct innate immune response in the maternal-fetal interface. *Virology.* 2015; 485: 289–96. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.06.023>.
27. Oliveira G.M., Pascoal-Xavier M.A., Moreira D.R., Guimarães V.S., Aguiar R.A., Miranda D.M., et al. Detection of cytomegalovirus, herpes virus simplex, and parvovirus b19 in spontaneous abortion placentas. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2019; 32(5): 768–75. <https://doi.org/10.1080/14767058.2017.1391778>.
28. Giakoumelou S., Wheelhouse N., Cuschieri K., Entrican G., Howie S.E., Horne A. The role of infection in miscarriage. *Hum. Reprod. Update.* 2016; 22(1): 116–33. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv041>.
29. Volodin N.N. Perinatology. Historical background and prospects of development. *Voprosy prakticheskoi pediatrii.* 2006; 1(3): 5–24 (in Russian).
30. Haahr T., Humaidan P., Elbaek H.O. Vaginal microbiota and in vitro fertilization outcomes: development of a simple diagnostic tool to predict patients at risk of a poor reproductive outcome. *J. Infect. Dis.* 2019; 219(11): 1809–17. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy744>.
31. Cheshik S.G., Kisteneva L.B. Human cytomegalovirus infection and spontaneous abortion in pregnant women of I and II trimester. *Voprosy virusologii.* 2016; 61(2): 74–8. <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2016-61-2-74-78> (in Russian).
32. Sidel'nikova V.M., Khodzhaeva Z.S., Agadzhanova A.A. *Actual Issues of Miscarriage [Aktual'nye voprosy nevnashivaniya beremennosti]*. Moscow: 2001 (in Russian).
33. Shi T.L., Huang L.J., Xiong Y.Q., Zhong Y.Y., Yang J.J., Fu T., et al. The risk of herpes simplex virus and human cytomegalovirus infection during pregnancy upon adverse pregnancy outcomes: A meta-analysis. *J. Clin. Virol.* 2018; 104: 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2018.04.016>.
34. Wylie K.M., Wylie T.N., Cahill A.G. The vaginal eukaryotic DNA virome and preterm birth. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2018; 219(2): 189.e1-12. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2018.04.048>.
35. Eskew A.M., Stout M.J., Bedrick B.S., Riley J.K., Omurtag K.R., Jimenez P.T., et al. Association of the eukaryotic vaginal virome with prophylactic antibiotic exposure and reproductive outcomes in a subfertile population undergoing in vitro fertilisation: a prospective exploratory study. *BJOG.* 2020; 127(2): 208–16. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.15951>.
36. Mascarenhas M.N., Cheung H., Mathers C.D., Stevens G.A. Measuring infertility in populations: constructing a standard definition for use with demographic and reproductive health surveys. *Popul. Health Metr.* 2012; 10(1): 17. <https://doi.org/10.1186/1478-7954-10-17>.
37. Medvedev B.I., Zaynetdinova L.F., Teplova S.N. Microflora of reproductive system in women with tubal-peritoneal sterility. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2008; 85(3): 58–61 (in Russian).
38. Wylie K.M., Mihindukulasuriya K.A., Zhou Y., Sodergren E., Storch G.A., Weinstock G.M. Metagenomic analysis of double-stranded DNA viruses in healthy adults. *BMC Biol.* 2014; 12: 71. <https://doi.org/10.1186/s12915-014-0071-7>.
39. Eskew A.M., Stout M.J., Bedrick B.S., Riley J.K., Omurtag K.R., Jimenez P.T., et al. Association of the eukaryotic vaginal virome with prophylactic antibiotic exposure and reproductive outcomes in a subfertile population undergoing in vitro fertilisation: a prospective exploratory study. *BJOG.* 2020; 127(2): 208–16. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.15951>.
40. Abdulmedzhidova A.G., Rog K.V., Zavalishina L.E., Kushch A.A. Intrafollicular infection of mammals and human oocytes by the herpes simplex virus. *Voprosy virusologii.* 2014; 59(1): 42–6 (in Russian).
41. Harwani S.C., Lurain N.S., Zariffard M.R., Spear G.T. Differential inhibition of human cytomegalovirus (HCMV) by toll-like receptor ligands mediated by interferon-beta in human foreskin fibroblasts and cervical tissue. *Viol. J.* 2007; 4: 133. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-4-133>.
42. Ross S.A., Boppana S.B. Congenital cytomegalovirus infection: outcome and diagnosis. *Semin. Pediatr. Infect. Dis.* 2005; 16(1): 44–9. <https://doi.org/10.1053/j.spid.2004.09.011>.
43. Zariffard M.R., Harwani S.C., Novak R.M., Graham P.J., Ji X., Spear G.T. Trichomonas vaginalis infection activates cells through toll-like receptor 4. *Clin. Immunol.* 2004; 111(1): 103–7. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2003.12.008>.
44. Shin H., Kumamoto Y., Gopinath S., Iwasaki A. CD301b⁺ dendritic cells stimulate tissue-resident memory CD8⁺ T cells to protect against genital HSV-2. *Nat. Commun.* 2016; 7: 13346. <https://doi.org/10.1038/ncomms13346>.
45. Patel C.D., Backes I.M., Taylor S.A., Jiang Y., Marchant A., Pesola J.M., et al. Maternal immunization confers protection against neonatal herpes simplex mortality and behavioral morbidity. *Sci. Transl. Med.* 2019; 11(487): eaau6039. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aau6039>.
46. Jenks J.A., Goodwin M.L., Permar S.R. The roles of host and viral antibody Fc receptors in herpes simplex virus (HSV) and human cytomegalovirus (HCMV) infections and immunity. *Front. Immunol.* 2019; 10: 2110. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02110>.
47. Posavad C.M., Zhao L., Mueller D.E., Stevens C.E., Huang M.L., Wald A., et al. Persistence of mucosal T-cell responses to herpes simplex virus type 2 in the female genital tract. *Mucosal Immunol.* 2015; 8(1): 115–26. <https://doi.org/10.1038/mi.2014.47>.
48. Schiffer J.T., Abu-Raddad L., Mark K.E. Mucosal host immune response predicts the severity and duration of herpes simplex virus-2 genital tract shedding episodes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010; 107(44): 18973–8. <https://doi.org/10.1073/pnas.1006614107>.
49. Oh J.E., Iijima N., Song E., Lu P., Klein J., Jiang R., et al. Migrant memory B cells secrete luminal antibody in the vagina. *Nature.* 2019; 571(7763): 122–6. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1285-1>.
50. Truong N.R., Smith J.B., Sandgren K.J., Cunningham A.L. Mechanisms of immune control of mucosal HSV infection: a guide to rational vaccine design. *Front. Immunol.* 2019; 10: 373. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00373>.
51. Ospel'nikova T.P., Noseikina E.M., Gayderova L.A., Ershov F.I. Therapeutic potential of alpha-interferon preparations during socially-significant human diseases of viral etiology. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2016; 93(5): 109–21 (in Russian).
52. Srivastava R., Roy S., Coulon P.G., Vahed H., Prakash S., Dhanushkodi N., et al. Therapeutic mucosal vaccination of herpes simplex virus 2-infected guinea pigs with ribonucleotide reductase 2 (RR2) protein boosts antiviral neutralizing antibodies and local tissue-resident CD4⁺ and CD8⁺ T_{RM} cells associated with protection against recurrent genital herpes. *J. Virol.* 2019; 93(9): e02309-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.02309-18>.
53. Hsu P.D., Lander E.S., Zhang F. Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. *Cell.* 2014; 157(6): 1262–78. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.05.010>.
54. Bi Y., Sun L., Gao D., Ding C., Li Z., Li Y., et al. High-efficiency targeted editing of large viral genomes by RNA-guided nucleases. *PLoS Pathog.* 2014; 10(5): e1004090. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004090>.
55. Karpov D.S., Karpov V.L., Klimova R.R., Demidova N.A., Kushch A.A. A plasmid-expressed CRISPR/Cas9 system suppresses replication of HSV type 1 in a Vero cell culture. *Molekulyarnaya biologiya.* 2019; 53(1): 91–100. <https://doi.org/10.1134/S0026898419010051> (in Russian).

Прижизненная диагностика прионных болезней

Кальнов С.Л.¹, Верховский О.А.², Цибезов В.В.¹, Алексеев К.П.¹, Чудакова Д.А.³, Филатов И.Е.¹, Гребенникова Т.В.¹

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

²АНО «Научно-исследовательский институт диагностики и профилактики болезней человека и животных», 123098, Москва, Россия;

³Школа биологических наук, Оклендский университет, Окленд 1010, Новая Зеландия

В обзоре представлено современное состояние проблемы диагностики прионных болезней (ПБ) человека и животных с кратким описанием их этиологии и патогенеза. Показано, что понимание природы этиологического агента ПБ определило их зоонозный потенциал и привело к развитию высокоспецифичных иммунологических методов диагностики, направленных на выявление инфекционной изоформы прионного белка (PrP^d) как единственного маркера заболевания. В этой связи кратко приведены результаты исследований, включая собственные, касающиеся конверсии нормальных молекул прионного белка (PrP^c) в PrP^d, получения моноклональных антител (МКАТ) и их апробации в качестве иммунодиагностических реагентов для посмертного выявления PrP^d в различных форматах иммуноанализа. Особо выделен вопрос, связанный с разработкой методов прижизненной диагностики ПБ. В связи с этим подробно рассматривается методика амплификации аминокислотных последовательностей с использованием индуцированной вибрацией конверсии PrP^c в PrP^d в режиме реального времени (ИВК-РВ). Приводятся результаты последних исследований по оценке чувствительности, специфичности и воспроизводимости данного метода, проведённых в различных лабораториях мира. Полученные данные свидетельствуют о том, что ИВК-РВ в настоящее время является наиболее перспективным лабораторным методом исследования для выявления PrP^d в биологическом материале на доклинической стадии заболевания. Отмечен значительный вклад учёных США во внедрение данной методики в клиническую практику на модели диагностики хронической изнуряющей болезни диких копытных (ХИБ). Возможное дальнейшее распространение ХИБ в популяциях лосей и оленей на межграницных с Россией территориях, также как и установленный факт алиментарной передачи ХИБ макакам, свидетельствуют об угрозе появления ПБ в нашей стране. В заключение подчеркнута важность разработки новых сверхчувствительных и/или селективных компонентов известных методов идентификации PrP^d с точки зрения оценки рисков создания искусственных инфекционных прионных белков *in vivo* или *in vitro*, прежде всего новых патогенных изоформ («штаммов») и синтетических прионов.

Ключевые слова: прионные болезни; инфекционный прионный белок PrP^d; белковая амплификация; метод ИВК-РВ; хроническая изнуряющая болезнь диких копытных (ХИБ).

Для цитирования: Кальнов С.Л., Верховский О.А., Цибезов В.В., Алексеев К.П., Чудакова Д.А., Филатов И.Е., Гребенникова Т.В. Прижизненная диагностика прионных болезней. *Вопросы вирусологии*. 2020; 65(6): 326-334. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-6-3>

Для корреспонденции: Гребенникова Татьяна Владимировна – д-р биол. наук, профессор, чл.-корр. РАН, заведующая лабораторией молекулярной диагностики ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. E-mail: t_grebennikova@mail.ru

Участие авторов: Кальнов С.Л. – написание текста, сбор и обработка материалов; Цибезов В.В. – экспериментальные исследования; Алексеев К.П. – написание текста, экспериментальные исследования; Филатов И.Е. – экспериментальные исследования; Гребенникова Т.В. – резюме, заключение, общая редакция; Верховский О.А. – написание текста, сбор и обработка материалов; Чудакова Д.А. – сбор и обработка материалов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 23.10.2020

Принята в печать 12.11.2020

Problems of ante mortem diagnostics of prion diseases

Sergey L. Kal'nov¹, Oleg A. Verkhovsky², Valery V. Tsibezov¹, Konstantin P. Alekseev¹, Daria A. Chudakova³, Ilya E. Filatov¹, Tatyana V. Grebennikova¹

¹FSBI «National Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya» of the Ministry of Health of Russia, 123098, Moscow, Russia;

²ANO «Diagnostic and Prevention for Human and Animal Diseases Research Institute», Moscow, 123098, Russia;

³School of Biological sciences, University of Auckland, Auckland 1010, New Zealand

The review presents the state-of-the-art on the problem of diagnosis of prion diseases (PD) in humans and animals with a brief description of their etiology and pathogenesis. We pointed out that understanding the nature of the etio-

logical agent of PD determined their zoonotic potential and led to the development of highly specific immunological diagnostic methods aimed at identifying the infectious isoform of prion protein (PrP^d) as the only marker of the disease. In this regard, we briefly summarize the results of studies, including our own, concerning the conversion of normal prion protein molecules (PrP^c) to PrP^d, the production of monoclonal antibodies and their application as immunodiagnostic reagents for the post-mortem detection of PrP^d in various formats of immunoassay. We also emphasize the issues related to the development of methods for ante mortem diagnostics of PD. In this regard, a method for amplifying amino acid sequences using quacking-induced conversion of PrP^c to PrP^d in real time (RT-QuIC) described in details. The results of recent studies on the assessment of the sensitivity, specificity and reproducibility of this method, carried out in various laboratories around the world, are presented. The data obtained indicate that RT-QuIC is currently the most promising laboratory assay for detecting PrP^d in biological material at the preclinical stage of the disease. The significant contribution of US scientists to the introduction of this method into clinical practice on the model of diagnosis of chronic wasting disease of wild *Cervidae* (CWD) is noted. The possible further spread of CWD in the population of moose and deer in the territories bordering with Russia, as well as the established fact of alimentary transmission of CWD to macaques, indicate the threat of the appearance of PD in our country. In conclusion, the importance of developing new hypersensitive and/or selective components of known methods for PrP^d identification from the point of view of assessing the risks of creating artificial infectious prion proteins *in vivo* or *in vitro*, primarily new pathogenic isoforms ("strains") and synthetic prions, was outlined.

Keywords: prion diseases; infectious prion protein PrP^d; protein amplification; RT-QuIC; chronic wasting disease (CWD).

For citation: Kal'nov S.L., Verkhovsky O.A., Tsibezov V.V., Alekseev K.P., Chudakova D.A., Filatov I.E., Grebennikova N.V. Problems of ante mortem diagnostics of prion diseases. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2020; 65(6): 326-334. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-6-3>

For correspondence: Tatyana V. Grebennikova, Ph.D., D.Sci. (Biol.). Prof., Corresponding Member of RAS, Head of Laboratory, FSBI «National Research Center of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya» of the Ministry of Health of the Russia. E-mail: t_grebennikova@mail.ru

Information about authors:

Kal'nov S.L., <https://orcid.org/0000-0002-3130-4790>
 Verkhovsky O.A., <https://orcid.org/0000-0003-0784-9341>
 Tsibezov V.V., <https://orcid.org/0000-0003-2150-5764>
 Alekseev K.P., <https://orcid.org/0000-0001-9536-3127>
 Chudakova D.A., <https://orcid.org/0000-0002-9354-6824>
 Filatov I.E., <https://orcid.org/0000-0001-5274-224X>
 Grebennikova T.V., <https://orcid.org/0000-0002-6141-9361>

Contribution: Kalnov S.L. – writing of the text, collection and processing of materials; Tsibezov V.V. – experimental studies; Alekseev K.P. – writing of the text, Filatov I.E. – experimental studies; Grebennikova T.V. – conclusion, summary, general edition; Verkhovsky O.A. – writing of the text, collection and processing of materials; Chudakova D.A. – collection and processing of materials.

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

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

Received 23 October 2020
 Accepted 12 November 2020

Согласно существующей классификации прионные болезни (ПБ) человека и животных, патогенетически объединённые в понятие «трансмиссивные губкообразные энцефалопатии», относят к большой группе амилоидозов, основным патогномичным признаком которых является образование так называемых амилоидных бляшек, или амилоида. Главным его компонентом являются фибриллы – нитевидные структуры, формируемые одним из белков поражённого организма, изменившим свою нативную конформацию и приобретшим способность к агрегации, а также высокую устойчивость к клеточным протеазам [1–3]. Природа этиологического агента ПБ на модели скрепи овец была расшифрована в результате исследований нобелевского лауреата Стенли Бенджамина Прузинера (Stanley Benjamin Prusiner), который доказал инфекционность единственного белка организма, полностью лишённого нуклеиновых кислот и кодируемого клеточным геномом [4]. Исследователь назвал этот агент прионом (PrP). Возникновение ПБ связано с изменением пространственной структуры гликопротеина клеточ-

ной мембраны PrP^c, приводящим к его переходу в патогенную изоформу (PrP^d), способную, в свою очередь, вызывать конформационную перестройку в других контактирующих с ней молекулах PrP^c. Таким образом, события, происходящие при развитии данных заболеваний, представляются аналогичными цепным автокаталитическим реакциям [5, 6].

Следует подчеркнуть, что аминокислотные последовательности PrP^c и PrP^d абсолютно идентичны, однако вследствие такого конформационного перехода изменяются структура и свойства молекулы. Так, во вторичной структуре функционирующей молекулы PrP^c преобладают α-спиральные участки – в их состав включено около 40% аминокислотных остатков, тогда как β-слои практически отсутствуют (3%). Для PrP^d характерно увеличенное содержание β-структур (более 40%), состоящих из большого количества аминокислотных остатков, ранее находившихся в составе спиралей, а также образование в различных областях головного мозга агрегатов в виде спирализованных фибрилл, называемых также скре-

пи-ассоциированными фибриллами (САФ) [7–10]. К наиболее изученным ПБ животных относят скрепи овец, губкообразную энцефалопатию крупного рогатого скота (ГЭ КРС), хроническую изнуряющую болезнь диких копытных (ХИБ); у человека – болезнь Крейтцфельдта–Якоба (БКЯ) и её новый вариант (нвБКЯ), синдром Герстманна–Штройслера–Шейнкера (ГШШ), куру и смертельную семейную бессоницу. Некоторые из ПБ могут быть связаны с несколькими субтипами или штаммами приона, которые различаются полиморфизмом в гене, кодирующем PrP^c, трансмиссивностью, клиническими проявлениями, характерными нейропатологическими изменениями и/или биохимическими особенностями патогенной формы белка PrP^d [11]. Различают наследственную, спорадическую и инфекционную формы ПБ, при этом большую часть случаев у человека (около 85%) относят к спорадическим. Инфекционная форма характеризуется меж- и внутривидовой трансмиссией и вызывается проникновением в организм аномальных изоформ приона, инициирующих конформационные изменения PrP^c организма-реципиента.

Патогенез рассматриваемых заболеваний включает в себя деградацию нейронов, пролиферацию астроцитов и клеток микроглии, накопление PrP^d в различных отделах головного мозга, что клинически проявляется в виде быстро прогрессирующей деменции, церебральной атаксии и заканчивается 100%-ным летальным исходом [12–13]. Для некоторых ПБ характерно накопление PrP^d в периферической нервной системе или лимфоидных органах; последний вариант характерен для выделенных от нескольких видов оленей штаммов ХИБ [14]. Так, во время продолжающейся вспышки ХИБ в Норвегии из 19 животных в провинции Nordfjella все оказались положительными по PrP^d в лимфоидных тканях и только у 10 из них он был обнаружен в центральной нервной системе. Высокая степень накопления PrP^d в лимфоидных органах, характерная для некоторых штаммов ХИБ, вероятно, является причиной высокой контагиозности и трансмиссивности ХИБ у оленей [15].

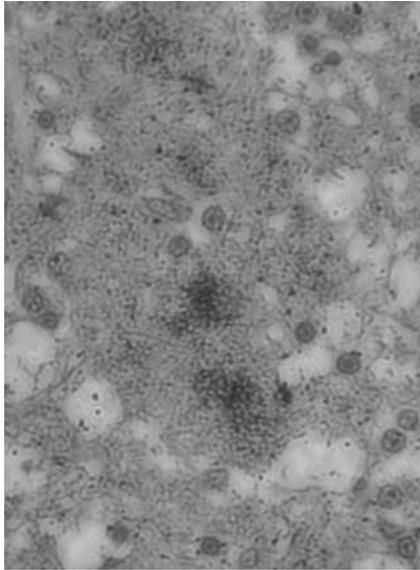
Начиная с 80-х гг. прошлого века и по настоящее время многие аспекты этиологии и патогенеза ПБ, методология выявления и молекулярно-биологические особенности прионных белков были подробно описаны в зарубежной и отечественной литературе [12, 16–17]. В нашей стране в изучение этих заболеваний у животных большой вклад внесли учёные и специалисты ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко РАН» (ВИЭВ) и ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ВНИИЗЖ) [18–22]. Позднее, в рамках осуществления международных проектов, коллектив учёных из НПО «Нарвак», НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского, ГНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии» (ВНИИВиМ) и ФГБУ «ВНИИЗЖ» при участии коллег из Республики Беларусь выполнил ряд исследований по получению и характеристике рекомбинантных прионных

белков, получению моноклональных антител (МКАТ) и их апробации в качестве иммунодиагностических реагентов для посмертного выявления PrP^d животных и человека (рис. 1 а, б) [23–27].

Несмотря на то что многие вопросы, связанные с ПБ, уже достаточно хорошо изучены, некоторые из них остаются в поле зрения профильных специалистов. Это, во-первых, отсутствие средств терапии и профилактики; во-вторых, проблемы, связанные с прижизненной диагностикой болезней. На сегодняшний день все валидированные и узаконенные методы диагностики ПБ (помимо биопробы) направлены на посмертное исследование тканей головного или спинного мозга гистологическим, иммуногистохимическим (ИГХ), иммуноферментным (ИФА), иммунохроматографическим (ИХМ) методами и иммуноблоттингом (ИБ). При этом единственным реагентом, пригодным для выявления PrP^d как единственного маркера болезни, в вышеописанных форматах иммунологического анализа являются МКАТ, от свойств которых зависят чувствительность и специфичность исследований. Впервые прижизненный (преклинический) тест для обнаружения PrP^d скрепи в периферической лимфоидной ткани был разработан на основе ИГХ К. О’Rourke с соавт. [28–29]. Эта уникальная методика позволяет выявлять PrP^d в так называемом третьем веке – лимфоидном органе инфицированной овцы за месяцы или годы до появления первых клинических признаков заболевания. Внедрение данного метода позволило осуществлять мониторинг скрепи среди поголовья живых овец и отбирать клинически здоровых взрослых особей для племенных целей. Кроме этого, этими авторами посредством типирования гена *PRNP* были выделены группы риска для скрепи, что также было использовано для селекции устойчивой к данной патологии популяции овец и коз [30]. В настоящее время подтверждена возможность детекции PrP^d в лимфоидных узлах, пейеровых бляшках, миндалинах, аппендиксе, третьем веке, что позволяет в ряде случаев выявить болезнь у животных и человека на доклинической стадии [31–32]. Необходимо подчеркнуть, что успех применения ИГХ-анализа в значительной степени зависит от качества подготовки исследуемого материала и используемых антител.

В последние годы появляются варианты методов фактически прижизненной диагностики, столь необходимые в первую очередь для человека. Среди большого количества прототипов таких тест-систем следует выделить 2 наиболее перспективных, в основе которых лежит единый принцип белковой амплификации. Как только идея о белковой природе возбудителя ПБ была в целом принята научным сообществом, начался поиск возможностей воспроизведения наблюдаемой *in vivo* конверсии клеточной формы прионного белка PrP^c в патогенную PrP^d при взаимодействии с патогенной затравкой. Первым в 2001 г. был разработан метод циклической амплификации патогенной изоформы приона (циклическая амплификация мисфолдинга белка, ЦАМБ) на субстрате гомогената моз-

a/a



b/b

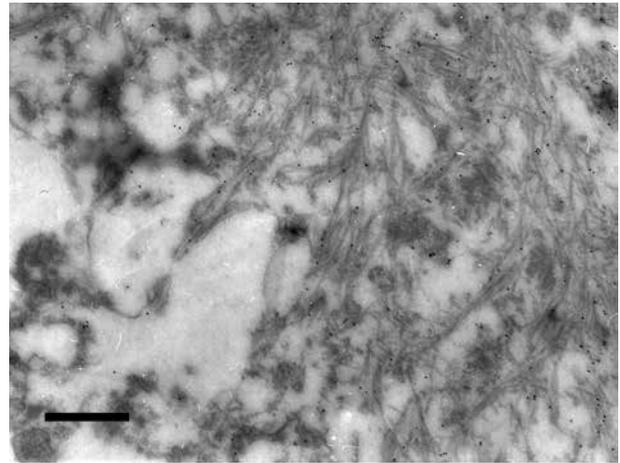


Рис. 1. Выявление PrP^d в тканях головного мозга человека методами ИГХ и иммунной электронной микроскопии [26].

a: Иммуногистохимическое окрашивание препарата полутонкого среза мозга человека (область мозжечка) больного нВБКЯ после обработки МКАТ 2С8. Наблюдаются обширная вакуолизация тканей и визуализация PrP^d в составе амилоидных бляшек в виде окрашенных темных скоплений. Увеличение $\times 600$.
б: Электронограмма этого же препарата после обработки МКАТ 2С8 и вторичными антителами к IgG человека, конъюгированными частицами коллоидного золота диаметром 10 нм. Результат связывания МКАТ 2С8 с агрегатами PrP^d, формирующими САФ в вакуолизированной ткани мозга. Размер линии – 500 нм. Увеличение $\times 20\ 000$.

Fig. 1. Identification of PrP^d in human brain tissue by IGC and immune electron microscopy [26].

a: Immunohistochemical staining of the preparation of a half-thin slice of the human brain (cerebellum area) of a patient with vCJD after treatment with MCAT 2С8. There are extensive tissue vacuolization and visualization of PrP^d in amyloid plaques in the form of painted dark clusters. Magnification $\times 600$.
b: Electronogram of the same preparation after treatment with MCAT 2С8 and secondary antibodies to human IgG by conjugated colloidal gold particles with a diameter of 10 nm. The result of binding MCAT 2С8 with PrP^d units which form SAF in the vacuolized brain tissue. The line size is 500 nm. Magnification $\times 20\ 000$.

га хомяка, содержащего клеточную изоформу приона PrP^c, путём её конверсии в аномальную изоформу *in vitro* [33]. Данный способ, получивший название метода белковой конверсии (Protein misfolding assay, РМА; Protein misfolding cyclic amplification, РМСА), основан на схожем с методикой полимеразной цепной реакции (ПЦР) принципе: если в образце присутствует (даже в ничтожно малых количествах) PrP^d, то при добавлении в образец PrP^c происходит конверсия последней в PrP^d. Агрегаты PrP^d подвергаются фрагментации/соникации, и образовавшиеся в результате этого его фрагменты, в свою очередь, служат матрицей для конверсии PrP^c в PrP^d. Таким образом, в результате циклической амплификации содержание PrP^d в образце многократно возрастает, а результаты реакции оценивают методом ИБ по конечной точке. Эта методика применима для обнаружения PrP^d не только в тканях мозга, но и в крови [34]. Одним из её недостатков является возможность спонтанной конверсии субстрата в амилоидную форму в образцах, не содержащих PrP^d. Кроме того, существенным отрицательным моментом является необходимость использования в качестве субстрата гомогената мозга, что накладывает на ЦАМБ как этические, так и связанные с вопросами биобезопасности ограничения.

Дальнейшим усовершенствованием ЦАМБ стало использование рекомбинантного белка в качестве субстрата конверсии, что частично устраняло

эти недостатки. В результате была разработана новая технология, названная методом амплификации аминокислотных последовательностей с использованием индуцированной вибрацией конверсии PrP^c в PrP^d (индуцированная вибрацией конверсия, ИВК; quaking-induced conversion, QuIC) [35]. Модификацией методики ИВК стала возможность детекции накопления амилоидной формы белка в режиме реального времени (ИВК-РВ; quaking-induced conversion real time, QuIC-RT) [36]. В настоящее время ИВК-РВ является одним из самых перспективных подходов к обнаружению PrP^d и наиболее подходящей диагностической процедурой для использования в повседневной клинической практике с целью выявления сверхмалых концентраций PrP^d в образце. Метод отличают простота, воспроизводимость, возможность исследовать большие объёмы материала, что важно при мониторинговых исследованиях. Вместо обработки ультразвуком используется периодическое встряхивание планшета с образцами; единственным прибором для регистрации результатов реакции является термостабируемый плащечный флуориметр, подключённый к персональному компьютеру. Благодаря использованию флуоресцентного красителя тиофлавина Т (ThT), избирательно связывающегося с амилоидной формой прионного белка, наблюдение за конверсией субстрата возможно в реальном времени, что позволяет оценить относительное содержание PrP^d в исследуе-

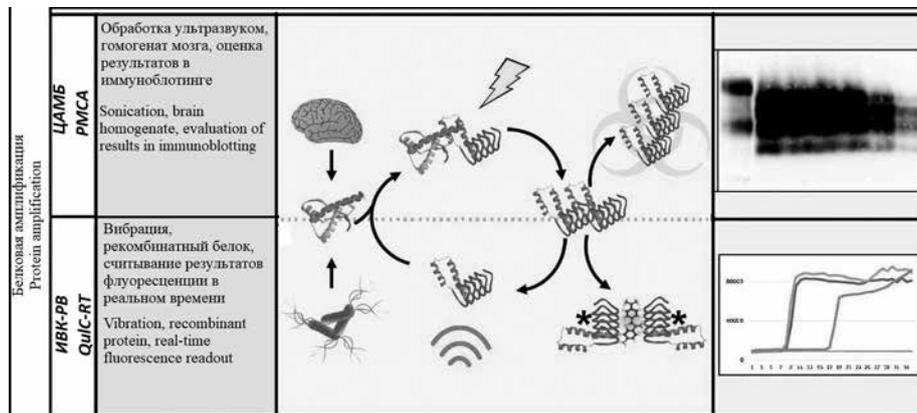


Рис. 2. Методология постановки и проведения реакций ЦАМБ и ИВК-РВ.

Fig. 2. Methodology of staging and conducting of PMCA and QuIC-RT reactions.

мых образцах (рис. 2). По чувствительности ИВК-РВ оказалась сравнимой с биопробой на восприимчивых животных; линейный диапазон чувствительности метода оценивают в 10^{-3} – 10^{-8} мкг PrP^d [37–38]. Экспериментальные данные, полученные с использованием разных субстратов, показали, что прионы некоторых видов животных могут подвергаться конверсии под воздействием достаточно широкого спектра известных природных штаммов PrP^d. Это обстоятельство диктовало необходимость поиска универсального субстрата конверсии, каковым оказалась прион рыжей полёвки (*Myodes glareolus*). Далее было установлено, что её рекомбинантный PrP^c способен к конверсии под воздействием всех известных к настоящему времени штаммов PrP^d [39].

Результат реакции ИВК-РВ позволяет в реальном времени анализировать флуоресцентную эмиссию после серии циклов встряхивания; этот процесс подобен протеканию удалит количественной ПЦР-РВ. В современной практике метод применяется для выявления PrP^d не только в гомогенатах мозговых тканей: он адаптирован также для исследования спинномозговой жидкости, слюны и мочи оленей, заражённых ХИБ [40–41]. На протяжении последних лет опубликовано много работ по сравнительной оценке методик ЦАМБ и ИВК-РВ при выявлении PrP^d в различных тканях и биологических жидкостях человека и животных (ликворе, крови, моче, слюне, фекалиях, назальных смывах и др.) с целью диагностики БКЯ, нвБКЯ, ГЭ КРС, скрепи овец и ХИБ оленей (*Cervidae*). Например, чувствительность ИВК-РВ при выявлении PrP^d в тканях мозга коз в 10 000 раз превышала аналогичный показатель, установленный для ИБ и ИФА [38]. Недавно представлены данные об успешном прижизненном обнаружении PrP^d при помощи ИВК-РВ в коже человека и животных [42]. Результаты исследований на БКЯ человека показали, что чувствительность метода ИВК-РВ составляет 73–96%, а специфичность достигает 100%. В ряде случаев при изучении спинномозговой жидкости и назальных смывов от людей с клиническими признаками sporadicческой БКЯ показатели чувствитель-

ности и специфичности рассматриваемой методики составили 100%. Такие же высокие значения этих характеристик установлены при исследовании оленей и лосей на ХИБ, в то время как в ходе обследования людей в отношении нвБКЯ, синдромов ГШШ и фатальной семейной бессонницы величины были ниже [43].

Первые результаты по воспроизводимости методики ИВК-РВ также были обнадеживающими. Так, 25 образцов спинномозговой жидкости, в которой присутствовал PrP^d, были протестированы в 11 исследовательских центрах, причём в качестве субстрата использовались различные рекомбинантные PrP^c; оборудование для проведения анализа также было различным. Несмотря на это, данные, полученные в разных лабораториях, почти полностью совпадали [44]. Высокая воспроизводимость результатов, полученных с помощью ИВК-РВ, была подтверждена в ещё одном исследовании на БКЯ [45]. В последние годы эта реакция достаточно широко используется научными лабораториями, занимающимися диагностикой ПБ человека и животных, и является наиболее перспективным способом прижизненной диагностики ПБ с точки зрения разработки коммерческой тест-системы [46]. Рядом учреждений ведутся целенаправленные работы для стандартизации компонентов и протоколов, оценки чувствительности и специфичности ИВК-РВ на охарактеризованной панели образцов [47]. В этой связи необходимо отметить значительный вклад в разработку и усовершенствование этой методики американских исследователей, занимающихся проблемой контроля и мониторинга ХИБ. Распространение этой высококонтагиозной и трансмиссивной формы ПБ оленей на значительной части территории США и Канады происходит из очага, обнаруженного в 60-е гг. прошлого столетия в Колорадо, нанося при этом большой экономический ущерб разводящим оленей коммерческим ранчо [46]. До недавнего времени ХИБ оставалась эндемичной для Северной Америки, однако в 2016 г. вспышка болезни независимого происхождения произошла среди северных оленей в Норвегии [48], и, несмотря на

попытки локализовать и ликвидировать очаг, заболевание продолжает распространяться в популяции животных и в настоящее время. Одновременно с этим многолетние исследования по оценке возможности заражения ХИБ макак алиментарным путём дали положительный результат [49].

Рядом исследователей делались попытки увеличить чувствительность ИВК-РВ, добавляя дополнительные этапы при постановке реакции. В частности, для усиления конверсии были разработаны методики, сочетающие ИВК-РВ с иммунопреципитацией [50] и магнитной экстракцией, при которой происходит осаждение агрегатов PrP^d при помощи магнитного захвата оксидом железа [51]. Однако эти этапы существенно осложняют проведение реакции и зачастую не приводят к желаемым результатам.

Таким образом, необходимость определения сверхнизких летальных концентраций PrP^d на доклинической стадии болезни в крови и других биологических жидкостях организма животных и человека стимулировала во всех областях науки интенсивное развитие принципиально новых методов изучения возбудителей особо опасных и редких инфекций. Среди множества потенциальных разработок в области прижизненной диагностики ПБ в настоящее время наиболее перспективным с точки зрения внедрения в лабораторную практику является метод ИВК-РВ. Он апробирован во многих лабораториях для исследований различного биологического материала от человека и животных на доклинической стадии ПБ и становится перспективным и безопасным для операторов. К одной из основных проблем его использования относится невозможность верифицировать и подтвердить амплификацию прионов известными традиционными методиками (ИФА, ИГХ, ИБ и т.п.), учитывая, что необходимый уровень детекции должен составлять аттограммы вещества ($1 \text{ аг} = 10^{-18} \text{ г}$) PrP^d. Кроме того, отсутствует единый регламент приготовления субстрата реакции, что приводит к ошибкам при сопоставлении результатов, полученных разными лабораториями. Вместе с тем в настоящее время продолжается работа по созданию унифицированных позитивных и негативных стандартов, важность которой сложно переоценить. Так, N.J. Haley с соавт. (2018) в своём обзоре подчёркивают, что для эффективной реализации метода ИВК-РВ необходима унификация 2 принципиально различных контролей: технических (в том числе положительный и отрицательный гомогенаты мозга, а также субстрат для амплификации) и матрикс-специфических биологических контролей, полученных из репрезентативных положительных и отрицательных источников: целевые ткани, биологические жидкости и образцы объектов окружающей среды. Эти же исследователи отмечают, что уже имеется возможность стандартизации рекомбинантного PrP^c-субстрата, дополнительно обеспечивающая лучшую воспроизводимость результатов при постановке реакции в различных лабораторных учреждениях [52].

Значимой проблемой при рутинных исследованиях полевых образцов в существующих лабораторных

системах ИВК-РВ остаётся дискриминация слабоположительных образцов с низким содержанием PrP^d и случаев спонтанной конверсии субстрата. Помимо этого, серьёзное препятствие для перехода процедуры ИВК-РВ из научных учреждений в диагностические подразделения заключается в отсутствии неинфекционного положительного контроля реакции. Наряду с этим продолжают поиски оптимальных условий и подходов к её постановке, которые позволили бы увеличить специфичность метода [53].

В настоящее время исследования в области разработки новых сверхчувствительных и/или селективных компонентов известных методик идентификации прионов и других этиологических агентов «конформационных» заболеваний представляют особую важность с точки зрения оценки рисков, возникающих в последние годы при создании искусственных, в том числе инфекционных прионных белков *in vitro* в ряде лабораторий. Об опасных вариантах появления в ходе подобных экспериментов патогенных прионных изоформ и спонтанно возникающих для них «новых» межвидовых барьеров типа животное–животное, животное–человек одними из первых предупреждали специалисты лабораторий переливания крови «Красного Креста» США, отвечающие за трансфузионную безопасность у людей. В первую очередь эти опасения были связаны с методом ЦАМБ, использующим ультразвуковую дезинтеграцию полученных первичных комплексов для последующего масштабирования стартового количества исследуемого патогенного материала [54–55]. Подобные синтетические прионы, в том числе и изоформы прионного белка человека, уже получены в системах белковой амплификации. В описанном случае в качестве матрицы был использован рекомбинантный PrP^c, затравкой служила проба, полученная от человека со спорадической формой БКЯ, с добавлением в среду кофактора реакции – ганглиозида GM. Полученный синтетический прион оказался инфекционным для трансгенных мышей (PrP⁺) и вызывал у них неврологические расстройства после 224 и 459 дней эксперимента [56]. Аналогичные опыты проведены в отношении возбудителей ХИБ оленьих и нвБКЯ человека. В частности, Vargia M.A. с соавт. (2018) удалось *in vitro* методом ЦАМБ конвертировать PrP^c человека в его патогенную изоформу, используя прионы поражённых ХИБ оленей как матрицу для амплификации [57]. Исходя из этого современные методы автоматизированной амплификации прионных белков (прежде всего ЦАМБ) можно рассматривать как один из возможных путей возникновения новых патогенных изоформ («штаммов») прионов. К другим путям возможного происхождения различных «штаммов» PrP^d относят: природный (естественный); экспериментальный в опытах *in vivo* по межвидовой передаче PrP^d между животными (включая высших приматов) и в опытах *in vitro* – моделирование конверсии PrP^c в PrP^d, включая дальнейшую олигомеризацию мономеров прионных белков в полимерные структуры вплоть до получения протофибрилл и амилоидоподобных фибрилл, обла-

дающих свойством инфекционности [58]. Тем не менее вполне очевидно, что вышеописанные методики амплификации прионов не только внесут вклад в диагностику ПБ и будут способствовать улучшению понимания их патогенеза, но в будущем, возможно, смогут найти более широкое применение – например, для прижизненной диагностики других амилоидозов, обусловленных конформационными переходами белков при отличных от ПБ заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера и Паркинсона [59].

