

Анализ маркерных замен изолята вируса гриппа A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 H5N8, выделенного на территории Астраханской области

Н. Г. Зиняков¹, А. В. Андриясов², Е. В. Овчинникова³, А. А. Козлов⁴, П. Д. Жестков⁵, Д. Б. Андрейчук⁶, И. А. Чвала⁷

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

¹ ORCID 0000-0002-3015-5594, e-mail: zinyakov@arriah.ru

² ORCID 0000-0001-6314-2119, e-mail: andriyasov_av@arriah.ru

³ ORCID 0000-0001-5501-4432, e-mail: ovchinnikova@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0002-1466-7602, e-mail: kozlov_aa@arriah.ru

⁵ ORCID 0000-0001-8204-280X, e-mail: zhestkov@arriah.ru

⁶ ORCID 0000-0002-1681-5795, e-mail: andreychuk@arriah.ru

⁷ ORCID 0000-0002-1659-3256, e-mail: chvala@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

В конце 2020 г. на одной из птицефабрик в Астраханской области была зарегистрирована массовая гибель птиц, причиной которой стал грипп птиц. В работе представлены данные по выявлению маркерных замен вирусных белков изолята вируса гриппа птиц A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020. В результате комплекса исследований с использованием полимеразной цепной реакции в полученных пробах был идентифицирован вирус гриппа птиц типа А подтипа H5N8. Согласно результатам секвенирования участка гена гемагглютинина установлена аминокислотная последовательность сайта расщепления гемагглютинина REKRRK/GLF, характерная для изолятов высокопатогенного гриппа птиц. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей участка гена гемагглютинина (848–1105 н. п. открытой рамки считывания) позволил установить принадлежность изолята A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 H5N8 к генетической кладе 2.3.4.4 высокопатогенного вируса гриппа птиц. В результате сравнительного анализа геномных сегментов с использованием доступных баз данных установлено родство вируса A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 H5N8 с изолятами вируса гриппа A/H5, выявленными на территории Российской Федерации в 2016–2020 гг. Анализ аминокислотной последовательности вирусного гемагглютинина анализированного изолята выявил в рецептор-связывающем центре белка аминокислоты G₂₂₅QRG₂₂₈, характерные для вируса гриппа птиц и обеспечивающие повышенный аффинитет к рецепторам SAα-2,3-gal эпителиальных клеток птиц. Из числа описанных мутаций вируса гриппа, влияющих на успешную репродукцию его в организме млекопитающих, были выявлены единичные мутации 70G в белке NEP и 13P в белке PB1. Мутаций, влияющих на чувствительность вируса к противовирусным препаратам: римантадину, амантадину, осельтамивиру и занамивиру – не обнаружено. Выявлены мутации 42S в белке NS1 и 30D, 215A в белке M1, признанные детерминантами патогенности для мышей.

Ключевые слова: Грипп птиц, H5N8, генетический анализ, аминокислотные замены.

Благодарность: Работа выполнена за счет средств ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках тематики научно-исследовательских работ «Ветеринарное благополучие».

Для цитирования: Зиняков Н. Г., Андриясов А. В., Овчинникова Е. В., Козлов А. А., Жестков П. Д., Андрейчук Д. Б., Чвала И. А. Анализ маркерных замен изолята вируса гриппа A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 H5N8, выделенного на территории Астраханской области. *Ветеринария сегодня*. 2021; 2 (37): 132–137. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-2-37-132-137.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Зиняков Николай Геннадьевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней испц ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: zinyakov@arriah.ru.

Analysis of marker substitutions in A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 H5N8 isolate of avian influenza virus recovered in the Astrakhan Oblast

N. G. Zinyakov¹, A. V. Andriyasov², Ye. V. Ovchinnikova³, A. A. Kozlov⁴, P. D. Zhestkov⁵, D. B. Andreychuk⁶, I. A. Chvala⁷

FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia

¹ ORCID 0000-0002-3015-5594, e-mail: zinyakov@arriah.ru

² ORCID 0000-0001-6314-2119, e-mail: andriyasov_av@arriah.ru

³ ORCID 0000-0001-5501-4432, e-mail: ovchinnikova@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0002-1466-7602, e-mail: kozlov_aa@arriah.ru