ЛИТЕРАТУРА

- Gambetti P., Russo C. Human brain amyloidosis. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1998; 13(Suppl. 7): 33–40. https://doi.org/10.1093/ndt/13.suppl_7.33.
- Lachmann H.J., Hawkins P.N. Systemic amyloidosis. *Curr. Opin. Pharm.* 2006; 6(2): 214–20. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2005.10.005>.
- McKinley M.P., Prusiner S.B. Ultrastructural Studies of Prions. In: Chesebro B.W., ed. *Transmissible Spongiform Encephalopathies: Current Topics in Microbiology and Immunology*. Berlin, Heidelberg: Springer; 1991. https://doi.org/10.1007/978-3-642-76540-7_5.
- Prusiner S.B. Novel proteinaceous infection particles cause scrapie. *Science.* 1982; 216(4542): 136–44. <https://doi.org/10.1126/science.6801762>.
- Laurent M. Autocatalytic processes in cooperative mechanisms of prion diseases. *FEBS Lett.* 1997; 407(1): 1–6. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(97\)00310-4](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(97)00310-4).
- Bieschke J., Weber P., Sarafoff N., Beekes M., Giese A., Kretzschmar H. Autocatalytic self-propagation of misfolded prion protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004; 101(33): 12207–11. <https://doi.org/10.1073/pnas.0404650101>.
- Harris D.A. Cellular biology of prion diseases. *Clin. Microbiol. Rev.* 1999; 12(3): 429–44.
- Hegde R.S., Mastrianni J.A., Scott M.R., DeFea K.A., Tremblay P., Torchia M., et al. A transmembrane form of the prion protein in neurodegenerative disease. *Science.* 1998; 279(5352): 827–34. <https://doi.org/10.1126/science.279.5352.827>.
- Mead S. Prion disease genetics. *Eur. J. Hum. Genet.* 2006; 14(3): 273–81. <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201544>.
- Bessen R.A., Kocisko D.A., Raymond G.J., Nandan S., Lansbury P.T., Caughey B. Non-genetic propagation of strain-specific properties of scrapie prion protein. *Nature.* 1995; 375(6533): 698–700. <https://doi.org/10.1038/375698a0>.
- Collinge J., Clarke A.R. A general model of prion strains and their pathogenicity. *Science.* 2007; 318(5852): 930–6. <https://doi.org/10.1126/science.1138718>.
- Prusiner S.B. Prions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998; 95(23): 13363–83. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.23.13363>.
- Baskakov I.V., Breydo L. Converting the prion protein: what makes the prion infectious. *Biochim. Biophys. Acta.* 2007; 1772(6): 692–703. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2006.07.007>.
- Benestad S.L., Telling G.C. Chronic wasting disease: an evolving prion disease of cervids. *Handb. Clin. Neurol.* 2018; 153: 135–51. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63945-5.00008-8>.
- Sakudo A. Chronic wasting disease: current assessment of transmissibility. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2020; 36: 13–22. <https://doi.org/10.21775/cimb.036.013>.
- Зуев В.А., Завалишин И.А., Ройхель В.М. Прионные болезни человека и животных. Руководство для врачей. М.: Медицина; 1999.
- Зуев В.А. Медленные инфекции человека и животных. *Вопросы вирусологии.* 2014; 59(5): 5–12.
- Надточей Г.А., Шубин В.А., Юров К.П., Коромыслов Г.Ф. Экспериментальные прионные инфекции у животных. *Труды Всероссийского НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.П. Коваленко.* 1999; 72: 299–305.
- Рыбаков С.С. *Скрепи и другие прионные болезни животных и человека.* Владимир: Фолиант; 2003.
- Рыбаков С.С. *Губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота.* Владимир: Фолиант; 2007.
- Надточей Г.А. Прионные инфекции: диагностика, профилактика и меры борьбы. *Бюллетень Всесоюзного ордена Ленина научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии им. Я.П. Коваленко.* 1996; 77: 5–10.
- Суворов В.С., Шубин В.А., Надточей Г.А., Юров К.П., Санджарев Д.Д. Патоморфологическая дифференциация прионных инфекций: скрепи овец и губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота. *Труды Всероссийского НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.П. Коваленко.* 2003; 73: 60–3.
- Кальнов С.Л., Григорьев В.Б., Алексеев К.П., Власова А.Н., Гибадулин Р.А., Покидьшев А.Н. и др. Получение и характеристика полноразмерного рекомбинантного PrP^{Sc} белка крупного рогатого скота. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2006; 141(1): 68–71.
- Grigorjev V.B., Kal'nov S.L., Pokidyshov A.N., Tsubezov V.V., Balandina M.V., Gibadulin R.A., et al. Fibrillization of recombinant bovine prion protein (rec-PrP) *in vitro*. *Dokl. Biochem. Biophys.* 2008; 420: 112–4. <https://doi.org/10.1134/S1607672908030046>.
- Кальнов С.Л., Верховский О.А., Алипер Т.И. Прионные болезни животных. В кн.: Львов Д.К., ред. *Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных.* М.: МИА; 2013: 910–21.
- Покидьшев А.Н. *Характеристика рекомбинантного прионного белка крупного рогатого скота (Bos taurus) и разработка методов выявления патологической изоформы прионов.* Дис. ... канд. биол. наук. М.; 2009.
- Григорьев В.Б., Покидьшев А.Н., Кальнов С.Л., Клименко С.М. Методы диагностики прионных заболеваний. *Вопросы вирусологии.* 2009; 54(5): 4–9.
- O'Rourke K.I., Baszler T.V., Parish S.M., Knowles D.P. Preclinical detection of PrP^{Sc} in nictitating membrane lymphoid tissue of sheep. *Vet. Rec.* 1998; 142(18): 489–91. <https://doi.org/10.1136/vr.142.18.489>.
- O'Rourke K.I., Baszler T.V., Besser T.E., Miller J.M., Cutlip R.C., Wells G.A., et al. Preclinical diagnosis of scrapie by immunohistochemistry of third eyelid lymphoid tissue. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38(9): 3254–9. <https://doi.org/10.1128/JCM.38.9.3254-3259.2000>.
- Spraker T.R., VerCauteren K.C., Gidlewski T., Schneider D.A., Munger R., Balachandran A., et al. Antemortem detection of PrP^{Sc} in pre-clinical, ranch-raised Rocky Mountain Elk (*Cervus elaphus nelsoni*) by biopsy of the rectal mucosa. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2009; 21(1): 15–24. <https://doi.org/10.1177/104063870902100103>.
- Andréoletti O., Berthon P., Marc D., Sarradin P., Grosclaude J., van Keulen L., et al. Early accumulation of PrP^{Sc} in gut-associated lymphoid and nervous tissues of susceptible sheep from a Romanov flock with natural scrapie. *J. Gen. Virol.* 2000; 81(12): 3115–26. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-81-12-3115>.
- Hilton D.A., Ghani A.C., Conyers L., Edwards P., McCardle L., Ritchie D., et al. Accumulation of prion protein in tonsil and appendix: review of tissue samples. *Brit. Med. J.* 2002; 325(7365): 633–4. <https://doi.org/10.1136/bmj.325.7365.633>.
- Saborio G.P., Permann B., Soto C. Sensitive detection of pathological prion protein by cyclic amplification of protein misfolding. *Nature.* 2001; 411(6839): 810–3. <https://doi.org/10.1038/35081095>.
- Saa P., Castilla J., Soto C. Presymptomatic detection of prions in blood. *Science.* 2006; 313(5783): 92–4. <https://doi.org/10.1126/science.1129051>.
- Atarashi R., Wilham J.M., Christensen L., Hughson A.G., Moore R.A., Johnson L.M., et al. Simplified ultrasensitive prion detection by recombinant PrP conversion with shaking. *Nat. Methods.* 2008; 5(3): 211–2. <https://doi.org/10.1038/nmeth0308-211>.
- Atarashi R., Sano K., Satoh K., Nishida N. Real-time quaking-induced conversion: a highly sensitive assay for prion detection. *Prion.* 2011; 5(3): 150–3. <https://doi.org/10.4161/pri.5.3.16893>.
- Henderson D.M., Davenport K.A., Haley N.J., Denkers N.D., Mathiason C.K., Hoover E.A. Quantitative assessment of prion infectivity in tissues and body fluids by real-time quaking-induced conversion. *J. Gen. Virol.* 2015; 96(Pt. 1): 210–9. <https://doi.org/10.1099/vir.0.069906-0>.
- Dassanayake R.P., Orrú C.D., Hughson A.G., Caughey B., Graça T., Zhuang D., et al. Sensitive and specific detection of classical scrapie prions in the brains of goats by real-time quaking-induced conversion. *J. Gen. Virol.* 2016; 97(3): 803–12. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000367>.
- Orrú C.D., Groveman B.R., Raymond L.D., Hughson A.G., Nonno R., Zou W., et al. Bank vole prion protein as an apparently universal substrate for RT-QuIC-based detection and discrimination

of prion strains. *PLoS Pathog.* 2015; 11(6): e1004983. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004983>.

40. Favole A., Mazza M., Vallino Costassa E., D'Angelo A., Lombardi G., Marconi P., et al. Early and pre-clinical detection of prion seeding activity in cerebrospinal fluid of goats using real-time quaking-induced conversion assay. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 6173. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42449-7>.

41. Davenport K.A., Hoover C.E., Denkers N.D., Mathiason C.K., Hoover E.A. Modified protein misfolding cyclic amplification overcomes real-time quaking-induced conversion assay inhibitors in deer saliva to detect Chronic Wasting Disease prions. *J. Clin. Microbiol.* 2018; 56(9): e00947-18. <https://doi.org/10.1128/JCM.00947-18>.

42. Mammanna A., Baiardi S., Rossi M., Franceschini A., Donadio V., Capellari S., et al. Detection of prions in skin punch biopsies of Creutzfeldt-Jakob disease patients. *Ann. Clin. Translat. Neurol.* 2020; 7(4): 559–64. <https://doi.org/10.1002/acn3.51000>.

43. Bongianini M., Orrù C.D., Groveman B.R., Sacchetto L., Fiorini M., Tonoli G., et al. Diagnosis of human prion disease using real-time quaking-induced conversion testing of olfactory mucosa and cerebrospinal fluid samples. *JAMA Neurol.* 2017; 74(2): 155–62. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2016.4614>.

44. McGuire L.I., Poleggi A., Poggiolini I., Suardi S., Grznarova K., Shi S., et al. Cerebrospinal fluid real-time quaking-induced conversion is a robust and reliable test for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: An international study. *Ann. Neurol.* 2016; 80(1): 160–5. <https://doi.org/10.1002/ana.24679>.

45. Cramm M., Schmitz M., Karch A., Mitrova E., Kuhn F., Schroeder B., et al. Stability and reproducibility underscore utility of RT-QuIC for diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Mol. Neurobiol.* 2016; 53(3): 1896–904. <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9133-2>.

46. Haley N.J., Donner R., Henderson D.M., Tennant J., Hoover E.A., Manca M., et al. Cross-validation of the RT-QuIC assay for the antemortem detection of chronic wasting disease in elk. *Prion.* 2020; 14(1): 47–55. <https://doi.org/10.1080/19336896.2020.1716657>.

47. Hwang S., Tatum T., Lebepe-Mazur S., Nicholson E.M. Preparation of lyophilized recombinant prion protein for TSE diagnosis by RT-QuIC. *BMC Res. Notes.* 2018; 11(1): 895. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3982-5>.

48. Koutsoumanis K., Allende A., Alvarez-Ordoñez A., Bolton D., Bover-Cid S., Chemaly M., et al. Update on chronic wasting disease (CWD). *EFSA J.* 2019; 17(11): e05863. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5863>.

49. Schaeztl H. One Health Workshop Series 2020: Chronic Wasting Disease. Zoonotic potential of CWD. Available at: https://ucalgary.zoom.us/rec/play/hja-r64RAavwd07Wv9-D4QALy-36SAILGC_QNqu6j2f6c2F4WhsgM-opx5x56pIDu41zgUwR4moiOAKPf.9-DQ27JE9yCVhyA-?startTime=1602079098000.

50. Orrù C.D., Wilham J.M., Raymond L.D., Kuhn F., Schroeder B., Raeber A.J., et al. Prion disease blood test using immunoprecipitation and improved quaking-induced conversion. *mBio.* 2011; 2(3): e00078-11. <https://doi.org/10.1128/mBio.00078-11>.

51. Denkers N.D., Henderson D.M., Mathiason C.K., Hoover E.A. Enhanced prion detection in biological samples by magnetic particle extraction and real-time quaking-induced conversion. *J. Gen. Virol.* 2016; 97(8): 2023–9. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000515>.

52. Haley N.J., Richt J.A., Davenport K.A., Henderson D.M., Hoover E.A., Manca M., et al. Design, implementation, and interpretation of amplification studies for prion detection. *Prion.* 2018; 12(2): 73–82. <https://doi.org/10.1080/19336896.2018.1443000>.

53. Metrick M.A., do Carmo Ferreira N., Saijo E., Hughson A.G., Kraus A., Orrù C.D., et al. Million-fold sensitivity enhancement in proteopathic seed amplification assays for biospecimens by Hofmeister ion comparisons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2019; 116(46): 23029–39. <https://doi.org/10.1073/pnas.1909322116>.

54. Saa P., Cervenakova L. Protein misfolding cyclic amplification (PMCA): Current status and future directions. *Virus Res.* 2015; 207: 47–61. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2014.11.007>.

55. Seed C.R., Hewitt P.E., Dodd R.Y., Houston F., Cervenakova L. Creutzfeldt-Jakob disease and blood transfusion safety. *Vox Sang.* 2018; 113(3): 220–31. <https://doi.org/10.1111/vox.12631>.

56. Kim C., Xiao X., Chen S., Haldiman T., Smirnovas V., Kofskey D., et al. Artificial strain of human prions created in vitro. *Nat. Commun.* 2018; 9(1): 2166. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04584-z>.

57. Barria M.A., Libori A., Mitchell G., Head M.W. Susceptibility of human prion protein to conversion by Chronic Wasting Disease prions. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(8): 1482–9. <https://doi.org/10.3201/eid2408.161888>.

58. Зув В.А., Кальнов С.Л., Куликова Н.Ю., Гребенникова Т.В. Современное состояние проблемы прионных болезней и причины их

опасности для человека и животных. *Вопросы вирусологии.* 2020; 65(2): 71–6. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-2-71-76>.

59. Saijo E., Groveman B.R., Kraus A., Metrick M., Orrù C.D., Hughson A.G., et al. Ultrasensitive RT-QuIC seed amplification assays for disease-associated Tau, α -synuclein, and prion aggregates. *Methods Mol. Biol.* 2019; 1873: 19–37. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8820-4_2.

REFERENCES

- Gambetti P., Russo C. Human brain amyloidosis. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1998; 13(Suppl. 7): 33–40. https://doi.org/10.1093/ndt/13.suppl_7.33.
- Lachmann H.J., Hawkins P.N. Systemic amyloidosis. *Curr. Opin. Pharm.* 2006; 6(2): 214–20. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2005.10.005>.
- McKinley M.P., Prusiner S.B. Ultrastructural Studies of Prions. In: Chesebro B.W., ed. *Transmissible Spongiform Encephalopathies: Current Topics in Microbiology and Immunology*. Berlin, Heidelberg: Springer; 1991. https://doi.org/10.1007/978-3-642-76540-7_5.
- Prusiner S.B. Novel proteinaceous infection particles cause scrapie. *Science.* 1982; 216(4542): 136–44. <https://doi.org/10.1126/science.6801762>.
- Laurent M. Autocatalytic processes in cooperative mechanisms of prion diseases. *FEBS Lett.* 1997; 407(1): 1–6. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(97\)00310-4](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(97)00310-4).
- Bieschke J., Weber P., Sarafoff N., Beekes M., Giese A., Kretzschmar H. Autocatalytic self-propagation of misfolded prion protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004; 101(33): 12207–11. <https://doi.org/10.1073/pnas.0404650101>.
- Harris D.A. Cellular biology of prion diseases. *Clin. Microbiol. Rev.* 1999; 12(3): 429–44.
- Hegde R.S., Mastrianni J.A., Scott M.R., DeFea K.A., Tremblay P., Torchia M., et al. A transmembrane form of the prion protein in neurodegenerative disease. *Science.* 1998; 279(5352): 827–34. <https://doi.org/10.1126/science.279.5352.827>.
- Mead S. Prion disease genetics. *Eur. J. Hum. Genet.* 2006; 14(3): 273–81. <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201544>.
- Bessen R.A., Kocisko D.A., Raymond G.J., Nandan S., Lansbury P.T., Caughey B. Non-genetic propagation of strain-specific properties of scrapie prion protein. *Nature.* 1995; 375(6533): 698–700. <https://doi.org/10.1038/375698a0>.
- Collinge J., Clarke A.R. A general model of prion strains and their pathogenicity. *Science.* 2007; 318(5852): 930–6. <https://doi.org/10.1126/science.1138718>.
- Prusiner S.B. Prions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998; 95(23): 13363–83. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.23.13363>.
- Baskakov I.V., Breydo L. Converting the prion protein: what makes the protein infectious. *Biochim. Biophys. Acta.* 2007; 1772(6): 692–703. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2006.07.007>.
- Benestad S.L., Telling G.C. Chronic wasting disease: an evolving prion disease of cervids. *Handb. Clin. Neurol.* 2018; 153: 135–51. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63945-5.00008-8>.
- Sakudo A. Chronic wasting disease: current assessment of transmissibility. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2020; 36: 13–22. <https://doi.org/10.21775/cimb.036.013>.
- Zuev V.A., Zavalishin I.A., Roykhel' V.M. *Prion Diseases of Humans and Animals. A Guide for Doctors [Prionnye bolezni cheloveka i zhivotnykh. Rukovodstvo dlya vrachey]*. Moscow: Meditsina; 1999 (in Russian).
- Zuev V.A. Slow infections of humans and animals. *Voprosy virusologii.* 2014; 59(5): 5–12 (in Russian).
- Nadtochey G.A., Shubin V.A., Yurov K.P., Koromyslov G.F. Experimental prion infections of animals. *Trudy Vserossiyskogo NII eksperimental'noy veterinarii im. Ya.R. Kovalenko.* 1999; 72: 299–305 (in Russian).
- Rybakov S.S. *Scrapie and Another Prion Diseases of Animals and Humans [Skrepi i drugie prionnye bolezni zhivotnykh i cheloveka]*. Vladimir: Foliant; 2003 (in Russian).
- Rybakov S.S. *Bovine Spongiform Encephalopathy [Gubkoobraznaya entsefalopatiya krupnogo rogatogo skota]*. Vladimir: Foliant; 2007 (in Russian).
- Nadtochey G.A. Diagnostic, prophylactic and eradication tools of prion infections. Prion and retroviruses infections of animals. *Byulleten' Vsesoyuznogo ordena Lenina nauchno-issledovatel'skogo instituta eksperimental'noy veterinarii im. Ya.R. Kovalenko.* 1996; 77: 5–10 (in Russian).
- Suvorov V.S., Shubin V.A., Nadtochey G.A., Yurov K.P., Sandzhaev D.D. Pathomorphology differentiation of prion infec-

- tions: sheep scrapie and bovine spongiform encephalopathy. *Trudy Vserossiyskogo NII eksperimental'noy veterinarii im. Ya.R. Kovalevko*. 2003; 73: 60–3 (in Russian).
23. Kal'nov S.L., Grigorjev V.B., Alekseev K.P., Vlasova A.N., Gibadulin R.A., Pokidyshev A.N., et al. Isolation and characterization of full-length recombinant cattle PrP^{Sc} protein. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2006; 141(1): 68–71. <https://doi.org/10.1007/s10517-006-0094-3> (in Russian).
 24. Grigorjev V.B., Kal'nov S.L., Pokidyshev A.N., Tsibezov V.V., Balandina M.V., Gibadulin R.A., et al. Fibrillization of recombinant bovine prion protein (rec-PrP) *in vitro*. *Dokl. Biochem. Biophys.* 2008; 420: 112–4. <https://doi.org/10.1134/S1607672908030046>.
 25. Kal'nov S.L., Verkhovskiy O.A., Aliper T.I. Prion diseases of animals. In: L'vov D.K., ed. *Virology Guide. Viruses and Viral Infections of Humans and Animals [Rukovodstvo po virusologii. Virusy i virusnye infektsii cheloveka i zhivotnykh]*. Moscow: MIA; 2013: 910–21 (in Russian).
 26. Pokidyshev A.N. *Characterization of bovine recombinant prion protein (Bos taurus) and development methods to detection of prion pathology isophorm*: Diss. Moscow; 2009 (in Russian).
 27. Grigorjev V.B., Pokidyshev A.N., Kal'nov S.L., Klimenko S.M. Methods for diagnosis of prion diseases. *Voprosy virusologii*. 2009; 54(5): 4–9 (in Russian).
 28. O'Rourke K.I., Baszler T.V., Parish S.M., Knowles D.P. Preclinical detection of PrP^{Sc} in nictitating membrane lymphoid tissue of sheep. *Vet. Rec.* 1998; 142(18): 489–91. <https://doi.org/10.1136/vr.142.18.489>.
 29. O'Rourke K.I., Baszler T.V., Besser T.E., Miller J.M., Cutlip R.C., Wells G.A., et al. Preclinical diagnosis of scrapie by immunohistochemistry of third eyelid lymphoid tissue. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38(9): 3254–9. <https://doi.org/10.1128/JCM.38.9.3254-3259.2000>.
 30. Spraker T.R., VerCauteren K.C., Gidlewski T., Schneider D.A., Munger R., Balachandran A., et al. Antemortem detection of PrP^{Sc} in pre-clinical, ranch-raised Rocky Mountain Elk (*Cervus elaphus nelsoni*) by biopsy of the rectal mucosa. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2009; 21(1): 15–24. <https://doi.org/10.1177/104063870902100103>.
 31. Andréoletti O., Berthon P., Marc D., Sarradin P., Grosclaude J., van Keulen L., et al. Early accumulation of PrP^{Sc} in gut-associated lymphoid and nervous tissues of susceptible sheep from a Romanov flock with natural scrapie. *J. Gen. Virol.* 2000; 81(12): 3115–26. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-81-12-3115>.
 32. Hilton D.A., Ghani A.C., Conyers L., Edwards P., McCardle L., Ritchie D., et al. Accumulation of prion protein in tonsil and appendix: review of tissue samples. *Brit. Med. J.* 2002; 325(7365): 633–4. <https://doi.org/10.1136/bmj.325.7365.633>.
 33. Saborio G.P., Permanne B., Soto C. Sensitive detection of pathological prion protein by cyclic amplification of protein misfolding. *Nature*. 2001; 411(6839): 810–3. <https://doi.org/10.1038/35081095>.
 34. Saa P., Castilla J., Soto C. Presymptomatic detection of prions in blood. *Science*. 2006; 313(5783): 92–4. <https://doi.org/10.1126/science.1129051>.
 35. Atarashi R., Wilham J.M., Christensen L., Hughson A.G., Moore R.A., Johnson L.M., et al. Simplified ultrasensitive prion detection by recombinant PrP conversion with shaking. *Nat. Methods*. 2008; 5(3): 211–2. <https://doi.org/10.1038/nmeth0308-211>.
 36. Atarashi R., Sano K., Satoh K., Nishida N. Real-time quaking-induced conversion: a highly sensitive assay for prion detection. *Prion*. 2011; 5(3): 150–3. <https://doi.org/10.4161/pri.5.3.16893>.
 37. Henderson D.M., Davenport K.A., Haley N.J., Denkers N.D., Mathiason C.K., Hoover E.A. Quantitative assessment of prion infectivity in tissues and body fluids by real-time quaking-induced conversion. *J. Gen. Virol.* 2015; 96(Pt. 1): 210–9. <https://doi.org/10.1099/vir.0.069906-0>.
 38. Dassanayake R.P., Orrú C.D., Hughson A.G., Caughey B., Graça T., Zhuang D., et al. Sensitive and specific detection of classical scrapie prions in the brains of goats by real-time quaking-induced conversion. *J. Gen. Virol.* 2016; 97(3): 803–12. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000367>.
 39. Orrú C.D., Groveman B.R., Raymond L.D., Hughson A.G., Nonno R., Zou W., et al. Bank vole prion protein as an apparently universal substrate for RT-QuIC-based detection and discrimination of prion strains. *PLoS Pathog.* 2015; 11(6): e1004983. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004983>.
 40. Favole A., Mazza M., Vallino Costassa E., D'Angelo A., Lombardi G., Marconi P., et al. Early and pre-clinical detection of prion seeding activity in cerebrospinal fluid of goats using real-time quaking-induced conversion assay. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 6173. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42449-7>.
 41. Davenport K.A., Hoover C.E., Denkers N.D., Mathiason C.K., Hoover E.A. Modified protein misfolding cyclic amplification overcomes real-time quaking-induced conversion assay inhibitors in deer saliva to detect Chronic Wasting Disease prions. *J. Clin. Microbiol.* 2018; 56(9): e00947-18. <https://doi.org/10.1128/JCM.00947-18>.
 42. Mammanna A., Baiardi S., Rossi M., Franceschini A., Donadio V., Capellari S., et al. Detection of prions in skin punch biopsies of Creutzfeldt-Jakob disease patients. *Ann. Clin. Translat. Neurol.* 2020; 7(4): 559–64. <https://doi.org/10.1002/acn3.51000>.
 43. Bongianni M., Orrú C.D., Groveman B.R., Sacchetto L., Fiorini M., Tonoli G., et al. Diagnosis of human prion disease using real-time quaking-induced conversion testing of olfactory mucosa and cerebrospinal fluid samples. *JAMA Neurol.* 2017; 74(2): 155–62. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2016.4614>.
 44. McGuire L.I., Poleggi A., Poggiolini I., Suardi S., Grznarova K., Shi S., et al. Cerebrospinal fluid real-time quaking-induced conversion is a robust and reliable test for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: An international study. *Ann. Neurol.* 2016; 80(1): 160–5. <https://doi.org/10.1002/ana.24679>.
 45. Cramm M., Schmitz M., Karch A., Mitrova E., Kuhn F., Schroeder B., et al. Stability and reproducibility underscore utility of RT-QuIC for diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Mol. Neurobiol.* 2016; 53(3): 1896–904. <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9133-2>.
 46. Haley N.J., Donner R., Henderson D.M., Tennant J., Hoover E.A., Manca M., et al. Cross-validation of the RT-QuIC assay for the antemortem detection of chronic wasting disease in elk. *Prion*. 2020; 14(1): 47–55. <https://doi.org/10.1080/19336896.2020.1716657>.
 47. Hwang S., Tatum T., Lebepe-Mazur S., Nicholson E.M. Preparation of lyophilized recombinant prion protein for TSE diagnosis by RT-QuIC. *BMC Res. Notes*. 2018; 11(1): 895. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3982-5>.
 48. Koutsoumanis K., Allende A., Alvarez-Ordoñez A., Bolton D., Bouter-Cid S., Chemaly M., et al. Update on chronic wasting disease (CWD). *EFSA J.* 2019; 17(11): e05863. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5863>.
 49. Schaeztl H. One Health Workshop Series 2020: Chronic Wasting Disease. Zoonotic potential of CWD. Available at: https://ucalgary.zoom.us/j/9j4-r64RAavwd07Wv9-D4QALy-36SAILGC_QNqu6j2f6c2F4WhsgM-opx5x56pIDu41zgUwR4moiOAKPf.9-DQ27JE9yCVhyA-?startTime=1602079098000.
 50. Orrú C.D., Wilham J.M., Raymond L.D., Kuhn F., Schroeder B., Raeber A.J., et al. Prion disease blood test using immunoprecipitation and improved quaking-induced conversion. *mBio*. 2011; 2(3): e00078-11. <https://doi.org/10.1128/mBio.00078-11>.
 51. Denkers N.D., Henderson D.M., Mathiason C.K., Hoover E.A. Enhanced prion detection in biological samples by magnetic particle extraction and real-time quaking-induced conversion. *J. Gen. Virol.* 2016; 97(8): 2023–9. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000515>.
 52. Haley N.J., Richt J.A., Davenport K.A., Henderson D.M., Hoover E.A., Manca M., et al. Design, implementation, and interpretation of amplification studies for prion detection. *Prion*. 2018; 12(2): 73–82. <https://doi.org/10.1080/19336896.2018.1443000>.
 53. Metrick M.A., do Carmo Ferreira N., Saijo E., Hughson A.G., Kraus A., Orrú C.D., et al. Million-fold sensitivity enhancement in proteopathic seed amplification assays for biospecimens by Hofmeister ion comparisons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2019; 116(46): 23029–39. <https://doi.org/10.1073/pnas.1909322116>.
 54. Saa P., Cervenakova L. Protein misfolding cyclic amplification (PMCA): Current status and future directions. *Virus Res.* 2015; 207: 47–61. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2014.11.007>.
 55. Seed C.R., Hewitt P.E., Dodd R.Y., Houston F., Cervenakova L. Creutzfeldt-Jakob disease and blood transfusion safety. *Vox Sang.* 2018; 113(3): 220–31. <https://doi.org/10.1111/vox.12631>.
 56. Kim C., Xiao X., Chen S., Haldiman T., Smirnovas V., Kofskey D., et al. Artificial strain of human prions created *in vitro*. *Nat. Commun.* 2018; 9(1): 2166. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04584-z>.
 57. Barria M.A., Libori A., Mitchell G., Head M.W. Susceptibility of human prion protein to conversion by Chronic Wasting Disease prions. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(8): 1482–9. <https://doi.org/10.3201/eid2408.161888>.
 58. Zuev V.A., Kal'nov S.L., Kulikova N.Yu., Grebennikova T.V. Prion diseases and the biosecurity problems. *Voprosy virusologii*. 2020; 65(2): 71–6. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-2-71-76> (in Russian).
 59. Saijo E., Groveman B.R., Kraus A., Metrick M., Orrú C.D., Hughson A.G., et al. Ultrasensitive RT-QuIC seed amplification assays for disease-associated Tau, α -synuclein, and prion aggregates. *Methods Mol. Biol.* 2019; 1873: 19–37. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8820-4_2.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020



Особенности циркуляции вирусов гриппа и ОРВИ в эпидемическом сезоне 2019–2020 гг. в отдельных регионах России

Львов Д.К.¹, Бурцева Е.И.¹, Колобухина Л.В.¹, Федякина И.Т.¹, Бовин Н.В.², Игнатъева А.В.¹, Краснослободцев К.Г.¹, Феодоритова Е.Л.¹, Трушакова С.В.¹, Бреслав Н.В.¹, Меркулова Л.Н.¹, Мукашева Е.А.¹, Хлопова И.Н.¹, Воронина О.Л.¹, Аксёнова Е.И.¹, Кунда М.С.¹, Рыжова Н.Н.¹, Вартамян Н.В.¹, Кистенёва Л.Б.¹, Кириллов И.М.¹, Прошина Е.С.¹, Росаткевич А.Г.¹, Кружкова И.С.¹, Заплатников А.Л.³, Базарова М.В.⁴, Сметанина С.В.⁴, Харламов М.В.⁵, Карпов Н.Л.⁶, Шихин А.В.⁷

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

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

³ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, 125993, Москва, Россия;

⁴ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница №1 Департамента здравоохранения города Москвы» (ГБУЗ «ИКБ №1 ДЗМ»), 125310, Москва, Россия;

⁵ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Новгородской области», 173002, Великий Новгород, Россия;

⁶ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ярославской области», 150054, Ярославль, Россия;

⁷ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Томской области», 634012, Томск, Россия

Введение. Мониторинг циркуляции вирусов гриппа в структуре возбудителей ОРВИ и изучение их свойств в эпидемическом сезоне 2019–2020 гг. в Российской Федерации представляют актуальные направления исследований и соответствуют задачам Глобальной стратегии по борьбе с гриппом, выдвинутой ВОЗ в 2019 г.

Материал и методы. Использованы данные эпидемиологического надзора за заболеваемостью и госпитализацией при гриппе и ОРВИ в разных возрастных группах населения; вирусологические, молекулярно-генетические и статистические методы.

Результаты. Наиболее вовлечёнными в эпидемический процесс были дети дошкольного возраста, в то же время для лиц 18–40 лет показана большая частота госпитализаций. Отмечена доминирующая роль вируса гриппа A(H1N1)pdm09 у госпитализированных, в том числе в этиологии пневмоний. Показана роль возбудителей ОРВИ в утяжелении течения пневмонии и бронхообструктивного синдрома у детей. Установлены различия по спектру циркулирующих возбудителей ОРВИ в разных регионах России. Этиологию эпидемического подъёма определили вирусы гриппа A(H1N1)pdm09 и В/Виктория-подобные, долевое участие которых в структуре ОРВИ составило 7,3 и 8,0% соответственно. По антигенным свойствам выявлены отличия эпидемических штаммов вирусов гриппа A(H3N2) и В по отношению к вирусам, входившим в состав вакцин. Доминирующими генетическими группами в популяции штаммов вируса гриппа A(H1N1)pdm09 были представители 6B1.A5/183P, A(H3N2) – 3C.2a1b+137F и В – V1A.3 линии В/Виктория-подобных. Сохранён благоприятный профиль чувствительности эпидемических штаммов к препаратам с антинейраминидазной активностью. Большинство из изученных штаммов возбудителей гриппа обладали рецепторной специфичностью, характерной для вирусов гриппа человека.

Заключение. Полученные результаты определили особенности циркуляции вирусов гриппа и ОРВИ в эпидемическом сезоне 2019–2020 гг. на различных территориях России. Результаты подтверждают роль вируса гриппа A(H1N1)pdm09 в развитии тяжёлых форм течения заболевания у лиц 18–40 лет, а также в качестве этиологического фактора пневмоний. Отмечен продолжающийся дрейф вирусов гриппа, что, по-видимому, не могло не сказаться на эффективности вакцинопрофилактики, а также было учтено в рекомендациях экспертов ВОЗ по составу гриппозных вакцин для стран Северного полушария на период 2020–2021 гг.

Ключевые слова: эпидемический сезон 2019–2020 гг.; ОРВИ; грипп; биологические и генетические свойства; рекомендации ВОЗ по составу гриппозных вакцин в сезоне 2020–2021 гг.

Для цитирования: Львов Д.К., Бурцева Е.И., Колобухина Л.В., Федякина И.Т., Бовин Н.В., Игнатъева А.В., Краснослободцев К.Г., Феодоритова Е.Л., Трушакова С.В., Бреслав Н.В., Меркулова Л.Н., Мукашева Е.А., Хлопова И.Н., Воронина О.Л., Аксёнова Е.И., Кунда М.С., Рыжова Н.Н., Вартамян Н.В., Кистенёва Л.Б., Кириллов И.М., Прошина Е.С., Росаткевич А.Г., Кружкова И.С., Заплатников А.Л., Базарова М.В., Сметанина С.В., Харламов М.В., Карпов Н.Л., Шихин А.В. Особенности циркуляции вирусов гриппа и ОРВИ в эпидемическом

сезоне 2019–2020 гг. в отдельных регионах России. *Вопросы вирусологии*. 2020; 65(6): 335–349.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-6-4>

Для корреспонденции: Львов Дмитрий Константинович, д.м.н., профессор, академик РАН, руководитель отдела экологии вирусов с научно-практическим центром по экологии и эпидемиологии гриппа, Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, e-mail: dk_lvov@mail.ru; Бурцева Елена Ивановна, д.м.н., заведующая лабораторией этиологии и эпидемиологии гриппа, Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, e-mail: elena-burtseva@yandex.ru.

Участие авторов: Львов Д.К. – написание отдельных разделов статьи, общее руководство; Бурцева Е.И. – написание отдельных разделов статьи, анализ результатов, планирование экспериментов; Федякина И.Т. – изоляция штаммов; Игнатъева А.В. – выделение штаммов, антигенный анализ; Краснослободцев К.Г., Трушакова С.В. – полимеразная цепная реакция; Феодоритова Е.Л. – подготовка аналитических материалов; Бреслав Н.В. – чувствительность к противовирусным препаратам; Колобухина Л.В., Меркулова Л.Н., Хлопова И.Н., Вартанян Н.В., Кистенёва Л.Б., Заплатников А.Л., Базарова М.В., Сметанина С.В., Кружкова И.С. – анализ клинических данных; Мукашева Е.А., Росаткевич А.Г. – антигенный анализ штаммов; Воронина О.Л. – написание отдельных разделов статьи; Аксёнова Е.И., Воронина О.Л., Кунда М.С., Рыжова Н.Н. – секвенирование штаммов; Федякина И.Т., Бовин Н.В., Кириллов И.М., Прошина Е.С. – рецепторная специфичность; Харламов М.В., Карпов Н.Л., Шихин А.В. – предоставление данных по заболеваемости и лабораторной диагностике.

Финансирование. Работа выполнена при финансировании в рамках Государственного задания № 056-00034-20-00, номер реестровой записи 730000Ф.99.1.БВ09АА00006.

Исследование было частично поддержано Центрами по контролю и профилактике заболеваний, Атланта, США, Кооперативное соглашение «Поддержание потенциала по надзору за гриппом в России» и Фондом по эпидемиологии гриппа, Париж, Франция.

Благодарности. Авторы выражают благодарность за многолетнее сотрудничество в надзоре за циркуляцией вирусов гриппа в Российской Федерации и предоставленные данные д.м.н. С.И. Савельеву, главному врачу ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Липецкой области»; М.В. Буланову, главному врачу ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии во Владимирской области»; Т.В. Рябининой, главному врачу ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Пензенской области»; С.В. Московской, главному врачу ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Чувашской Республике – Чувашии»; В.Ю. Коновалову, главному врачу ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Оренбургской области»; О.Б. Романовой, главному врачу ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае»; А.В. Букликову, главному врачу ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Еврейской автономной области».

Авторы выражают признательность коллегам из Сотрудничающих центров по гриппу ВОЗ – Всемирный Крик Центр по гриппу, Милл Хилл, Лондон, Великобритания и Центров по контролю за заболеваемостью и профилактике (CDC&P), Атланта, США.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 14.10.2020

Принята в печать 12.11.2020

Peculiarities of the influenza and ARVI viruses circulation during epidemic season 2019–2020 in some regions of Russia

Dmitry K. L'vov¹, Elena I. Burtseva¹, Lyudmila V. Kolobukhina¹, Irina T. Fedyakina¹, Nikolay V. Bovin², Anna V. Ignat'jeva¹, Kirill G. Krasnoslobodtsev¹, Elena L. Feodoritova¹, Svetlana V. Trushakova¹, Nataliya V. Breslav¹, Liliya N. Merkulova¹, Evgeniya A. Mukasheva¹, Irina N. Khlopova¹, Olga L. Voronina¹, Ekaterina I. Aksyonova¹, Marina S. Kunda¹, Natalia N. Ryzhova¹, Raisa V. Vartanjan¹, Lidiya B. Kistenyova¹, Ilja M. Kirillov¹, Elena S. Proshina¹, Alexandra G. Rosatkevich¹, Irina S. Kruzhkova¹, Andrey L. Zaplatnikov³, Marina V. Bazarova⁴, Svetlana V. Smetanina⁴, Mikhail V. Kharlamov⁵, Nikolay L. Karpov⁶, Alexander V. Shikhin⁷

¹FSBI «National Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya» of the Ministry of Health of Russia, 123098, Moscow, Russia;

²Institute of Bioorganic Chemistry named after academicians M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov of the Russian Academy of Sciences, 117997, Moscow, Russia;

³FSBO DPE Russian Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Health of Russia, 123836, Moscow, Russia;

⁴Clinical Hospital for Infectious Diseases №1 of the Department of Health of Moscow, 125367, Moscow, Russia;

⁵FBIIH «Center of hygiene and epidemiology in Novgorod region», 173002, Novgorod Velikiy, Russia;

⁶FBIIH «Center of hygiene and epidemiology in Yaroslavl' region», 150054, Yaroslavl', Russia;

⁷FBIIH «Center of hygiene and epidemiology in Tomsk region», 634012, Tomsk, Russia

Introduction. The surveillance of influenza viruses in ARVI structure and study of their properties in epidemic season 2019–2020 in Russian Federation are actual for investigations due to tasks of Global Influenza Strategy initiated by WHO in 2019.

Material and methods. The data of epidemiological surveillance on influenza- and ARVI-associated morbidity and hospitalization in different age groups of population were analyzed; virological, genetic and statistical methods were used.

Results. Preschool children were involved in epidemic the most. Meanwhile, the highest rate of hospitalization was observed in patients of 18–40 years old. Influenza A(H1N1)pdm09 virus dominated in etiology of ARVI in hospitalized patients and pneumonia. The role of respiratory viruses in severe cases of pneumonia and bronchoalveolar

syndrome in children was shown. The differences in spectrum of circulating viruses caused ARVI in different regions of Russia were found. Influenza A(H1N1)pdm09 and B/Victoria-like viruses were the main etiological agents that caused of epidemic; its activity among all ARVI was 7.3 and 8.0%, respectively. The differences in antigenic properties of influenza A(H3N2) and B epidemic strains compared to vaccine viruses were found. The populations of epidemic strains were presented by following dominant genetic groups: 6B1.A5/183P for A(H1N1)pdm09, 3C.2a1b+137F for A(H3N2) and V1A.3 line B/Victoria-like for B viruses. The good profile of epidemic strains susceptibility to anti-neuraminidase inhibitors has been saved. The most of the studied influenza strains had the receptor specificity characteristic of human influenza viruses.

Conclusions. Obtained results identified the peculiarities of viruses caused the influenza and ARVI in epidemic season 2019–2020 in different regions of Russia. These results suggested the important role of influenza A(H1N1)pdm09 in severe cases and pneumonia in adults 18–40 years old. The continuing drift in influenza viruses was found, which, apparently, could not but affect the efficacy of vaccine prophylaxis and was also considered in the recommendations of WHO experts on the composition of influenza vaccines for the countries of the Northern Hemisphere in the 2020–2021 season.

Key words: epidemic season 2019–2020; ARVI; influenza; biologic and genetic properties; WHO recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2020–2021.

For citation: L'vov D.K., Burtseva E.I., Kolobukhina L.V., Fedyakina I.T., Bovin N.V., Ignatjeva A.V., Krasnoslobodtsev K.G., Feodoritova E.L., Trushakova S.V., Breslav N.V., Merkulova L.N., Mukasheva E.A., Khlopova I.N., Voronina O.L., Aksyonova E.I., Kunda M.S., Ryzhova N.N., Vartanjan R.V., Kisteneva L.B., Kirillov I.M., Proshina E.S., Rosatkevich A.G., Kruzhkova I.S., Zaplatnikov A.L., Bazarova M.V., Smetanina S.V., Kharlamov M.V., Karpov N.L., Shikhin A.V. Peculiarities of the influenza and ARVI viruses during epidemic season 2019–2020 in some regions of Russia. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2020; 65(6): 335-349 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-6-4>

For correspondence: Dmitry K. L'vov, D.Sci. (Med.), Prof., Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of Department of Ecology of Viruses with Center of Ecology and Epidemiology of Influenza, 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. E-mail: dk_lvov@mail.ru

Elena I. Burtseva, D.Sci. (Med.), Head of Etiology and Epidemiology of Influenza Laboratory, 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. E-mail: elena-burtseva@yandex.ru

Information about authors:

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

Burtseva E.I., <https://orcid.org/0000-0003-2518-6801>

Kolobukhina L.V., <https://orcid.org/0000-0001-5775-3343>

Bovin N.V., <https://orcid.org/0000-0001-8669-4477>

Ignatjeva A.V., <https://orcid.org/0000-0001-6206-2299>

Feodoritova E.L., <https://orcid.org/0000-0002-1472-1357>

Trushakova S.V., <https://orcid.org/0000-0002-9610-3041>

Breslav N.V., <https://orcid.org/0000-0002-6946-5119>

Merkulova L.N., <http://orcid.org/0000-0002-7260-0879>

Fedyakina I.T., <https://orcid.org/0000-0001-6421-9632>

Mukasheva E.A., <https://orcid.org/0000-0002-5688-5309>

Khlopova I.N., <http://orcid.org/0000-0002-7419-590X>

Krasnoslobodtsev K.G., <http://orcid.org/0000-0003-1745-9128>

Voronina O.L., <http://orcid.org/0000-0001-7206-3594>

Aksyonova E.I., <https://orcid.org/0000-0003-2704-6730>

Kunda M.S., <http://orcid.org/0000-0003-1945-0397>

Ryzhova N.N., <http://orcid.org/0000-0001-5361-870X>

Vartanjan R.V., <http://orcid.org/0000-0003-1656-3716>

Kisteneva L.B., <https://orcid.org/0000-0001-7336-409X>

Kirillov I.M., <https://orcid.org/0000-0002-4933-850X>

Proshina E.S., <https://orcid.org/0000-0003-2348-141X>

Rosatkevich A.G., <https://orcid.org/0000-0003-0008-8711>

Kruzhkova I.S., <http://orcid.org/0000-0002-1983-481X>

Zaplatnikov A.L., <https://orcid.org/0000-0003-1303-8318>

Bazarova M.V., <http://orcid.org/0000-0001-7322-7896>

Smetanina S.V., <http://orcid.org/0000-0003-3763-697X>

Kharlamov M.V., <http://orcid.org/0000-0001-9565-790X>

Karpov N.L., <http://orcid.org/0000-0002-6967-9870>

Shikhin A.V., <http://orcid.org/0000-0003-4142-0688>

Contribution: L'vov D.K. – writing of some parts of paper, common consultation; Burtseva E.I. – writing of some parts of paper, analyses of results, planning of experiments; Fedyakina I.T. – primary isolation of strains; Ignatjeva A.V. – isolation of strains, antigenic analyses; Krasnoslobodtsev K.G., Trushakova S.V. – polymerase chain reaction; Feodoritova E.L. – analysing and preparing data; Breslav N.V. – susceptibility to antiviral drugs; Kolobukhina L.V., Merkulova L.N., Khlopova I.N., Vartanjan R.V., Kisteneva L.B., Zaplatnikov A.L., Bazarova M.V., Smetanina S.V., Kruzhkova I.S. – analyses of clinical data; Mukasheva E.A., Rosatkevich A.G. – antigenic analyses; Voronina O.L. – writing of some parts of paper; Aksyonova E.I., Voronina O.L., Kunda M.S., Ryzhova N.N. – sequencing; Fedyakina I.T., Bovin N.V., Kirillov I.M., Proshina E.S. – receptor specificity; Kharlamov M.V., Karpov N.L., Shikhin A.V. – providing data on morbidity and laboratory diagnostics.

Acknowledgments. The work was carried out with funding within the framework of State Assignment No. 056-00034-20-00, registry entry No.730000F.99.1.BV09AA00006.

The work was partially supported by the Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA, Cooperative agreement «The support of potential for influenza surveillance in Russia» and by the Foundation for Influenza Epidemiology, Paris, France.

Acknowledgments. The authors are grateful for their long-term cooperation in surveillance of influenza viruses in the Russian Federation and for the data provided to D.Sci. (Med.) Stanislav I. Saveljev, chief physician of the FBIIH «Center of hygiene and epidemiology in Lipetsk region»; Maxim V. Bulanov, chief physician of the FBIIH «Center of hygiene and epidemiology in Vladimir region»; Tamara V. Ryabinina, chief physician of the FBIIH «Center of hygiene and epidemiology in Penza region»; Svetlana V. Moskovskaya, chief physician of the FBIIH «Center of hygiene and epidemiology in Chuvash Republic – Chuvashiya»; Vladimir Yu. Konovalov, chief physician of the FBIIH «Center of hygiene and epide-

miology in Orenburg region»; Olga B. Romanova, chief physician of the FBIH «Center of hygiene and epidemiology in Primorsky region»; Alexander V. Buklikov, chief physician of the FBIH «Center of hygiene and epidemiology in Jewish autonomy region».

Authors also greatly appreciate the collaboration with colleagues from Collaborative Centers of influenza – Crick Worldwide Influenza Center, Mill Hill, London, Great Britain, and Centers for Disease Control and Prevention (CDC&P), Atlanta, USA.

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

Received 14 October 2020
Accepted 11 November 2020

Введение

Массив возбудителей острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ), ежегодно вызывающих эпидемии в мире в осенне-зимний период, включает РНК-содержащие вирусы семейства *Orthomyxoviridae* родов *Influenza virus (Influenza A virus – A(H1N1)pdm09, A(H3N2)* и *Influenza virus B (Influenza B virus)*), семейства *Coronaviridae (Coronavirinae)* рода *Alphacoronavirus: Duvinacovirus (HCoV)*, 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, прежде HRV – риновирус человека, ≥152 серотипов)* и ДНК-содержащие вирусы семейства *Parvoviridae (Parvovirinae)* рода *Bocavirus (HBV – бокавирус человека)* и семейства *Adenoviridae* рода *Mastadenovirus*, куда входит 54 серотипа 7 аденовирусов человека (HAdV): HAdV-A (12, 18, 31); HAdV-B (3, 7, 11, 14, 16, 21, 34, 35, 50); HAdV-C (1, 2, 5, 6); HAdV-D (8–10, 13, 15, 17, 19, 20, 22–30, 32, 33, 36–39, 42–49, 51, 53, 54); HAd-E (4); HAd-F (40, 41); HAd-G (52) [1, 2]. Таким образом, сезонный комплекс возбудителей ОРВИ включает десятки одновременно циркулирующих вирусов (>200 генетических групп из 6 семейств и 10 родов), с трудом различающихся по клинической картине, дифференциация которых возможна лишь при лабораторной диагностике, прежде всего с применением молекулярно-генетических методов, в частности полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Циркуляция на этом фоне SARS-CoV-2 определяет сложность выявления реальных этиологических факторов любой сезонной эпидемической вспышки с респираторным заражением [3, 4].

В 2019 г. ВОЗ выступила с инициативой Глобальной стратегии по борьбе с гриппом в период 2019–2030 гг. (Global Influenza Strategy for 2019–2030), направленной на усиление эпидемиологического надзора и подготовки к будущим пандемиям [5–7]. В частности, важная роль отводится исследованиям по изучению особенностей циркуляции вирусов гриппа и их свойств, механизмов изменчивости и восприимчивости (host factors), минимизации рисков инфицирования и развития тяжёлых форм, разработке новых эффективных диагностических систем, вакцин и лекарственных препаратов.

Цель настоящей работы заключалась в изучении особенностей циркуляции и свойств возбудителей

ОРВИ на отдельных территориях РФ в эпидемическом сезоне 2019–2020 гг., что напрямую соответствует задачам, поставленным ВОЗ перед странами.

Материал и методы

Сбор данных по заболеваемости и лабораторной диагностике гриппа и ОРВИ. В рамках осуществления эпидемиологического надзора за циркуляцией вирусов гриппа в РФ Центр экологии и эпидемиологии гриппа (ЦЭЭГ) Института вирусологии им. Д.И. Иванова ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России в сотрудничестве с 10 опорными базами, представленными Территориальными управлениями и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора в Европейской части, на Урале, в Сибири и на Дальнем Востоке, провели анализ показателей заболеваемости, госпитализации и случаев с летальными исходами, этиологически связанных с вирусами гриппа и ОРВИ, в различных возрастных группах населения, а также результатов лабораторной диагностики. Период наблюдения составил с 40-й недели (октябрь) 2019 г. по 26-ю неделю (июнь) 2020 г.

Отбор пациентов и взятие материала. В исследование вошли амбулаторные и госпитализированные в учреждения г. Москвы и опорных баз пациенты с симптомами ОРВИ. При обращении проводили забор назальных смывов не позднее 3–4-го дня от начала болезни. В случае летального исхода в ЦЭЭГ поступал секционный материал (ткани бронхов, трахеи, лёгких) [8, 9].

Изоляцию вирусов гриппа проводили по общепринятым методикам из клинических материалов в куриных эмбрионах (КЭ), на клетках культуры тканей MDCK (грипп A(H1N1)pdm09 и B) и MDCK-SIAT1 (грипп A(H3N2)), любезно предоставленной для научных целей автором линии М. Matrosovich [8, 9].

Типирование изолятов проводили в реакции торможения гемагглютинирующей активности (РТГА) по общепринятой методике с диагностическими сыворотками к эталонным и эпидемическим вирусам гриппа: A(H1N1)pdm09 – A/Мичиган/45/2014 и A/Брисбен/02/2018 (вакцинный); A(H3N2) – A/Гонконг/5738/14, A/Сингапур/INFIMH-16-0019/2016 и A/Канзас/14/17 (вакцинный); B – B/Колорадо/06/17 (вакцинный) и B/Вашингтон/02/19 (линия B/Виктория-подобных), B/Пхукет/3073/13 (линия B/Ямагата-подобных) [8].

Рецепторную специфичность изучали методом твердофазного сиализидферментного анализа (СФА), основанного на определении взаимодействия рецеп-

тор-связывающего сайта (PCC) HA1-вируса с 8 аналогами клеточных рецепторов, углеводная часть которых содержит неразветвлённые и разветвлённые сиалогликополимеры (СГП) [7, 8]. Поскольку гем-агглютинин (НА) возбудителей гриппа, адаптированных к рецепторам человека, взаимодействует с α 2-6-связанной сиаловой кислотой, а НА вирусов, адаптированных к рецепторам птиц, – с α 2-3-связанной сиаловой кислотой [10], для оценки рецепторной специфичности (РС) использован параметр $W_{3/6}$, который характеризует превышение α 2-3-рецепторной специфичности (α 2-3-РС) над α 2-6-РС и рассчитывается по формуле:

$$W_{3/6} = [d(3'SL)+d(3'SLN)]/[d(6'SL)+d(6'SLN)],$$

где d – сигнал оптической плотности в СФА, соответствующий данному СГП, за вычетом фонового значения.

При определении $W_{3/6}$ использованы 4 наиболее информативные неразветвлённые СГП. Реактивность к ним отражает базовые особенности специфичности вируса по отношению к СГП: при $W_{3/6} < 1$ преобладает α 2-6-РС, при $W_{3/6} > 1$ доминирует α 2-3-РС. Наряду с оценкой РС вируса гриппа A(H1N1)pdm09 по параметру $W_{3/6}$ сродство возбудителя к каждому из 8 СГП выражали в процентах (P) от суммарного сигнала оптической плотности, соответствующего всем 8 СГП:

$$P = (di/\sum di) \cdot 100,$$

где P – вклад каждого СГП в рецепторную специфичность вируса, di – сигнал оптической плотности для соответствующего СГП, $\sum di$ – суммарный сигнал оптической плотности, соответствующий 8 СГП.

Детекцию РНК/ДНК вирусов гриппа и ОРВИ проводили с помощью набора реагентов АмплиСенс® «Influenza viruses A/B», АмплиСенс® «Influenza virus A/H1-swine-FL», АмплиСенс® «Influenza virus A-тип-FL», АмплиСенс® ОРВИ-скрин-FL» (ФБУН «ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва, Россия) согласно рекомендациям производителя на приборах для ПЦР в режиме реального времени (Rotor Gene™ 6000, Corbett Research, Австралия и ДТ-96, ООО «НПО ДНК-Технология», Москва, Россия).

Аmplификация и секвенирование штаммов вирусов гриппа. Для выделения РНК использовали TRIzol™ Reagent (Invitrogen, Carlsbad, California, США), добавляя в качестве соосадителя гликоген из мидий (Glycogen from *Mytilus edulis*, AppliChem, Darmstadt, Германия). При работе с РНК из изолятов для обратной транскрипции и последующей амплификации использовали протоколы Zhou B. с соавт. [11, 12]. Библиотеки готовили с помощью 2 подходов: KAPA HyperPlus kit (Roche, Basel, Швейцария) и Illumina DNA Prep (Illumina, San Diego, California, США). При анализе РНК из назального смыва использовали Maxima H minus double-stranded cDNA synthesis kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, США) для синтеза ДНК и Respiratory Virus Oligo Panel (Illumina, San Diego, California, США) для приготовления библиотек. Качество и размер библиотек контролировали, применяя электрофорез на High Sensitivity DNA Chips 2100 Bioanalyzer System (Agilent, Santa

Clara, California, США). Сборку геномов проводили в программах CLC Genomic Workbench v.20. Для аннотирования использовали NCBI Influenza Virus Sequence Annotation Tool (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/FLU/annotation/>). С целью анализа полипептидов и выявления мутаций применяли FluServer Tool (<https://flusurver.bii.a-star.edu.sg/>). Построение филогенетических деревьев в программе MEGA v6.0 на основе последовательности сегмента НА выполняли для подтверждения принадлежности изолята определённой генетической группе [13]. В качестве эталонов каждой группы использовали последовательности, рекомендованные GISAID [14].

Результаты секвенирования депонировали в базе данных GISAID (<https://www.gisaid.org/>): H1N1 (EPI_ISL_407055, EPI_ISL_407080-EPI_ISL_407090, EPI_ISL_407192, EPI_ISL_411847-EPI_ISL_411855, EPI_ISL_419369-EPI_ISL_419381, EPI_ISL_451923-EPI_ISL_451933, EPI_ISL_483726); H3N2 (EPI_ISL_419382-EPI_ISL_419385); B (EPI_ISL_407240-EPI_ISL_411857, EPI_ISL_411880-EPI_ISL_411882, EPI_ISL_422439-EPI_ISL_422451, EPI_ISL_483727) и GenBank: MW018139–MW018143.

Оценку чувствительности штаммов к противовирусным препаратам проводили с помощью флуоресцентного метода ингибирования нейраминидазы (MUNANA) и молекулярно-генетических методов, описанных ранее [8].

Результаты

Рост показателей заболеваемости гриппом и ОРВИ, как и в предыдущем сезоне, был отмечен с 44-й недели 2019 г. Превышение эпидемического порога регистрировали в период 4-й недели 2020 г., с 2 пиковыми значениями в период 6-й (94,6 на 10 тыс.) и 12-й недель 2020 г. (90,2); снижение показателей ниже пороговых значений – с 13-й недели 2020 г. Дети 3–6 и 0–2 лет были наиболее вовлечёнными в эпидемический процесс: показатели заболеваемости в период 6-й недели составили для них 476,9 и 424,8 на 10 тыс. населения соответственно. В то же время у лиц 7–14 лет и от 15 лет и старше показатели были значительно ниже (263,8 и 37,7 соответственно). Начиная с 15-й недели 2020 г. (с 6 апреля), времени введения карантинно-ограничительных мероприятий по причине пандемии SARS-CoV-2, по всем оцениваемым показателям заболеваемость ОРВИ была крайне низкой.

За период активности вирусов гриппа в представленных в исследовании регионах РФ были госпитализированы 2686 пациентов с подтверждённой гриппозной инфекцией, в том числе 0–2 лет – 9,3%, 3–6 лет – 13,2%, 7–14 лет – 14,6% и от 15 лет и старше – 62,9%. Максимальные показатели были отмечены на 6-й неделе 2020 г. (20%).

Анализ случаев ОРВИ в инфекционном стационаре г. Москвы, проведённый в отношении 687 пациентов (450 взрослых и 237 детей), показал, что в этиологической структуре у взрослых преобладал вирус гриппа A(H1N1)pdm09 (46,9%); доля возбудителя гриппа B составила 43,1%, A(H3N2) – 10,0%. У детей практи-

чески с одинаковой частотой диагностировали грипп А(H1N1)pdm09 и В (35,1 и 37,0% соответственно); доля А(H3N2) составила 3,7%, гриппа А (тип не установлен) – 24,2%. По возрастной структуре на долю пациентов от 18 до 40 лет пришлось 60,8% случаев гриппа, в когорте детей практически абсолютно доминировали дети раннего возраста (81,5%). В группе взрослых в большинстве случаев грипп протекал в среднетяжёлой форме (99,0%). Пневмония диагностирована у 38 (18,2%) взрослых, из них 37 (97,4%) – пациенты с гриппом, этиологически обусловленным вирусом А(H1N1)pdm09. Во всех случаях исход заболевания был благоприятным.

При тяжёлом течении ОРВИ у детей ($n = 41$) грипп лабораторно подтверждён в 2 случаях; этиологически оба были связаны с вирусом А(H1N1)pdm09 и развившейся пневмонией. Тяжесть состояния детей была обусловлена интоксикацией и дыхательной недостаточностью. Вместе с тем пневмония и бронхообструктивный синдром у 38 из 41 (82,9%) ребёнка осложнили течение инфекций риновирусной (EV-D) (42,1%), респираторно-синцициальной (RsV) (23,7%), метапневмовирусной (MPV) (5,3%), бокавирусной (BoV) (13,2%), аденовирусной (AdV) (10,5%) и альфа-коронавирусной (CoV) (5,2%) этиологии; заболевания протекали в виде моно- и смешанной инфекции.

Динамика частоты положительных находок в отношении ОРВИ и гриппа у заболевших с респираторными симптомами представлена на **рис. 1**.

В период октября–декабря 2019 г. частота положительных случаев обнаружения возбудителей

ОРВИ методом ОТ-ПЦР составила в среднем от 17,7 до 39,4%. С января 2020 г. показатели снизились до минимального значения к марту (9,2%) и несколько возросли к июню (12,5%). Случаи гриппа, детектируемые в октябре–ноябре 2019 г., носили спорадический характер в Европейской части и на Дальнем Востоке. Рост числа положительных проб на грипп коррелировал с ростом заболеваемости и достиг максимальных значений в феврале 2020 г. (31,8%). Последние случаи гриппа детектировали в апреле 2020 г.

Частота выявления положительных проб на типы/подтипы вируса гриппа в период сезона различалась: на фоне низкой активности вируса гриппа А(H3N2) резкий рост числа положительных образцов на вирус А(H1N1)pdm09 был отмечен в феврале. Вирус гриппа В был активен на протяжении всего сезона в отличие от предыдущих лет (**рис. 2**). Таким образом, эпидемический сезон 2019–2020 гг. характеризовался социркуляцией вирусов гриппа А(H1N1)pdm09 и В и низкой активностью вируса А(H3N2).

Диагностика, проведённая методом ОТ-ПЦР в период с октября 2019 г. по июнь 2020 г., выявила положительные находки в отношении возбудителей ОРВИ негриппозной этиологии: парагриппа (PIV) в 2,3% случаев, AdV – в 1,2%, RsV – в 2,7%, EV-D – в 3,8%, CoV – в 0,7%, BoV – в 1,9% и MPV – в 0,6% случаев (**табл. 1**).

Отмечены некоторые особенности выявления возбудителей ОРВИ негриппозной этиологии в различных регионах России. В городах Европейской части РФ более часто детектировали BoV (4,8%), PIV (4,4%) и RsV (4,3%); на Урале и в Сибири – EV-D

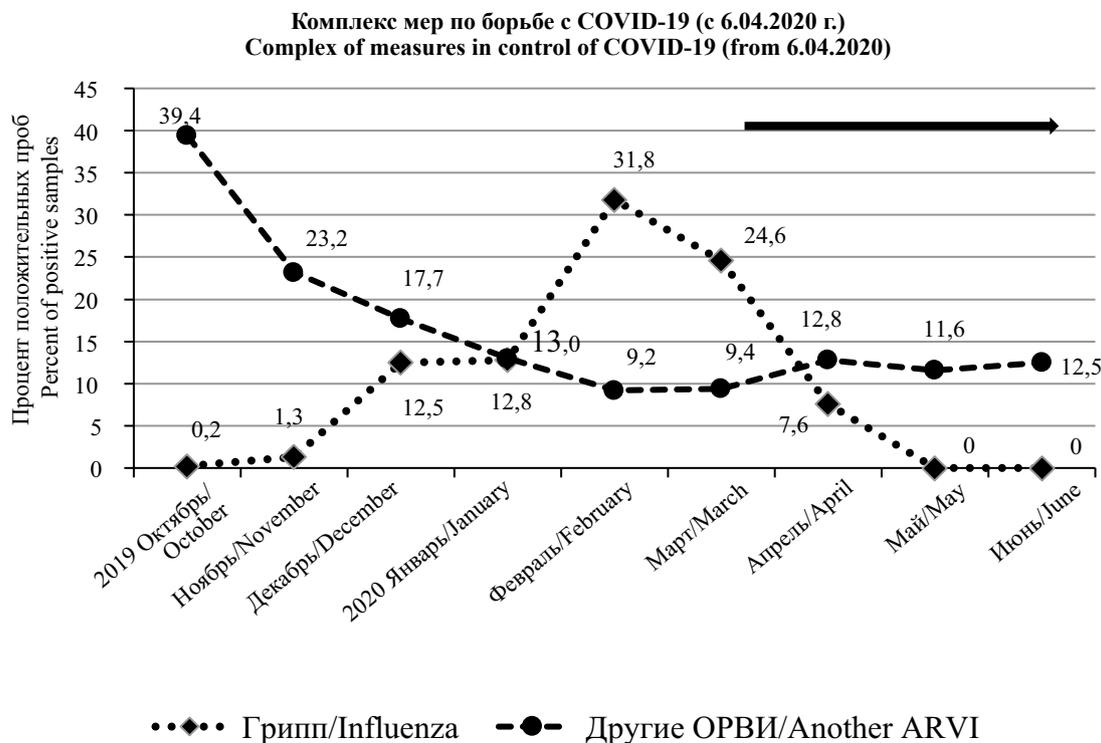


Рис. 1. Динамика детекции вирусов гриппа и ОРВИ методом ОТ-ПЦР в России в эпидемическом сезоне 2019–2020 гг., %.

Fig. 1. Detection of influenza and ARVI viruses by RT PCR in Russia during epidemic season 2019–2020, %.

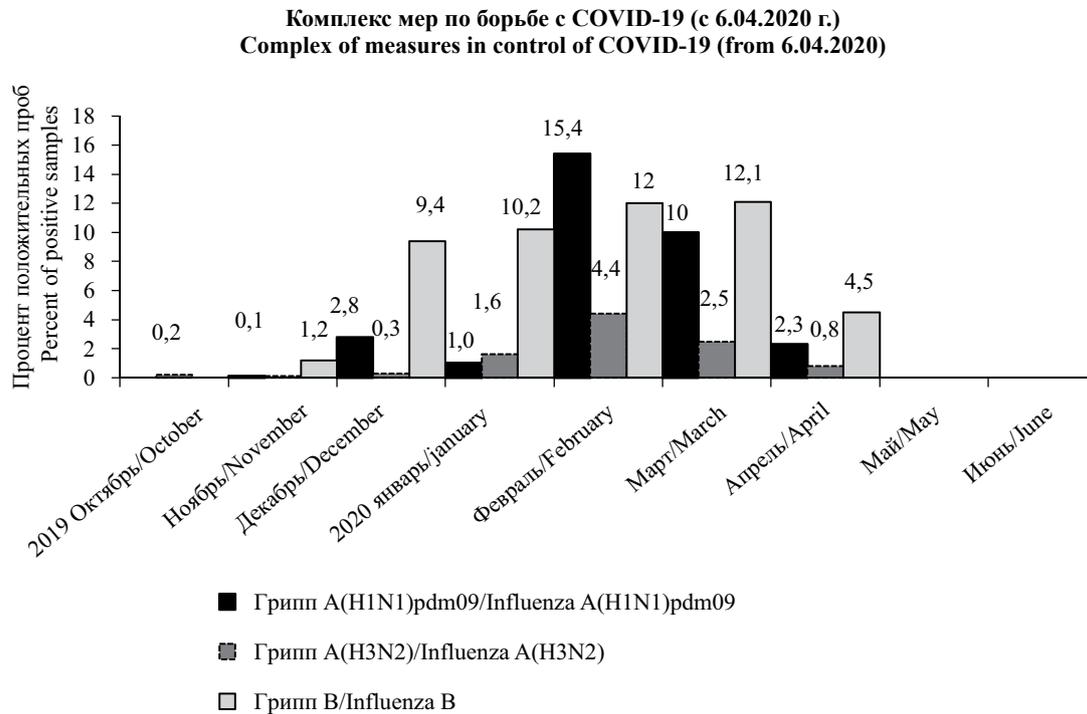


Рис. 2. Динамика детекции вирусов гриппа А(H1N1)pdm09, А(H3N2), В методом ОТ-ПЦР в России в эпидемическом сезоне 2019–2020 гг., %.

Fig. 2. Detection of influenza A(H1N1)pdm09, A(H3N2), B viruses by RT PCR in Russia during epidemic season 2019–2020, %.

(3,6%) и RsV (3,0%); на Дальнем Востоке – EV-D (4,9%) (табл. 1).

Активность возбудителей негриппозной этиологии в период эпидемического сезона также различалась. Для вирусов PIV наибольшая активность была отмечена в октябре–декабре 2019 г. и апреле–июне 2020 г.; для AdV – в октябре 2019 г.; EV-D – в октябре–ноябре 2019 г.; CoV – в декабре 2019 г. – январе 2020 г.; BoV – в октябре–декабре 2019 г. и апреле–мае 2020 г.; MPV – в октябре 2019 г. Активность RsV прослеживали на протяжении всего периода наблюдения с небольшим доминированием в январе–феврале 2020 г. (табл. 1).

В целом доленое участие этих возбудителей в структуре ОРВИ негриппозной этиологии составило (на 1660 положительных случаев): EV-D – 28,7%, RsV – 20,1%, PIV – 17,2%, BoV – 14,0%, MPV – 4,8%, AdV – 8,7% и CoV – 5,2% (табл. 1).

В период эпидемического сезона были проведены исследования на вирусы гриппа (20 253 образцов); частота детекции вирусов гриппа составила: А(H1N1)pdm09 – 7,3%, А(H3N2) – 1,8%, В – 8,0% (в целом 17,2%) (табл. 1, рис. 1, 2). В структуре возбудителей гриппа отмечено доминирование вирусов гриппа В (54,1%).

В городах Европейской части большую активность регистрировали в отношении вирусов гриппа А(H1N1)pdm09 и В (54 и 43% соответственно); на Урале и в Сибири – равнозначную активность вирусов гриппа А (по 48%). В городах Дальнего Востока доминировал вирус гриппа В (54%), большую долю

при сравнении с другими регионами составил вирус А(H3N2) (36,5%) и низкую активность проявил вирус гриппа А(H1N1)pdm09 (9,4%) (табл. 1).

Результаты антигенной характеристики 317 штаммов, выделенных в декабре 2019 г. – апреле 2020 г., определили родство 126 из них с вирусом гриппа В/Колорадо/06/17 линии В/Виктория-подобных (входившего в состав вакцин) (табл. 2). Однако половина из изученных штаммов реагировала с референс-сывороткой титра до 1/8 и менее, что свидетельствует о значимом отличии (дрейф-варианты). 178 штаммов вируса гриппа А(H1N1)pdm09 были близкородственны А/Брисбен/02/2018 (входившему в состав вакцин); подавляющее большинство реагировало с референс-сывороткой титра до 1–1/2 значения гомологичного (90%). 12 штаммов вируса гриппа А(H3N2) были близкородственны эталонам А/Гонконг/5758/14 и А/Сингапур/INFIMH-16-0019/016 (генетическая группа 3С.2а), причём группа штаммов была гетерогенна по отношению к референс-сывороткам. Только 1 из выделенных штаммов вируса гриппа А(H3N2) имел антигенное родство с сывороткой штамма А/Канзас/14/17 (генетическая группа 3С.3а), который входил в состав вакцин.

В отношении 12 эпидемических штаммов вируса гриппа А(H1N1)pdm09 проведено изучение их родства к СГП, «имитирующим» рецепторы эпителиальных клеток верхних (α2-6) [15] и нижних (α2-3 и α2-6) [16] дыхательных путей (табл. 3).

Результаты исследования 9 штаммов, выделенных в культуре клеток MDCK из назальных смывов от па-

Таблица 1. Выявление возбудителей ОРВИ методом ОТ-ПЦР в период октября 2019 г. – июня 2020 г. на разных территориях РФ
Table 1. Identification of ARVI pathogens by RT-PCR during October 2019 – June 2020 on different regions of RF

Год Year	Месяц года Month of the year	% положительных образцов их числа изученных/% из числа положительных к спектру возбудителей ОРВИ в городах Европейской части % of positive samples from studied samples/% from positive samples to ARVI pathogens in cities of European region											Группа Influenza		
		ОРВИ негриппозной этиологии Non-influenza ARVI											Число образцов Number of samples	A(H1N1) pdm09	A(H3N2)
		PIV	AdV	Rsv	EV-D	CoV**	BoV	MPV	Число образцов Number of samples	A(H1N1) pdm09	A(H3N2)	B			
2019	X	4,5/19,4	7,5/19,4	0,6/2,8	7,3/33,3	1,2/5,5	4,3/19,4	0	663/2*	0	0,3/100	0			
	XI	2,7/23,1	4,0/20,5	3,0/25,6	1,8/15,4	0,3/2,6	1,5/12,8	0	644/5	0,15/20,0	0,15/20,0	0,5/60,0			
	XII	2,3/14,0	2,8/17,2	3,3/20,3	3,3/20,3	0,8/4,7	3,8/23,4	0	957/142	5,3/35,9	0,1/0,7	9,4/63,4			
2020	I	1,2/6,7	3,5/20,0	6,1/35,0	4,4/25,0	1,7/10,0	0,6/3,3	0	1174/256	12,2/55,8	0,25/1,2	9,4/43,0			
	II	1,1/9,1	2,5/19,7	3,3/25,8	3,3/25,8	0,8/6,1	1,6/12,1	0,2/1,5	1916/543	16,6/58,7	0,7/2,6	11,0/38,6			
	III	3,1/18,3	0,9/5,5	4,4/25,7	3,1/18,3	0,3/1,8	5,0/29,4	0,2/0,9	2251/526	13,4/57,4	1,1/4,8	8,8/37,8			
	IV	8,4/27,6	1,5/4,9	4,1/13,5	4,4/14,7	0,4/1,2	10,9/36,2	0,6/1,8	1464/130	3,6/40,8	0,5/6,2	4,7/53,1			
	V	13,3/28,9	3,1/6,7	13,8/30,0	1,5/3,3	0	14,4/31,1	0	389/0	0	0	0			
	VI	10,9/50,0	3,6/16,7	5,5/25,0	1,2/5,5	0	1,8/8,3	0	242/0	0	0	0			
Всего Total		4,3/21,5	2,4/12,0	4,3/21,3	3,6/17,7	0,6/3,1	4,8/23,7	0,1/0,7	9700/1604	9,0/54,1	0,6/3,4	7,0/42,5			
в городах Урала и Сибири in cities of Ural and Siberia															
2019	X	2,6/10,6	1,5/6,4	0,5/2,1	14,3/59,6	3,1/12,8	2,0/8,5	0	278/0	0	0	0			
	XI	3,0/15,8	2,5/7,9	1,0/5,3	9,5/50,0	1,5/7,9	2,5/13,2	0	288/0	0	0	0			
	XII	7,1/22,4	1,7/5,3	3,4/10,5	10,9/34,2	5,9/18,4	2,9/9,2	0	322/0	0	0	0			
2020	I	0,5/4,0	0,5/4,0	6,3/46,5	3,3/24,2	1,1/8,1	0,8/6,1	1,0/7,1	804/142	13,0/73,9	0	4,6/26,1			
	II	0,3/4,0	0,5/5,6	3,5/44,0	2,2/28,0	0,4/5,6	0,6/8,0	0,4/4,8	1655/533	19,7/61,4	0,4/1,3	12,0/37,3			
	III	0,2/6,3	0,2/6,3	1,1/31,2	0,9/25,0	0,7/18,8	0,2/6,3	0,2/6,3	991/360	9,0/24,7	3,0/8,3	24,3/66,9			
	IV	0	0	0	0	0	0	0	367/77	3,8/18,2	1,4/6,5	15,8/75,3			
	V	0	0	0	0	0	0	2,8/100	74/0	0	0	0			
	VI	0	0	0	7,8/100	0	0	0	65/0	0	0	0			
Всего Total		1,0/9,2	0,6/5,5	3,0/28,9	3,6/34,1	1,1/10,4	0,9/8,1	0,4/3,8	4844/1112	11,0/48,1	0,9/3,8	11,0/48,1			
в городах Дальнего Востока in cities of Far East															
2019	X	7,5/13,6	2,1/0,4,9	0,3/1,0	19,1/56,3	0	3,0/8,7	5,3/15,5	380/0*	0	0	0			
	XI	4,5/12,9	1,2/5,0	1,0/2,9	23,6/67,9	0,5/1,4	2,0/5,7	1,5/4,3	421/13	0	0	3,1/100			
	XII	2,8/21,6	2,1/16,2	2,1/16,2	3,5/27,0	0,3/2,7	1,0/8,1	1,0/8,1	625/96	0,5/3,1	0,6/4,2	14,2/92,7			
2020	I	2,0/21,7	0,9/10,1	1,2/13,0	2,1/23,2	0,9/10,1	0,3/2,9	1,7/18,8	804/204	3,4/13,2	5,1/20,1	16,9/66,7			
	II	2,5/27,2	0,1/1,5	2,5/27,2	2,2/24,2	0,5/6,1	0,4/4,5	0,8/9,1	859/331	4,1/10,6	20,1/52,3	14,3/37,2			
	III	0,1/1,7	0,6/6,9	2,2/22,4	4,5/46,6	0,7/6,9	0	1,5/15,5	783/94	0,8/6,4	6,0/50,0	5,2/43,6			
	IV	0,2/9,5	0,2/9,5	9,7/28,6	0,8/33,3	0	0,2/9,5	0,2/9,5	1116/16	0	0,9/62,5	0,5/37,5			
	V	0	0	0	0,3/66,7	0,2/33,3	0	0	585/0	0	0	0			
	VI	1,4/66,7	0	0	0	0,7/33,3	0	0	136/0	0	0	0			

Продолжение табл. 1 см. на стр. 343.

Год Year	Месяц года Month of the year	% положительных образцов их числа изученных/% из числа положительных к спектру возбудителей ОРВИ в городах Европейской части % of positive samples from studied samples/% from positive samples to ARVI pathogens in cities of European region										Число образцов Number of samples	MPV	BoV	CoV**	EV-D	RsV	AdV	PIV	Группы Influenza		
		ОРВИ негриппозной этиологии Non-influenza ARVI																		A(H1N1) pdm09	A(H3N2)	B
Всего Total		4911/537	1,8/16,0	0,8/7,0	1,3/11,7	4,9/44,9	0,4/3,9	0,6/5,6	1,2/10,8	5709/754	1,2/9,4	4,8/36,5	7,1/54,0									
2019	X	829/222	5,2/19,4	14,1/9,9	0,5/1,8	13,2/52,7	1,2/4,5	3,3/12	1,9/7,2	1321	0	0,2	0									
	XI	930/217	3,9/15,2	1,5/8,3	1,7/7,4	13,0/37,3	0,6/2,8	1,9/8,3	0,6/2,8	1353	0,1	0,1	1,2									
	XII	1204/216	3,5/19,4	2,2/12,5	2,7/15,3	4,9/27,3	1,6/8,8	2,3/13	0,5/2,8	1904	2,8	0,3	9,4									
2020	I	1831/228	1,3/10,1	1,3/10,1	4,2/33,3	3,0/24,1	1,6/9,2	0,5/4,4	1,1/8,8	2782	1,0	1,6	10,2									
	II	2792/257	1,0/11,3	0,8/8,2	3,2/35,0	2,4/26,5	0,5/5,8	0,8/8,2	0,5/5,1	4430	15,4	4,4	12,0									
	III	2125/199	1,0/11,6	0,6/6,0	2,4/25,6	2,6/27,6	0,6/6,0	1,6/17	0,6/6,0	4025	10,0	2,5	12,1									
	IV	1427/184	3,3/25,5	0,7/5,4	2,0/15,2	2,1/16,8	0,1/1,1	4,2/33	0,4/2,7	2947	2,3	0,8	4,5									
	V	803/94	3,2/27,7	0,7/6,4	3,4/28,7	0,6/5,3	0,1/1,1	3,5/30	0,1/1,1	1048	0	0	0									
	VI	362/43	5,5/46,5	1,7/14,0	2,5/21,0	1,7/14,0	0,3/2,3	0,8/7,0	0	443	0	0	0									
Всего Total		12303/1660	2,3/16,6	1,2/8,7	2,7/20,1	3,8/30,7	0,7/5,2	1,9/13,9	0,6/4,8	20253/3470	7,3/9,4	1,8/36,5	8,0/54,1									

во всех регионах
in all regions

Примечание. *Число изученных образцов/число положительных образцов. **Сезонный коронавирус (*Alfacoronavirus*).

Note. *Number of studied samples/number of positive samples. **Seasonal coronavirus (*Alfacoronavirus*).

циентов с благоприятным исходом заболевания, показали, что 7 из них обладали РС, характерной для вирусов гриппа человека ($W_{3/6} < 1$), и имели наибольшее сродство к 6'SLN- и Su-6'SLN-СГП. У 2 штаммов, также выделенных из назальных смывов пациентов (54 и 69 лет) с благоприятным исходом заболевания (А/Москва/244/19 и А/Пенза/249/19), преобладала α2-3-РС ($W_{3/6} > 1$); они имели наибольшее сродство к 3'SL-СГП. Штаммы, выделенные из секционного материала (А/Ярославль/134-Т/2020 (трахея), А/Ярославль/135-Т/2020 (трахея) и А/Ярославль/135-Л/2020 (лёгкое)) на куриных эмбрионах, обладали α2-3-РС ($W_{3/6} > 1$). Эти данные согласуются с ранее полученными результатами [17]. Штаммы имели наибольшее сродство к Su-3'-SLN- и Su-3'-SLN-СГП и наименьшее – к 6'SL-СГП. Сопоставление показателя РС у штаммов, выделенных из трахеи и лёгкого, показало, что $W_{3/6}$ (трахея) $> W_{3/6}$ (лёгкое).

Полногеномное секвенирование было проведено для 89 эпидемических штаммов, в том числе А(Н1N1)pdm09 – 51, А(Н3N2) – 4 и гриппа В – 34. Большинство из них было выделено от пациентов Центрального федерального округа (Москва, Ярославль, Липецк), отдельные штаммы представляли Северо-Западный, Приволжский, Сибирский и Дальневосточный федеральные округа.

Согласно результатам проведённого анализа все 34 штамма вируса гриппа В принадлежали генетической группе V1A.3 линии В/Виктория-подобных, характеризующейся делецией 3 аминокислотных остатков (del162-164) в НА.

Выборка штаммов вируса гриппа А(Н3N2) была представлена генетическими группами 3С2А1b137F (3 штамма), 3с3А (1 штамм, подобный вакцинному). Новую генетическую группу 3С2А1b137F представляли штаммы Москвы и Биробиджана, а в 3с3А, известную с 2013 г., вошёл штамм из Москвы.

Наиболее разнообразными были штаммы вируса А(Н1N1)pdm09, представленные 3 генетическими группами: 6b1.A/183P-5a (45), 6b1.A/187А (5) и 6b1.A/156K (1). Штамм 6b1.A/156K в нашей выборке был от пациента 92 лет из Москвы. По данным GISAID изоляты, принадлежащие этой генетической группе, были обнаружены также в Санкт-Петербурге.

Штаммы группы 6b1.A/187А выделяли во Владивостоке, Иванове и Москве. К этой же геномной группе относился штамм А/Ярославль/135-Л/2020. По данным GISAID изоляты этой группы были зарегистрированы в Китайской Народной Республике (КНР) (провинция Гуандун) в июне 2019 г., а в эпидемическом сезоне 2019–2020 гг. – в Якутске и Санкт-Петербурге.

Согласно реконструкции эволюции вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 с помощью алгоритма Nextstrain (<https://nextstrain.org/flu/seasonal/h1n1pdm/ha/2y>) наиболее многочисленная группа 6b1.A/183P-5a начала циркулировать ещё в начале эпидемического сезона 2018–2019 гг.; в конце его появилась группа 6b1.A/187А. Геномная группа 6b1.A/156K является самой поздней по времени формирования, которое относится уже к сезону 2019–2020 гг.

Таблица 2. Антигенная характеристика штаммов вирусов гриппа А(Н1N1)pdm09, А(Н3N2) и В, выделенных в России в эпидемическом сезоне 2019–2020 гг.

Table 2. Antigenic characteristics of influenza A(H1N1)pdm09, A(H3N2) and B viruses strains, isolated in Russia during epidemic season 2019–2020

Тип/подтип вируса гриппа Type/subtype of influenza virus	Отношение к титру референс-штамма с гомологичной сывороткой Ratio to homological titer to reference strains	Число штаммов Number of variants	Все изученные All studied		
А(Н1N1)pdm09	1–1/2: А/Мичиган/45/2015 1–1/2: A/Michigan/45/2015	170	178		
	1/4: А/Мичиган/45/2015 1/4: A/Michigan/45/2015	3			
	≤1/8: А/Мичиган/45/2015 ≤1/8: A/Michigan/45/2015	5			
	1–1/2: А/Брисбен/02/2018* 1–1/2: A/Brisbane/02/2018*	161			
	1/4: А/Брисбен/02/2018* 1/4: A/Brisbane/02/2018*	12			
	≤1/8: А/Брисбен/02/2018* ≤1/8: A/Brisbane/02/2018*	5			
	А(Н3N2)	1–1/2: А/Гонконг/5738/2014 (MDCK) 1–1/2: A/Hong Kong/5738/2014 (MDCK)		2	13
1/4: А/Гонконг/5738/2014 (MDCK) 1/4: A/Hong Kong/5738/2014 (MDCK)		3			
≤1/8: А/Гонконг/5738/2014 (MDCK) ≤1/8: A/Hong Kong/5738/2014 (MDCK)		7			
1–1/2: А/Сингапур/INFIMH-16-0019/2016 1–1/2: A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016		2			
1/4: А/Сингапур/INFIMH-16-0019/2016 1/4: A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016		4			
≤1/8: А/Сингапур/INFIMH-16-0019/2016 ≤1/8: A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016		6			
1–1/2: А/Канзас/14/17* 1–1/2: A/Kansas/14/17*		1			
В/Виктория-подобные B/Victoria-like		1–1/2: В/Колорадо/06/2017* 1–1/2: B/Colorado/06/2017*	39	107	
		1/4: В/Колорадо/06/2017* 1/4: B/Colorado/06/2017*	26		
		≤1/8: В/Колорадо/06/2017* ≤1/8: B/Colorado/06/2017*	62		
	В/Ямагата-подобные B/Yamagata-like	0			

Примечание. *Вакцинные штаммы.

Note. *Vaccine strains.

Штамм A/Brisbane/02/2018 (H1N1)pdm09 (вакцинный в 2019–2020 гг.) относится к геномной группе 6b1.A/183-P1, далеко отстоящей на филогенетическом дереве от ветвей 3 основных групп этого сезона. Штамм A/Guandong Maonan/SWL1536/2019, выбранный в качестве вакцинного для сезона 2020–2021 гг., принадлежит к группе 6b1.A/187A, циркулировавшей также в прошедшем сезоне.

Штаммы прошедшего эпидемического сезона отличали мутации, способствующие сдвигу в хозяйской специфичности. Для нумерации сайтов мутаций в HA использовали двойной номер Н1/Н3. Из 6 мутаций в HA, обнаруженных в рецептор-связывающем домене, 4 находятся в кармане домена. 2 мутации в HA являются общими для всех секвенированных изолятов вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 – S183P/

S186P и R223Q/R226Q. Мутация R226Q – наиболее известная из усиливающих специфичность вируса к рецепторам верхних дыхательных путей человека [16]. Ещё 2 мутации в HA – D187A/D190A и Q189E/Q192E – обнаружены у всех изолятов геномной группы 6b1.A/187A. В этой группе только у 1 изолята А/Ярославль/135-L/2020 из секционного материала лёгких умершего пациента обнаружена мутация D222G, которую, по данным Д.К. Львова и соавт. [17], ранее чаще всего наблюдали у штаммов, выделенных от пациентов, скончавшихся в результате летальной первичной вирусной пневмонии. У изолята самой новой геномной группы 6b1.A/156K выявлены 2 мутации в HA: K130M/K133M и N156K/N159K.

Мутации в белках полимеразного комплекса (РА, РВ2) также способствовали усилению адаптации

Таблица 3. Сродство штаммов вируса гриппа А(Н1N1)рdm09, выделенных в эпидемическом сезоне 2019–2020 гг., к сialogликополимерам
Table 3. The affinity of influenza A(H1N1)рdm09 virus strains, isolated during epidemic season 2019–2020, to sialoglycopolymers

Штаммы Strains	Сialogликополимеры, % от суммы сигналов Sialoglycopolymers, % from sum signals								W _{3/6}
	3'-SL	6'-SL	3'-SLN	6'-SLN	Su-3'-SLN	Su-6'-SLN	Sle a	Sle x	
Выделенные на MDCK из носоглоточных смывов Isolated on MDCK from nasal swabs									
А/Москва/55/20 A/Moscow/55/20	7,48	6,28	11,12	17,70	12,87	25,49	8,45	10,62	0,78
А/Москва/66/20 A/Moscow/66/20	9,01	7,88	8,38	17,87	12,86	26,67	7,77	9,55	0,68
А/Москва/68/20 A/Moscow/68/20	9,38	8,36	9,22	14,44	14,21	22,77	10,2	11,34	0,82
А/Москва/230/19 A/Moscow/230/19	9,17	5,82	12,16	17,92	13,05	25,22	7,15	9,50	0,90
А/Москва/244/19 A/Moscow/244/19	11,53	4,81	12,95	15,22	14,25	23,62	7,64	9,98	1,22
А/Москва/247/19 A/Moscow/247/19	8,38	7,09	11,23	15,64	14,87	24,89	7,65	10,24	0,86
А/Москва/248/19 A/Moscow/248/19	8,69	9,08	9,40	18,17	12,23	25,13	7,83	9,48	0,66
А/Пенза/249/19 A/Penza/249/19	14,76	3,10	14,90	11,52	15,71	19,72	9,44	10,86	2,03
А/Пенза/250/19 A/Penza/250/19	8,22	9,06	9,32	17,04	12,07	25,04	5,87	13,39	0,67
А/Калифорния/07/09 A/California/07/09	13,29	2,77	11,30	12,52	17,83	20,96	10,22	11,05	1,61
Выделенные на куриных эмбрионах от летальных случаев Isolated on embryonated eggs from lethal cases									
А/Ярославль/134-Т/20 A/Yaroslavl/134-Т/20	14,43	1,39	14,68	13,34	14,97	15,63	13,42	12,14	1,98
А/Ярославль/135-Т/20 A/Yaroslavl/135-Т/20	15,26	1,46	14,87	12,36	15,52	16,74	12,26	11,54	2,18
А/Ярославль/135-Л/20 A/Yaroslavl/135-Л/20	14,73	7,24	12,79	11,40	15,37	17,63	11,00	9,85	1,48
А/Калифорния/07/09 A/California/07/09	13,88	8,10	12,12	11,73	15,56	16,84	10,91	10,84	1,31

к организму человека [18, 19]. Например, мутация PB2 T81I обнаружена у всех штаммов выборки А(Н1N1)рdm09, а мутация PA S225C выявлена у 18 изолятов геномной группы 6b1.A/183P-5a (Москва, Ярославль, Чебоксары, Липецк, Великий Новгород), у 1 – геномной группы 6b1.A/187A и у 1 изолята группы 6b1.A/156K. Отметим, что в число имеющих мутацию в PA (S225C) вошли штаммы А/Ярославль/134-Т/2020 (трахея), А/Ярославль/135-Т/2020 (трахея), А/Ярославль/135-Л/2020 (лёгкое), отличавшиеся преобладанием α2-3-рецепторной специфичности.