⁵ ORCID 0000-0001-8204-280X, e-mail: zhestkov@arriah.ru

⁶ ORCID 0000-0002-1681-5795, e-mail: andreychuk@arriah.ru

⁷ ORCID 0000-0002-1659-3256, e-mail: chvala@arriah.ru

SUMMARY

At the end of 2020, a large-scale bird death was registered at one of the poultry farms in the Astrakhan region, the cause of which was avian influenza. Data on detection of the marker substitutions in viral proteins of avian influenza virus A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 isolate are presented in the paper. Type A H5N8 avian influenza virus was identified with complex PCR-based methods in the submitted samples. Hemagglutinin gene fragment sequencing identified REKRRKR/GLF, highly pathogenic avian influenza virus isolate-characteristic amino acid sequence of the hemagglutinin cleavage site. Phylogenetic analysis of nucleotide sequences of hemagglutinin gene segment (848–1105 bp ORF) allowed A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 H5N8 isolate to be classified to highly pathogenic avian influenza virus genetic clade 2.3.4.4. Comparative analysis of genome segments using available databases showed that A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 H5N8 virus related to A/H5 avian influenza virus isolates detected in the Russian Federation in 2016–2020. Analysis of the studied virus isolate hemagglutinin amino acid identified AIV-characteristic G₂₂₅, Q₂₂₈ amino acids in the receptor-binding domain of the protein enabling high-affinity binding to avian epithelial cell SAα-2,3-gal receptors. Single mutations, 70G in NEP protein and 13P in PB1 protein, out of the list of the reported influenza virus mutations affecting successful influenza virus replication in mammals were identified. No mutations affecting virus sensitivity to anti-viral medicines, rimantadin, amantadine, oseltamivir and zanamivir, were detected. The following mutations recognized as pathogenicity determinants in mice were found: 42S in the NS1 protein and 30D protein 215A in M1 protein.

Keywords: Avian influenza, H5N8, genetic analysis, amino acid substitutions.

Acknowledgements: The study was funded by the FGBI “ARRIAH” within the framework of “Veterinary Welfare” research work.

For citation: Zinyakov N. G., Andriyasov A. V., Ovchinnikova Ye. V., Kozlov A. A., Zhestkov P. D., Andreychuk D. B., Chvala I. A. Analysis of marker substitutions in A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 H5N8 isolate of avian influenza virus recovered in the Astrakhan Oblast. *Veterinary Science Today*. 2021; 2 (37): 132–137. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-2-37-132-137.

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

For correspondence: Nikolay G. Zinyakov, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI “ARRIAH”, 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: zinyakov@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Вирус гриппа птиц (ВГП) является опасным высококонтагиозным возбудителем респираторной болезни птиц. В случае инфицирования вирусами подтипов H5 и H7 гибель птиц достигает 100%.

Начиная с 1996 г. в странах юго-восточной части Азии эпизоотическое распространение получил высокопатогенный грипп птиц (ВПП), вызванный вирусом A/H5N1. В период с 2005 по 2007 г. вспышки болезни нанесли значительный ущерб птицеводству Российской Федерации. В 2014 г. на территории Республики Саха (Якутия) у мигрирующей утки был выявлен вирус гриппа птиц подтипа H5N8. С тех пор вирусы данного подтипа неоднократно вызывали вспышки болезни в популяциях сельскохозяйственных и диких птиц как в России, так и в странах Азии, Африки, Европы вплоть до настоящего времени. В Российской Федерации обострение эпизоотической ситуации по ВПП произошло в конце 2016 г. В 2016–2017 гг. вспышки гриппа подтипа H5N8 были зарегистрированы среди домашних птиц в республиках Татарстан, Марий Эл, Калмыкия, Ростовской, Астраханской, Самарской, Московской, Нижегородской областях, Краснодарском крае, Удмуртской и Чеченской республиках и нанесли огромный экономический ущерб промышленным хозяйствам страны [1]. В 2018 г. вирус гриппа птиц подтипа H5N8 был обнаружен у домашних птиц из Курской, Орловской, Воронежской, Костромской, Смоленской, Саратовской, Самарской, Ульяновской, Пензенской, Нижегородской,

Ростовской областей, республик Удмуртия, Марий Эл, Чувашия и Татарстан [2].

В 2020 г. вирус гриппа H5N8 широко распространился в странах Европы и Ближнего Востока, на территории РФ и Казахстана. Кроме того, в Омской и Ростовской областях выявляли ВГП подтипа H5N5. В конце 2020 г. вирус гриппа H5N8 был выявлен у людей, контактировавших с больной птицей на птицефабрике Астраханской области (<https://www.interfax.ru/russia/752017>).