Таким образом, все штаммы вирусов гриппа, выявленные в сезоне 2019–2020 гг. на территории России, принадлежали основным генетическим группам, зарегистрированным по данным GISAID.

Чувствительность к препаратам с антинейраминидазной активностью изучена для 139 эпидемических штаммов вирусов гриппа: А(Н1N1)рdm09 (81), А(Н3N2) (10) и В (48). У большинства из них обнаружена нормальная чувствительность к озельтамивиру и занамивиру; концентрация препаратов (IC₅₀) составляла менее 1,05 и 0,51 нМ для штаммов А(Н1N1)рdm09, менее 1,17 и 1,41 нМ – для штаммов А(Н3N2)

и менее 27,09 и 15,80 нМ – для штаммов вируса гриппа В соответственно. У 1 штамма А/Чебоксары/125/2020 (Н1N1)рdm09 регистрировали сниженную чувствительность как к озельтамивиру (98,9 нМ), так и к занамивиру (13,1 нМ). В отношении последнего штамма выявлена мутация в позиции 152 активного сайта нейраминидазы (NA) с заменой аргинина (R) на лизин (K), которую связывают с пониженной чувствительностью к антинейраминидазным препаратам.

Обсуждение

Эпидемический сезон 2019–2020 гг. имел свои особенности по спектру циркулирующих возбудителей ОРВИ, а также появлению в ноябре 2019 г. и активному распространению по странам мира в феврале–марте 2020 г. нового коронавируса SARS-CoV-2 [4, 5]. Первые случаи появления этого вируса в России были детектированы в феврале 2020 г. после прохождения пиковой активности вирусов гриппа. Представленные в настоящей работе данные во многом согласуются с результатами, полученными в других странах Северного полушария, однако имеются и некоторые различия [18, 19].

Начало эпидемического сезона характеризовалось социркуляцией вирусов гриппа A(H1N1)pdm09, A(H3N2) и представителей обеих эволюционных линий вируса гриппа В. Значительный рост активности был отмечен к концу января 2020 г. Оценить продолжительность и интенсивность эпидемии, в том числе в РФ, стало затруднительным в связи с появлением и распространением нового коронавируса SARS-CoV-2. Циркуляция сезонных альфа-коронавирусов (CoV) не отличалась от таковой в предыдущие годы, и в период 2019–2020 гг. бóльшую активность их регистрировали в декабре–январе, при этом частота их диагностирования в среднем составила не более 1,0%, а в структуре ОРВИ – 5,2%. Наибольшее число положительных проб выявляли в городах Урала и Сибири (1,1 и 10,4% соответственно).

На европейской территории активность вирусов гриппа была отмечена в более ранние сроки – в ноябре 2019 г., с пиковыми значениями в период 5–7-й недель 2020 гг. [20–22]. Доминирование того или иного типа/подтипа вируса гриппа было различным по странам региона; в частности, в северо-западной части бóльшую активность проявили вирусы A(H3N2). В целом по региону активность вирусов гриппа распределилась следующим образом: A(H1N1)pdm09 – 41%, A(H3N2) – 33% и В – 26% (96,9% из которых – В/Виктория-подобные).

В странах Северной Америки высокая активность вирусов гриппа также была отмечена в более ранние сроки – с декабря 2019 г., с максимальными показателями в период 5–6-й недель 2020 г. [23]. В структуре циркулирующих штаммов – вирусы гриппа A(H1N1)pdm09 (60%) и В/Виктория-подобные (35%).

В странах Восточной Азии активность вирусов гриппа также началась относительно рано, в декабре 2019 г., при доминировании вирусов A(H3N2) в КНР (социркуляция с вирусами гриппа A(H1N1)pdm09 и В) и Монголии, вируса гриппа A(H1N1)pdm09 – в Японии и Республике Корея [20]. Ретроспективный анализ частоты выявления положительных проб на грипп в КНР с появлением нового коронавируса SARS-CoV-2 не выявил его негативного влияния, и в количественном отношении текущий сезон был сравним с предыдущими несмотря на различия по доминирующим типам.

В некоторых странах Северной Африки, Западной и Центральной Азии рост активности возбудителей гриппа был отмечен между октябрём 2019 г. и январём 2020 г., в период которого циркулировали вирусы гриппа А и В в разных соотношениях [20].

На территории Северной Африки и Западной Азии доминировали штаммы вируса гриппа A(H1N1)pdm09, в то время как в Центральной Азии отмечена практически равнозначная активность вирусов гриппа A(H1N1)pdm09 и A(H3N2).

В большинстве стран Азии с тропическим и субтропическим климатом (Лаос, Иран, Малайзия, Оман, Катар) доминировал вирус гриппа A(H1N1)pdm09; в странах же Центральной и Южной Америки с тропическим климатом отмечена социркуляция вирусов

A(H1N1)pdm09, A(H3N2) и В. Высокая активность вируса A(H1N1)pdm09 отмечена в Сальвадоре и Мексике, A(H3N2) – в Никарагуа [20].

Оценка рисков гриппозной инфекции у пациентов с тяжёлыми острыми респираторными инфекциями (ТОРИ), проведённая в странах Европейского региона, показала, что 49% из 38 235 пациентов были в возрасте 0–49 лет. Этиологическая структура вирусов гриппа составила: A(H1N1)pdm09 – 61%, A(H3N2) – 29% и В – 10% [22].

Изучение антигенных и генетических свойств популяции циркулировавших штаммов выявило их гетерогенность, а также в ряде стран несоответствие характеристик штаммов вирусов гриппа A(H3N2) и В свойствам вакцинных вирусов [21, 22, 23].

В частности, в странах Европейского региона штаммы вирусов гриппа A(H1N1)pdm09 были представлены 4 генетическими группами, бóльшая часть которых (92%) принадлежала к группе 6В.1А5А (А/Норвегия/3433/2018) [21]. Наибольшая гетерогенность, как и ранее, была отмечена для штаммов вируса A(H3N2): 53% было отнесено к генетической группе 3С.3а (А/Канзас/14/2018), 33% – к 3С.2а1b+Т131К (А/Южная Австралия/34/2019), 8% возбудителей ТОРИ – к генетической группе 3С.2а1b+Т135К-В (А/Гонконг/2675/2019) и 6% – к 3С.2а1b+Т131К-А (А/Ла Риоха/2202/2018). Это свидетельствует о том, что более половины популяции данного штамма соответствовало свойствам вакцинного вируса (в отличие от России и других стран). Подавляющее большинство штаммов вируса гриппа В (91%) было отнесено к линии В/Виктория-подобных, ветви 1А(dell62-164), представитель В/Вашингтон/02/2019, что также отличало их от вакцинного вируса (В/Колорадо/06/2017, 1А(dell62-163)), но было характерным для всех стран мира.

Результаты мониторинга чувствительности эпидемических штаммов к противовирусным препаратам показали, что из числа более чем 4000 протестированных образцов (Европейский регион, США) пониженную чувствительность к озельтамивиру проявили только 7 (0,4%) штаммов вируса гриппа A(H1N1)pdm09 и 1 (0,1%) – гриппа В; к занамивиру – 1 (0,1%) штамм вируса гриппа A(H1N1)pdm09 и 2 (0,1%) штамма вируса гриппа В; к обоим препаратам – 3 штамма: по 1 штамму вирусов гриппа A(H1N1)pdm09, A(H3N2) и В. Наряду с этим все изученные штаммы были резистентными к препаратам адамантанового ряда [22, 23]. Со временем число штаммов с резистентностью к антинейраминидазным препаратам, возможно, будет возрастать. Это вызывает необходимость разработки веществ с другим механизмом действия. Одним из таких весьма перспективных разработанных исследователями фирмы Roche препаратов является Baloxavir marboxil (ВХМ, Hofluzar®). Препарат ингибирует эндонуклеазу полимеразного комплекса, блокируя на ранней стадии репликацию вируса. Крайне важна скорейшая регистрация этого средства в качестве препарата резерва при предстоящих пандемиях

Таблица 4. Циркуляция вируса гриппа птиц А(Н5) в период с февраля по 1 сентября 2020 г. по данным ВОЗ (GISRS)
Table 4. Circulation of influenza virus of bird A(H5) in February to September 1, 2020 according to WHO (GISRS)

Регионы Regions	Страна Country	Птицы Birds		Генетическая группа (клайд) Clade
		Дикие Wild	Сельскохозяйственные Poultry	
ЕВРОПА EUROPE	Болгария Bulgaria	–	+	2.3.4.4b (H5N8)
	Венгрия Hungary	–	+	2.3.4.4b (H5N8)
	Германия Germany	+	+	2.3.4.4b (H5N8)
	Польша Poland	–	+	2.3.4.4b (H5N8)
	Россия (азиатская часть) Russia (Asian part)	+	–	2.3.4.4b (H5N8)
	Румыния Romania	–	+	2.3.4.4b (H5N8)
АФРИКА AFRICA	Египет Egypt	–	+	2.3.4.4b (H5N8)
АЗИЯ ASIA	Вьетнам Vietnam	–	+	(H5N1) 2.3.4.4g (H5N6) 2.3.4.4h (H5N6)
	Индия India	+	+	2.3.2.1a (H5N1)
	Ирак Iraq	–	+	? (H5N8)
	Китайская Народная Республика China	–	+	2.3.4.4h (H5N6)
	Китайская Народная Республика–Тайвань China–Taiwan	–	+	2.3.4.4c (H5N6)
	Камбоджа Cambodia	–	+	2.3.4.4h (H5N6)
ОКЕАНИЯ OCEANIA	Филиппины Philippines	–	+	? (H5N6)

гриппа. Он уже зарегистрирован в США, Японии и ряде других стран [24–26].

28 февраля 2020 г. ВОЗ опубликовала рекомендации по составу гриппозных вакцин для стран Северного полушария в 2020–2021 гг. 4-валентные препараты должны содержать компоненты: А(Н1N1)pdm09 – вирус, подобный А/Гуандонг Маонан/SWL1536/2019 (6b1.A/187A); А(Н3N2) – вирус, подобный А/Гонконг/2671/2019 (3С.2a1b+135K+137F); В – вирус, подобный В/Вашингтон/02/2019 (линия В/Виктория/2/87) (3Del) и вирус, подобный В/Пхукет/3073/2013 (линия В/Ямагата/16/88) (ветвь 3). В качестве составной части 3-валентных вакцин против гриппа В рекомендуется вирус, подобный В/Вашингтон/02/2019 (линия В/Виктория/2/87) (ветвь 3Del) [27].

Ситуация с инфицированием людей вирусами гриппа птиц была относительно благоприятной; последний случай инфицирования вирусом гриппа А(Н5N1) зафиксирован в Непале 30 апреля 2019 г. (общее число составило 861, из которых 445 (52,8%) – с летальным исходом). Вирус гриппа А(Н5) продолжают детектировать у птиц в Африке, Европе, Азии и Океании (табл. 4) [2]. За последний год зарегистрирован 1 случай инфицирования вирусом гриппа А(Н5N6) (общее число составило 24, включая 7 с летальным исхо-

дом). Новых случаев инфицирования вирусом гриппа птиц А(Н7N9) детектировано не было (общее число составило 1568, из них 615 – с летальным исходом). Выявлено 7 новых эпизодов инфицирования людей вирусом гриппа птиц А(Н9N2), всего за период наблюдения известно о 33 случаях. К настоящему времени официально зарегистрировано 2553 лабораторно подтвержденных случаев заражения возбудителем Ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV), из них 876 – с летальным исходом в 26 странах [28].

По данным ВОЗ к 29 июня 2020 г. число заболевших новым коронавирусом SARS-CoV-2 в мире составило 10 021 401 человек, летальный исход зафиксирован в 499 913 случаях. Наибольшее число случаев зарегистрировано в США (2 496 628), Бразилии (1 313 667), Индии (548 318), Великобритании (311 155), Испании (248 770), Италии (240 310), Германии (193 761), Франции (156 156) и Иране (222 669). В России показатели к концу июня составили 641 156 случаев заражения, 9166 – с летальным исходом [29].

Заключение

Отличительными особенностями эпидемического сезона 2019–2020 гг. стали, во-первых, более раннее

начало в большинстве стран мира; во-вторых, практически одновременная циркуляция вирусов гриппа А(H1N1)pdm09 и В на фоне низкой активности вируса гриппа А(H3N2); в-третьих, появление и широкое распространение нового коронавируса SARS-CoV-2, который в определённой степени повлиял как на активность служб эпидемиологического надзора за гриппом и ОРВИ, так и на циркуляцию их возбудителей в апреле–июне 2020 г.

Как и ранее, на отдельных территориях РФ отмечены различия по спектру циркулирующих возбудителей ОРВИ, в том числе вирусов гриппа. Выявлена гетерогенность популяции штаммов вируса гриппа А(H1N1)pdm09 с доминированием представителей генетической группы 6b1.A/183P-5a, отличающейся от группы 6b1.A/183-P1, к которой относится вакцинный штамм сезона 2019–2020 гг. – А/Брисбен/02/2018; при этом по антигенным свойствам эпидемические штаммы были близки вакцинному вирусу. Представители вируса гриппа А(H3N2) в основном были отнесены к генетической группе 3С.2а, отличной от вируса, входившего в состав вакцин (3С.3а), в том числе по антигенным свойствам. Популяция вируса гриппа В была представлена штаммами линии В/Виктория-подобных, однако генетической группы V1A.3 (del162-164), отличной от входившего в состав вакцин вируса (V1A.2, del162-163), в том числе по антигенным свойствам. Всё вышесказанное могло повлиять на эффективность вакцинопрофилактики.

Сохранён благоприятный профиль чувствительности возбудителей к препаратам с антинейраминидазной активностью.

Появление и широкое распространение коронавируса SARS-CoV-2 определяют необходимость непрерывного проведения клинико-эпидемиологических исследований, в особенности тяжёлых и летальных случаев, этиологически связанных с ОРВИ.

ЛИТЕРАТУРА

- King A.M., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J., eds. *Virus Taxonomy*. London: Academic Press Elsevier; 2012.
- Львов Д.К., ред. *Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных*. М.: МИА; 2013.
- WHO. Global Influenza Strategy 2019–2020. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/311184>.
- WHO. Avian and other zoonotic influenza. Available at: http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/.
- Dawood F.S., Jain S., Finelli L., Shaw M.W., Lindstrom S., Garten R.J., et al. Emergence of a novel swine-origin influenza A(H1N1) virus in humans. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360(25): 2605–15. <https://doi.org/10.1056/nejmoa0903810>.
- 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 (*Nodovirales, Coronaviridae, Coronavirinae, Betacoronavirus*, подрод *Sarbecovirus*): уроки эпидемии SARS-CoV. *Вопросы вирусологии*. 2020; 65(1): 6–15. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-1-6-15>.
- 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>.
- Львов Д.К., Бурцева Е.И., Мукашева Е.А., Колобухина Л.В., Трушакова С.В., Бреслав Н.В. и др. Активность вирусов гриппа в сезоне 2017–2018 гг. в России и странах Северного полушария: конфликт по В-вирусному компоненту вакцин. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2019; 18(3): 13–21. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-3-13-21>.
- Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Бовин Н.В., Малышев Н.А., Чучалин А.Г., Колобухина Л.В. и др. Корреляция между рецепторной специфичностью штаммов пандемического вируса гриппа А(H1N1)pdm09, изолированных в 2009–2011 гг., структурой рецептор-связывающего сайта и вероятностью развития летальной первичной вирусной пневмонии. *Вопросы вирусологии*. 2012; 57(1): 14–20.
- Rogers G.N., Paulson J.C. Receptor determinants of human and animal influenza virus isolates: differences in receptor specificity of the H3 hemagglutinin based on species of origin. *Virology*. 1983; 127(2): 361–73. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(83\)90150-2](https://doi.org/10.1016/0042-6822(83)90150-2).
- Zhou B., Donnelly M.E., Scholes D.T., Hatta M., Kawaoka Y., Wentworth D.E. Single-reaction genomic amplification accelerates sequencing and vaccine production for classical and Swine origin human influenza A viruses. *J. Virol.* 2009; 83(19): 10309–13. <https://doi.org/10.1128/JVI.01109-09>.
- Zhou B., Lin X., Wang W., Halpin R.A., Stockwell T.B., Barr I.G., et al. Universal Influenza B Virus Genomic Amplification Facilitates Sequencing, Diagnostics, and Reverse Genetics. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52(5): 1330–7. <https://doi.org/10.1128/JCM.03265-13>.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S. ME-GA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 2013; 30(12): 2725–9. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>.
- Hadfield J., Megill C., Bell S.M., Huddleston J., Potter B., Callender C., et al. Nextstrain: real-time tracking of pathogen evolution. *Bioinformatics*. 2018; 34(23): 4121–3. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty407>.
- Lakdawala S.S., Jayaraman A., Halpin R.A., Lamirande E.W., Shih A.R., Stockwell T.B., et al. The soft palate is an important site of adaptation for transmissible influenza viruses. *Nature*. 2015; 526(7571): 122–5. <https://doi.org/10.1038/nature15379>.
- Walther T., Karamanska R., Chan R.W., Chan M.C., Jia N., Air G., et al. Glycomic analysis of human respiratory tract tissues and correlation with influenza virus infection. *PLoS Pathog.* 2013; 9(3): e1003223. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003223>.
- Львов Д.К., Богданова В.С., Кириллов И.М., Щелканов М.Ю., Бурцева Е.И., Бовин Н.В. и др. Эволюция пандемического вируса гриппа А(H1N1)pdm09 в 2009–2016 гг.: динамика рецепторной специфичности первой субъединицы гемагглютинина (HA1). *Вопросы вирусологии*. 2019; 64(2): 63–72. <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2019-64-2-63-72>.
- Finkelstein D.B., Mukatira S., Mehta P.K., Obenauer J.C., Su X., Webster R.G., et al. Persistent host markers in pandemic and H5N1 influenza viruses. *J. Virol.* 2007; 81(19): 10292–9. <https://doi.org/10.1128/JVI.00921-07>.
- Miotto O., Heiny A., Tan T.W., August J.T., Bruscia V. Identification of human-to-human transmissibility factors in PB2 proteins of influenza A by large-scale mutual information analysis. *BMC Bioinformatics*. 2008; 9(Suppl. 1): S18. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-9-S1-S18>.
- WHO. Influenza updates. Available at: https://www.who.int/influenza/surveillance_monitoring/updates/.
- WHO. FluNet Summary. Available at: https://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/updates/summaryreport/.
- Joint ECDC-WHO/Europe weekly influenza updates. Available at: <https://www.flunews europe.org/>.
- Weekly U.S. Influenza Surveillance Reports (FluView). Available at: <https://www.cdc.gov/flu/weekly/index.htm>.
- Kawaguchi N., Koshimichi H., Wajimer T. Evaluation of drug-drug interaction potential between baloxavir marboxil and oseltamivir in health subjects. *Clin. Drug Investig.* 2018; 38(1): 1053–60. <https://doi.org/10.1007/s40261-018-0697-2>.
- Hayden F.G., Sugaya N., Hirotsu N., Lee N., de Jong M.D., Hurt A.C., et al. Baloxavir marboxil for uncomplicated influenza in adults and adolescents. *N. Eng. J. Med.* 2018; 379(10): 913–23. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1716197>.
- FDA prescribing information: XOFLUZA™ (baloxavir marboxil) tablets for oral use. Initial U.S. Approval: 2018. Available at: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/210854s0001bl.pdf.

27. WHO. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2020–2021 northern hemisphere influenza season. Available at: https://www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/2020-21_north/.
28. ВОЗ. Коронавирус Ближневосточного респираторного синдрома (БВРС-КоВ). Available at: <https://www.who.int/features/qa/mers-cov/ru/>.
29. ВОЗ. Коронавирус COVID-19. Available at: <https://www.who.int/ru/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>.

REFERENCES

1. King A.M., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J., eds. *Virus Taxonomy*. London: Academic Press Elsevier; 2012.
2. L'vov D.K., ed. *Guide to Virology. Viruses and Viral Infections of Humans and Animals [Rukovodstvo po virusologii. Virusy i virusnye infektsii cheloveka i zhivotnykh]*. Moscow: MIA; 2013 (in Russian).
3. WHO. Global Influenza strategy 2019–2020. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/311184>.
4. WHO. Avian and other zoonotic influenza. Available at: http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/.
5. Dawood F.S., Jain S., Finelli L., Shaw M.W., Lindstrom S., Garten R.J., et al. Emergence of a novel swine-origin influenza A(H1N1) virus in humans. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360(25): 2605–15. <https://doi.org/10.1056/nejmoa0903810>.
6. L'vov D.K., Al'khovskiy S.V., Kolobukhina L.V., Burtseva E.I. Etiology of epidemic outbreaks COVID-19 in Wuhan, Hubei province, Chinese People Republic associated with 2019-nCoV (*Nidovirales, Coronaviridae, Coronavirinae, Betacoronavirus*, subgenus *Sarbecovirus*): lessons of SARS-CoV outbreak. *Voprosy virusologii.* 2020; 65(1): 6–15. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-1-6-15> (in Russian).
7. 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).
8. L'vov D.K., Burtseva E.I., Mukasheva E.A., Kolobukhina L.V., Trushakova S.V., Breslav N.V., et al. The activity of influenza viruses during 2017–2018 season in Russia and countries of the Northern Hemisphere: conflict by the B-virus vaccine component. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika.* 2019; 18(3): 13–21. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-3-13-21> (in Russian).
9. L'vov D.K., Shchelkanov M.Yu., Bovin N.V., Malyshev N.A., Chuchalin A.G., Kolobukhina L.V., et al. Correlation between the receptor specificity of pandemic influenza a (H1N1)pdm09 virus strains isolated in 2009–2011 and the structure of the receptor-binding site and the probability of fatal primary viral pneumonia. *Voprosy virusologii.* 2012; 57(1): 14–20 (in Russian).
10. Rogers G.N., Paulson J.C. Receptor determinants of human and animal influenza virus isolates: differences in receptor specificity of the H3 hemagglutinin based on species of origin. *Virology.* 1983; 127(2): 361–73. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(83\)90150-2](https://doi.org/10.1016/0042-6822(83)90150-2).
11. Zhou B., Donnelly M.E., Scholes D.T., Hatta M., Kawaoka Y., Wentworth D.E. Single-reaction genomic amplification accelerates sequencing and vaccine production for classical and Swine origin human influenza A viruses. *J. Virol.* 2009; 83(19): 10309–13. <https://doi.org/10.1128/JVI.01109-09>.
12. Zhou B., Lin X., Wang W., Halpin R.A., Stockwell T.B., Barr I.G., et al. Universal Influenza B Virus Genomic Amplification Facilitates Sequencing, Diagnostics, and Reverse Genetics. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52(5): 1330–7. <https://doi.org/10.1128/JCM.03265-13>.
13. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipiński A., Kumar S. ME-GA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 2013; 30(12): 2725–9. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>.
14. Hadfield J., Megill C., Bell S.M., Huddleston J., Potter B., Callender C., et al. Nextstrain: real-time tracking of pathogen evolution. *Bioinformatics.* 2018; 34(23): 4121–3. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty407>.
15. Lakdawala S.S., Jayaraman A., Halpin R.A., Lamirande E.W., Shih A.R., Stockwell T.B., et al. The soft palate is an important site of adaptation for transmissible influenza viruses. *Nature.* 2015; 526(7571): 122–5. <https://doi.org/10.1038/nature15379>.
16. Walther T., Karamanska R., Chan R.W., Chan M.C., Jia N., Air G., et al. Glycomic analysis of human respiratory tract tissues and correlation with influenza virus infection. *PLoS Pathog.* 2013; 9(3): e1003223. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003223>.
17. L'vov D.K., Bogdanova V.S., Kirillov I.M., Shchelkanov M.Yu., Burtseva E.I., Bovin N.V., et al. Evolution of pandemic influenza virus A(H1N1)pdm09 in 2009–2016: dynamics of receptor specificity of the first hemagglutinin subunit (HA1). *Voprosy virusologii.* 2019; 64(2): 63–72. <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2019-64-2-63-72> (in Russian).
18. Finkelstein D.B., Mukatira S., Mehta P.K., Obenauer J.C., Su X., Webster R.G., et al. Persistent host markers in pandemic and H5N1 influenza viruses. *J. Virol.* 2007; 81(19): 10292–9. <https://doi.org/10.1128/JVI.00921-07>.
19. Miotto O., Heiny A., Tan T.W., August J.T., Brusica V. Identification of human-to-human transmissibility factors in PB2 proteins of influenza A by large-scale mutual information analysis. *BMC Bioinformatics.* 2008; 9(Suppl. 1): S18. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-9-S1-S18>.
20. WHO. Influenza updates. Available at: https://www.who.int/influenza/surveillance_monitoring/updates/.
21. WHO. FluNet Summary. Available at: https://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/updates/summaryreport/.
22. Joint ECDC-WHO/Europe weekly influenza updates. Available at: <https://www.flunews europe.org/>.
23. Weekly U.S. Influenza Surveillance Reports (FluView). Available at: <https://www.cdc.gov/flu/weekly/index.htm>.
24. Kawaguchi N., Koshimichi H., Wajimer T. Evaluation of drug-drug interaction potential between baloxavir marboxil and oseltamivir in health subjects. *Clin. Drug. Investig.* 2018; 38(1): 1053–60. <https://doi.org/10.1007/s40261-018-0697-2>.
25. Hayden F.G., Sugaya N., Hirotsu N., Lee N., de Jong M.D., Hurt A.C., et al. Baloxavir marboxil for uncomplicated influenza in adults and adolescents. *N. Eng. J. Med.* 2018; 379(10): 913–23. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1716197>.
26. FDA prescribing information: XOFLUZA™ (baloxavir marboxil) tablets for oral use. Initial U.S. Approval: 2018. Available at: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/2110854s000lbl.pdf.
27. WHO. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2020–2021 northern hemisphere influenza season. Available at: https://www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/2020-21_north/.
28. WHO. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). Available at: <https://www.who.int/features/qa/mers-cov/>.
29. WHO. Coronavirus disease (COVID-19) pandemic. Available at: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>.



Hepatitis B Virus (*Hepadnaviridae: Orthohepadnavirus: Hepatitis B virus*) among Hospitalized Mentally Disabled Patients is not transmitted by their nurses or family members

Hoorieh Sarbandi¹, Seyed Masoud Hosseini¹, Kimia Vakili², Mobina Fathi², Niloofar Deravi², Maryam Vaezjalali³

¹Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran;

²Student Research committee, Faculty of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran;

³Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Background. Prevalence of hepatitis B virus (HBV) infection has been reported to be higher in the institutionalized mentally disabled patients than that of the general population previously reported in Iran. This study aims to investigate HBV infection among nurses and families of the hospitalized mentally disabled patients.

Material and methods. This study was conducted on 110 nurses and family members of the mentally disabled patients who were hospitalized in five residential care centers of Tehran. The presence of hepatitis B surface antigen (HBsAg) and hepatitis B core antibody (HBcAb) was examined using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Afterwards, HBV DNA was extracted, and then propagated via a nested polymerase chain reaction (PCR) and specific primers. Finally, a phylogenetic tree was constructed using the neighbor-joining method to compare virus genomes in the nurses' serum with other isolated HBVs worldwide.

Results. Out of 102 studied nurses, three (3%) were positive for HBsAg (100% female). Also, no patient was positive for the HBV genome, while eight (7.3%) nurses were positive for HBcAb including two (25%) males and six (75%) females. Genome sequencing of one DNA positive sample showed that the isolated virus from this patient contained sub genotype D1 and subtype ayw2. The results of none of the family members were positive for HBsAg, HBcAb, or HBV DNA.

Conclusion. This study showed a higher prevalence of HBsAg among nurses (3%) compared to the Iranian general population (1.7–2.1%). The virus isolated from the nurses belonged to subgenotype D1 and subtype ayw2 in accordance with previous Iranian reports. Also, there was no drug-resistant or vaccine-escape mutations in the obtained viral genome. Moreover, low immune pressure on the virus in the asymptomatic chronic HBV patients might be responsible for low nucleotide divergence among the derived HBV genome.

Keywords: *Hepatitis B virus; Mentally disabled patients; Nurses; Family members; Phylogenetic analysis.*

For citation: Sarbandi H., Hosseini S.M., Vakili K., Fathi M., Deravi N., Vaezjalali M. Hepatitis B Virus among hospitalized mentally disabled patients is not transmitted by their nurses or family members. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2020; 65(6): 350-356. (In Engl.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-6-5>

For correspondence: Maryam Vaezjalali, PhD, Velenjak St., Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. E-mail: maryam.vaezjalali@sbmu.ac.ir

Information about the authors:

Hoorieh Sarbandi: <http://orcid.org/0000-0003-3243-9803>

Seyed Masoud Hosseini: <http://orcid.org/0000-0002-0007-5833>

Kimia Vakili: <http://orcid.org/0000-0001-7296-3218>

Mobina Fathi: <http://orcid.org/0000-0002-4811-3982>

Niloofar Deravi: <http://orcid.org/0000-0002-6965-6927>

Maryam Vaezjalali: <http://orcid.org/0000-0003-3370-7566>

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 10 April 2020

Accepted 17 October 2020

Отсутствие случаев передачи вируса гепатита В (*Hepadnaviridae: Orthohepadnavirus: Hepatitis B virus*) госпитализированным пациентам с психическими расстройствами от медицинского персонала или членов семьи

Сарбанди Х.¹, Хоссейни С.М.¹, Вакили К.², Фатхи М.², Дерави Н.², Вайезджалали М.³

¹Кафедра микробиологии, факультет биологических наук, Медицинский Университет Шахида Бехешти, Тегеран, Иран;

²Студенческий исследовательский комитет, факультет медицинских наук, Медицинский Университет имени Шахида Бехешти, Тегеран, Иран;

³Кафедра микробиологии, факультет медицинских наук, Медицинский Университет имени Шахида Бехешти, Тегеран, Иран

Введение. Ранее было установлено, что в Иране распространенность инфекции, вызываемой вирусом гепатита В (ВГВ), выше среди пациентов с психическими расстройствами, находящимися в специализиро-

ванных учреждениях, чем в общей популяции. Целью данного исследования было изучение ВГВ-инфекции среди медсестер и членов семей госпитализированных пациентов с психическими расстройствами.

Материал и методы. В исследовании участвовали 110 медсестер и членов семей пациентов с психическими расстройствами, госпитализированных в пяти интернатах в Тегеране. Частоту выявления поверхностного антигена ВГВ (HBsAg) и антител к капсидному белку вируса В (анти-НВс) определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА). ДНК ВГВ выявляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с вложенными праймерами. Для сравнительного анализа вирусных геномов, выделенных из образцов сыворотки крови медицинского персонала, с последовательностями ВГВ, выделенными в мире, было построено филогенетическое дерево методом присоединения соседей.

Результаты. Из 102 обследованных медсестер три (3%) были позитивными по HBsAg (100% женщины). Ни один из этих образцов не был положителен по ДНК ВГВ, при этом восемь (7,3%) медработников были положительны по анти-НВс, из них двое (25%) были мужчины и шесть (75%) – женщины. Секвенирование единственного положительного по ДНК ВГВ образца показало, что данный геноизолят относится к субгенотипу D1, серотипу ауw2. Никто из членов семей пациентов не был положительным по HBsAg, анти-НВс или ДНК ВГВ.

Заключение. Результаты исследования продемонстрировали более высокую частоту выявления HBsAg среди медсестер (3%) по сравнению с общей популяцией в Иране (1,7–2,1%). Выделенный от медсестер геноизолят ВГВ принадлежал субгенотипу D1, серотипу ауw2, что соответствует предыдущим исследованиям в Иране. В вирусном геноме не были выявлены мутации, связанные с лекарственной устойчивостью или ускользанием от иммунного ответа. Низкий уровень иммунного давления на вирус при бессимптомной хронической ВГВ-инфекции может служить объяснением консервативности нуклеотидной последовательности выявленного генома ВГВ.

Ключевые слова: вирус гепатита В; пациенты с психическими расстройствами; медсестры; члены семьи; филогенетический анализ.

Для цитирования: Сарбанди Х., Хоссейни С.М., Вакили К., Фатхи М., Дерави Н., Вайезджалали М. Отсутствие случаев передачи вируса гепатита В госпитализированным пациентам с психическими расстройствами от медицинского персонала или членов семьи. *Вопросы вирусологии.* 2020; 65(6): 350-356. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-6-5>

Для корреспонденции. Марьям Вайезджалали, Ph.D., кафедра микробиологии, факультет медицинских наук, Медицинский Университет имени Шахида Бехешти, Веленджак, Тегеран, Иран. E-mail: maryam.vaezjalali@sbmu.ac.ir

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 10.04.2020
Принята в печать 17.11.2020

Introduction

Hepatitis B virus (HBV) infection is a public health issue worldwide. It is estimated that nearly two billion people globally have serological evidence of past or present HBV infection [1]. The natural course of HBV infection can be determined by the interactions between the host and the virus [2].

The patients hospitalized in care centers for the mentally disabled are at a higher risk of hepatitis B (HBV) infection compared to the general population [3]. In 1994, a study from Spain [4] reported the prevalence of HBV as 23.3% in a care center for the mentally disabled patients. Moreover, another study conducted in Spain in 2000 [5], with the aim of determining the prevalence of HBV in the patients who were hospitalized for a long period in mentally disabled care centers, showed that 81.3% of patients were positive for hepatitis B surface antigen (HBsAg).

In another study conducted in 2003 in Iran [6], the prevalence of HBsAg was estimated as 4% among the mentally disabled patients from five care centers. In agreement with the results of studies performed earlier in other countries, it was confirmed that the prevalence of HBsAg in the institutionalized mentally disabled patients was higher than the general population of Iran.

The world can be divided into three regions in terms of the HBV prevalence as follows: regions with high endemicity, moderate endemicity, and low endemicity [7]. Perinatal infection is the main route of transmission in high-prevalence areas, whereas horizontal transmission, especially in early childhood, is considered as the main route in regions with a moderate prevalence [8]. The presence of HBV DNA in the saliva, sweat, and urine of the HBV-infected patients is certain and dermal or non-dermal transmission is highly probable in the patient's family [7].

In Iran, a vaccination program is applied for the patient's family members; however, there is no specific program for screening the patients with HBV, even for their family members. Accordingly, most patients are diagnosed by chance or after blood transfusion. This unawareness leads to failure in observing the necessary precautions for preventing the transmission of HBV and the high prevalence of positive HBV among their family members [9].

So far in Iran, few studies have been conducted on the family members of the patients with HBV, all of which applied serological methods. Moreover, diseases that are communicable through blood and bodily fluids, are

considered as a risk to people attending these centers [10]. In all previous studies, the highest rate of positive HBsAg was observed among the surgical department staff or those with a needle stick history [11]. Other studies included people who never received HBV vaccination, but had positive HbsAb [10]. In a study performed on nosocomial HBV infection, it has been shown that almost half of the people who are at a high risk of HBV in the health system, are not immune to it [10]. Therefore, attendees of care centers for the mentally handicapped patients are always at the risk of HBV, and to decrease this risk factor, HBV vaccination is essential [11, 12].

The purpose of this study was to investigate the prevalence of hepatitis B virus infection in nurses and family members of the mentally handicapped patients, and also to determine the possible transmission way of HBV infection among the mentally disabled patients.

Material and methods

Study population

This cross-sectional study included nurses of children hospitalized in care centers for the mentally handicapped patients, as well as the children's family members. Blood samples of 110 nurses and family members of the hospitalized children were collected from these five mentally handicapped care centers in different districts of Tehran. Written informed consent was acquired from each person who was willing to participate in the study. The current study was approved by the Ethics Committee of Shahid Beheshti University of medical sciences.

Nurses were selected from five districts of Tehran who had contacts with HBV-positive children and were included based on a previous study by our research team [13].

Sample collection

A 5-mL blood sample was obtained from the participants. The serum of blood samples was isolated and then stored at -20°C . The required arrangements for sampling were made through frequent phone calls and meetings with the center managers. The questionnaire obtained from the participants included information such as sex, age, marital status, number of children, occupation, duration of service at the centers, history of surgery, history of blood transfusion, history of liver disease, HBV infection, and history of HBV vaccination.

Serological and molecular laboratory tests

Serological and molecular tests were performed on the serum samples. Presence of HBsAg (bioELISA HBsAg 3.0, Barcelona, Spain) and HBcAb (bioELISA HBcAb, Barcelona, Spain) were monitored using ELISA assay. After extracting viral nucleic acid (high pure viral nucleic acid kit, Roche, Germany), those samples with positive results from ELISA tests (HBsAg or HBcAb) were submitted to detect HBV DNA using homemade nested PCR technique [14] with specific primers. Also, positive PCR samples were sequenced using an Applied Biosystems Inc. sequencer by 2nd round PCR specified primers. The sequences acquired in the FASTA format

as chromatogram curves were analyzed by BioEdit 7.0.0. Then, the sequences were compared with the reference viral genomes, which had been derived from GenBank. The predicted protein sequence of HBsAg from the samples was determined by translating these sequences using BioEdit software. The genomic sequence of 78 HBVs was selected from various GenBank genotypes, and the phylogenetic tree of HBV was also prepared using Mega 6.0 and neighbor-joining method.

Statistical Analysis

SPSS version 19 was used for data entry and performing statistical analysis. Descriptive data are presented as mean deviation or percentage. Chi-square test or Fisher's exact test was used to comparing nominal data. In addition, Mann-Whitney U test was used to compare numerical data in terms of data distribution, and t-test was applied for independent variables. A *P* value of < 0.05 was regarded as statistically significant.

Results

The HBsAg test was performed for all 102 nurses who agreed to participate in this study including 89 (87%) women and 13 (13%) men. 73.6% of the individuals were married and 26.4% – unmarried. Also, 0.9% of them had no contact with the patients, 41.8% had less than five contacts, 11.8% had between five and ten contacts, 16.4% had between ten and 15 contacts, and 29.1% had more than 15 contacts. Addiction (0.9%), blood transfusion (8.8%), surgery (56.7%), hepatitis (11%), and vaccination (64.5%) were the risk factors in this research.

75% and 25% of nurses were under and over 50 years old, respectively. Three (3%) nurses were positive for this antigen, and all of them were female (100%). No positive cases of HBsAg were reported among the family members. There was no significant relationship between positive HBsAg and nurses' service time at the centers ($P < 0.05$). Also, there was no significant relationship between the prevalence of HBsAg with the risk factors and the number of patients in contact with a nurse ($P < 0.05$). The highest prevalence of HBsAg infection among nurses was reported to be in center No. 2 in northern Tehran. Out of 25 nurses working at this center, three (12 of the total) tested positive for this antigen. There was no significant relationship between the presence of HBsAg and the location of the center ($P < 0.05$). HBcAb test was performed for all 102 nurses, eight (8%) of whom tested positive for this antibody (25% male and 75% female); and, on the other hand, 94 (92%) nurses tested negative.

In this study, only four out of 20 mentally disabled people at care centers had families; three consented to participate in the study. All of the family members were under 50 years old and had a negative HBsAg test. There was no significant relationship between positive HBsAg and the duration of the patient's contact with his/her family ($P < 0.05$). Also, there was no positive case of HBcAb among the family members.

Nested PCR assay was performed using specific internal and external primers for viral surface protein. In examining 3 HBsAg-positive and 8 HBcAb-positive

samples using specific primers of HBV surface genome, only one HBcAb-positive sample was identified, which showed a specific band in the analysis of the PCR product via electrophoresis. This sample was diagnosed as occult hepatitis B infection (OBI) based on the HBsAg negative, HBcAb positive, and detectable HBV DNA.

With bidirectional sequencing of the derived HBV genome and its phylogenetic analysis, genotype D, sub-genotypes D1 and ayw₂ subtype were revealed (**Fig. 1**). BioEdit analysis of the derived sequence indicated no nucleotide or amino acid changes in comparison with a reference sequence, thus no nucleotide mutations were reported.

Discussion

Several reports have revealed the higher prevalence of HBV infection in mentally disabled patients compared to the general population (4-6). It has been also shown that the risk of positive HBsAg in the mentally disabled people at care centers is much higher than in the patients living at home [15]. A meta-analysis performed by Salehi-Vaziri in 2016 reported that the prevalence of HBV infection in the general Iranian population was 2.2 % [16], while another study showed 7.0% HBV infection in hospitalized mentally disabled patients [13]. In a study on mentally disabled patients at care centers in Brazil, it was indicated that 12.9% showed HBV infection, while 9.2% had occult HBV infection (OBI) [17]. This study confirms the higher prevalence of infection among mentally disabled patients compared to the general population. It is notable that in these studied centers, each nurse was responsible for more than one patient. In our study, there was no significant relationship between the prevalence of HBsAg and the number of patients in contact with a nurse. Therefore, if the contacts between the patient and nurse are not sanitized and there is a risk of contact with the patient's blood and body fluids, HBV transmission is possible among the attendees. This issue was addressed in a study conducted on HBV and human immunodeficiency virus (HIV) in the United States in 2012, which has analysed HBV and HIV transmissions among the mentally disabled people and staff of care centers. Absence of HBV vaccination, risk-reduction education, access to birth control methods and regular screening for blood-borne infections were the key factors for spreading the infection [18].

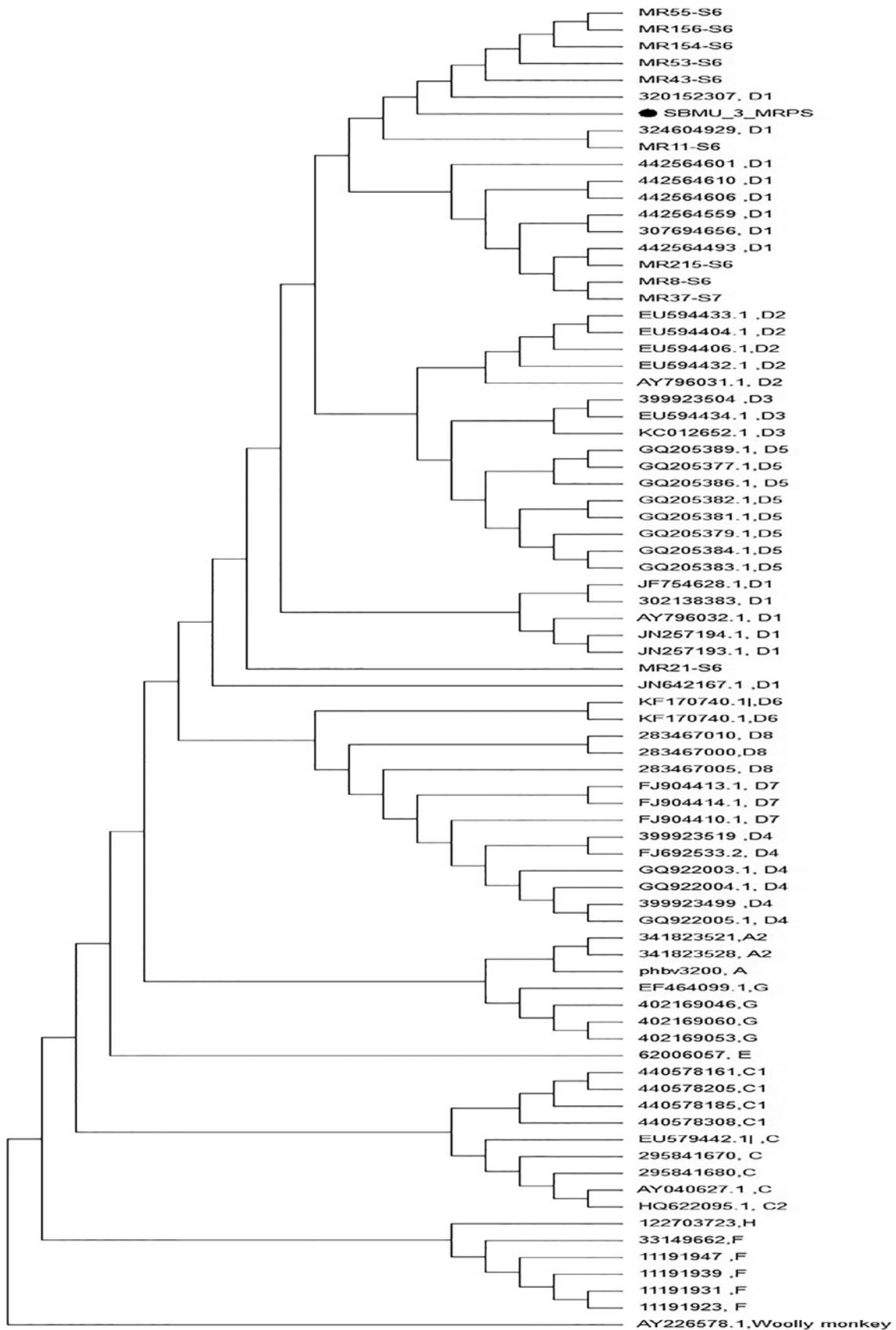
There was also a study on people with intellectual disability in Iran in 2019. It concluded that the frequency of HBV infection in disabled patients was higher than in the general Iranian population (blood donors) [19]. In this study, derived HBV strain showed an indigenous genotype D1 which was matched with other reported Mediterranean and Iranian strains. The high frequency of immune escape strains, despite vaccination and detection of identical mutations in different genes, might represent that the persons with intellectual disability have shared drug-resistant and vaccine-escape HBV strains [13]. As the prevalence of HBV infection was reported high in mentally disabled patients, we assumed that the prevalence of HBV infection would also be high in the parents and caregivers of these patients as well. Therefore in this study, 102 blood samples were collected from the nurses at five care centers in

Tehran, Iran. Overall, 3% were HBsAg positive, which indicated the higher prevalence of HBV among nurses compared to the general population, while another study reported a prevalence of 1.7–2.1% [17]. The greater risk of HBV infection had been earlier reported among nurses [12, 20]. In another study on hospital nurses in Fars province, Iran, a higher risk was reported for acquiring HBV infection compared to the general population (5% were HBsAg positive, while 12% were HBcAb positive) [21]. Therefore, they had reported an intense program for education, vaccination, and post-vaccination assessment that is compulsory for health care workers.

Based on the serological analysis, 6% of nurses tested positive for HBcAb. Positive HBcAb indicates exposure to virus among these nurses; however, as HBV DNA was negative, they recovered after the infection. A study performed in 2000 showed that 35% of the general population of Iran had a positive record of HBcAb. This figure has declined in recently conducted studies. On the other hand, in a study by Merat et al. [22] on people in the age range of 18–65 years old in three major cities of Iran, the prevalence rate of HBcAb was estimated as 16.4%. Lower HBcAb levels can be explained by the execution of the HBV vaccination program in Iran since 1994. Accordingly, exposure of nurses to HBV showed a reduction in comparison with the general population.

In our previous study, we discovered HBV infection in 8% of the mentally disabled patients [23]. The present study, which was conducted on nurses caring for the same patients, showed an infection rate of 3%, which indicates a strict control of the HBV prevalence among the staff.

In the present study, HBV DNA isolated from the blood sample of one nurse showed negative HBsAg and positive HbcAb, which indicated OBI and also suggested that nurses are at a high risk of both chronic HBV and OBI infections. It can be concluded that nurses are at a higher risk of HBV and should be frequently examined by HBsAb test. If nurses do not have adequate immunity, they should be vaccinated against this virus. Monitoring this high-risk group and conducting regular tests can be effective in controlling the prevalence of HBV. However, increasing awareness of HBV infection among the population has been reported to recently improve the community health. For instance, in a study in South Asia in 2013, a total of 156 nurses were examined, 15 of whom tested HBsAg negative and HBcAb positive, while two tested HBsAg positive (0.01%) [24]. Moreover, in a study in Libya, the prevalence rates of HBsAg, HbcAb, and HBV DNA were 1.8%, 8.5%, and 0.9%, respectively. Lower chronic infection among compared to the general population can be explained by nurses awareness on HBV transmission, knowledge of infection control measures and access to a free vaccination program [25]. Occult HBV infection provides an opportunity of progression to carcinoma and cirrhosis for the patient and has not been reported previously among nurses caring for mentally disabled patients. A higher prevalence of HBV infection among the health-care workers who are in contact with mentally disabled patients has been addressed in this research. Therefore,



Phylogenetic tree of derived HBsAg genome, along with 68 reference samples (GenBank). Woolly Monkey HBV (226578) was used as out-group.

HBV infection screening (including classic and occult) among this group is suggested.

On the other hand, blood samples were collected from three families of patients with HBV. Few studies have been conducted in the past on the HBV-infected patients' families, confirming virus transmission among family members by considering the homology of isolated viruses [8]. However, in our study, information was limited due to the lack of cooperation of many families. In serological tests, no positive samples were found in terms of HBsAg or HbAb among family members, which implies that neither classic nor occult infection was observed in this population. The limited number of individuals participating in the research and separate living places of the patients and their families due to hospitalization from early years of life can be considered as the interferer (influential) factors.

The phylogenetic studies imply that subgenotype D1 has been introduced as the dominant strain reported in Iran, Turkey, and Pakistan [26]. This subgenotype has been described as the dominant strain of genotype D in the Middle East. Therefore, HBV is slightly heterogeneous in this region, and the virus has not spread for a long time in this population. Moreover, it seems that genotype D has the highest degree of inter-genotype and subgenotype variations, compared to genotypes A, G and F [27]. However, the HBV genome isolated in this study has no change compared to the reference virus genome; and this finding is in accordance with other Iranian studies [28]. One of the reasons for viral change may be the time of virus entrance to the body. If the virus enters the patient's body during childhood, it can oppose the immune system, and the virus undergoes changes. Since the virus did not change in our study, it might have recently entered the nurse's body, which may lead to limited contact with the immune system pressure and limited mutations as well.

In the present study, subtype ayw2 was observed, which is one of the prevalent subtypes reported in genotype D. Observation of different subtypes can indicate great viral changes [29]. Studies performed in many countries have confirmed the presence of genotype D1 with subtype ayw2 [30]. Furthermore, there are many reports from the Middle East, indicating subtypes ayw2 and awy3 [28, 31, 32]. Also in Iran, this subtype has been reported in subgenotype D1 [28, 29, 33].

As many hypotheses were mentioned in this study, the main cause of the high prevalence of HBV infection in mentally disabled patients is still unclear. Unfortunately, due to many obstacles such as non-cooperation of family members and nurses and inaccessibility to family records of many patients (because they were orphans), there is inadequate data to strongly support any of our hypotheses. Despite all of these obstacles, there has been little evidence in our results that can support the connection between nurses and patients' HBV infection. Nevertheless, further studies, especially on family members and hospitalization quality, are suggested to clarify the source of infection in these children, and consequently to find a way to alleviate this infection among them.

Conclusion

In the present study, the HBV infection rate among the nurses caring for mentally disabled patients was 3%, which is higher than the general Iranian population (1.2–1.7%). On the other hand, 8% of them tested positive for HbAb. However, there were no positive cases in terms of HBsAg, HbAb, or HBV DNA in the family members of the mentally disabled patients, which were lower than among the general population. The interferer factors include a limited number of participants (as most hospitalized patients were orphan) and separate living environments of the patients and their family members. The isolated virus from nurse contained genotype D1 and subtype ayw2, which is the most common strain in Middle Eastern countries like Iran. Moreover, no drug-resistant or vaccine-escape mutations were observed among HBV-isolated strain.

REFERENCES

- Moraes T.C., Fiaccadori F.S., Souza M., Almeida T.N.V., Cunha Mdos P., Castro Íde A., et al. Hepatitis B virus infection among institutionalized mentally ill patients in Brazil. *Braz. J. Infect. Dis.* 2015; 19(6): 643-7. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2015.07.007>
- De Souza M.V., Barbosa M.A., Borges A.M., Daher R.R., Martins R.M., Cardoso Dd. Seroprevalence of hepatitis B virus infection in patients with mental problems. *Braz. J. Psychiatry.* 2004; 26(1): 35–8. <https://doi.org/10.1590/s1516-44462004000100010> (in Portuguese)
- Campins M., Orti R., Rossello J., Esteban I., Jordi R., Lucas J., et al. Infection with hepatitis B and C viruses in the mentally retarded. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 1994; 12(3): 134–6. (in Spanish)
- Asensio F., Bayas J.M., Bertran M.J., Asenjo M.A. Prevalence of hepatitis B infection in long-stay mentally handicapped adults. *Eur. J. Epidemiol.* 2000; 16(8): 725–9. <https://doi.org/10.1023/a:1026793900057>
- Sahebamei M., Nik Bin B., Razavi Armaghanni N. A comparison on HBsAg and HbAb prevalence in patients with Down syndrome and other mentally retarded patients living in retarded children institutes in Tehran. *J. Dent. Med.* 2003; 16(1): 5–11.
- Ucmak H., Faruk Kokoglu O., Celik M., Ergun U.G. Intra-familial spread of hepatitis B virus infection in eastern Turkey. *Epidemiol. Infect.* 2007; 135(8): 1338–43. <https://doi.org/10.1017/s0950268807008011>
- Dumpis U., Holmes E.C., Mendy M., Hill A., Thursz M., Hall A., et al. Transmission of hepatitis B virus infection in Gambian families revealed by phylogenetic analysis. *J. Hepatol.* 2001; 35(1): 99–104. [https://doi.org/10.1016/s0168-8278\(01\)00064-2](https://doi.org/10.1016/s0168-8278(01)00064-2)
- Adibi P., Ghassemian R., Alavian S.M., Ranjbar M., Mohammad-alizadeh A.H., Nematizadeh F., et al. Effectiveness of hepatitis B vaccination in children of chronic hepatitis B mothers. *Saudi Med. J.* 2004; 25(10): 1414–8.
- Babamahmoodi F. Study of hepatitis B and C in Razi and Hazrat fatemeh Zahra Hospital staff of Mazandaran University of Medical Sciences in 1375. *J. Mazandaran Univ. Med. Sci.* 2000; 9(25): 25–30.
- Schillie S., Vellozzi C., Reingold A., Harris A., Haber P., Ward J.W., et al. Prevention of hepatitis B virus infection in the United States: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. *MMWR Rec. Rep.* 2018; 67(1): 1–31. <https://doi.org/10.15585/mmwr.rr6701a1>
- Livengood J.R., Miller G.E., Coulter D., Foster L.R. Hepatitis B and workers in institutions for the mentally retarded: risk of infection for staff in patient care. *Am. J. Prev. Med.* 1989; 5(3): 170–4.
- Vaezjalali M., Goudarzi H., Rashidpour S., Davoodbeglou F., Thijsen M., Pourkarim M. Persons with intellectual disability: a potential reservoir of invasive strains of hepatitis B virus. *Hepat. Mon.* 2019; 19(9): e85661. <https://doi.org/10.5812/hepatmon.85661>
- Jazayeri M.S., Basuni A.A., Cooksley G., Locarnini S., Carman W.F. Hepatitis B virus genotypes, core gene variability and ethnicity in the Pacific region. *J. Hepatol.* 2004; 41(1): 139–46. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2004.03.025>

14. Vellinga A., Van Damme P., Meheus A. Hepatitis B and C in institutions for individuals with intellectual disability. *J. Intellectual Disabil. Res.* 1999; 43(6): 445–53. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2788.1999.00222.x>
15. Salehi-Vaziri M., Sadeghi F., Hashiani A.A., Fesharaki M.G., Alavian S.M. Hepatitis B virus infection in the general population of Iran: an updated systematic review and meta-analysis. *Hepat. Mon.* 2016; 16(4): e35577. <https://doi.org/10.5812/hepatmon.35577>
16. Kandelouei T., Hosseini S.M., Gachkar L., Keyvani H., Davoodbeglou F., Vaezjalali M. Reduction in prevalence of hepatitis b surface antigen among intravenous drug users in tehran drop-in-centers. *Arch. Clin. Infect. Dis.* 2013; 8(2).
17. Jasuja S., Thompson N.D., Peters P.J., Khudyakov Y.E., Patel M.T., Linchangco P., et al. Investigation of hepatitis B virus and human immunodeficiency virus transmission among severely mentally ill residents at a long term care facility. *PLoS One.* 2012; 7(8): e43252. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043252>
18. Kafi-abad S.A., Rezvan H., Abolghasemi H., Talebian A. Prevalence and trends of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and hepatitis C virus among blood donors in Iran, 2004 through 2007. *Transfusion.* 2009; 49(10): 2214–20. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2009.02245.x>
19. LaBrecque D.R., Dhand A.K. The risk of hepatitis B transmission from staff to patients in hemodialysis units – an overrated problem? *Hepatology.* 1981; 1(5): 398–400. <https://doi.org/10.1002/hep.1840010505>
20. Bahmani M.K., Khosravi A., Mobasser A., Ghezelsofla E. Sero-prevalence of hepatitis B virus infection and vaccination compliance among health care workers in Fars Province, Iran. *Iran. J. Clin. Infect. Dis.* 2010; 5(1): 45–50.
21. Merat S., Rezvan H., Nouraei M., Jamali A., Assari S., Alghasemi H., et al. The prevalence of hepatitis B surface antigen and anti-hepatitis B core antibody in Iran: a population-based study. *Arch. Iran. Med.* 2009; 12(3): 225–31.
22. Davoodbeglou F., Mesdaghi M., Goudarzi H., Shojaei F., Aram H., Vaezjalali M. Evaluation of hepatitis B infection prevalence in institutionalized intellectually disabled children. *Novel. Biomed.* 2016; 4(2): 61–6.
23. Landon C., Maru A. Hepatitis B: raising awareness in the South Asian community in Preston. *Br. J. Community Nurs.* 2013; 18(1): 19–21. <https://doi.org/10.12968/bjcn.2013.18.1.19>
24. Elzouki A.N., Elgamay S.M., Zorgani A., Elahmer O. Hepatitis B and C status among health care workers in the five main hospitals in eastern Libya. *J. Infect. Public Health.* 2014; 7(6): 534–41. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2014.07.006>
25. Sayan M., Dogan C. Genotype/subgenotype distribution of hepatitis B virus among hemodialysis patients with chronic hepatitis B. *Ann. Hepatol.* 2012; 11(6): 849–54.
26. De Maddalena C., Giambelli C., Tanzi E., Colzani D., Schiavini M., Milazzo L., et al. High level of genetic heterogeneity in S and P genes of genotype D hepatitis B virus. *Virology.* 2007; 365(1): 113–24. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.03.015>
27. Asli M., Kandelouei T., Rahimyan K., Davoodbeglou F., Vaezjalali M. Characterization of occult hepatitis B infection among injecting drug users in Tehran, Iran. *Hepat. Mon.* 2016; 16(3): e34763. <https://doi.org/10.5812/hepatmon.34763>
28. Mohebbi S.R., Amini-Bavil-Olyae S., Zali N., Damavand B., Azimzadeh P., Derakhshan F., et al. Characterization of hepatitis B virus genome variability in Iranian patients with chronic infection, a nationwide study. *J. Med. Virol.* 2012; 84(3): 414–23. <https://doi.org/10.5812/hepatmon.34763>
29. Norder H., Courouce A.M., Coursaget P., Echevarria J.M., Lee S.D., Mushahwar I.K., et al. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBsAg subtypes. *Intervirology.* 2004; 47(6): 289–309. <https://doi.org/10.1159/000080872>
30. Bozdayi G., Turkyilmaz A.R., Idilman R., Karatayli E., Rota S., Yurdaydin C., et al. Complete genome sequence and phylogenetic analysis of hepatitis B virus isolated from Turkish patients with chronic HBV infection. *J. Med. Virol.* 2005; 76(4): 476–81. <https://doi.org/10.1002/jmv.20386>
31. Vaezjalali M., Rezaee H., Goudarzi H. HBV S gene premature stop codon in strains from middle eastern patients. *Arch. Clin. Infect. Dis.* 2012; 8(1): 3–7. <https://doi.org/10.5812/archid.14410>
32. Ziaee M., Javanmard D., Sharifzadeh G., Hasan Namaei M., Azarkar G. Genotyping and mutation pattern in the overlapping MHR region of HBV isolates in Southern Khorasan, Eastern Iran. *Hepat. Mon.* 2016; 16(10): e58732. <https://doi.org/10.5812/hepatmon.37806>



Изучение тератогенности вакцинного штамма вируса краснухи «Орлов-В» (*Matonaviridae: Rubivirus: Rubella virus*) в опыте на обезьянах макак-резус

Лаврентьева И.Н.¹, Шамсутдинова О.А.², Чугуева И.И.², Карал-оглы Д.Д.²,
Вышемирский О.И.²

¹ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора, 197101, Санкт-Петербург, Россия;

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» Минобрнауки, 354376, Сочи, Россия

Введение. Вирус краснухи обладает выраженными тератогенными свойствами, способными вызывать генерализованную внутриутробную инфекцию плода персистирующего характера. В связи с этим необходимым этапом доклинического изучения вакцинного штамма для живой аттенуированной вакцины против краснухи является контроль утраты тератогенности, присущей диким штаммам вируса.

Цель исследования: комплексное изучение тератогенных свойств вакцинного штамма вируса краснухи «Орлов-В» в опыте на обезьянах макак-резус.

Материал и методы. В эксперименте использовали серонегативных к вирусу краснухи самок вида макак-резус (*Macaca rhesus*, *Macaca mulatta*) на ранних сроках беременности в возрасте 4–7 лет ($n = 13$). Животных опытной группы ($n = 9$) однократно внутримышечно иммунизировали препаратом из штамма «Орлов-В». Обезьян группы сравнения ($n = 3$) иммунизировали коммерческим препаратом, содержащим вакцинный штамм Wistar RA27/3. Самке контрольной группы ($n = 1$) вводили растворитель вакцины против краснухи.

Изучение возможных тератогенных свойств вакцинных штаммов вируса краснухи проводили с использованием комплекса клинических, иммунологических, патоморфологических и вирусологических методов. Клинические наблюдения осуществлялись в течение 3 месяцев после рождения детёнышей. Определение титров антител в сыворотке крови иммунизированных макак-резусов выполняли в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) на 28–30 сутки после заражения. Метод иммуноферментного анализа (ИФА) использовали для определения антител класса IgM в сыворотке обезьян первого месяца жизни. Выявление РНК вируса проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с электрофоретической детекцией продуктов амплификации.

Результаты. Установлено отсутствие маркёров врождённой краснушной инфекции у особей, родившихся от привитых во время беременности обезьян. Показано, что метод ПЦР может являться информативным тестом, подтверждающим отсутствие тератогенных свойств вакцинных штаммов вируса краснухи.

Обсуждение. Полученные данные охарактеризовали вакцинные штаммы вируса краснухи «Орлов-В» и Wistar RA27/3 как утратившие тератогенные свойства. Обсуждается возможность использования альтернативной по отношению к классическим патоморфологическим методам стратегии доклинической оценки специфической безопасности противовирусных вакцин с применением комплекса клинических, иммунологических, патоморфологических и вирусологических методов.

Заключение. Результаты, полученные в рамках настоящего исследования, показали отсутствие тератогенных свойств вакцинного штамма вируса краснухи «Орлов-В».

Ключевые слова: тератогенность; вирус краснухи; аттенуированный вакцинный штамм; обезьяны макак-резус; полимеразная цепная реакция.

Для цитирования: Лаврентьева И.Н., Шамсутдинова О.А., Чугуева И.И., Карал-оглы Д.Д., Вышемирский О.И. Изучение тератогенности вакцинного штамма вируса краснухи «Орлов-В» (*Matonaviridae: Rubivirus: Rubella virus*) в опыте на обезьянах макак-резус. *Вопросы вирусологии*. 2020; 65(6): 357–363

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-6-6>

Для корреспонденции: Шамсутдинова Ольга Анатольевна, научный сотрудник лаборатории иммунологии и биологии клетки ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» Минобрнауки, 354376, Сочи, Россия, e-mail: shamsutdinova-o-a@yandex.ru

Участие авторов: Лаврентьева И.Н. – концепция и дизайн исследования, написание текста, экспериментальная работа; Карал-оглы Д.Д. – концепция и дизайн исследования; Шамсутдинова О.А. – написание текста, экспериментальная работа; Чугуева И.И. – клиническое наблюдение; Вышемирский О.И. – экспериментальная работа.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 25.06.2020
Принята в печать 12.11.2020

Study of the teratogenicity of the vaccine strain of the Rubella virus «Orlov-V» (*Matonaviridae: Rubivirus: Rubella virus*) in experience on rhesus macaques

Irina N. Lavrentjeva¹, Ol'ga A. Shamsutdinova², Irina I. Chugueva², Djina D. Karal-ogly², Oleg I. Vyshemirskiy²

¹FSBI «Saint Petersburg Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology» of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 197101, Saint-Petersburg, Russia;

²FSBRI «Research Institute of Medical Primatology» of the Ministry of Education and Science of Russia, Sochi, 354376, Russia

Introduction. Rubella virus has pronounced teratogenic properties that can cause generalized and persistent intrauterine infection of the fetus. As a result, the control of the loss of teratogenicity inherent in «wild-type» virus strains is a necessary stage of a preclinical study of the vaccine strain for a live attenuated rubella vaccine.

The purpose of the study is to comprehensively study the teratogenic properties of the vaccine strain of rubella virus «Orlov-V» in the experiment on rhesus macaques.

Material and methods. Seronegative to rubella virus female rhesus macaques in early pregnancy at the age of 4–7 years ($n = 13$) were used in the experiment. Animals of the experimental group ($n = 9$) received single immunization intramuscularly with a preparation from the «Orlov-V» strain. The control group of the monkeys ($n = 3$) were immunized with a commercial vaccine containing Wistar RA27/3 strain. The female of the control group ($n = 1$) was injected with a solvent used in the rubella vaccine. Study of possible teratogenic properties of vaccine strains of rubella virus was carried out using a complex of clinical, immunological, pathomorphological and virological methods. Clinical observations were made within 3 months after the monkeys' birth. Determination of antibody titers in the blood serum of immunized monkeys was performed in HI test on the 28th–30th day after infection. The ELISA method was applied to determine IgM antibodies in the blood serum of newborns within the first month of life. Detection of rubella virus RNA was performed by PCR with electrophoretic detection of amplicons.

Results. No markers of congenital rubella infection were found in infants born from monkeys vaccinated during the pregnancy. It is shown that PCR can be an informative method to confirm the absence of teratogenic properties of vaccine strains of rubella virus.

Discussion. The obtained data demonstrated that vaccine strains of the «Orlov-V» rubella virus and Wistar RA27/3 have lost their teratogenic properties. The possibility of using an alternative strategy for preclinical assessment of specific safety of antiviral vaccines including a complex of clinical, immunological, pathologic and virological methods instead of the classical pathologic method is discussed.

Conclusion. The results obtained in this study showed the absence of teratogenic properties and high immunogenic activity of the vaccine strain of rubella virus «Orlov-V».

Keywords: *teratogenicity; rubella virus; attenuated vaccine strain; rhesus macaque monkeys; polymerase chain reaction.*

For citation: Lavrentjeva I.N., Shamsutdinova O.A., Chugueva I.I., Karal-ogly D.D., Vyshemirskiy O.I. Study of the teratogenicity of the vaccine strain of the Rubella virus «Orlov-V» (*Matonaviridae: Rubivirus: Rubella virus*) in experience on rhesus macaques. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2020; 65(6): 357-363 (In Russ., in Engl.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-6-6>

For correspondence: Shamsutdinova Ol'ga Anatolyevna, Researcher of the Laboratory of Immunology and Cell Biology, FSBRI «Research Institute of Medical Primatology» of the Ministry of Education and Science of Russia, 354376, Sochi, Russia. E-mail: shamsutdinova-o-a@yandex.ru

Information about authors:

Lavrentjeva I.N., <http://orcid.org/0000-0002-2188-6547>

Shamsutdinova O.A., <https://orcid.org/0000-0002-2742-3965>

Chugueva I.I., <https://orcid.org/0000-0002-1567-1929>

Karal-ogly D.D., <https://orcid.org/0000-0003-3606-1668>

Vyshemirskiy O.I., <https://orcid.org/0000-0002-5345-8926>

Contribution: Lavrentjeva I.N. – research concept and design, writing of the text, experimental research; Karal-ogly D.D. – research concept and design; Shamsutdinova O.A. – writing of the text, experimental research; Chugueva I.I. – clinical observation; Vyshemirskiy O.I. – experimental research.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

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

Received 25 June 2020
Accepted 12 November 2020

Введение

В связи со значительной тератогенностью вируса краснухи и содержанием аттенуированного вакцинного штамма в составе живой вакцины беременность является противопоказанием для вакцинирования против этого заболевания [1, 2]. Имеется ряд публи-

каций, свидетельствующих о возможности проникновения вакцинных штаммов вируса краснухи через плаценту [3, 4].

Так, в Великобритании при обследовании 515 женщин, по тем или иным причинам привитых против краснухи в период беременности, у рождённых де-

тей не было выявлено признаков синдрома врождённой краснухи (СВК), хотя в 10,6% случаев определялось внутриутробное инфицирование плода [5]. В Иране в 2003 г. при обследовании новорождённых, родившихся от вакцинированных во время беременности матерей (при проведении массовой иммунизации против кори и краснухи), у 5 детей были обнаружены антитела класса IgM в пуповинной крови, однако ни у одного ребёнка не было выявлено пороков развития, аналогичных наблюдаемым при СВК [6]. По данным Mangtani P., Evans S.J.W. et al. теоретический риск поражения плода при вакцинации беременных против краснухи составляет от 0 до 0,6%, что значительно ниже, чем риск развития СВК вследствие первичного инфицирования женщины в течение первых 12 недель гестационного срока [7]. В связи с этим ряд учёных пришли к заключению, что непреднамеренная вакцинация при наличии беременности не является показанием к её прерыванию [1, 7–9].

Однако штаммы для живой рубеолярной вакцины, предназначенные для парентерального введения людям, должны тщательно изучаться в отношении возможного тератогенного действия [10]. Понятно, что изучение тератогенного потенциала вновь разрабатываемых медицинских иммунобиологических препаратов (МИБП) возможно лишь в эксперименте на соответствующей лабораторной модели [11].

Наиболее адекватной моделью для изучения вируса краснухи являются лабораторные приматы. Этот возбудитель патогенен, в частности, для обезьян макак-резус (*Macaca mulatta*; *Macaca rhesus*), чувствительных к интраназальному, внутримышечному и внутривенному заражению. Патогенез вызываемого им заболевания сходен с таковым у человека по таким параметрам, как продолжительность инкубационного периода и вирусовыделения, наличие вирусемии, динамика формирования вирусспецифических антител [12]. Экспериментально доказанное развитие вирусемии при заражении макак-резус патогенным штаммом вируса краснухи [13] свидетельствует о возможности проникновения возбудителя через плаценту, что, в свою очередь, позволяет использовать эту модель для контроля возможного тератогенного действия вакцинных штаммов.

Вакцинный штамм «Орлов-В» [14] был восстановлен в ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» («Санкт-Петербургский НИИЭМ им. Пастера») после многолетнего хранения исходного штамма «Орлов» при температуре –20 °С проведением дополнительных пассажей в тканевом субстрате, использовавшемся для аттенуации исходного вируса, – первичной культуре клеток почки кролика (ППК). В таких условиях возможны различия сохранности основных биологических характеристик вирусных частиц, составляющих гетерогенную популяцию исходного пула культуральной вирусосодержащей жидкости (ВСЖ). В связи с этим тщательный контроль безопасности применения, в том числе кон-

троль утраты тератогенных свойств, присущих диким штаммам, рассматривается как необходимый этап доклинического изучения вакцинного штамма для живой аттенуированной вакцины против краснухи. В экспериментах подобного рода необходимым является использование препарата сравнения – вакцины однонаправленного действия, желательного коммерческого производства [10].

Целью исследования являлось комплексное изучение тератогенных свойств вакцинного штамма вируса краснухи «Орлов-В» в опыте на обезьянах макак-резус.

Материал и методы

В работе использованы вакцинные штаммы вируса краснухи «Орлов-В» (39 пассажей в культуре клеток ППК) и Wistar RA27/3 (в составе живой аттенуированной вакцины производства ФГУП «НПО «Микроген», Москва, Россия). Лабораторные животные – самки макак-резус в возрасте 4–7 лет на ранних сроках (первая треть – первая половина) гестации в количестве 13 особей. Сформированы 3 группы: 9 самок иммунизировали препаратом из штамма «Орлов-В», 3 самок – препаратом сравнения (вакцинный штамм Wistar RA27/3) и 1 особи вводили плацебо (растворитель вакцины против краснухи).

Обращение с животными проводилось в строгом соответствии с Правилами содержания и ухода за нечеловекообразными приматами (ГОСТ 33216-2014).

Иммунизацию животных осуществляли однократным внутримышечным введением серонегативным к краснухе самкам 0,5 мл препаратов из исследуемых штаммов. Прививочная доза соответствовала 1 прививочной дозе для человека (не менее 1000 ТЦД₅₀).

Изучение потенциальных тератогенных свойств вакцинных штаммов вируса краснухи проводили с использованием комплекса клинических, иммунологических, патоморфологических и вирусологических методов.

Клиническое наблюдение за новорождёнными проводили ежедневно. Результаты его регистрировали дважды: сразу после рождения и через 90 суток наблюдения. У новорождённых особей изучали двигательную активность (объём и силу движений в конечностях, способность сопротивляться извлечению из клетки и насильственному разгибанию и сгибанию конечностей); мышечную активность (самостоятельное удерживание на матери); сосательный рефлекс. Степень формирования скелета регистрировали однократно рентгенологически. На протяжении периода наблюдения проводили периодическое взвешивание детёнышей. Через 90 суток наблюдения оценивали двигательные функции, координацию движений (по способности животных совершать координированные движения конечностями при захватывании предметов). Мышечный тонус определяли при пальпировании мышц конечностей в спокойном состоянии и при сгибании–разгибании. Фиксировали также наличие тремора, гиперкинезы; остроту зрения и слуха; аппетит, стул, динамику прибавки массы тела.

Определение титров антител в сыворотке крови иммунизированных беременных обезьян проводили

в РТГА через 28–30 суток после иммунизации, используя «Диагностикум краснушный антигенный сухой для РТГА» производства ОНТ ФБУН «Санкт-Петербургский НИИЭМ им. Пастера» (Санкт-Петербург, Россия) в соответствии с инструкцией по применению препарата.

Имуноглобулины класса IgM определяли в сыворотке крови детёнышей первого месяца жизни, родившихся от иммунизированных во время беременности самок. Для определения IgM-антител применяли ИФА-тест-систему «Вектор-Рубелла-IgM-стрип» (Новосибирск, Россия) в соответствии с инструкцией по применению. Все образцы сыворотки были зашифрованы и исследовались одновременно.

У 2 новорождённых, погибших в родах, производили аутопсию, патоморфологическое изучение внутренних органов. Исследование тканей и органов обезьян проведено в лаборатории патоморфологии ФГБНУ «НИИ медицинской приматологии». Гистологическому исследованию (с окраской гематоксилином и эозином и по методу Ниссля) были подвергнуты головной мозг, лёгкое, печень, почка, поджелудочная железа, селезёнка новорождённых, а также плацента самок.

Для установления возможного наличия РНК вируса краснухи в образцах тканей погибших в родах особей, плаценте и пуповинной крови использовали метод ПЦР с электрофоретической детекцией продуктов амплификации. Экстракцию РНК из исследуемого материала производили при помощи набора реагентов «РИБО-сорб» (ООО «ИнтерЛабСервис», Москва, Россия), для проведения реакции обратной транскрипции – «РЕВЕРТА-Л» (ООО «ИнтерЛабСервис», Москва, Россия); амплификацию комплементарной ДНК (кДНК) выполняли с использованием набора реагентов «АмплиСенс Rubella virus-EPh» (ФГУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия). Все этапы реакции проводили по стандартной схеме в соответствии с инструкцией по применению. Процедуру амплификации осуществляли на программируемом термостате ТП4-ПЦР-01-«Терцик» (ООО «НПО ДНК-Технология», Протвино, Россия).

Результаты

Беременность 11 из 13 самок разрешилась нормальными срочными родами; в 2 случаях (1 – самка, иммунизированная препаратом из штамма «Орлов-В», 1 – препаратом из штамма Wistar RA27/3) беременность завершилась мертворождением вследствие родовой травмы.

На протяжении 90 суток после рождения детёныши ежедневно осматривались врачом-ветеринаром для оценки наличия или отсутствия отставания в развитии, клинических симптомов поражения центральной нервной системы, дыхательной системы, органов слуха и зрения. Ни у одной из особей, родившихся живыми и получавших грудное вскармливание, внешних пороков и аномалий развития выявлено не было. Детёныши развивались активно;

их поведение, масса тела, слух, зрение и структура костного аппарата соответствовали возрастной норме. При рентгенологическом исследовании скелета у 2 из них (по 1 из групп «Орлов-В», инвентарный №40066, и плацебо, инвентарный №39978) были выявлены рахитоподобные изменения, однако они не являлись вирусспецифическими и связаны с особенностями питания животных.

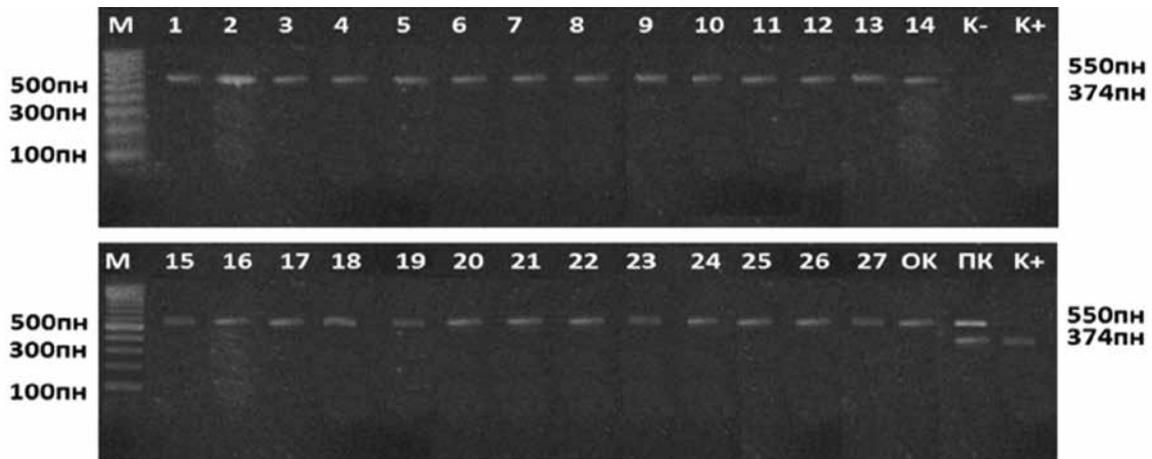
Для определения возможной связи смерти 2 детёнышей с вакцинацией их матерей во время беременности было проведено патоморфологическое и вирусологическое исследование их органов и тканей, а также плаценты самок. Ни в одном случае вирусспецифических поражений у погибших новорождённых выявлено не было. Гистологическая картина головного мозга и периферических органов соответствовала норме. Таким образом, в обоих случаях смерть наступила по причинам, не связанным с материнской иммунизацией против краснухи во время беременности.

При проведении вирусологического исследования с целью сравнения использовали аутопсийный материал детёныша, не включённого в настоящий эксперимент и погибшего от алиментарной дистрофии из-за отсутствия грудного вскармливания (агалактия у матери) (инвентарный №32771).

Ни в одном из исследованных образцов РНК вируса краснухи обнаружена не была (**рисунок**), что свидетельствует об отсутствии проникновения вакцинных штаммов вируса через плаценту и, соответственно, отсутствии внутриутробного инфицирования плода в каждом из исследованных случаев гибели новорождённого.

Изучение сывороток крови самок, однократно иммунизированных против краснухи во время беременности, показало 100%-ную сероконверсию, т.е. все подопытные животные ответили на введение вакцинных препаратов образованием специфических антител в высоких титрах. В то же время по окончании периода наблюдения в сыворотке обезьяны группы плацебо специфические антитела не определялись (**таблица**).

Е. Miller и соавт. показали, что частота выявления антител класса IgM в сыворотках крови детей с внутриутробной инфекцией рубеолярной этиологии максимальна в первый месяц жизни, когда она составляет 100% [15]. На основании этих данных исследование сывороток детёнышей на наличие IgM-фракции противокраснушных антител проводили, собирая образцы крови в течение первых 30 суток после рождения. В качестве положительного и отрицательного контроля (помимо контролей, заложенных в тест-системе) были исследованы сыворотки крови 2 людей: одна, полученная от больного с лабораторно подтверждённой краснухой, другая – от больного с отрицательным результатом на IgM-антитела к вирусу краснухи. Ни в одном случае в сыворотке крови детёнышей, родившихся от иммунизированных во время беременности матерей, не было выявлено противокраснушных IgM.



Детекция РНК вируса краснухи (Rubella virus) в клиническом материале методом ПЦР с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в 2% агарозном геле.

Примечание. М – маркер длин фрагментов пар нуклеотидов; 1–27 – образцы клинического материала; К– – отрицательный контроль ПЦР амплификации кДНК; К+ – положительный контроль ПЦР амплификации кДНК; ОК – отрицательный контроль экстракции РНК; ПК – положительный контроль экстракции РНК, пн – пары нуклеотидов.

Detection of rubella virus RNA in clinical material by PCR with electrophoretic detection of amplicons in 2% agarose gel.

Note. M – DNA size marker; 1–27 – clinical samples; K– – negative PCR control of cDNA amplification; K+ – positive PCR control of cDNA amplification; OK – negative RNA extraction control; PK – positive RNA extraction control, пн – nucleotide pairs.

Обсуждение

Учитывая способность вируса краснухи проникать через плаценту и вызывать множественные системные поражения плода, контроль утраты тератогенных свойств у вакцинных штаммов для живой краснушной вакцины представляется необходимым и важным этапом доклинического изучения таких препаратов. Моделью для проведения настоящего исследования стал вакцинный штамм вируса краснухи «Орлов-В», полученный путём аттенуации дикого вируса серийными пассажами в культуре клеток почки кролика. В качестве препарата сравнения использован штамм Wistar RA27/3, входящий в состав всех используемых в настоящее время коммерческих вакцин против краснухи.

В ходе эксперимента получены данные по клиническому наблюдению за детёнышами, родившимися от вакцинированных во время беременности макак-резусов. Все 11 особей были оценены врачом-ветеринаром как клинически здоровые; первый месяц ежедневного клинического наблюдения не выявил ни в одном случае задержки в развитии условных рефлексов. Периодическое взвешивание не обнаружило отставания в физическом развитии. В дальнейшем в течение 3 месяцев наблюдения каких-либо патологических состояний ни у одного из подопытных животных выявлено не было.

Учитывая, что одним из частых проявлений СВК является повышенная проницаемость тканей костного аппарата [16], было проведено рентгенологическое обследование новорождённых для установления возможных несоответствий развития скелета физиологической возрастной норме. Ни в одном случае не было выявлено характерных для СВК костных поражений. Обнаруженные у 2 особей (1 иммунизированной штаммом «Орлов-В» и 1 – растворителем вакцины

Титры антител в РТГА в сыворотке крови иммунизированных и не иммунизированной против краснухи обезьян

Antibody titers in HI test in serum of monkeys immunized and not immunized against rubella

№ обезьяны Monkey No.	Штамм, использованный для иммунизации Strain used for immunization	Титры антител в РТГА Antibody titers in HI test
34086	«Орлов-В» «Orlov-V»	1 : 320
33605	«Орлов-В» «Orlov-V»	1 : 160
37085	«Орлов-В» «Orlov-V»	1 : 640
37174	«Орлов-В» «Orlov-V»	1 : 1280
37686	«Орлов-В» «Orlov-V»	1 : 320
32771	«Орлов-В» «Orlov-V»	1 : 160
37721	«Орлов-В» «Orlov-V»	1 : 640
33276	«Орлов-В» «Orlov-V»	1 : 1280
37988	«Орлов-В» «Orlov-V»	1 : 640
31939	Wistar RA27/3 Wistar RA27/3	1 : 640
37301	Wistar RA27/3 Wistar RA27/3	1 : 320
33992	Wistar RA27/3 Wistar RA27/3	1 : 640
36518	Плацебо Placebo	<1 : 10

против краснухи) рахитоподобные изменения в ростовых зонах наиболее быстро растущих костей оценены врачом-рентгенологом как неспецифические.