Случаи выявления вируса гриппа птиц у человека требуют осуществления дополнительных исследований, поэтому целью исследования было проведение полногеномного секвенирования и изучение предсказанной аминокислотной последовательности вирусных белков изолята A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 на наличие маркеров тропности и вирулентности вируса в отношении млекопитающих.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выделение РНК. Выделение суммарной РНК осуществляли с помощью набора «РИБО-сорб» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия; кат. № K2-1-Et-100) согласно инструкции производителя.

Обратная транскрипция и полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ). ОТ-ПЦР-РВ проводили в одну стадию с использованием набора OneStep RT-PCR Kit (Qiagen, Нидерланды; кат. № 210212), 25 мМ раствора хлорида магния

(Promega, США; в наборе с кат. № M8296) и систем праймеров на ген М и гены гемагглютинаина (HA), нейраминидазы (NA) вируса гриппа подтипа H5N8. Собирали реакционную смесь объемом 25 мкл, содержащую 1× буфер для ОТ-ПЦР, 1,25 мМ MgCl₂, 0,4 мМ дНТФ, по 0,4 пмоль/мкл прямого и обратного праймеров, 0,3 пмоль/мкл флуоресцентного зонда, 1 мкл смеси ферментов обратной транскриптазы и полимеразы (Qiagen, Нидерланды; кат. № 210212), 5 мкл раствора суммарной РНК. Обратную транскрипцию проводили в течение 30 мин при 50 °С. Для амплификации применяли следующие температурно-временные параметры: 95 °С – 10 мин (активация полимеразы), далее 40 циклов, каждый из которых состоит из трех шагов (95 °С – 10 с, 55 °С – 35 с, 72 °С – 10 с).

Обратная транскрипция и полимеразная цепная реакция (ОТ-ПЦР). Классическую ОТ-ПЦР проводили в одну стадию с использованием набора OneStep RT-PCR Kit (Qiagen, Нидерланды; кат. № 210212), 25 мМ раствора хлорида магния (Promega, США; в наборе с кат. № M8296) и системы праймеров на ген HA вируса гриппа подтипа H5. Собирали реакционную смесь объемом 25 мкл, содержащую 1× буфер для ОТ-ПЦР, 1,25 мМ MgCl₂, 0,4 мМ дНТФ, по 0,4 пмоль/мкл прямого и обратного праймеров, 1 мкл смеси ферментов обратной транскриптазы и полимеразы (Qiagen, Нидер-

ланды; кат. № 210212), 5 мкл раствора суммарной РНК. Обратную транскрипцию проводили в течение 30 мин при 50 °С. Для амплификации применяли следующие температурно-временные параметры: 95 °С – 10 мин (активация полимеразы), далее 40 циклов, каждый из которых состоит из трех шагов (95 °С – 30 с, 58 °С – 60 с, 68 °С – 120 с), и финальная элонгация – 7 мин.

Секвенирование. Определение нуклеотидных последовательностей фрагмента гена HA осуществляли на автоматическом секвенаторе ABI Prism 3100 с использованием наборов BigDye Terminator Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, США) согласно инструкции производителя. Полногеномное секвенирование проводили с помощью генетического анализатора MySeq (Illumina, США) в соответствии с инструкцией к прибору. Для синтеза двуцепочечной ДНК использовали набор cDNA Synthesis System (Roche, Швейцария) согласно инструкции производителя. Для приготовления библиотек использовали коммерческие наборы XT и Nextera XT Index Kit (Illumina, США).

Нуклеотидные последовательности. В работе использованы нуклеотидные последовательности изолятов и штаммов ВГП подтипа H5, опубликованные в базах данных GenBank электронного ресурса NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide) и EpiFlu (<https://www.gisaid.org>).

Анализ нуклеотидных и соответствующих им аминокислотных последовательностей проводили с помощью программы BioEdit, версия 7.0.5.3. Выравнивание последовательностей выполняли с помощью программы множественного выравнивания ClustalW. Построение филогенетического дерева осуществляли с помощью алгоритма NJ в реализации пакета MEGA, версия 6.06.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В декабре 2020 г. на территории одной из птицефабрик Астраханской области была зарегистрирована массовая гибель птиц. Результаты исследований, проведенные местной ветеринарной лабораторией, показали наличие вируса гриппа птиц в анализируемых образцах. Для подтверждения полученных данных и дальнейшего типирования вируса материал был направлен в референтную лабораторию вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ». В результате проведенного комплекса исследований с использованием полимеразной цепной реакции в полученных пробах был идентифицирован вирус гриппа птиц типа А подтипа H5N8. На основании анализа предсказанной аминокислотной последовательности был определен сайт нарезания вирусного гемагглютинаина REKRRK/RLF. Полученные результаты позволили охарактеризовать выявленный возбудитель как высокопатогенный вирус гриппа птиц.