Вирусологическое исследование тканей плаценты (методом ПЦР) для определения возможного наличия РНК вируса краснухи удалось провести в 3 случаях. Ни в одном из исследованных образцов плаценты (2 группы «Орлов-В» и 1 – группы Wistar RA27/3), а также пуповинной крови (1 образец группы «Орлов-В»), не было выявлено вирусной РНК.

Тщательное и всестороннее патоморфологическое исследование тканей и органов детёнышей, погибших во время родов (1 – группа «Орлов-В»; 1 – Wistar RA27/3), также не выявило вирусспецифических поражений органов и тканей.

В конечной стадии эксперимента сыворотки крови самок были исследованы в РТГА на наличие противокраснушных антител; детёнышей – на наличие IgM-фракции антител.

Результаты РТГА свидетельствуют о развитии выраженного иммунного ответа на вакцинацию препаратами из штаммов «Орлов-В» и Wistar RA27/3 и подтверждают факт иммунизации животных.

Известно, что в отличие от противовирусных IgG-антител, передающихся от матери к плоду и обеспечивающих пассивный противовирусный иммунитет на протяжении первых месяцев жизни, иммуноглобулины класса IgM не проходят через плаценту [17]. Их присутствие в крови новорождённых свидетельствует о развитии внутриутробной инфекции. Это обстоятельство было убедительно доказано E. Miller и соавт. в когортных исследованиях детей, рождённых с внутриутробными инфекциями (ВУИ) рубеолярной этиологии [15]. В связи с этим согласно классификации ВОЗ диагноз «врождённая краснуха» устанавливается только на основании обнаружения в крови младенца IgM-антител к вирусу краснухи даже без наличия клинической симптоматики заболевания [18]. Следовательно, обнаружение иммуноглобулинов этого класса в крови особей, родившихся от иммунизированных против краснухи матерей, было бы безусловным свидетельством сохранения тератогенных свойств вакцинного вируса. И напротив, отсутствие таковых – убедительное доказательство того, что штаммы, использованные в настоящем исследовании, не вызывают внутриутробного инфицирования плода. Важно, что такие результаты получены без умерщвления детёнышей, что полностью отвечает принципам гуманного обращения с лабораторными животными.

Следует особо отметить, что использование ПЦР для детекции РНК вируса краснухи в аутопсийном материале, плаценте и пуповинной крови может служить объективным маркером для оценки потенциального тератогенного действия [19] испытываемых препаратов на этапе их доклинического изучения.

Заключение

В ходе изучения возможного тератогенного действия вакцинных штаммов вируса краснухи

в опыте на обезьянах макак-резус ни в одном случае не было получено каких-либо данных, свидетельствующих о внутриутробном инфицировании плода иммунизированных во время беременности самок. Таким образом, результаты проведённого исследования показали отсутствие тератогенных свойств в условиях данного эксперимента как у вакцинного штамма вируса краснухи «Орлов-В», так и у штамма Wistar RA27/3, использованного в качестве препарата сравнения и входящего в состав коммерческих вакцин против краснухи. Показана информативность ПЦР как теста, подтверждающего специфическую безопасность вакцинных штаммов для живых вирусных вакцин на этапе их доклинического изучения.

ЛИТЕРАТУРА

- Castillo-Solórzano C., Reef S.E., Morice A., Vascones N., Chevez A.E., Castalia-Soares R., et al. Rubella vaccination of unknowingly pregnant women during mass campaigns for rubella and congenital rubella syndrome elimination, the Americas 2001–2008. *J. Infect. Dis.* 2011; 204 (Suppl. 2): S713–7. <https://doi.org/10.1093/infdis/jir489>.
- Шамсутдинова О.А. Живые аттенуированные вакцины для иммунопрофилактики. *Инфекция и иммунитет.* 2017; 7(2): 107–116. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2017-2-107-116>.
- Hofmann J., Kortung M., Pustowoit B., Faber R., Piskazek U., Liebert U.G. Persistent fetal rubella vaccine virus infection following inadvertent vaccination during early pregnancy. *J. Med. Virol.* 2000; 61(1): 155–8. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9071\(200005\)61:1%3C155::aid-jmv25%3E3.0.co;2-o](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9071(200005)61:1%3C155::aid-jmv25%3E3.0.co;2-o).
- Da Silva e Sá G.R., Camacho L.A., Stavola M.S., Lemos X.R., Basílio de Oliveira C.A., Siqueira M.M. Pregnancy outcomes following rubella vaccination: A prospective study in the State of Rio de Janeiro, Brazil, 2001–2002. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(2): S722–8. <https://doi.org/10.1093/infdis/jir408>.
- Keller-Stanislawski B., Englun J.A., Kang G., Mangtani P., Neuzil K., Nohynek H., et al. Safety of immunization during pregnancy: A review of the evidence of selected inactivated and live attenuated vaccines. *Vaccine.* 2014; 32(52): 7057–64. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.09.052>.
- Hamkar R., Jalilvand S., Abdolbaghi M.H., Esteghamati A.R., Hagh-Goo A., Jelyani K.N., et al. Inadvertent rubella vaccination of pregnant women: Evaluation of possible transplacental infection with rubella vaccine. *Vaccine.* 2006; 24(17): 3558–63. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.02.001>.
- Mangtani P., Evans S.J.W., Lange B., Oberle D., Smith J., Drechsel-Baeuerle U., et al. Safety profile of rubella vaccine administered to pregnant women: A systematic review of pregnancy related adverse events following immunisation, including congenital rubella syndrome and congenital rubella infection in the foetus or infant. *Vaccine.* 2020; 38(5): 963–78. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.11.070>.
- Regan A.K. The safety of maternal immunization. *Hum. Vacc. Immunother.* 2016; 12(12): 3132–6. <https://doi.org/10.1080/21645515.2016.1222341>.
- Nasiri R., Yoseffi J., Khajedaloe M., Sarafraz Yazdi M., Delgoshaei F. Congenital rubella syndrome after rubella vaccination in 1–4 weeks periconceptual period. *Indian J. Pediatr.* 2009; 76(3): 279–82. <https://doi.org/10.1007/s12098-009-0053-x>.
- Миронов А.Н., Бунатян Н.Д. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Том 1. М.: Гриф и К; 2012.*
- СП 3.3.2.561-96. Государственные испытания и регистрация новых иммунобиологических препаратов. М.: 1998.
- Knipe D.M., Howley P.M., eds. *Fields Virology*. Philadelphia: Williams & Wilkins; 2013.
- Лаврентьева И.Н. Молекулярно-биологические свойства аттенуированных штаммов вируса краснухи. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2008; 85(4): 55–9.

14. Лаврентьева И.Н., Сухобаевская Л.П., Жебрун А.Б. Штамм вируса краснухи для получения медицинских иммунобиологических препаратов (МИБИ). Патент РФ №2081912; 1995.
15. Miller E., Cradock-Watson J.E., Pollock T.M. Consequences of confirmed maternal rubella at successive stage of pregnancy. *Lancet*. 1982; 2(8302): 781–4. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(82\)92677-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(82)92677-0).
16. Yazigi A., Eldin De Pecoulas A., Vauloup-Fellous C., Grangeot-Keros L., Ayoubi J.M., Picone O. Fetal and neonatal abnormalities due to congenital rubella syndrome: a review of literature. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2017; 30(3): 274–8. <https://doi.org/10.3109/14767058.2016.1169526>.
17. Best J.M. Rubella. *Semin. Fetal Neonat. Med.* 2007; 12(3): 182–92. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2007.01.017>.
18. Sampedro Martínez A., Martínez L.A., Teatino P.M., Rodríguez-Granger J. Diagnosis of congenital infection. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2011; 29 (Suppl. 5): 15–20. [https://doi.org/10.1016/s0213-005x\(11\)70039-8](https://doi.org/10.1016/s0213-005x(11)70039-8) (in Spanish).
19. Mace M., Cointe D., Six C., Levy-Bruhl D., Parent du Chatelet I., Ingrand D., et al. Assessment of the diagnostic value of RT-PCR on amniotic fluid for prenatal diagnosis of congenital rubella infection. *Pathol. Biol. (Paris)*. 2004; 52(9): 540–3. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2004.06.004> (in French).
20. of pregnant women: Evaluation of possible transplacental infection with rubella vaccine. *Vaccine*. 2006; 24(17): 3558–63. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.02.001>.
21. Mangtani P., Evans S.J.W., Lange B., Oberle D., Smith J., Drechsel-Baeuerle U., et al. Safety profile of rubella vaccine administered to pregnant women: A systematic review of pregnancy related adverse events following immunisation, including congenital rubella syndrome and congenital rubella infection in the foetus or infant. *Vaccine*. 2020; 38(5): 963–78. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.11.070>.
22. Regan A.K. The safety of maternal immunization. *Hum. Vacc. Immunother.* 2016; 12(12): 3132–6. <https://doi.org/10.1080/21645515.2016.1222341>.
23. Nasiri R., Yoseffi J., Khajedaloe M., Sarafraz Yazdi M., Delgoshaei F. Congenital rubella syndrome after rubella vaccination in 1–4 weeks periconceptional period. *Indian J. Pediatr.* 2009; 76(3): 279–82. <https://doi.org/10.1007/s12098-009-0053-x>.
24. Mironov A.N., Bunatjan N.D. *Guidelines for Conducting Preclinical Research of Medicinal Products. Volume 1 [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Tom 1]*. Moscow: Grif i K; 2012 (in Russian).
25. SP 3.3.2.561-96. State tests and registration of new immunobiological drugs. Moscow: 1998 (in Russian).
26. Knipe D.M., Howley P.M., eds. *Fields Virology*. Philadelphia: Williams & Wilkins; 2013.
27. Lavrentjeva I.N. Molecular and biologic characteristics of attenuated rubella viruses. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2008; 85(4): 55–9 (in Russian).
28. Lavrentjeva I.N., Sukhobaevskaya L.P., Zhebrun A.B. *Rubella virus strain for medical immunobiological preparations (MIBP)*. Patent RF №2081912; 1995 (in Russian).
29. Miller E., Cradock-Watson J.E., Pollock T.M. Consequences of confirmed maternal rubella at successive stage of pregnancy. *Lancet*. 1982; 2(8302): 781–4. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(82\)92677-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(82)92677-0).
30. Yazigi A., Eldin De Pecoulas A., Vauloup-Fellous C., Grangeot-Keros L., Ayoubi J.M., Picone O. Fetal and neonatal abnormalities due to congenital rubella syndrome: a review of literature. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2017; 30(3): 274–8. <https://doi.org/10.3109/14767058.2016.1169526>.
31. Best J.M. Rubella. *Semin. Fetal Neonat. Med.* 2007; 12(3): 182–92. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2007.01.017>.
32. Sampedro Martínez A., Martínez L.A., Teatino P.M., Rodríguez-Granger J. Diagnosis of congenital infection. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2011; 29 (Suppl. 5): 15–20. [https://doi.org/10.1016/s0213-005x\(11\)70039-8](https://doi.org/10.1016/s0213-005x(11)70039-8) (in Spanish).
33. Mace M., Cointe D., Six C., Levy-Bruhl D., Parent du Chatelet I., Ingrand D., et al. Assessment of the diagnostic value of RT-PCR on amniotic fluid for prenatal diagnosis of congenital rubella infection. *Pathol. Biol. (Paris)*. 2004; 52(9): 540–3. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2004.06.004> (in French).

REFERENCES

1. Castillo-Solórzano C., Reef S.E., Morice A., Vascones N., Chevez A.E., Castalia-Soares R., et al. Rubella vaccination of unknowingly pregnant women during mass campaigns for rubella and congenital rubella syndrome elimination, the Americas 2001–2008. *J. Infect. Dis.* 2011; 204 (Suppl. 2): S713–7. <https://doi.org/10.1093/infdis/jir489>.
2. Shamsutdinova O.A. Live attenuated vaccines for the immunoprophylaxis. *Infektsiya i immunitet*. 2017; 7(2): 107–16. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2017-2-107-116> (in Russian).
3. Hofmann J., Kortung M., Pustowoit B., Faber R., Piskazeck U., Liebert U.G. Persistent fetal rubella vaccine virus infection following inadvertent vaccination during early pregnancy. *J. Med. Virol.* 2000; 61(1): 155–8. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9071\(200005\)61:1%3C155::aid-jmv25%3E3.0.co;2-o](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9071(200005)61:1%3C155::aid-jmv25%3E3.0.co;2-o).
4. Da Silva e Sá G.R., Camacho L.A., Stavola M.S., Lemos X.R., Basilio de Oliveira C.A., Siqueira M.M. Pregnancy outcomes following rubella vaccination: A prospective study in the State of Rio de Janeiro, Brazil, 2001–2002. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(2): S722–8. <https://doi.org/10.1093/infdis/jir408>.
5. Keller-Stanislawski B., Englun J.A., Kang G., Mangtani P., Neuzil K., Nohynek H., et al. Safety of immunization during pregnancy: A review of the evidence of selected inactivated and live attenuated vaccines. *Vaccine*. 2014; 32(52): 7057–64. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.09.052>.
6. Hamkar R., Jalilvand S., Abdolbaghi M.H., Esteghamati A.R., Hagh-Goo A., Jelyani K.N., et al. Inadvertent rubella vaccination



Филодинамическая характеристика российской популяции ротавируса A (*Reoviridae: Sedoreovirinae: Rotavirus*) на основе гена VP6

Морозова О.В., Сашина Т.А., Новикова Н.А.

ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, 603950, Нижний Новгород, Россия

Введение. Ротавирусы вида А являются одной из лидирующих причин острого гастроэнтерита у детей первых лет жизни. В настоящее время ротавирусная инфекция относится к управляемым инфекционным процессам. Наиболее представленным протеином ротавириона является белок VP6.

Материал и методы. В качестве материала для исследования были использованы 262 нуклеотидные последовательности гена VP6 ротавируса вида А, изолированного на территории России. Филогенетический анализ и расчет филодинамических характеристик были осуществлены с использованием пакета программ BEAST v.1.10.4. Выведение и анализ аминокислотных последовательностей проводили в программе MEGAX.

Результаты. На территории Российской Федерации показана циркуляция ротавирусов 3 сублиний генотипа I1 и 3 – генотипа I2. Установлен уровень накопления мутаций, который оказался схожим для генотипов I1 и I2 и составил $7,732E-4$ и $1,008E-3$ нуклеотидов/сайт/год соответственно. Показано, что эффективные размеры ротавирусной популяции гена VP6 I1 и I2 генотипов стабильны и с начала 2000-х гг. имеют тенденцию к снижению. Сравнительный анализ аминокислотной последовательности в области сайтов внутриклеточной нейтрализации А (231–260 а.о.) и В (265–292 а.о.) позволил выявить у ряда российских штаммов генотипа I1 мутацию в позиции V252I, а у части из них (I1 и I2 генотипов) – мутацию I281V, не связанные с принадлежностью штаммов к внутритиповым сублиниям. Анализ 3 Т-клеточных эпитопов выявил 4 ассоциированных с принадлежностью к одной из геногрупп аминокислотных различия (в позициях 305, 315, 342 и 348 а.о.).

Заключение. На основе филодинамических характеристик и аминокислотного состава антигенных детерминант сделан вывод о высокой консервативности протеина VP6.

Ключевые слова: ротавирус; вакцинация; филодинамический анализ

Для цитирования: Морозова О.В., Сашина Т.А., Новикова Н.А. Филогенетическая характеристика российской популяции ротавируса А (*Reoviridae: Sedoreovirinae: Rotavirus*) на основе гена VP6. *Вопросы вирусологии.* 2020; 65(6): 364-372. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-6-7>

Для корреспонденции: Морозова Ольга Владимировна, научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, 603950, Нижний Новгород, Россия. E-mail: olga.morozova.bsc@gmail.com

Участие авторов: все авторы внесли равный вклад в подготовку публикации.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 02.10.2020

Принята в печать 12.11.2020

Phyldynamic characteristics of the Russian population of rotavirus A (*Reoviridae: Sedoreovirinae: Rotavirus*) based on the VP6 gene

Ol'ga V. Morozova, Tatiana F. Sashina, Nadezhda A. Novikova

FSBI «Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology» of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Nizhny Novgorod, 603950, Russia

Introduction. Rotavirus A is one of the leading causes of acute gastroenteritis in children in the first years of life. Rotavirus infection is currently classified as a preventable infection. The most abundant rotavirion protein is VP6.

Material and methods. Phylogenetic analysis and calculation of phyldynamic characteristics were carried out for 262 nucleotide sequences of the VP6 gene of rotavirus species A, isolated in Russia, using the BEAST v.1.10.4 software package. The derivation and analysis of amino acid sequences was performed using the MEGAX program.

Results. This study provides phyldynamic characteristics of the rotaviruses in Russia based on the sequences coding VP6 protein. Bayesian analysis showed the circulation of rotaviruses of three sublineages of genotype I1 and three sublineages of genotype I2 in Russia. The level of accumulation of mutations was established, which turned out to be similar for genotypes I1 and I2 and amounted to $7.732E-4$ and $1.008E-3$ nucleotides/site/year, respectively. The effective population sizes based on nucleotide sequences of the VP6 I1 and I2 genotypes are

relatively stable while after the 2000s there is a tendency of its decreasing. Comparative analysis of the amino acid sequences in the region of the intracellular neutralization sites A (231–260 aa) and B (265–292 aa) made it possible to reveal a mutation in position V252I in a proportion of Russian strains of genotype I1 some strains of genotypes I1 and I2 had mutation I281V. These substitutions were not associated with any sublineages to which the strains belong. The analysis of three T-cell epitopes revealed four amino acid differences (in aa positions 305, 315, 342, 348) that were associated with the first or second genogroup.

Conclusion. Based on the phylodynamic characteristics and amino acid composition of antigenic determinants, it was concluded that the VP6 protein is highly stable and could potentially be a good model for development of a rotavirus vaccine.

Key words: *Rotavirus; vaccines; phylodynamic analysis.*

For citation: Morozova O.V., Sashina T.A., Novikova N.A. Phylodynamic characteristics of the Russian population of rotavirus A (*Reoviridae: Sedoreovirinae: Rotavirus*) based on the VP6 gene. *Problems of Virology. (Voprosy Virusologii)*. 2020; 65(6): 364-372. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-6-7>

For correspondence: Ol'ga V. Morozova, Researcher of Laboratory of Molecular Epidemiology of Viral Infections, FBSI «Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology» of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Nizhny Novgorod, 603950, Russia. E-mail: olga.morozova.bsc@gmail.com

Information about authors:

Morozova O.V., <https://orcid.org/0000-0002-8058-8187>

Sashina T.A., <https://orcid.org/0000-0003-3203-7863>

Novikova N.A., <https://orcid.org/0000-0002-3710-6648>

Contribution: all the authors have equally contributed to the development of the article.

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

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

Received 2 October 2020
Accepted 11 November 2020

Введение

Ротавирусы вида А (семейство *Reoviridae*, подсемейство *Sedoreovirinae*, род *Rotavirus*) являются одной из основных причин острого гастроэнтерита у детей первых лет жизни [1]. Ротавирус А (РВА) выступает этиологическим фактором гастроэнтеритов в 43% случаев у детей до 5 лет, находящихся на стационарном лечении в России. В структуре амбулаторных обращений ротавирусный гастроэнтерит составляет 31%, достигая в некоторых регионах нашей страны 75% [2]. В Российской Федерации сезонность ротавирусной инфекции (РВИ) описывается как зимне-весенняя [3].

В настоящее время в мире широко применяются 2 ротавирусные вакцины: моновалентная человеческая живая аттенуированная вакцина жидкая для профилактики ротавирусной инфекции (РВИ), основанная на штамме ротавируса человека с генотипом G1P[8], и вакцина для профилактики ротавирусной инфекции пентавалентная живая (RV5), несущая в своём составе реассортантные штаммы ротавируса быка и ротавирусов человека с генотипами G1, G2, G3, G4 и P[8] [4, 5]. Преквалификацию ВОЗ прошли вакцинные препараты Rotavac® (G9P[11]) и Rotasil® (G1, G2, G3, G4, G9), которые скоро будут доступны на мировом рынке [6, 7]. На территории РФ зарегистрирована только RV5, рекомендованная к применению в соответствии с эпидемическими показаниями¹.

Ген VP6 имеет размер 1,6 т.п.н., кодирует групповой и субгрупповой антигены. VP6 был первым

белком, использованным для классификации ротавирусов на основе его серологической перекрёстной реактивности и генетической изменчивости. Внутри ротавирусов вида А с помощью моноклональных антител выделяют 4 субгруппы (SGI, SGII, SG I + II и SG не-I, не-II) [8, 9]. В настоящее время на основе генетического разнообразия VP6 различают 9 групп А-I ротавируса, которые в последнее время приобрели статус видов. От людей изолированы виды А, В, С и Н, хотя, безусловно, первый из них является наиболее важным в мире с эпидемической точки зрения [10, 11]. Выявленные на основе анализа нуклеотидной последовательности различия, превышающие 19%, позволяют говорить о разных генотипах VP6 ротавируса вида А. На сегодняшний день известно 26 генотипов VP6 РВА (I1–I26), изолированных от человека и животных. Несмотря на генотиповое многообразие ротавирусов, эпидемически значимые варианты относятся к 2 геногруппам: 1-я – это Wa-подобные ротавирусы, 2-я – DS-1-подобные. В составе вакцины RV1, содержащей Wa-подобный штамм 89-12 ротавируса человека, белок VP6 относится к 1-й геногруппе (генотип I1). Вакцинный препарат RV5 (основан на DS-1-подобном штамме WC3 бычьего ротавируса) содержит VP6 2-й геногруппы (генотип I2).

После перенесённой РВИ обнаруживают высокие титры антител против протеина VP6. В его структуре выявлено несколько В- и Т-клеточных антигенных

¹Приказ Минздрава России от 21.03.2014 N 125н. <https://www.rosпотребнадзор.ru/bitrix/redirect.php?event1=file&event2=download&event3=natskalendar-porfprivivok-2014.doc&goto=/upload/iblock/d12/natskalendar-porfprivivok-2014.doc> (дата доступа 22.11.2020 г.)

эпитопов. Исследования антигенных свойств этого белка показали, что субгрупповые эпитопы являются конформационными и доступны лишь на поверхности тримера, но не на мономерной единице белковой молекулы. Установлено, что одиночная мутация в положениях 172 или 305 и 296–299 влияет на связывание антител субгруппы I (SGI) [12]. Двойная аминокислотная замена в положениях 305–306 и одиночная аминокислотная мутация в положении 315 влияют на процесс связывания антител, распознающих эпитоп субгруппы II (SGII) [12, 13]. В работе Aiyegbo M.S. с соавт. были предложены 2 предполагаемых антигенных эпитопа для внутриклеточных антител, расположенных на VP6: A (231–260 а.о.) и B (265–292 а.о.). Этой группой исследователей показано, что иммуноглобулины класса IgA человека, связываясь внутри клетки с субвирусной двухслойной частицей, блокируют транскрипцию ротавируса [14].

Программное обеспечение BEAST, разработанное на основе байесовского эволюционного анализа с интеграцией цепи Маркова (Markov chain Monte Carlo, MCMC), позволяет оценивать филогенетические деревья, построенные на основе генетических данных с метками времени [15]. Такой подход помогает оценить эволюционные процессы в популяции, если в ней произошли доступные для измерений изменения между отборами проб. Эффективный размер популяции (N_e) – один из важнейших параметров популяционной генетики, который переводит размер реальной популяции в размер идеализированной, демонстрирующей ту же скорость изменения генетического разнообразия, что и реальная [16]. В нашей работе на основе гена VP6 ротавирусов, изолированных на территории России, проведена оценка филогенетических параметров, таких как скорость накопления мутаций, время циркуляции ближайшего общего предка, скорость изменений эффективного размера популяции с течением времени. Кроме этого, на исследованной выборке выполнен сравнительный анализ аминокислотного состава в области В- и Т-клеточных эпитопов вакцинных штаммов в составе RV1 и RV5, а также штаммов дикого типа, изолированных на территории России.

Материал и методы

Формирование выборки. Для изучения разнообразия аллелей гена VP6 исследуемых ротавирусов были проанализированы доступные в базе данных GenBank нуклеотидные последовательности размером, покрывающим более 80% открытой рамки считывания. В выборку вошли нуклеотидные последовательности гена VP6 вакцинных штаммов (RV1 и RV5), а также 262 последовательности VP6 ротавирусов, доступных в базе GenBank и изолированных после 2010 г. на территории России в Нижнем Новгороде (23), Новосибирске (203), Омске (29), Смоленске (4), Ханты-Мансийске (3). В исследуемой выборке 206 последовательностей гена VP6 принадлежали генотипу I1 и 56 – генотипу I2. Последовательности гена других генотипов РВА, изолированных на территории РФ, не были представлены в указанной базе данных.

Филодинамический анализ. Обработку и выравнивание последовательностей нуклеотидов и выведение аминокислотных последовательностей осуществляли с применением программного обеспечения MEGAX [17]. В связи с тем что различные генотипы могут обладать разными филогенетическими характеристиками, анализ временного сигнала, оценка скорости накопления мутаций и особенности популяционной динамики оценивались отдельно для последовательностей генотипов I1 и I2. С целью построения филогенетических деревьев ML (Maximum Likelihood, максимального правдоподобия) была подобрана оптимальная модель для исследуемых выборок – T92+G+I. При первичной оценке временного сигнала на основе филогенетического дерева ML использовали программу TempEst v1.5.3 [18]. Оба набора данных показали положительную корреляцию между генетической дистанцией и датой отбора, что делает их подходящими для дальнейшего байесовского филогенетического анализа. Кроме этого, анализ показал необходимость применения «расслабленных» молекулярных часов для исследуемых выборок. Филогенетический анализ проведен с помощью пакета программ BEAST v.1.10.4 и библиотеки BEAGLE v3.1.0 [15, 19]. Процесс замещения нуклеотидов оценивали с помощью модели Хасегава–Кишино–Яно (Hasegawa–Kishino–Yano, HKY). Расчёт динамики демографических показателей выполнен на основе модели SkyGrid [20]. Скорость эволюции измеряли на базе нестрогих (свободных) логнормальных часов. Для достижения значений эффективного размера выборки (ESS) >> 200 длина MCMC составила 80 млн шагов. Визуализация и обработка филогенетических деревьев осуществлена в программе FigTree v.1.4.3. Визуализацию популяционной динамики и анализа выходных MCMC-файлов оценивали при помощи программы Tracer v1.7.1 [21].

Анализ антигенных эпитопов. Поиск В- и Т-клеточных эпитопов осуществляли с использованием базы данных IEDB (international epitope database; https://www.iedb.org/home_v3.php). В исследование входили эпитопы, установленные на изолированных от человека ротавирусах вида А.

Результаты

Филогенетический анализ. Для оценки кластеризации российских штаммов и их взаимоотношений со штаммами в составе вакцин RV5 и RV1 на основе общей выборки, включавшей генотипы I1 и I2, было сконструировано филогенетическое дерево, представленное на рис. 1. Вакцинный штамм RV1 кластеризуется отдельно от ротавирусов дикого типа российского происхождения. Апостериорная вероятность узла с ближайшими «российскими» вариантами, вошедшими в малочисленную группу I1-2, составила 0,42, что не позволяет достоверно говорить о родстве этих штаммов. Аллель I1-1 объединяет большинство штаммов, изолированных в разных регионах РФ на протяжении 2010–2018 гг. К линии I1-2 принадлежат

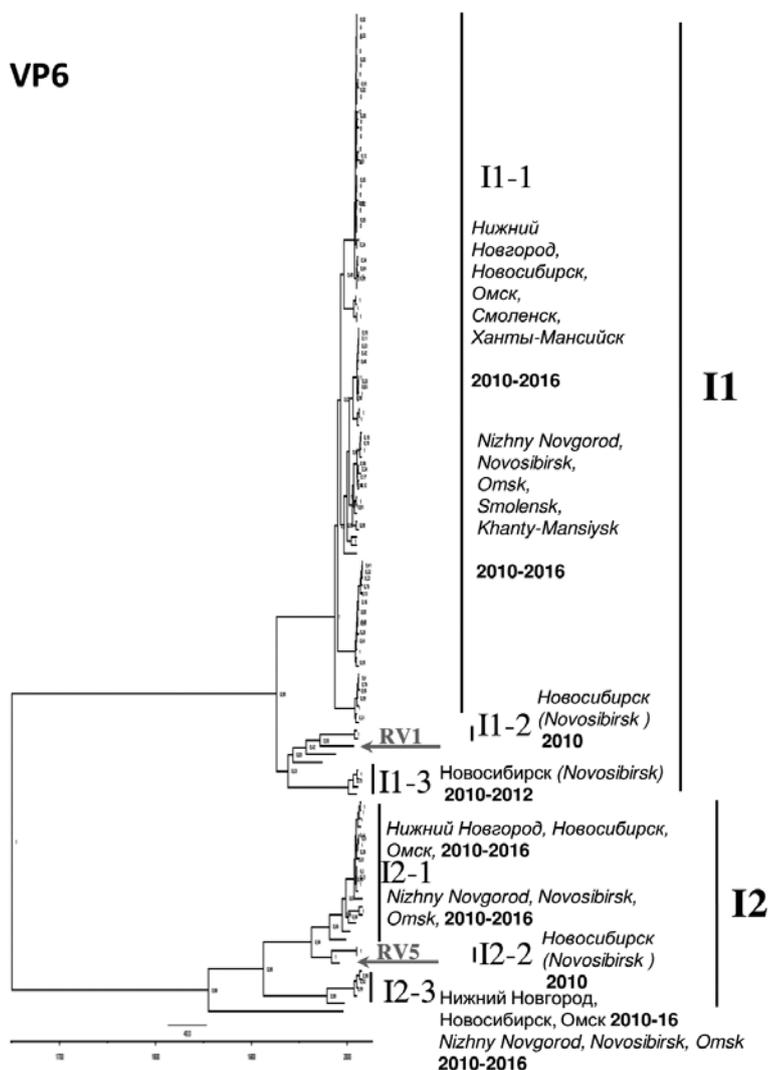


Рис. 1. Байесово филогенетическое дерево MCC, построенное на основе нуклеотидных последовательностей гена *VP6* российских образцов ротавирусов дикого типа и вакцинных штаммов *RV5* и *RV1*.

Примечание. MCC – филогенетическое дерево с максимальной надёжностью клайдов.

Fig. 1. Bayesian MCC phylogenetic tree based on the nucleotide sequences of the *VP6* gene of Russian wild-type rotavirus samples' strains and vaccine strains *RV5* and *RV1*.

Note. MCC – maximum clade credibility phylogenetic tree.

штаммы с генотипами G4P[8] и G1P[8], изолированные в Новосибирске в 2010 г. В группу I1-3 вошли ротавирусы с генотипом G4P[6], также выделенные в Новосибирске (2010–2016 гг.).

Ротавирусы 2-й геногруппы представлены на филогенетическом дереве 3 кластерами (с апостериорной вероятностью 0,99) I2-1–I2-3. Вакцинные штаммы *RV5* относятся к сублинии I2-2, также как и 2 выделенные в 2010 г. новосибирских изолята. Большинство «российских» PBA 2-й геногруппы по гену *VP6* принадлежат аллелю I2-1. Сублиния I2-3 представлена штаммами с генотипом G3P[9], изолированными в Нижнем Новгороде, Омске и Новосибирске в 2010–16 гг.

Уровень мутаций и tMRCA. Уровень накопления мутаций у «российских» штаммов с генотипом I1 был несколько ниже, чем у I2 – 7,732E-4 и 1,008E-3 соответственно (табл. 1). Для каждой линии внутри генотипа уровень мутаций варьировал незначительно.

Время циркуляции ближайшего общего предка (time to the most recent common ancestor, tMRCA) датируется 1983 г. для кластера I1-1, включающего большинство PBA российского происхождения группы I1, 1973 г. для I1-2 (куда входил штамм в составе вакцины *RV1*) и 1951 г. – для штаммов аллеля I1-3. Линия I2-1, которая включает большинство «российских» PBA 2-й геногруппы, имеет tMRCA в 1992 г.; линия I2-2, включающая вакцинный штамм *RV5*, – от 1967 г. Аллель I2-3 имеет ближайшего общего предка, датированного 1910 г. (табл. 1).

Эффективный размер популяции. Графики демографической истории, реконструированные на основе нуклеотидных последовательностей гена *VP6* ротавирусов российского происхождения при помощи модели SkyGrid и байесовского анализа, не позволяют выявить различия между штаммами, принадлежащими 1-й и 2-й геногруппам (рис. 2). Обе популяции характеризуются долговременными стабильными показателями. Ротавирусы с генотипом I1 имели тенденцию к незначительному росту N_e , а затем на уровне 2000 г. произошло снижение этого значения. Аналогично PBA с генотипом I2 показали небольшое снижение эффективного размера популяции после этой же временной отметки.

В-клеточные антигенные эпитопы белка VP6. Вакцина *RV1* основана на аттенуированном штамме ротавируса человека с генотипом G1P[8]. Ген *VP6* имеет генотип I1 и относится к 1-й геногруппе. *RV5* является реассортантной пентавалентной вакциной на основе штаммов ротавируса быка и ротавирусов человека. *VP6* в ней относится к бычьему ротавирусу генотипа I2.

Эпитоп А образован 30 аминокислотными остатками (231–260 а.о.). Аминокислотный состав в этом регионе у вакцин *RV1* и *RV5* отличается на 1 аминокислоту в позиции F248Y (рис. 3). Дикие штаммы, изолированные на территории России, отличаются от вакцинных единичными мутациями у отдельных штаммов. В позиции 252 ряд российских образцов (169 из 180 последовательностей), относящихся к 1-й геногруппе, несёт замену V252I. У 2-й геногруппы в этой позиции находится валин (Val), так же как у *RV1* и *RV5*. Данная аминокислотная мутация не связана с принадлежностью к определённой линии или кластеру на филогенетическом дереве.

Эпитоп В состоит из 28 аминокислотных остатков (265–292 а.о.). У вакцин *RV1* и *RV5* состав аминокислот

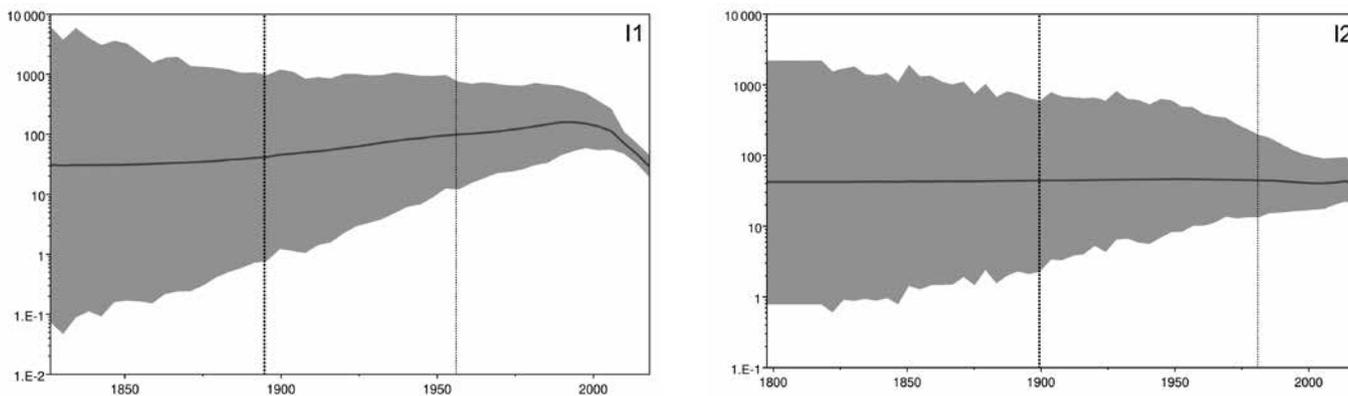


Рис. 2. Демографическая история гена *VP6* генотипов I1 и I2. По оси *x* отложено время в календарных годах. По оси *y* показан эффективный размер популяции вируса (*N_e*), представляющий количество геномов, эффективно способствующих возникновению новых инфекций. Линия в центре отображает медианные значения в рамках 95% интервала заданной плотности.

Fig. 2. Demographic history of the I1 and I2 *VP6* gene. The *x*-axis shows time in calendar years. The *y*-axis shows the effective population size of the virus (*N_e*), representing the number of genomes that are effective for the development of new infections. The line in the center represents median values within 95% of the target density range.

различается в позиции S291L; у обеих в позиции 281 находится изолейцин (Ile), однако у диких штаммов обеих геногрупп наблюдается замена на валин (Val) (38 изолятов генотипа I1 и 26 изолятов I2), также не связанная с филогенетической характеристикой штаммов.

Таким образом, в ходе анализа аминокислотной последовательности *VP6* в области предполагаемых антигенных эпитопов А и В показана высокая консервативность аминокислотного состава как у вакцинных штаммов, так и у штаммов РВА, изолированных на территории России, несмотря на их принадлежность к разным геногруппам.

Таблица 1. Уровень мутаций и время циркуляции ближайшего общего предка, рассчитанные на основе байесовской филогенетической реконструкции

Table 1. Mutation rate and time of the most recent common ancestor calculated based on Bayesian phylogenetic reconstruction

Генотип (сублиния) Genotype (sublineage)	Уровень мутаций в кластере сублиний, замен/сайт/год Substitution rate in cluster, substitutions/site/year	tMRCA кластера, год (95% HPD) tMRCA of cluster, year (95% HPD)
I1	7,732E-4	
I1-1	7.732E-4	1983 (1966–1993)
I1-2	1,098E-3	1973 (1952–1988)
I1-3	9,172E-4	1951 (1899–1985)
I2	1,002E-3	
I2-1	1,008E-3	1992 (1974–2003)
I2-2	1,197E-3	1967 (1915–1994)
I2-3	1,197E-3	1910 (1795–1981)
	1,058E-3	
	1,058E-3	
	1,761E-3	
	1,761E-3	

Примечание. HPD – интервал высшей апостериорной плотности.

Note. HPD – highest posterior density interval.

На исследуемой выборке образцов продемонстрированы аминокислотные различия в позициях, специфичных в отношении антител субгрупп I и II: M172A, N305A, Q315E, соответствующие принадлежности к 1-й или 2-й геногруппе. Участки 296–299 и 306 а.о., отвечающие за связывание специфических субгрупповых антител, были консервативны у всех рассмотренных изолятов.

Анализ Т-клеточных эпитопов. Исследование линейных эпитопов на выборке штаммов РВА, изолированных на территории России, позволило выявить лишь единичные мутации штаммов дикого типа по сравнению с вакцинными. Аминокислотные различия в позициях N305A, Q315E, L342M, A348S коррелируют с принадлежностью к 1-й и 2-й геногруппам соответственно. В позиции L291S вакцинный штамм *RV1* несёт лейцин (Leu), тогда как штаммы *RV5* и российские образцы имеют серин (Ser). В целом данные участки высококонсервативны, и точечных мутаций у штаммов российского происхождения нами обнаружено не было (рис. 4).

Обсуждение

Высококонсервативный белок внутреннего капсида вириона *VP6* является как антигенным протеином, так и иммуногеном [13, 22–25]. Его нативная конформация в экспрессированном и очищенном виде представляет собой олигомер. Дальнейшая сборка тримерных молекул в морфологические структуры происходит самопроизвольно; для этого не требуются взаимодействия с другими вирусными белками или субвирусными структурами [26]. Самоорганизующийся *VP6*, индуцирующий иммунный ответ, всё чаще рассматривается в качестве потенциального вакцинного кандидата [27].

В настоящее время отсутствуют отечественные вакцины против РВИ. Производство живых вакцинных препаратов – трудоёмкий, длительный и дорогостоящий процесс с повышенными требованиями к доставке готового препарата до пациента. Другая важная

Антигенный эпитоп А 231-260 а.о.																														
Antigenic epitope A 231-260 aa																														
	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242	243	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257	258	259	260
RV1 I1	R	F	S	F	P	R	V	I	N	S	A	D	G	A	T	T	W	F	F	N	P	V	I	L	R	P	N	N	V	E
RV5 I2	R	F	S	F	P	R	V	I	N	S	A	D	G	A	T	T	W	Y	F	N	P	V	I	L	R	P	N	N	V	E
RUS I1	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	I/V	*	*	*	*	*	*	*	*
RUS I2	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	I/V	*	*	*	*	*	*	*	*

Антигенный эпитоп В 265-292 а.о.																													
Antigenic epitope B 265-292 aa																													
	265	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275	276	277	278	279	280	281	282	283	284	285	286	287	288	289	290	291	292	
RV1 I1	L	N	G	Q	I	I	N	T	Y	Q	A	R	F	G	T	I	I	A	R	N	F	D	T	I	R	L	L	F	
RV5 I2	L	N	G	Q	I	I	N	T	Y	Q	A	R	F	G	T	I	I	A	R	N	F	D	T	I	R	L	S	F	
RUS I1	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	I/V	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
RUS I2	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	I/V	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Рис. 3. Аминокислотный состав антигенных эпитопов А (231–260 а.о.) и В (265–292 а.о.) белка VP6, выделенных на территории России ротавирусов дикого типа и штаммов в составе вакцин RV5 и RV1.

Fig. 3. Amino acid composition of antigenic epitopes A (231–260 aa) and B (265–292 aa) of VP6 protein of Russian wild-type rotavirus strains and strains in the RV5 and RV1 vaccines.

Штамм Strain	Последовательность эпитопа (а.о.) Epitope Sequence (aa) [Wei et al. 2006]								
	341	342	343	344	345	346	347	348	349
Wa	T	L	L	A	N	V	T	A	V
RV1	*	*	*	*	*	*	*	*	*
RV5	*	M	*	*	*	*	*	S	*
RUS I1	*	*	*	*	*	*	*	*	*
RUS I2	*	M	*	*	*	*	*	S	*

Штамм Strain	Последовательность эпитопа (а.о.) Epitope Sequence (aa) [Zhao et al. 2008; Parra et al. 2014]																														
	286	287	288	289	290	291	292	293	294	295	296	297	298	299	300	301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	312	313	314	315	
RRV/PBA человека RRV/Human RVA	D	T	I	R	S	L	F	Q	L	M	R	P	P	N	M	T	P	A	V	A	A	L	F	P	N	A	Q	P	F	E	
RV1	*	*	*	*	L	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	N	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Q
RV5	*	*	*	*	L	S	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
RUS I1	*	*	*	*	L	S	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	N	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	Q
RUS I2	*	*	*	*	L	S	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Рис. 4. Аминокислотные последовательности линейных эпитопов белка VP6 вакцинных штаммов RV1, RV5 и выделенных на территории России PBA дикого типа.

Fig. 4. Amino acid sequences of protein VP6 linear epitopes of vaccine strains RV1, RV5 and Russian wild-type RVA strains.

проблема их использования – безопасность у детей с иммунодефицитами в связи с возможным развитием вакцин-ассоциированного гастроэнтерита, а также риск такого осложнения, как инвагинация кишечника. Одна из новых парадигм заключается в создании нереплицирующихся вакцин, в том числе на основе белка VP6. В связи с этим ряд исследовательских групп как в нашей стране, так и за рубежом работают над созданием рекомбинантных конструкций [28–30].

В настоящей работе впервые дана молекулярно-генетическая характеристика «российских» и вакцинных штаммов ротавируса вида А на основе гена VP6. Для того чтобы оценить эволюционные взаимоотношения между «российскими» ротавирусами дикого типа и штаммами в составе вакцин RV1 и RV5, мы реконструировали филогенетические деревья с использованием байесовской статистики. Проведенный филогенетический анализ на основе нуклеотидных последовательностей гена VP6 «российских» PBA

позволил продемонстрировать наличие трех сублиний внутри генотипа I1 (I1-1–I1-3) и 3 – внутри генотипа I2 (I2-1–I2-3). Установлено, что большинство «российских» PBA несут аллели I1-1 и I2-1 гена VP6.

Ранее рядом авторов были получены данные, описывающие скорость накопления мутаций для разных генов ротавируса вида А. Полученные результаты могут варьировать в некоторых пределах, поскольку большое влияние на них оказывают размер выборки и её состав. В нашем исследовании скорость накопления мутаций «российских» PBA генотипа I1 (7,732E-4) незначительно отличалась от этого показателя для I2 (1,008E-3).

Эффективный размер популяции (Ne) – абстрактная величина, позволяющая измерить размер изучаемой конкретной популяции на основе генетического разнообразия в рамках идеализированной модели и реконструировать прошлую популяционную динамику [31]. Этот параметр предоставляет возможность

количественной оценки генетического разнообразия и его временных колебаний на основе исследуемых геномных данных. Анализ эффективного размера популяции может быть использован для ретроспективного установления даты начала эпидемии, а также мониторинга эффективности действий служб и принятых мер по противодействию распространению инфекции [32, 33]. В нашей работе на основе нуклеотидных последовательностей гена *VP6* «российских» ротавирусов показано уменьшение величины N_e для популяции РВА после 2000-х гг., что свидетельствует о снижении генетического разнообразия *VP6*. Эти данные подтверждаются филогенетическим анализом: большинство «российских» ротавирусов дикого типа, изолированных в период 2010–2018 гг., несут аллели I1-1 и I2-1. В кластеры I1-2, I1-3, I2-2, I2-3 входили вакцинные штаммы и не получившие широкого распространения немногочисленные изоляты. В условиях низкого охвата вакцинацией снижение N_e может быть связано в том числе с цикличностью эпидемического процесса, определяемого естественным снижением активности циркуляции доминирующего типа, что было показано ранее на примере нижегородской популяции РВА [34].

Многочисленные работы посвящены сравнительному анализу области нейтрализующих эпитопов белков *VP7* и *VP4* у РВА, изолированных на разных территориях, и вакцинных штаммов *RV1* и *RV5* [35–37]. Однако подобные исследования не проводятся в отношении белка *VP6*, в связи с чем мы провели сравнение аминокислотного состава области антигенных эпитопов белка *VP6* штаммов в составе *RV1* и *RV5* и ротавирусов, изолированных на территории РФ после 2010 г. Анализ аминокислотного состава в области антигенных эпитопов *VP6* указывает на высокую консервативность антигенных детерминант у вакцинных штаммов и штаммов дикого типа, изолированных на территории РФ, несмотря на разницу во времени их выделения. Высокая консервативность показана у ротавирусов, относящихся к 1-й и 2-й геногруппам, которые доминируют среди изолированных от человека РВА. Выявленные аминокислотные различия у белка *VP6*, по всей вероятности, связаны с генотиповой принадлежностью штамма и не затрагивают его иммунологические свойства. Это наблюдение, с одной стороны, делает протеин *VP6* удобной моделью для разработки вакцин; в то же время значимость его в формировании стойкого протективного иммунитета окончательно не установлена.

Заключение

Таким образом, на основе анализа филодинамических характеристик нуклеотидных последовательностей гена *VP6*, изучения выведенных последовательностей аминокислот в области антигенных эпитопов продемонстрирована высокая консервативность белка внутреннего капсида вириона, что потенциально делает его перспективной моделью для разработки универсальной ротавирусной вакцины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Tate J.E., Burton A.H., Boschi-Pinto C., Steele A.D., Duque J., Parashar U.D. 2008 estimate of worldwide rotavirus-associated mortality in children younger than 5 years before the introduction of universal rotavirus vaccination programmes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect. Dis.* 2012; 12(2): 136–41. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(11\)70253-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70253-5).
2. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Таточенко В.К., Вишнёва Е.А., Федосеенко М.В., Селимзянова Л.Р. и др. Ротавирусная инфекция у детей – нерешённая проблема. Обзор рекомендаций по вакцинопрофилактике. *Педиатрическая фармакология.* 2017; 14(4): 248–57. <https://doi.org/10.15690/pf.v14i4.1756>.
3. Mirzayeva R., Cortese M.M., Mosina L., Biellik R., Lobanov A., Chernyshova L., et al. Rotavirus burden among children in the newly independent states of the former union of soviet socialist republics: literature review and first-year results from the rotavirus surveillance network. *J. Infect. Dis.* 2009; 200 (Suppl. 2): S203–14. <https://doi.org/10.1086/605041>.
4. Ward R.L., Bernstein D.I. Rotarix: A rotavirus vaccine for the world. *Clin. Infect. Dis.* 2009; 48(2): 222–8. <https://doi.org/10.1086/595702>.
5. Ciarlet M., Schödel F. Development of a rotavirus vaccine: Clinical safety, immunogenicity, and efficacy of the pentavalent rotavirus vaccine, RotaTeq. *Vaccine.* 2009; 27(Suppl. 6): G72–81. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.09.107>.
6. Glass R.I., Bhan M.K., Ray P., Bahl R., Parashar U.D., Greenberg H., et al. Development of candidate rotavirus vaccines derived from neonatal strains in India. *J. Infect. Dis.* 2005; 192(Suppl. 1): S30–5. <https://doi.org/10.1086/431498>.
7. Naik S.P., Zade J.K., Sabale R.N., Pisal S.S., Menon R., Bankar S.G., et al. Stability of heat stable, live attenuated Rotavirus vaccine (ROTASILL®). *Vaccine.* 2017; 35(22): 2962–9. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.04.025>.
8. Greenberg H.B., Flores J., Kalica A.R., Wyatt R.G., Jones R. Gene coding assignments for growth restriction, neutralization and subgroup specificities of the W and DS-1 strains of human rotavirus. *J. Gen. Virol.* 1983; 64 (Pt. 2): 313–20. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-64-2-313>.
9. Iturriza Gómara M., Wong C., Blome S., Desselberger U., Gray J. Molecular characterization of *VP6* genes of human rotavirus isolates: correlation of genogroups with subgroups and evidence of independent segregation. *J. Virol.* 2002; 76(13): 6596–601. <https://doi.org/10.1128/jvi.76.13.6596-6601.2002>.
10. Estes M.K., Greenberg H.B. Rotaviruses. In: Knipe D.M., Howley P.M., eds. *Fields Virology*. Philadelphia: Williams & Wilkins; 2013: 1347–401.
11. Nagashima S., Kobayashi N., Ishino M., Alam M.M., Ahmed M.U., Paul S.K., et al. Whole genomic characterization of a human rotavirus strain B219 belonging to a novel group of the genus Rotavirus. *J. Med. Virol.* 2008; 80(11): 2023–33. <https://doi.org/10.1002/jmv.21286>.
12. López S., Espinosa R., Greenberg H.B., Arias C.F. Mapping the subgroup epitopes of rotavirus protein *VP6*. *Virology.* 1994; 204(1): 153–62. <https://doi.org/10.1006/viro.1994.1519>.
13. Tang B., Gilbert J.M., Matsui S.M., Greenberg H.B. Comparison of the rotavirus gene 6 from different species by sequence analysis and localization of subgroup-specific epitopes using site-directed mutagenesis. *Virology.* 1997; 237(1): 89–96. <https://doi.org/10.1006/viro.1997.8762>.
14. Aiyegbo M.S., Sapparapu G., Spiller B.W., Eli I.M., Williams D.R., Kim R., et al. Human rotavirus *VP6*-specific antibodies mediate intracellular neutralization by binding to a quaternary structure in the transcriptional pore. *PLoS One.* 2013; 9(8): 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061101>.
15. Suchard M.A., Lemey P., Baele G., Ayres D.L., Drummond A.J., Rambaut A. Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10. *Virus Evol.* 2018; 4(1): vey016. <https://doi.org/10.1093/ve/vey016>.
16. Husemann M., Zachos F.E., Paxton R.J., Habel J.C. Effective population size in ecology and evolution. *Heredity.* 2016; 117(4): 191–2. <https://doi.org/10.1038/hdy.2016.75>.
17. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 2018; 35(6): 1547–9. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>.

18. Rambaut A., Lam T.T., Max Carvalho L., Pybus O.G. Exploring the temporal structure of heterochronous sequences using TempEst (formerly Path-O-Gen). *Virus Evol.* 2016; 2(1): vew007. <https://doi.org/10.1093/ve/vew007>.

19. Ayres D.L., Cummings M.P., Baele G., Darling A.E., Lewis P.O., Swofford D.L., et al. BEAGLE 3: improved performance, scaling and usability for a high-performance computing library for statistical phylogenetics. *Syst. Biol.* 2019; 68(6): 1052–61. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syz020>.

20. Hill V., Baele G. Bayesian estimation of past population dynamics in BEAST 1.10 using the Skygrid coalescent model. *Mol. Biol. Evol.* 2019; 36(11): 2620–8. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz172>.

21. Rambaut A., Drummond A.J., Xie D., Baele G., Suchard M.A. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Syst. Biol.* 2018; 67(5): 901–4. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy03>.

22. Svensson L., Sheshberadaran H., Vene S., Norrby E., Grandien M., Wadell G. Serum antibody responses to individual viral polypeptides in human rotavirus infections. *J. Gen. Virol.* 1987; 68(Pt. 3): 643–51. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-68-3-643>.

23. Svensson L., Sheshberadaran H., Vesikari T., Norrby E., Wadell G. Immune response to rotavirus polypeptides after vaccination with heterologous rotavirus vaccines (RIT 4237, RRV-1). *J. Gen. Virol.* 1987; 68(Pt. 7): 1993–9. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-68-7-1993>.

24. Ishida S., Feng N., Tang B., Gilbert J.M., Greenberg H.B. Quantification of systemic and local immune responses to individual rotavirus proteins during rotavirus infection in mice. *J. Clin. Microbiol.* 1996; 34(7): 1694–700. <https://doi.org/10.1128/JCM.34.7.1694-1700.1996>.

25. Colomina J., Gil M.T., Codoñer P., Buesa J. Viral proteins VP2, VP6, and NSP2 are strongly precipitated by serum and fecal antibodies from children with rotavirus symptomatic infection. *J. Med. Virol.* 1998; 56(1): 58–65. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9071\(199809\)56:1<58::aid-jmv10>3.0.co;2-s](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9071(199809)56:1<58::aid-jmv10>3.0.co;2-s).

26. Estes M.K., Cohen J. Rotavirus gene structure and function. *Microbiol. Rev.* 1989; 53(4): 410–49.

27. Afchangi A., Jalilvand S., Mohajel N., Marashi S.M., Shoja Z. Rotavirus VP6 as a potential vaccine candidate. *Rev. Med. Virol.* 2019; 29(2): e2027. <https://doi.org/10.1002/rmv.2027>.

28. Духовлинов И.В., Богомолова Е.Г., Фёдорова Е.А., Симбирцев А.С. Исследование протективной активности кандидатной вакцины против ротавирусной инфекции на основе рекомбинантного белка FliCVP6VP8. *Медицинская иммунология.* 2016; 18(5): 417–24. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2016-5-417-424>.

29. Choi A.H., McNeal M.M., Basu M., Flint J.A., Stone S.C., Clements J.D., et al. Intranasal or oral immunization of inbred and outbred mice with murine or human rotavirus VP6 proteins protects against viral shedding after challenge with murine rotaviruses. *Vaccine.* 2002; 20(27-28): 3310–21. [https://doi.org/10.1016/s0264-410x\(02\)00315-8](https://doi.org/10.1016/s0264-410x(02)00315-8).

30. McNeal M.M., Basu M., Bean J.A., Clements J.D., Lycke N.Y., Ramne A., et al. Intrarectal immunization of mice with VP6 and either LT(R192G) or CTA1-DD as adjuvant protects against fecal rotavirus shedding after EDIM challenge. *Vaccine.* 2007; 25(33): 6224–31. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2007.05.065>.

31. Gill M.S., Lemey P., Faria N.R., Rambaut A., Shapiro B., Suchard M.A. Improving Bayesian population dynamics inference: a coalescent-based model for multiple loci. *Mol. Biol. Evol.* 2013; 30(3): 713–24. <https://doi.org/10.1093/molbev/mss265>.

32. Faria N.R., Suchard M.A., Abecasis A., Sousa J.D., Ndembu N., Camacho R.J., et al. Phylogenetics of the HIV-1 CRF02_AG clade in Cameroon. *Infect. Genet. Evol.* 2012; 12(2): 453–60. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.04.028>.

33. Rambaut A., Pybus O.G., Nelson M.I., Viboud C., Taubenberger J.K., Holmes E.C. The genomic and epidemiological dynamics of human influenza A virus. *Nature.* 2008; 453(7195): 615–9. <https://doi.org/10.1038/nature06945>.

34. Новикова Н.А., Епифанова Н.В., Фёдорова О.Ф. Цикличность эпидемического процесса ротавирусного гастроэнтерита и ее причины. В кн.: *Материалы научной конференции «Новые технологии в профилактике, диагностике, эпиднадзоре и лечении инфекционных заболеваний»*. Н. Новгород; 2004: 74–7.

35. Zeller M., Patton J.T., Heylen E., De Coster S., Ciarlet M., Van Ranst M., et al. Genetic analyses reveal differences in the VP7 and

VP4 antigenic epitopes between human rotaviruses circulating in Belgium and rotaviruses in Rotarix and RotaTeq. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50(3): 966–76. <https://doi.org/10.1128/JCM.05590-11>.

36. Morozova O.V., Sashina T.A., Fomina S.G., Novikova N.A. Comparative characteristics of the VP7 and VP4 antigenic epitopes of the rotaviruses circulating in Russia (Nizhny Novgorod) and the Rotarix and RotaTeq vaccines. *Arch. Virol.* 2015; 160(7): 1693–703. <https://doi.org/10.1007/s00705-015-2439-6>.

37. Motamedi-Rad M., Farahmand M., Arashkia A., Jalilvand S., Shoja Z. VP7 and VP4 genotypes of rotaviruses cocirculating in Iran, 2015 to 2017: Comparison with cogent sequences of Rotarix and RotaTeq vaccine strains before their use for universal mass vaccination. *J. Med. Virol.* 2020; 92(8): 1110–23. <https://doi.org/10.1002/jmv.25642>

REFERENCES

1. Tate J.E., Burton A.H., Boschi-Pinto C., Steele A.D., Duque J., Parashar U.D. 2008 estimate of worldwide rotavirus-associated mortality in children younger than 5 years before the introduction of universal rotavirus vaccination programmes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect. Dis.* 2012; 12(2): 136–41. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(11\)70253-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70253-5).

2. Baranov A.A., Namazova-Baranova L.S., Tatochenko V.K., Vishnyova E.A., Fedoseenko M.V., Selimzyanova L.R., et al. Rotavirus infection in children is an unsolved problem. Review of guidelines for vaccinal prevention. *Obzor rekomendatsiy po vaksinoprofilaktike. Peditricheskaya farmakologiya.* 2017; 14(4): 248–57. <https://doi.org/10.15690/pf.v14i4.1756> (in Russian).

3. Mirzayeva R., Cortese M.M., Mosina L., Biellik R., Lobanov A., Chernyshova L., et al. Rotavirus burden among children in the newly independent states of the former union of soviet socialist republics: literature review and first-year results from the rotavirus surveillance network. *J. Infect. Dis.* 2009; 200 (Suppl. 2): S203–14. <https://doi.org/10.1086/605041>.

4. Ward R.L., Bernstein D.I. Rotarix: A rotavirus vaccine for the world. *Clin. Infect. Dis.* 2009; 48(2): 222–8. <https://doi.org/10.1086/595702>.

5. Ciarlet M., Schödel F. Development of a rotavirus vaccine: Clinical safety, immunogenicity, and efficacy of the pentavalent rotavirus vaccine, RotaTeq. *Vaccine.* 2009; 27(Suppl. 6): G72–81. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.09.107>.

6. Glass R.I., Bhan M.K., Ray P., Bahl R., Parashar U.D., Greenberg H., et al. Development of candidate rotavirus vaccines derived from neonatal strains in India. *J. Infect. Dis.* 2005; 192(Suppl. 1): S30–5. <https://doi.org/10.1086/431498>.

7. Naik S.P., Zade J.K., Sabale R.N., Pisal S.S., Menon R., Bankar S.G., et al. Stability of heat stable, live attenuated Rotavirus vaccine (ROTASIIL®). *Vaccine.* 2017; 35(22): 2962–9. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.04.025>.

8. Greenberg H.B., Flores J., Kalica A.R., Wyatt R.G., Jones R. Gene coding assignments for growth restriction, neutralization and subgroup specificities of the W and DS-1 strains of human rotavirus. *J. Gen. Virol.* 1983; 64 (Pt. 2): 313–20. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-64-2-313>.

9. Iturriza Gómara M., Wong C., Blome S., Desselberger U., Gray J. Molecular characterization of VP6 genes of human rotavirus isolates: correlation of genogroups with subgroups and evidence of independent segregation. *J. Virol.* 2002; 76(13): 6596–601. <https://doi.org/10.1128/jvi.76.13.6596-6601.2002>.

10. Estes M.K., Greenberg H.B. Rotaviruses. In: Knipe D.M., Howley P.M., eds. *Fields Virology*. Philadelphia: Williams & Wilkins; 2013: 1347–401.

11. Nagashima S., Kobayashi N., Ishino M., Alam M.M., Ahmed M.U., Paul S.K., et al. Whole genomic characterization of a human rotavirus strain B219 belonging to a novel group of the genus Rotavirus. *J. Med. Virol.* 2008; 80(11): 2023–33. <https://doi.org/10.1002/jmv.21286>.

12. López S., Espinosa R., Greenberg H.B., Arias C.F. Mapping the subgroup epitopes of rotavirus protein VP6. *Virology.* 1994; 204(1): 153–62. <https://doi.org/10.1006/viro.1994.1519>.

13. Tang B., Gilbert J.M., Matsui S.M., Greenberg H.B. Comparison of the rotavirus gene 6 from different species by sequence analysis and localization of subgroup-specific epitopes using site-directed mutagenesis. *Virology.* 1997; 237(1): 89–96. <https://doi.org/10.1006/viro.1997.8762>.

14. Aiyegbo M.S., Sapparapu G., Spiller B.W., Eli I.M., Williams D.R., Kim R., et al. Human rotavirus VP6-specific antibodies mediate intracellular neutralization by binding to a quaternary structure in the transcriptional pore. *PLoS One*. 2013; 9(8): 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061101>.
15. Suchard M.A., Lemey P., Baele G., Ayres D.L., Drummond A.J., Rambaut A. Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10. *Virus Evol.* 2018; 4(1): vey016. <https://doi.org/10.1093/ve/vey016>.
16. Husemann M., Zachos F.E., Paxton R.J., Habel J.C. Effective population size in ecology and evolution. *Heredity*. 2016; 117(4): 191–2. <https://doi.org/10.1038/hdy.2016.75>.
17. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 2018; 35(6): 1547–9. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>.
18. Rambaut A., Lam T.T., Max Carvalho L., Pybus O.G. Exploring the temporal structure of heterochronous sequences using TempEst (formerly Path-O-Gen). *Virus Evol.* 2016; 2(1): vew007. <https://doi.org/10.1093/ve/vew007>.
19. Ayres D.L., Cummings M.P., Baele G., Darling A.E., Lewis P.O., Swofford D.L., et al. BEAGLE 3: improved performance, scaling and usability for a high-performance computing library for statistical phylogenetics. *Syst. Biol.* 2019; 68(6): 1052–61. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syz020>.
20. Hill V., Baele G. Bayesian estimation of past population dynamics in BEAST 1.10 using the Skygrid coalescent model. *Mol. Biol. Evol.* 2019; 36(11): 2620–8. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz172>.
21. Rambaut A., Drummond A.J., Xie D., Baele G., Suchard M.A. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Syst. Biol.* 2018; 67(5): 901–4. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy03>.
22. Svensson L., Sheshberadaran H., Vene S., Norrby E., Grandien M., Wadell G. Serum antibody responses to individual viral polypeptides in human rotavirus infections. *J. Gen. Virol.* 1987; 68(Pt. 3): 643–51. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-68-3-643>.
23. Svensson L., Sheshberadaran H., Vesikari T., Norrby E., Wadell G. Immune response to rotavirus polypeptides after vaccination with heterologous rotavirus vaccines (RIT 4237, RRV-1). *J. Gen. Virol.* 1987; 68(Pt. 7): 1993–9. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-68-7-1993>.
24. Ishida S., Feng N., Tang B., Gilbert J.M., Greenberg H.B. Quantification of systemic and local immune responses to individual rotavirus proteins during rotavirus infection in mice. *J. Clin. Microbiol.* 1996; 34(7): 1694–700. <https://doi.org/10.1128/JCM.34.7.1694-1700.1996>.
25. Colomina J., Gil M.T., Codoñer P., Buesa J. Viral proteins VP2, VP6, and NSP2 are strongly precipitated by serum and fecal antibodies from children with rotavirus symptomatic infection. *J. Med. Virol.* 1998; 56(1): 58–65. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9071\(199809\)56:1<58::aid-jmv10>3.0.co;2-s](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9071(199809)56:1<58::aid-jmv10>3.0.co;2-s).
26. Estes M.K., Cohen J. Rotavirus gene structure and function. *Microbiol. Rev.* 1989; 53(4): 410–49.
27. Afchangi A., Jalilvand S., Mohajel N., Marashi S.M., Shoja Z. Rotavirus VP6 as a potential vaccine candidate. *Rev. Med. Virol.* 2019; 29(2): e2027. <https://doi.org/10.1002/rmv.2027>.
28. Dukhovlinov I.V., Bogomolova E.G., Fyodorova E.A., Simbirtsev A.S. Protective activity study of a candidate vaccine against rotavirus infection based on recombinant protein FliCVP6VP8. *Meditsinskaya immunologiya*. 2016; 18(5): 417–24. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2016-5-417-424> (in Russian).
29. Choi A.H., McNeal M.M., Basu M., Flint J.A., Stone S.C., Clements J.D., et al. Intranasal or oral immunization of inbred and outbred mice with murine or human rotavirus VP6 proteins protects against viral shedding after challenge with murine rotaviruses. *Vaccine*. 2002; 20(27–28): 3310–21. [https://doi.org/10.1016/s0264-410x\(02\)00315-8](https://doi.org/10.1016/s0264-410x(02)00315-8).
30. McNeal M.M., Basu M., Bean J.A., Clements J.D., Lycke N.Y., Ramme A., et al. Intrarectal immunization of mice with VP6 and either LT(R192G) or CTA1-DD as adjuvant protects against fecal rotavirus shedding after EDIM challenge. *Vaccine*. 2007; 25(33): 6224–31. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2007.05.065>.
31. Gill M.S., Lemey P., Faria N.R., Rambaut A., Shapiro B., Suchard M.A. Improving Bayesian population dynamics inference: a coalescent-based model for multiple loci. *Mol. Biol. Evol.* 2013; 30(3): 713–24. <https://doi.org/10.1093/molbev/mss265>.
32. Faria N.R., Suchard M.A., Abecasis A., Sousa J.D., Ndembu N., Camacho R.J., et al. Phylodynamics of the HIV-1 CRF02_AG clade in Cameroon. *Infect. Genet. Evol.* 2012; 12(2): 453–60. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.04.028>.
33. Rambaut A., Pybus O.G., Nelson M.I., Viboud C., Taubenberger J.K., Holmes E.C. The genomic and epidemiological dynamics of human influenza A virus. *Nature*. 2008; 453(7195): 615–9. <https://doi.org/10.1038/nature06945>.
34. Novikova N.A., Epifanova N.V., Fyodorova O.F. Cyclical nature of the epidemic process of rotavirus gastroenteritis and its causes. In: *Proceedings of the Scientific Conference «New Technologies in the Prevention, Diagnosis, Surveillance and Treatment of Infectious Diseases» [Materialy nauchnoy konferentsii «Novye tekhnologii v profilaktike, diagnostike, epidnadzore i lechenii infektsionnykh zabolevaniy»]*. Nizhniy Novgorod; 2004: 74–7 (in Russian).
35. Zeller M., Patton J.T., Heylen E., De Coster S., Ciarlet M., Van Ranst M., et al. Genetic analyses reveal differences in the VP7 and VP4 antigenic epitopes between human rotaviruses circulating in Belgium and rotaviruses in Rotarix and RotaTeq. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50(3): 966–76. <https://doi.org/10.1128/JCM.05590-11>.
36. Morozova O.V., Sashina T.A., Fomina S.G., Novikova N.A. Comparative characteristics of the VP7 and VP4 antigenic epitopes of the rotaviruses circulating in Russia (Nizhny Novgorod) and the Rotarix and RotaTeq vaccines. *Arch. Virol.* 2015; 160(7): 1693–703. <https://doi.org/10.1007/s00705-015-2439-6>.
37. Motamedi-Rad M., Farahmand M., Arashkia A., Jalilvand S., Shoja Z. VP7 and VP4 genotypes of rotaviruses cocirculating in Iran, 2015 to 2017: Comparison with cogent sequences of Rotarix and RotaTeq vaccine strains before their use for universal mass vaccination. *J. Med. Virol.* 2020; 92(8): 1110–23. <https://doi.org/10.1002/jmv.25642>.



Антивирусный эффект нового конъюгата пурина LAS-131 в отношении вируса простого герпеса 1 типа (*Herpesviridae: Alphaherpesvirinae: Simplexvirus: Human alphaherpesvirus 1*) *in vitro*

Андропова В.Л.¹, Галегов Г.А.¹, Мусияк В.В.², Воздвиженская О.А.², Левит Г.Л.², Краснов В.П.^{2,3}

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

²ФГБУН «Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского» Уральского отделения Российской академии наук, 620108, Екатеринбург, Россия;

³ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», 620002, Екатеринбург, Россия

Введение. Вирусы простого герпеса типа 1 (ВПГ-1) чрезвычайно широко распространены во всем мире и, подобно другим герпесвирусам, устанавливают пожизненные инфекции в организме хозяина. Спорадически реактивируясь, ВПГ-1 вызывает рецидивы как у иммунокомпетентных лиц, так и у имеющих ослабленный иммунитет и может стать причиной тяжелых заболеваний (слепота, энцефалит, генерализованные инфекции). Современные противогерпетические лекарственные средства, нацеленные главным образом на ингибирование репликации вирусной ДНК, не всегда оказываются достаточно эффективными, например из-за развития лекарственной резистентности.

Как было показано нами ранее, новое оригинальное соединение LAS-131 высокоселективно ингибирует репродукцию ВПГ-1 (индекс селективности, SI = 63). В присутствии этого вещества в концентрации 20 мкг/мл титр ВПГ-1 (штамм L₂) в условиях одноциклового инфицирования *in vitro* снижается на 4 lg.

Материал и методы. Чтобы установить этап(ы) жизненного цикла вируса, чувствительный(ные) к действию LAS-131, мы применили обычно используемый в мировой практике подход (метод варьирования времени добавления препарата, time-of-addition assay), позволяющий установить временной период, на который можно отсрочить введение тестируемого соединения без потери его противовирусной активности, и сравнить этот показатель с переломным временем введения ингибиторов с хорошо известным механизмом действия (*in vitro*).

Результаты. Нами впервые показано, что LAS-131 сохраняет выраженное противовирусное действие при внесении в экспериментальную систему не позднее 9 ч после инфицирования (p.i.), но не влияет на выход ВПГ-1 из клетки.

Обсуждение. Полученные результаты, а также известные данные о том, что в клеточной культуре, инфицированной ВПГ с высокой множественностью (≥ 1 БОЕ/кл), синтез вирусной ДНК прекращается через 9–12 ч после адсорбции, в совокупности позволяют предположить, что рассматриваемое соединение вмешивается в жизненный цикл ВПГ-1 во время синтеза вирусной ДНК. Для точного установления биомеханизма, на которую действует LAS-131, необходимо проведение дальнейших исследований его механизма действия.

Ключевые слова: вирус простого герпеса; антивирусная активность *in vitro*; метод варьирования времени добавления препарата; механизм действия.

Для цитирования: Андропова В.Л., Галегов Г.А., Мусияк В.В., Воздвиженская О.А., Левит Г.Л., Краснов В.П. Антивирусный эффект нового конъюгата пурина LAS-131 в отношении вируса простого герпеса 1 типа (*Herpesviridae: Alphaherpesvirinae: Simplexvirus: Human alphaherpesvirus 1*) *in vitro*. *Вопросы вирусологии*. 2020; 65(6): 373–380. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-6-8>.

Для корреспонденции: Андропова Валерия Львовна – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава РФ, 123098, Москва, Россия. E-mail: andronova.vl@yandex.ru

Участие авторов: Андропова В.Л. – концепция и дизайн исследования, написание текста, экспериментальная часть, статистический анализ; Галегов Г.А. – концепция и дизайн исследования, написание текста; Мусияк В.В. – экспериментальная часть; Воздвиженская О.А. – экспериментальная часть; Левит Г.Л. – статистический анализ, редактирование текста; Краснов В.П. – написание и редактирование текста.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 19-13-00231).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 4.10.2020
Принята в печать 12.11.2020

Antiviral effect of novel purine conjugate LAS-131 against Herpes simplex virus type 1 (*Herpesviridae: Alphaherpesvirinae: Simplexvirus: Human alphaherpesvirus 1*) *in vitro*

Andronova V.L.¹, Galegov G.A.¹, Musiyak V.V.², Vozdvizhenskaya O.A.², Levit G.L.², Krasnov V.P.^{2,3}

¹FSBI «National Research Center of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya» of the Ministry of Health of Russia, 123098, Moscow, Russia;

²FSBIS I.Ya. Postovsky Institute of Organic Synthesis of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 620108, Ekaterinburg, Russia;

³FSAEI HE «Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin», 620002 Ekaterinburg, Russia

Introduction. Herpes simplex viruses type 1 (HSV-1) are extremely widespread throughout the world and, similar to other herpesviruses, establish lifelong persistent infection in the host. Reactivating sporadically, HSV-1 elicits recurrences in both immunocompetent and immunocompromised individuals and can cause serious diseases (blindness, encephalitis, generalized infections). The currently available antiherpetic drugs that aimed mainly at suppressing replication of viral DNA are not always effective enough, for example, due to the development of drug resistance.

As we showed earlier the newly discovered compound LAS-131 exhibits the strong and highly selective inhibitory activity against HSV-1, including strain resistant to acyclovir (selective index, SI = 63). The presence of LAS-131 at a concentration of 20 µg/ml leads to a decrease in the titer of HSV-1 (strain L₂) by 4 lg in a one round of HSV-1 replication.

Material and methods. To establish the step(s) of the virus life cycle that is sensitive to the action of LAS-131, we have applied a widely used approach, that made it possible to determine how long the addition of a compound can be postponed before it loses its antiviral activity (time-of-addition assay), and to compare this indicator with the crucial time of application of inhibitors with a well-known mechanism of action (in cell culture).

Results. It has been shown for the first time that LAS-131 retains a pronounced antiviral effect when introduced into the experimental system no later than 9 hours post-infection (p.i.). However, LAS-131 does not affect the release of HSV-1 from the cell.

Discussion. Together with published data on the termination of the synthesis of viral DNA 9–12 h after the adsorption in a cell culture infected with HSV with a high multiplicity (≥1 PFU/cell), our results suggest that LAS-131 interferes the life cycle of HSV-1 during synthesis of viral DNA. Further studies of the mechanism of action are necessary to establish definitely the biological target for this compound.

Key words: *herpes simplex virus; in vitro antiviral activity; time-of-addition assay; mechanism of action*

For citation: Andronova V.L., Galegov G.A., Musiyak V.V., Vozdvizhenskaya O.A., Levit G.L., Krasnov V.P. Antiviral effect of novel purine conjugate LAS-131 against Herpes simplex virus type 1 (*Herpesviridae: Alphaherpesvirinae: Simplexvirus: Human alphaherpesvirus 1*) *in vitro*. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2020; 65(6): 373-380 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-6-8>

For correspondence: Valeriya L. Andronova, Ph.D., Leading Researcher of the Laboratory of Chemotherapy of Viral Infections, FSBI «National Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya» of the Ministry of Health of Russia, 123098, Moscow, Russia. E-mail: andronova.vl@yandex.ru

Information about authors:

Andronova V.L., <http://orcid.org/0000-0002-2467-0282>

Galegov G.A., <http://orcid.org/0000-0001-6162-1650>

Musiyak V.V., <http://orcid.org/0000-0001-7177-5709>

Vozdvizhenskaya O.A., <http://orcid.org/0000-0001-8349-6061>

Levit G.L., <http://orcid.org/0000-0002-0964-9311>

Krasnov V.P., <http://orcid.org/0000-0003-1411-6218>

Contribution: Andronova V.L. – concept and design of the study, writing of the text; experimental part, statistical analysis; Galegov G.A. – concept and design of the study, writing of the text; Musiyak V.V. – experimental part; Vozdvizhenskaya O.A. – experimental part; Levit G.L. – statistical analysis, supervising of the text; Krasnov V.P. – writing and supervising of the text.

Acknowledgments. The work was financially supported by the Russian Science Foundation (project No. 19-13-00231).

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

Received 4 October 2020
Accepted 12 November 2020

Введение

Вирус простого герпеса 1 типа (ВПГ-1) чрезвычайно широко распространён – по последним данным, представленным ВОЗ, во всём мире инфицировано около 67% населения в возрасте до 50 лет [1]. После первичного инфицирования ВПГ устанавли-

вает пожизненную латентную инфекцию с периодическими рецидивами, тяжесть клинического течения которых напрямую зависит от функционального состояния иммунной системы: у иммунокомпрометированных пациентов герпес может поражать практически все органы и ткани организма и даже при-

водить к летальному исходу. Доступные в настоящее время этиотропные противогерпетические препараты 1 и 2 рядов (ингибиторы вирусной ДНК-полимеразы) снижают тяжесть симптомов, уменьшают продолжительность и частоту рецидивов, однако не способны элиминировать вирус из организма и устранить скрытые ВПГ-инфекции. Помимо этого, они могут оказаться недостаточно эффективными в случае развития лекарственной резистентности у вируса [2, 3], поэтому поиск новых противовирусных агентов сохраняет актуальность для практического здравоохранения.

Как было установлено нами ранее, LAS-131 высокоселективно ингибирует репродукцию ВПГ-1/L₂, включая резистентные к ацикловиру (АЦВ) и фосфономуравьиной кислоте (ФМК) варианты вируса с установленным молекулярным механизмом формирования лекарственной резистентности [4]: ИД₅₀ 1,93 мкг/мл, ЦД₅₀ 122 мкг/мл, индекс селективности (SI) 63 [5, 6]. Полученные результаты позволяют предположить, что это соединение ингибирует репродукцию вируса способом, отличным от такового у АЦВ и ФМК.

Целью данной работы было установление стадии вирусной репродукции, чувствительной к действию LAS-131.

Материал и методы

Препараты. LAS-131 ((3S)-4-[6-(пурин-6-ил-амино)гексаноил]-3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2H-[1,4]-бензоксазин) синтезирован в ФГБУН «Институт органического синтеза им. И.Я. Пастера» Уральского отделения Российской академии наук (Екатеринбург, Россия). Ацикловир (9-[(2-гидроксизотокси)-метил]гуанин (АЦВ, регистрационный номер: 59277-89-3) и тринатриевой соли фосфономуравьиной кислоты гексагидрат (ФМК, регистрационный номер 34156-56-4) применяли в качестве референс-препаратов (Sigma Aldrich, США).

Клетки. Использовали 24-часовую культуру клеток почки зелёной мартышки (*Chlorocebus sabaues*) Vero E6. Ростовой средой для культур клеток служила питательная среда ИГЛА МЕМ (ФГБНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова» РАН (ФНЦИРИП), Москва, Россия), содержащая 5% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) («ПанЭко», Москва, Россия) и 100 ЕД/мл бензилпенициллина.

Вирусы. Вирус простого герпеса 1 типа, штамм L₂ (ВПГ-1/L₂) получен в лаборатории Государственной коллекции вирусов Института вирусологии им. Д.И. Ивановского (подразделение ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» МЗ РФ (ФНИЦЭМ, Москва, Россия)). Вирус поддерживали путём пассирования с использованием среды поддержки, состоящей из питательных сред ИГЛА oiusdfghqwe65МЕМ и 199 (ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова» РАН, Москва, Россия), соединённых в соотношении 1 : 1.

Определение инфекционного титра вируса. Материалом для исследования служили клеточные культуры со средой поддержки, подвергшиеся 3-кратному замораживанию–оттаиванию. Полученную суспензию центрифугировали при 5000 об/мин в течение 5 мин при 4 °С и определяли инфекционный титр вируса в полученном супернатанте методом бляшкообразования в соответствии с протоколом, описанным Sarisky R.T. и соавт. [7]. Использовали 24-луночные планшеты (Corning, США) со сформировавшимся клеточным монослоем. Клетки инфицировали серийными разведениями ВПГ-1 с кратностью 10. Инфекционный титр определяли после 48 ч инкубации.

Построение ростовой кривой. Для построения ростовой кривой в чашки Петри (Nunc, Дания) со сформировавшимся монослоем культуры клеток Vero E6 вносили ВПГ-1/L₂ в разведении, обеспечивающем множественность инфицирования (m.o.i.) 10 БОЕ/кл. Для синхронизации процесса пенетрации после 1-часовой адсорбции при 4 °С клетки отмывали от не связавшихся с ними вирусных частиц холодным физиологическим раствором и вносили нагретую до 37 °С среду поддержки. Инфицированные клетки инкубировали при 37 °С в атмосфере 5% CO₂. Через 0, 2, 5, 7, 9, 11, 13 и 23 ч после инфицирования (p.i.) клетки с культуральной средой подвергали 3-кратному замораживанию–оттаиванию и определяли инфекционный титр вируса.

Оценка влияния LAS-131 на связывание вируса с рецепторами на поверхности клетки. Монослойные культуры клеток Vero E6, выращенные в чашках Петри, предварительно инкубировали в течение 0, 1 и 2 ч при 4 °С с вирусной суспензией, содержащей (опыт) или не содержащей (контроль) тестируемое соединение. Величина m.o.i. составляла 10 БОЕ/кл, концентрация LAS-131 в вирусосодержащей жидкости – 20 мкг/мл. Затем клетки отмывали от неадсорбированного вируса холодным физиологическим раствором, вносили среду поддержки без препарата и инкубировали при 37 °С. Через 23 ч p.i. клетки вместе со средой поддержки подвергали 3-кратному замораживанию–оттаиванию и определяли титр вируса [8].

Оценка влияния LAS-131 на проникновение ВПГ-1 в клетку. Монослой клеток Vero E6, выращенные в 24-луночных пластиковых планшетах (Corning, США), предварительно охлаждали до 4 °С и инокулировали с m.o.i. 10 БОЕ/кл в течение 2 ч при той же температуре. Не связанные с клеточной поверхностью вирусные частицы удаляли путём промывания клеточных культур холодным физиологическим раствором и, чтобы обеспечить проникновение вируса в клетку, вносили предварительно нагретую до 37 °С среду, содержащую (опыт) или не содержащую (контроль) LAS-131 (20 мкг/мл). После инкубации клеток при 37 °С в течение 0, 30, 60 или 90 минут среду удаляли и подвергали клетки воздействию цитратного буфера (pH 3,0) в течение 1 мин при комнатной температуре для инактивации вируса, не проникшего в клетки-мишени. Затем клетки отмывали тёплым

раствором Хенкса и вносили среду поддержки без препарата [8].

Оценка влияния LAS-131 на выход вируса из клетки проводилась в соответствии с протоколом, описанным MacLean С.А. [8]. Монослои клеток, выращенные в чашках Петри, заражали с м.о.и. 10 БОЕ/кл и инкубировали при 37 °С. LAS-131 вводили в экспериментальную систему сразу после адсорбции в составе среды поддержки (20 мкг/мл). Инфицированная необработанная культура клеток служила контролем. Через 23 ч титр вируса определяли методом бляшкообразования раздельно в культуральной среде и в клетках.

Статистическая обработка полученных в ходе исследования данных проводилась в соответствии с методами, описанными Glantz S.A. [9], с использованием следующих характеристик: среднее арифметическое значение m и среднее квадратическое отклонение σ . Уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез во всех случаях составлял 0,05.

Результаты

С целью установления этапа жизненного цикла ВПГ, на который направлено антивирусное действие

LAS-131, было проведено комплексное исследование, включающее построение ростовой кривой вируса, изучение зависимости выраженности антивирусной активности вещества от времени введения его в экспериментальную систему (методом варьирования времени добавления препарата; time-of-addition assay, ТАА), его влияния на адсорбцию вирусных частиц на клеточной поверхности, эффективности проникновения вируса в клетку (пенетрацию) и выхода из клетки.

Динамика накопления инфекционного вируса в культуре клеток в течение 1 цикла репродукции показана на **рис. 1** (ростовая кривая). Как видно из приведённых данных, после 5-часового латентного периода начинается экспоненциальный рост титра вируса, продолжающийся до 9 ч р.и., после чего скорость накопления вируса в экспериментальной системе постепенно снижается. К 13 ч р.и. показатель титра достигает плато и существенно не изменяется в процессе дальнейшей инкубации на протяжении последующих 10 ч (до 23 ч р.и. включительно).

С целью определения этапа репродукции ВПГ-1, чувствительного к LAS-131, мы изучили изменение биологической активности соединения в зависи-

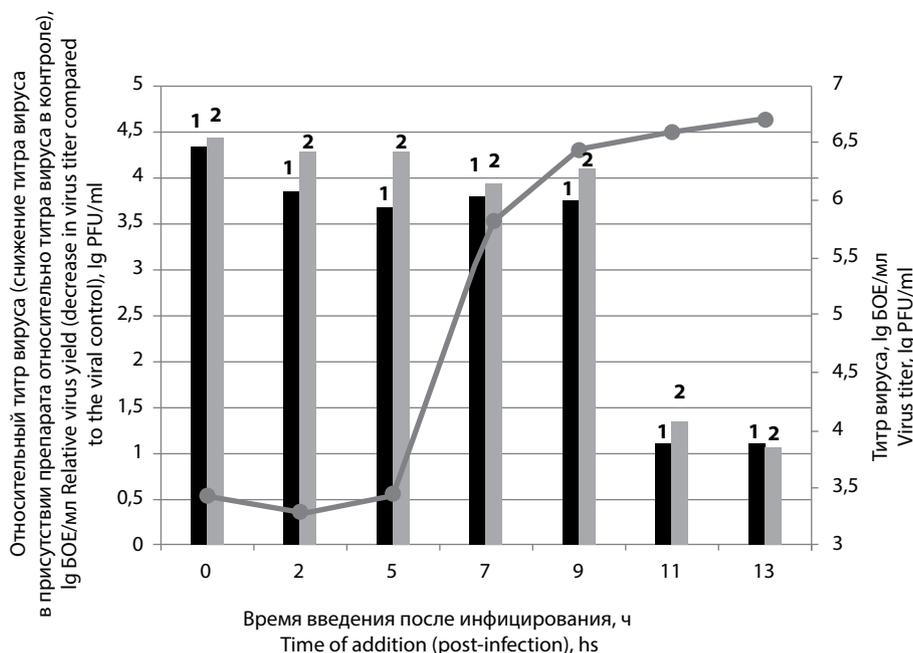


Рис. 1. Влияние времени введения LAS-131 и фосфономуравьиной кислоты (ФМК) на репродукцию вируса простого герпеса 1 типа (м.о.и. 10 БОЕ/кл).

Кривая демонстрирует динамику изменения титра вируса при инкубации инфицированных клеток без препарата. Гистограмма представляет среднее значение снижения титра вируса LAS-131 (1) или ФМК (2) по сравнению с контрольной (необработанной инфицированной) культурой клеток. LAS-131 (20 мкг/мл) или ФМК (100 мкг/мл) добавляли в указанные моменты времени. Инфицированная в тех же условиях, но без препарата культура клеток служила контролем. За временную точку «0» принималось время после завершения адсорбции. Продолжительность инкубации – 23 ч. Титр вируса в контроле составил $6,36 \pm 0,21$ lg БОЕ/мл. Приведены результаты 2 независимых опытов.

Fig. 1. Influence of the time of addition of LAS-131 and phosphonoformic acid (PFA) on the reproduction of herpes simplex virus type 1 (m.o.i. 10 PFU/cell).

The single-cycle growth curve represents the dynamics of the change in the titer of the virus during incubation of infected cells without the drug. The bar graph demonstrates the mean decrease in LAS-131 virus titer (1) or PFA (2) compared to the control (untreated infected) cell culture. LAS-131 (20 μ g/ml) or PFA (100 μ g/ml) were added at the indicated time points. The cell culture infected under the same conditions, but without the preparation, served as a control. The time point «0» was taken as the time after the completion of adsorption. The incubation time was 23 hours. The virus titer in the control was 6.36 ± 0.21 lg PFU/ml. The results of 2 independent experiments are presented.

мости от времени его введения в экспериментальную систему в условиях одноциклового опыта при *m.o.i.* 10 БОЕ/кл, для чего исследуемое вещество в нецитотоксической концентрации 20 мкг/мл (10 ИД₅₀) добавляли во временные точки, соответствующие различным этапам вирусного цикла (ТАА). Инфицированная необработанная клеточная культура служила контролем. В качестве препаратов сравнения использовали ФМК в концентрации 100 мкг/мл (6,4 ИД₅₀) и АЦВ в концентрации 100 мкг/мл (250 ИД₅₀). Все препараты добавляли в точно определённые моменты времени. Титр вируса в контроле через 23 ч *p.i.* составил $6,36 \pm 0,21$ lg БОЕ/мл.

Как следует из гистограммы, представленной на **рис. 1**, ингибирующая активность как LAS-131, так и ФМК сохранялась при введении через 0, 3, 5, 7 и 9 ч *p.i.*, а при добавлении их после 9 ч *p.i.* значительно снижалась.

При введении второго референс-препарата – АЦВ (100 мкг/мл или 250 ИД₅₀) через 0, 3, 5, 7 или 9 ч *p.i.* в тех же экспериментальных условиях (*m.o.i.* 10 БОЕ/кл) репродукция вируса супрессировалась до титров ниже чувствительности метода, т.е. снижение титра вируса по сравнению с контрольной инфицированной культурой составило не менее 6 lg (**рис. 2**). Однако ингибирующий эффект АЦВ был значительно снижен при его добавлении через 11 ч *p.i.*: разница титров вируса в опыте и контроле составила лишь 1,6 lg БОЕ/мл. Подобным образом противовирусная активность LAS-131 также существенно снижалась при его внесении в культуральную среду спустя 11 ч *p.i.*

На следующем этапе изучалось влияние LAS-131 на связывание вируса с рецепторами на поверхно-

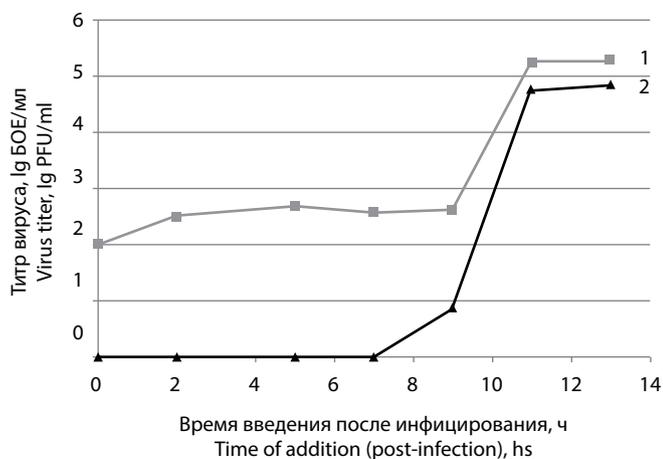


Рис. 2. Влияние времени введения LAS-131 и ацикловира (АЦВ) на репродукцию вируса простого герпеса 1 типа (*m.o.i.* 10 БОЕ/кл).

1 – LAS-131 (100 мкг/мл)
2 – АЦВ (20 мкг/мл)

Fig. 2. Influence of the time of addition of LAS-131 and acyclovir (ACV) on the reproduction of herpes simplex virus type 1 (*m.o.i.* 10 PFU/cell).

1 – LAS-131 (100 µg/ml)
2 – ACV (20 µg/ml)

сти клетки и на проникновение ВПГ-1 в клетку, как подробно описано в разделе «*Материал и методы*». Результаты (см. **таблицу**) указывают на то, что LAS-131 не влияет на эффективность адсорбции ВПГ-1: инфекционные титры в контрольной и опытной культурах существенно не отличались, даже если продолжительность адсорбции составляла 2 ч – 6,23 и 6,20 lg БОЕ/мл соответственно. Кроме того, согласно данным таблицы, эффективность проникновения вируса в клетки в присутствии LAS-131 не снижалась по сравнению с контрольной инфицированной клеточной культурой.

Оценка влияния LAS-131 на выход вирусных частиц из клетки описана в разделе «*Материал и методы*» [9]. Как показывают представленные на **рис. 3** результаты, по сравнению с контрольной культурой инфекционный титр внеклеточного вируса был снижен на 2,93 lg БОЕ/мл в присутствии LAS-131, так же как и внутриклеточного (3,01 lg). Число внеклеточных инфекционных вирусных частиц в контрольной культуре было в 7,76 раз меньше, чем внутри клетки. В присутствии LAS-131 это соотношение было равно 6,46. Отсюда можно сделать вывод, что LAS-131 существенно не влияет на эффективность последнего этапа жизненного цикла вируса – выход из клетки.

Обсуждение

Обобщая вышеизложенное, можно заключить, что в условиях одноциклового инфицирования LAS-131 сохраняет способность эффективно ингибировать репродукцию ВПГ-1 при внесении в экспериментальную

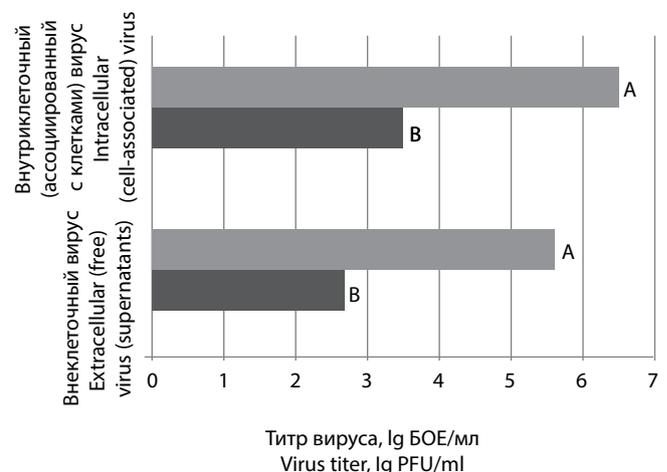


Рис. 3. Влияние LAS-131 на выход вируса простого герпеса 1 типа из клетки в условиях одноциклового инфицирования (*m.o.i.* 10 БОЕ/кл).

Соединение вводили сразу после адсорбции. Учитывали результаты 2 независимых опытов.

A – титр вируса в контроле; B – титр вируса в присутствии LAS-131.

Fig. 3. Effect of LAS-131 on the infectivity of intracellular and extracellular herpes simplex virus type 1 progeny under conditions of single-cycle infection (*m.o.i.* 10 PFU/cell).

The compound was introduced immediately after adsorption. The results of 2 independent experiments were considered.

A – virus titer in control; B – virus titer in the presence of LAS-131.

систему не позднее 9 ч p.i. и не влияет на выход вируса из клетки. В соответствии с данными литературы [10, 11] синтез ДНК ВПГ-1 начинается через 2 ч p.i., достигает максимальной скорости к 4 ч и сохраняется до 8 ч p.i., после чего продукция её снижается на 30%. Спустя 12 ч p.i. репликация ДНК практически прекращается. Таким образом, наиболее вероятно, что LAS-131 ингибирует репродукцию ВПГ главным образом путём супрессии репликации вирусной ДНК. Действительно, профиль ТАА ФМК, хорошо известного ингибитора вирусной ДНК-полимеразы, соответствует таковому для LAS-131 (см. **рис. 1**). Как известно, ФМК имитирует структуру пирофосфата (PP_i), высвобождение которого из дезокси-нуклеотидов (dNTP) в процессе элонгации репликации запускает последнюю стадию репликационного процесса – транслокацию (перемещение ДНК-полимеразы на 1 нуклеотид вперёд по матрице ДНК), после чего может произойти присоединение очередного нуклеотида. Взаимодействуя с PP_i-связывающим центром фермента, ФМК образует неактивный комплекс и ингибирует активность ДНК-полимеразы вируса [12].

Результаты, полученные нами при изучении влияния времени введения LAS-131 на его противовирусную активность (**рис. 2**), согласуются с данными литературы: описана подобная зависимость уровня инактивации ВПГ-1 и ВПГ-2 от времени добавления в экспериментальную систему АЦВ в условиях одноциклового инфицирования [13, 14]. В частности, АЦВ в концентрации 50 мкг/мл при добавлении через 0, 2, 4 и 8 ч p.i. эффективно (на 90%) ингибирует репродукцию ВПГ, но при его введении через 12 ч p.i. противовирусная активность препарата резко снижается.

В наших экспериментах был использован АЦВ в более высокой концентрации – 100 мкг/мл (**рис. 2**), что также привело к глубокой супрессии репродукции вируса при введении препарата спустя 9 ч p.i., но при добавлении вещества через 11 ч p.i. его противовирусная активность значительно снизилась. Известно, что механизм действия АЦВ на герпесвирусную инфекцию отличается от такового ФМК. Оба соединения ингибируют активность ДНК-полимера-

зы ВПГ. Однако, в отличие от ФМК, после внутриклеточного кинирования до активной трифосфатной формы (1-й этап кинирования до монофосфата катализируется вирусной тимидинкиназой, 2-й и 3-й – клеточными ферментами) АЦВ как структурный аналог дезоксигуанозина трифосфата (dGTP) встраивается в синтезирующуюся цепь ДНК вируса, в результате чего синтез терминируется, а также связывается с нуклеотид-связывающим центром ДНК-полимеразы и ингибирует активность фермента [2, 15].

Таким образом, 2 соединения с различными механизмами противогерпетического действия, но использующие одну и ту же биомшень (ДНК-полимеразу ВПГ) и супрессирующие синтез ДНК ВПГ-1, имеют профиль ТАА, близкий к полученному для LAS-131. Учитывая, что окончание чувствительного к действию LAS-131 периода совпадает со временем снижения эффективности синтеза вирусной ДНК, представляется наиболее вероятным, что данное соединение, подобно АЦВ и ФМК, ингибирует репликацию вирусного генома.

ДНК-полимераза ВПГ сформирована 2 вирусными белками, pU_L30 и pU_L42, каждый из которых может быть мишенью для действия противогерпетических агентов. Однако в репликации ДНК ВПГ участвуют ещё 5 кодируемых вирусом белков: pU_L9 – инициаторный белок (связывается с точками начала репликации, ori); pU_L29 (SSB/ICP8) – белок, связывающийся с одноцепочечной ДНК (стимулирует активность хеликазо-праймазного комплекса и полимеразную активность, негативно регулирует транскрипцию β-белков после репликации вирусной ДНК), а также гетеротримерный хеликазо-праймазный комплекс (pU_L5/pU_L8/pU_L52) [16]. Каждый из них потенциально способен выступать в качестве биомшени для LAS-131.

Кроме того, нельзя исключить возможность супрессии рассматриваемым агентом процесса репродукции ВПГ-1 в результате ингибирования активности ферментов, участвующих в метаболизме нуклеотидов, например рибонуклеотидредуктазы (pU_L39/pU_L40) [17], или на этапах сборки капсида и упаковки в него вирусной ДНК, происходящих параллельно с репликацией. Так, для нарезания и упаковки ДНК в капсид

Влияние LAS-131 на ранние стадии репродукции ВПГ-1 в условиях одноциклового инфицирования

Influence of LAS-131 on early stages of HSV-1 reproduction under conditions of single-cycle infection

Условия эксперимента Experimental conditions	Влияние LAS-131 на адсорбцию вируса Effect of LAS-131 on virus adsorption			Влияние LAS-131 на пенетрацию вируса Effect of LAS-131 on virus penetration			
	0	1	2	0	0,5	1	1,5
Продолжительность контакта вируса с препаратом, ч The duration of contact of the virus with the drug, hr	0	1	2	0	0,5	1	1,5
Инфекционный титр вируса, Ig БОЕ/мл Virus infectious titer, Ig PFU/ml							
Контроль вируса Virus control	4,55±0,15	6,24±0,06	6,23±0,13	6,27±0,03	6,09±0,21	6,21±0,33	6,27±0,03
LAS-131, 20 мкг/мл	4,79±0,09	6,12±0,12	6,20±0,10	6,27±0,09	6,27±0,03	6,38±0,14	6,24±0,14
LAS-131, 20 µg/ml	4,79±0,09	6,12±0,12	6,20±0,10	6,27±0,09	6,27±0,03	6,38±0,14	6,24±0,14

Примечание. Приведены результаты 2 независимых экспериментов.

Note. Results of 2 independent experiments are shown.

необходимы pU_L6 (портальный белок), pU_L15, pU_L17, pU_L25, pU_L28, pU_L32 и pU_L33 [18]. pU_L14 вовлечен в транспорт pU_L17, pU_L26, pU_L35, pU_L33 в ядро клетки. Наконец, ещё 8 кодируемых вирусом белков, формирующих капсид (основной белок капсида pU_L19 (MCP/ICP5/VP5), малый капсидный белок pU_L35 (VP26), портальный белок pU_L6, а также pU_L38 (VP19C), pU_L18 (VP23), pU_L17, pU_L25 и pU_L36) [19] также могут быть вовлечены в механизм противовирусного действия LAS-131.

Представленные результаты позволяют сделать следующие выводы:

1. LAS-131 не оказывает значительного влияния на проникновение ВПГ-1 в клетку (адсорбция и пенетрация) и выход вируса из клетки.

2. В условиях одноциклового опыта зафиксирован временной период (до 9 ч p.i. включительно), в течение которого репродукция ВПГ-1 сохраняет чувствительность к LAS-131, из чего можно предположить его воздействие на процесс репликации. В пользу этого свидетельствуют данные, полученные для АЦВ и ФМК.

ЛИТЕРАТУРА

- ВОЗ. Вирус простого герпеса. Available at: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus>. (дата доступа 1 мая 2020 г.).
- De Clercq E., Li G. Approved Antiviral Drugs over the Past 50 Years. *Clin. Microbiol. Rev.* 2016; 29(3): 695–747. <https://doi.org/10.1128/CMR.00102-15>.
- Андропова В.Л. Современная этиотропная химиотерапия герпесвирусных инфекций: достижения, новые тенденции и перспективы. Альфагерпесвирусы (часть I). *Вопросы вирусологии*. 2018; 63(3): 106–14. <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-3-106-114>.
- Коровина А.Н., Гуськова А.А., Скоблов М.Ю., Андропова В.Л., Галегов Г.А., Кочетков С.Н. и др. Анализ мутаций в генах ДНК-полимераз и тимидинкиназ клинических изолятов вируса простого герпеса, резистентных к антигерпетическим препаратам. *Молекулярная биология*. 2010; 44(3): 488–96. <https://doi.org/10.1134/s0026893310030192>.
- Мусияк В.В., Галегов Г.А., Андропова В.Л., Краснов В.П., Левит Г.Л., Груздев Д.А. и др. (3S)-4-[6-(пурин-6-иламино)гексаноил]-3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2H-[1,4]-бензоксазин и (3R)-4-[6-(пурин-6-иламино)гексаноил]-3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазин, обладающие противовирусной активностью. Патент РФ №2644351; 2018.
- Krasnov V.P., Musiyak V.V., Vozdvizhenskaya O.A., Galegov G.A., Andronova V.L., Gruzdev D.A. et al. N-[ω-(Purin-6-yl)aminoalkanoil] derivatives of chiral heterocyclic amines as promising anti-herpesvirus agents. *Eur. J. Org. Chem.* 2019; 2019: 4811–21. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201900727>.
- Sarisky R.T., Nguyen T.T., Duffy K.E., Wittrock R.J., Leary J.J. Difference in incidence of spontaneous mutations between herpes simplex virus types 1 and 2. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2000; 44(6): 1524–9. <https://doi.org/10.1128/aac.44.6.1524-1529.2000>.
- MacLean C.A. HSV entry and spread. In: Brown S.M., MacLean A.R., eds. *Herpes Simplex Virus Protocols*. Totowa, New Jersey: Humana Press; 1998: 9–18.
- Гланц С. *Медико-биологическая статистика*. Пер. с англ. М.: Практика; 1999.
- Aranda-Anzaldo A. Evidence for an altered kinetics of DNA excision-repair in cells infected by herpes simplex virus type 1. *Acta Virol.* 1992; 36(5): 417–27. PMID: 1364017.
- Dremela S.E., DeLuca N.A. Genome replication affects transcription factor binding mediating the cascade of herpes simplex virus transcription. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2019; 116(9): 3734–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.1818463116>.
- Crumpacker C.S. Mechanism of action of Foscarnet against viral polymerases. *Am. J. Med.* 1992; 92(2A): 3S–7S. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(92\)90329-a](https://doi.org/10.1016/0002-9343(92)90329-a).
- Callegaro S., Perrone R., Scalabrin M., Doria F., Palù G., Richter S.N. A core extended naphthalene diimide G-quadruplex ligand potentially inhibits herpes simplex virus 1 replication. *Sci. Rep.* 2017; 7(1): 2341. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02667-3>.
- Song S., Qiu M., Chu Y., Chen D., Wang X., Su A., et al. Down-regulation of cellular c-Jun N-terminal protein kinase and NF-κB activation by berberine may result in inhibition of herpes simplex virus replication. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014; 58(9): 5068–78. <https://doi.org/10.1128/AAC.02427-14>.
- Elion G.B. Mechanism of action and selectivity of acyclovir. *Am. J. Med.* 1982; 73(1A): 7–13. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(82\)90055-9](https://doi.org/10.1016/0002-9343(82)90055-9).
- Stengel G., Kuchta R.D. Coordinated leading and lagging strand DNA synthesis by using the Herpes Simplex Virus 1 replication complex and minicircle DNA templates. *J. Virol.* 2011; 85(2): 957–67. <https://doi.org/10.1128/JVI.01688-10>.
- Loret S., Guay G., Lippe R. Comprehensive characterization of extracellular herpes simplex virus type 1 virions. *J. Virol.* 2008; 82(17): 8605–18. <https://doi.org/10.1128/JVI.00904-08>.
- Weller S.K., Coen D.M. Herpes simplex viruses: mechanisms of DNA replication. *Cold Spring Harbor Perspect. Biol.* 2012; 4(9): a013011. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a013011>.
- Heming J.D., Conway J.F., Homa F.L. Herpesvirus capsid assembly and DNA packaging. *Adv. Anat. Embryol. Cell Biol.* 2017; 223: 119–42. https://doi.org/10.1007/978-3-319-53168-7_6.

REFERENCES

- WHO. Herpes simplex virus. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus>. (accessed May 1, 2020).
- De Clercq E., Li G. Approved Antiviral Drugs over the Past 50 Years. *Clin. Microbiol. Rev.* 2016; 29(3): 695–747. <https://doi.org/10.1128/CMR.00102-15>.
- Andronova V.L. Modern ethiotropic chemotherapy of herpesvirus infections: advances, new trends and perspectives. *Alpha-herpesvirinae (part I). Voprosy virusologii*. 2018; 63(3): 106–14. <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-3-106-114> (in Russian).
- Korovina A.H., Gus'kova A.A., Skoblov M.Yu., Andronova V.L., Galegov G.A., Kochetkov S.N., et al. Mutations in the DNA polymerase and thymidine kinase genes of herpes simplex virus clinical isolates resistant to antiherpetic drugs. *Moekulyarnaya biologiya*. 2010; 44(3): 488–96. <https://doi.org/10.1134/s0026893310030192> (in Russian).
- Musiyak V.V., Galegov G.A., Andronova V.L., Krasnov V.P., Levit G.L., Gruzdev D.A., et al. (3S)-4-[6-(Purine-6-ylamino)hexanoil]-3,4-dihydro-3-methyl-7,8-difluor-2H-[1,4]benzoxazine and (3R)-4-[6-(purine-6-ylamino)hexanoil]-3,4-dihydro-3-methyl-7,8-difluor-2H-[1,4]benzoxazine with antiviral activity. Patent RF No. 2644351; 2018 (in Russian).
- Krasnov V.P., Musiyak V.V., Vozdvizhenskaya O.A., Galegov G.A., Andronova V.L., Gruzdev D.A., et al. N-[ω-(Purin-6-yl)aminoalkanoil] derivatives of chiral heterocyclic amines as promising anti-herpesvirus agents. *Eur. J. Org. Chem.* 2019; 2019: 4811–21. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201900727>.
- Sarisky R.T., Nguyen T.T., Duffy K.E., Wittrock R.J., Leary J.J. Difference in incidence of spontaneous mutations between herpes simplex virus types 1 and 2. *Antimicrob. Agents Chemother.*

- 2000; 44(6): 1524–9. <https://doi.org/10.1128/aac.44.6.1524-1529.2000>.
8. MacLean C.A. HSV entry and spread. In: Brown S.M., MacLean A.R., eds. *Herpes Simplex Virus Protocols*. Totowa, New Jersey: Humana Press; 1998: 9–18.
 9. Glantz S.A. *Primer of Biostatistics*. New-York: McGraw-Hill; 1994.
 10. Aranda-Anzaldo A. Evidence for an altered kinetics of DNA excision-repair in cells infected by herpes simplex virus type 1. *Acta Virol*. 1992; 36(5): 417–27. PMID: 1364017.
 11. Dremela S.E., DeLuca N.A. Genome replication affects transcription factor binding mediating the cascade of herpes simplex virus transcription. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2019; 116(9): 3734–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.1818463116>.
 12. Crumpacker C.S. Mechanism of action of Foscarnet against viral polymerases. *Am. J. Med.* 1992; 92(2A): 3S-7S. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(92\)90329-a](https://doi.org/10.1016/0002-9343(92)90329-a).
 13. Callegaro S., Perrone R., Scalabrin M., Doria F., Palù G., Richter S.N. A core extended naphthalene diimide G-quadruplex ligand potently inhibits herpes simplex virus 1 replication. *Sci. Rep.* 2017; 7(1): 2341. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02667-3>.
 14. Song S., Qiu M., Chu Y., Chen D., Wang X., Su A., et al. Down-regulation of cellular c-Jun N-terminal protein kinase and NF- κ B activation by berberine may result in inhibition of herpes simplex virus replication. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014; 58(9): 5068–78. <https://doi.org/10.1128/AAC.02427-14>.
 15. Elion G.B. Mechanism of action and selectivity of acyclovir. *Am. J. Med.* 1982; 73(1A): 7–13. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(82\)90055-9](https://doi.org/10.1016/0002-9343(82)90055-9).
 16. Stengel G., Kuchta R.D. Coordinated leading and lagging strand DNA synthesis by using the Herpes Simplex Virus 1 replication complex and minicircle DNA templates. *J. Virol.* 2011; 85(2): 957–67. <https://doi.org/10.1128/JVI.01688-10>.
 17. Loret S., Guay G., Lippe R. Comprehensive characterization of extracellular herpes simplex virus type 1 virions. *J. Virol.* 2008; 82(17): 8605–18. <https://doi.org/10.1128/JVI.00904-08>.
 18. Weller S.K., Coen D.M. Herpes simplex viruses: mechanisms of DNA replication. *Cold Spring Harbor Perspect. Biol.* 2012; 4(9): a013011. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a013011>.
 19. Heming J.D., Conway J.F., Homa F.L. Herpesvirus capsid assembly and DNA packaging. *Adv. Anat. Embryol. Cell Biol.* 2017; 223: 119–42. https://doi.org/10.1007/978-3-319-53168-7_6.

ИНФОРМАЦИЯ

РЕЗОЛЮЦИЯ

Всероссийской научно-практической интернет-конференции с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность — 2020» (Москва, 6–8 октября 2020 г.)



В соответствии с Планом основных организационных мероприятий Роспотребнадзора на 2020 г. в Москве 6–8 октября 2020 г. состоялась Всероссийская научно-практическая интернет-конференция с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность — 2020». Мероприятие организовано ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора при поддержке Российской академии наук, Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов, Национального научного общества инфекционистов.

В конференции приняли участие ведущие мировые ученые, сотрудники различных отраслей сферы здравоохранения. Участниками конференции стали более 6200 специалистов из 85 регионов России и 44 стран ближнего и дальнего зарубежья.

Конференция открылась пленарным заседанием, на котором в докладах ведущих специалистов освещены вопросы о роли молекулярной диагностики в обеспечении биологической безопасности в современном мире. В своем выступлении заместитель руководителя Роспотребнадзора Е.Б. Ежлова подчеркнула, что ситуация с распространением новой коронавирусной инфекции развивается, но, несмотря на рост числа заболевших, Россия занимает 47-е место в мире по уровню заболеваемости COVID-19 на 100 тыс. населения и 105-е место по уровню летальности. Е.Б. Ежлова отметила, что российская эпидемиологическая школа признана лучшей в мире и сейчас есть новый импульс для дальнейшего развития научного потенциала.

По словам директора ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора академика РАН В.Г. Акимкина, в 2019 г. ВОЗ сформулировала десять угроз глобальному здравоохранению, шесть из которых напрямую связаны с инфекционными заболеваниями: глобальная пандемия гриппа, устойчивость к противомикробным препаратам, вирус Эбола и другие микроорганизмы высокой патогенности, отказ от вакцинации, лихорадка Денге, ВИЧ-инфекция. В.Г. Акимкин уверен, что 2020 год уже внес свои коррективы в этот список и в следующем году в него войдет пандемия COVID-19.

По словам советника директора по научной работе ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора академика РАН В.В. Малеева, биологические угрозы последнего десятилетия связаны не только с новыми возбудителями, но и с мутациями хорошо известных «старых» инфекций. В разных точках планеты (в том числе в со-

предельных с Россией странах) отмечаются вспышки кори, чумы, сибирской язвы, лихорадки Зика, желтой лихорадки и др. В 2019 г. заявил о себе нетипичный тип менингита, был обнаружен новый штамм ВИЧ. Все это является предпосылками для потенциального завоза инфекций в Российскую Федерацию.

В программу конференции вошли 15 секций с докладами, раскрывающими значение применения молекулярных методов диагностики в эпидемиологических и клинических исследованиях, выступили видные отечественные и зарубежные ученые и специалисты, исследования которых посвящены молекулярным подходам в широком перечне социально значимых направлений медицинских и биологических исследований.

На конференции рассмотрены проблемы биобезопасности и эпидемиологического благополучия населения, а также достижения и перспективы применения молекулярно-биологических технологий в различных областях медицины, освещены вопросы молекулярной диагностики инфекционных болезней вирусной и бактериальной этиологии.

Для эффективного решения актуальных научных и практических задач по совершенствованию оперативного реагирования на инфекционные угрозы, которые несет вирус SARS-CoV-2, в программу конференции был включен день, полностью посвященный новой коронавирусной инфекции. В своем докладе «Эпидемиология COVID-19» директор ЦНИИ Эпидемиологии В.Г. Акимкин отметил, что Россия провела значительную работу по массовому тестированию населения и, по данным на 01.10.2020 г., в нашей стране выполнено уже более 46 млн тестов. Темой секционного заседания «Что мы знаем о COVID-19» стали вопросы, связанные с актуальной информацией о патогенезе, диагностике и профилактике новой коронавирусной инфекции. На секционном заседании специалисты ведущих учреждений Москвы и Петербурга поделились своим опытом в разработке наборов реагентов для обнаружения РНК SARS-CoV-2, опытом организации массового лабораторного обследования населения при использовании ПЦР-диагностики COVID-19, первыми результатами секвенирования вируса SARS-CoV-2 в России.

В завершение конференции проведен круглый стол профессиональных научных сообществ: Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов, Национального

научного общества инфекционистов, Федерации лабораторной медицины, на котором выступили академик РАН В.В. Малеев, академик РАН В.Г. Акимкин, профессор М.А. Годков.

Участники конференции констатировали:

Задача обеспечения биобезопасности — ключевая для любой страны. Для ее решения необходимы развитие и совершенствование современных методов молекулярной диагностики и технологий лечения, постоянный мониторинг объектов среды обитания человека, а также активное межведомственное и междисциплинарное взаимодействие для эффективного реагирования на возникновение новых эпидемиологических и биологических угроз.

Изменения климата и связанные с этими процессами биологические и социальные угрозы становятся глобальной проблемой всего человечества, что требует постоянного мониторинга эпидемиологической ситуации в мире и повышения мер противоэпидемиологической готовности.

Проведение молекулярно-биологических исследований для обнаружения возбудителей инфекционных заболеваний имеет огромное значение для эпидемиологии. Так, мониторинг распространения коронавирусной инфекции позволил установить время появления возбудителя в популяции — конец ноября 2019 г., а также пути миграции возбудителя и так называемые его точки входа в страну.

Благодаря уникальным возможностям молекулярной биологии и геномных технологий в последние годы начата разработка новых методик, позволяющих создать оригинальные тесты для диагностики и скрининга социально значимых неинфекционных заболеваний, составляющих существенную часть причин смертности населения всех стран.

Одной из наиболее серьезных угроз для человечества в XXI в. является антибиотикорезистентность микроорганизмов и множественная лекарственная устойчивость. Необходимо усилить исследования, направленные на изучение молекулярных механизмов этого процесса. Принципиально новым подходом к лечению ВИЧ-инфекции может стать генная терапия, необходима разработка платформы по производству компонентов системы направленного редактирования генома CRISPR, которые можно использовать как универсальный инструмент для терапии ВИЧ, наследственных и приобретенных заболеваний, среди которых рак, аутоиммунные и орфанные заболевания.

Необходима активная работа по изучению возможностей молекулярной диагностики в профилактике мультифакторных заболеваний.

Несмотря на объединенные усилия всего мирового медицинского и научного сообщества, эпидемиологическая ситуация в мире достаточно напряженная, пандемия COVID-19 продолжается, во всех странах наблюдается стабильный рост заболеваемости.

*Директор ФБУН ЦНИИ эпидемиологии
Роспотребнадзора,
академик РАН В.Г. Акимкин*

Указатель статей, опубликованных в журнале «Вопросы вирусологии» в 2020 г.

РЕДАКЦИОННАЯ КОНЦЕПЦИЯ

Львов Д.К., Гулюкин М.И., Забережный А.Д., Гулюкин А.М. Формирование популяционного генофонда потенциально угрожающих биобезопасности зоонозных вирусов 5, 243-258

ОБЗОРЫ

Зуев В.А., Кальнов С.Л., Куликова Н.Ю., Гребенникова Т.В. Современное состояние проблемы прионных болезней и причины их опасности для человека и животных 2, 71-76

Кальнов С.Л., Верховский О.А., Цибезов В.В., Алексеев К.П., Чудакова Д.А., Филатов И.Е., Гребенникова Т.В. Прижизненная диагностика прионных болезней 6, 326-334

Куц А.А., Кистенёва Л.Б., Климова Р.Р., Чешик С.Г. Роль герпесвирусов в заболеваниях урогенитального тракта и бесплодии у женщин 6, 317-325

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 5, 259-266

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*) 2, 62-70

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 1, 6-15

Пашков Е.А., Файзулов Е.Б., Свитич О.А., Сергеев О.В., Зверев В.В. Перспектива создания специфических противогриппозных препаратов на основе синтетических малых интерферирующих РНК 4, 182-190

Сергеев О.В., Бошняк Р.Е., Баринский И.Ф. Высокопродуктивное секвенирование в диагностике и профилактике инфекции простого герпеса (*Herpesviridae, Alphaherpesvirinae, Simplexvirus, Human alphaherpesvirus 1*) 3, 126-131. **ОТОЗВАНА**

Соколова Т.М. Вирус гепатита С (*Flaviviridae: Hepacivirus: Hepacivirus C*): регуляция сигнальных реакций врождённого иммунитета 6, 307-316

Якушина С.А., Кистенёва Л.Б. Вирус Эпштейна-Барр (*Herpesviridae: Gammaherpesvirinae: Lymphocryptovirus: Human gammaherpesvirus 4*): репликативные стратегии 4, 191-202

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Акимкин В.Г., Кузин С.Н., Семененко Т.А., Шипулина О.Ю., Яцышина С.Б., Тиванова Е.В., Каленская А.В., Соловьёва И.В., Вершинина М.А., Квасова О.А., Плоскирева А.А., Мамошина М.В., Елькина М.А., Клушклина В.В., Андреева Е.Е., Иваненко А.В. Закономерности эпидемического распространения SARS-CoV-2 в условиях мегаполиса 4, 203-211

Андронов В.Л., Галегов Г.А., Мусияк В.В., Воздвиженская О.А., Левит Г.Л., Краснов В.П. Антивирусный эффект нового конъюгата пурина LAS-131 в отношении вируса простого герпеса 1 типа (*Herpesviridae: Alphaherpesvirinae: Simplexvirus: Human alphaherpesvirus 1*) *in vitro* 6, 373-380

Алаторцева Г.И., Бакирова З.У., Нурматов З.Ш., Нурматов А.З., Ташов К.Э., Лухверчик Л.Н., Нестеренко Л.Н., Малинникова Е.Ю., Касымов О.Т., Михайлов М.И., Зверев В.В. Серопревалентность вируса гепатита E (*Hepeviridae: Orthohepevirus: Orthohepevirus A*) среди беременных женщин в эндемичном регионе Кыргызстана 4, 218-227

Алаторцева Г.И., Доценко В.В., Нестеренко Л.Н., Лухверчик Л.Н., Кабаргина В.Ю., Амиантова И.И., Жукина М.В., Жаворонок С.В., Нурматов З.Ш., Нурматов А.З., Зверев В.В. Тест-система для выявления IgG-антител к вирусу гепатита E (*Hepeviridae, Orthohepevirus, Orthohepevirus A*) методом линейного иммуноанализа 3, 132-142

Бауэр Т.В., Трегубчак Т.В., Максюттов А.З., Колосова И.В., Максюттов Р.А., Гаврилова Е.В. Разработка препарата онколитической иммунотерапии на основе вируса осповакцины (*Vaccinia virus, Orthopoxvirus, Chordoroxvirinae, Poxviridae*) против рака молочной железы 1, 49-56

Гараев Т.М., Одноров А.И., Кириллова Е.С., Бурцева Е.И., Финогенова М.П., Мукашева Е.А., Гребенникова Т.В. Производные адамантана, способные ингибировать репродукцию резистентного к римантадину штамма вируса гриппа A(H1N1)pdm09 (*Influenza A virus, Alphainfluenzavirus, Orthomyxoviridae*) 1, 16-20

Ездакова И.Ю., Капустина О.В., Гулюкин М.И., Степанова Т.В. Характеристика В1-клеток в процессе экспериментального лейкомогенеза 1, 35-40

Зайкова О.Н., Гребенникова Т.В., Лосич М.А., Елаков А.Л., Гулюкин А.М., Метлин А.Е. Сравнительная молекулярно-генетическая характеристика изолятов вируса бешенства (*Rabies lyssavirus, Lyssavirus, Rhabdoviridae*), циркулировавших на территории Российской Федерации в период с 1985 по 2016 год 1, 41-48

Иванов А.П., Клеблеева Т.Д., Иванова О.Е. Опыт применения IgY-технологии для лабораторной диагностики вирусных инфекций 1, 21-26

Иванов А.П., Клеблеева Т.Д., Рогова Ю.В., Иванова О.Е. Разработка инактивированной культуральной вакцины против жёлтой лихорадки 4, 212-217

Костинов М.П., Журавлев П.И., Пахомов Д.В., Шмитько А.Д., Полищук В.Б., Филатов Н.Н., Глаждкова Л.С., Рыжов А.А. Напряжённость иммунитета против кори у сотрудниц родильного блока в городе Москве 5, 294-300

Лаурентьева И.Н., Шамсутдинова О.А., Чугуева И.И., Карал-оглы Д.Д., Вышемирский О.И. Изучение тератогенности вакцинного штамма вируса краснухи «Орлов-В» (*Matonaviridae: Rubivirus: Rubella virus*) в опыте на обезьянах макак-резус 6, 357-363

Львов Д.К., Бурцева Е.И., Колобухина Л.В., Федякина И.Т., Бовин Н.В., Игнатьева А.В., Краснослободцев К.Г., Феодоритова Е.Л., Трушакова С.В., Бреслав Н.В., Меркулова Л.Н., Мукашева Е.А., Хлопова И.Н., Воронина О.Л., Аксёнова Е.И., Кунда М.С., Рыжова Н.Н., Вартамян Н.В., Кистенёва Л.Б., Кириллов И.М., Прошина Е.С., Росаткевич А.Г., Кружкова И.С., Заплатников А.Л., Базарова М.В., Сметанина С.В., Харламов М.В., Карпов Н.Л., Шихин А.В. Особенности циркуляции вирусов гриппа и ОРВИ в эпидемическом сезоне 2019–2020 гг. в отдельных регионах России 6, 335-349

Марченко В.А., Барашкова С.В., Зелинская И.А., Торопова Я.Г., Сорокин Е.В., Жилинская И.Н. Моделирование

- гриппозной инфекции у половозрелых крыс стока Wistar 3, 159-166
- Мима К.А., Каторкина Е.И., Каторкин С.А., Цыбанов С.Ж., Малоголовкин А.С.** *In silico* идентификация В- и Т-клеточных эпитопов белка CD2v вируса африканской чумы свиней (*African swine fever virus, Asfivirus, Asfarviridae*) 2, 103-112
- Морозова О.В., Сашина Т.А., Новикова Н.А.** Филодинамическая характеристика Российской популяции ротавируса А (*Reoviridae: Sedoreovirinae: Rotavirus*) на основе гена VP6 6, 364-372
- 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 5, 284-293
- Наровлянский А.Н., Полосков В.В., Иванова А.М., Мезенцева М.В., Суетина И.А., Руссу Л.И., Челарская Е.С., Измestьева А.В., Оспельникова Т.П., Зубашев И.К., Сарымсаков А.А., Ершов Ф.И.** Интерферон-регулирующая активность препарата ЦелАгрип и его влияние на образование активных форм кислорода и экспрессию генов врожденного иммунитета в перевиваемых культурах клеток лимфомы Бёркитта 2, 87-94
- Нефедченко А.В., Котенева С.В., Глотова Т.И., Глотов А.Г.** Выявление пестивирусов крупного рогатого скота при помощи мультиплексной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени 2, 95-102
- Никишов О.Н., Кузин А.А., Зобов А.Е., Лаврентьева И.Н., Антипова А.Ю., Останкова Ю.В., Хамитова И.В., Никишов С.Н.** Результаты исследования распространенности и активности циркуляции парвовируса В19 (*Parvoviridae, Parvovirinae, Erythrovirus, Primate erythrovirus 1*) среди социально значимых категорий населения 3, 143-149
- 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*) 5, 276-283
- Сарбанди Н., Хоссейни С.М., Вакили К., Фатхи М., Дерави Н., Вайезджалали М.** Отсутствие случаев передачи вируса гепатита В (*Hepadnaviridae: Orthohepadnavirus: Hepatitis B virus*) госпитализированным пациентам с психическими расстройствами от медицинского персонала или членов семьи 6, 350-356
- Смирнова К.В., Сенюта Н.Б., Лубенская А.К., Душенькина Т.Е., Гурцевич В.Э.** Древние варианты вируса Эпштейна–Барр (*Herpesviridae, Lymphocryptovirus, HHV-4*): гипотезы и факты 2, 77-86
- Соломай Т.В., Семенов Т.А.** Вирусные гепатиты В, С и инфекционный мононуклеоз: эпидемиологическое сходство и различия 1, 27-34
- Фалынского И.Н., Егоров А.Ю., Поддубиков А.В., Вартанова Н.О., Карташова Н.П., Глубокова Е.А., Мхитаров В.А., Джалилова Д.Ш., Макарова О.В., Ленева И.А.** Эффект вакцинации вирусоподобными частицами, экспрессирующими гемагглютинин, на развитие постгриппозной бактериальной пневмонии у мышей: патоморфологические, вирусологические, микробиологические и клинические данные 3, 150-158
- Яцышина С.Б., Мамошина М.В., Шипулина О.Ю., Подколзин А.Т., Акимкин В.Г.** Анализ циркуляции коронавируса человека 5, 267-275

В ПОМОЩЬ ВИРУСОЛОГУ

- Алимбарова Л.М., Керимов Т.З., Борзенок С.А.** Изучение противовирусной активности жидких сред для хранения роговицы в отношении вируса простого герпеса *in vitro* 4, 228-236
- Фёдоров А.Ю., Журнов О.П.** Метод оценки нейраминидазной активности препаратов RDE с помощью вируса гриппа 2, 113-118

ДИСКУССИЯ

- Гайсёнок О.В.** Применение ингибиторов вирусных РНК-полимераз в сочетании с ингибитором фузии в лечении пациентов с COVID-19: гипотеза 3, 167-175

РЕЦЕНЗИИ

- Гребенникова Т.В.** – Ф.И. Ершов «История вирусологии от Д.И. Ивановского до наших дней» 2, 119

НЕКРОЛОГ

- Памяти Виталия Александровича Сергеева (01.05.1927 – 14.06.2020) 3, 176
- Памяти Петра Григорьевича Дерябина (09.06.1947 – 25.04.2020) 2, 120

ИНФОРМАЦИЯ

- Резолюция Всероссийской научно-практической интернет-конференции с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность — 2020» (Москва, 6–8 октября 2020 г.) 6, 381