В результате филогенетического анализа нуклеотидной последовательности гена HA выделенного вируса A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 была установлена его принадлежность к генетической кладе 2.3.4.4 (рис. 1). Для филогенетического анализа был использован диагностический фрагмент нуклеотидной последовательности гена HA (848–1105 н. п. открытой рамки считывания – ORF).

Для выявления маркерных замен, которые могли бы указывать на адаптацию вируса A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 к млекопитающим, было

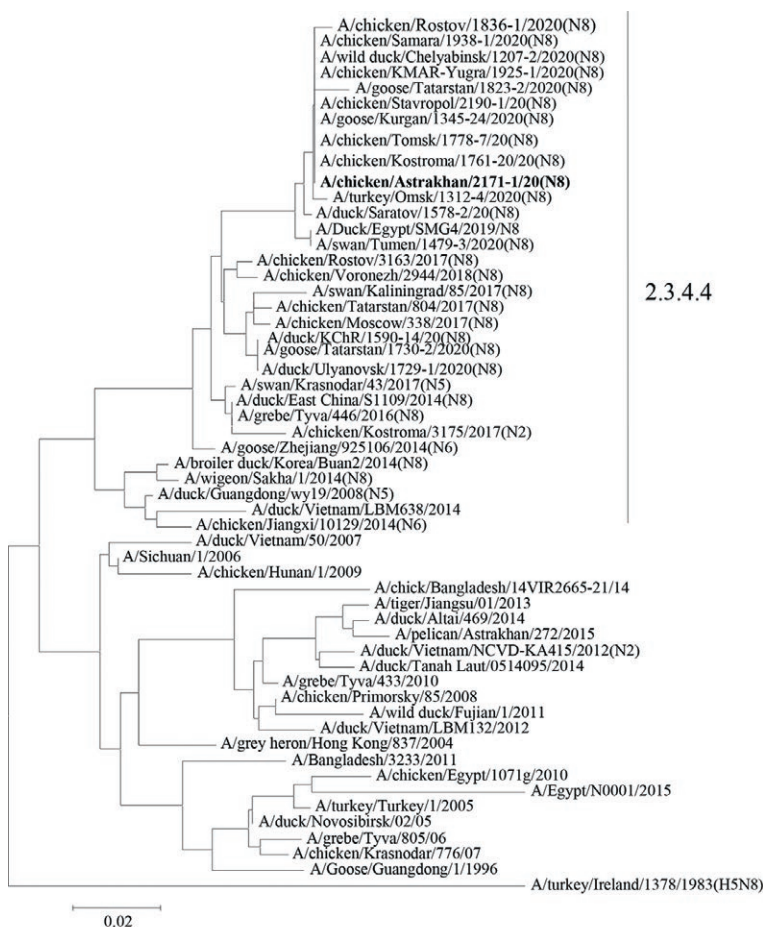


Рис. 1. Филогенетическое древо, построенное с помощью последовательностей фрагмента гена HA (848–1105 н. п.) изолятов и штаммов вируса ВГП подтипа H5

Fig. 1. Phylogenetic tree constructed using HA gene fragment sequence (848–1105 bp) of H5 HPAI virus isolates and strains

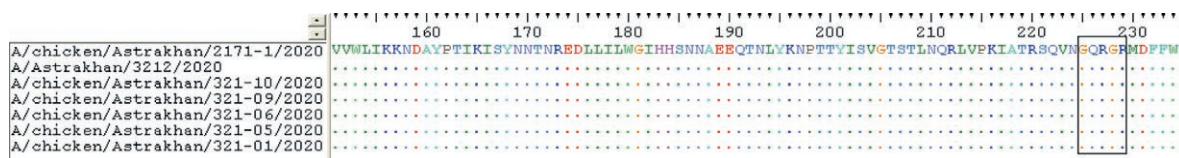


Рис. 2. Участок предсказанной аминокислотной последовательности рецептор-связывающего домена вирусного гемагглютинаина

Fig. 2. Segment of deduced amino acid sequence of the virus HA receptor-binding domain

произведено полногеномное секвенирование. По результатам сравнительного и филогенетического анализа было установлено, что вирус A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 обладает высоким сходством с подавляющим большинством изолятов вируса гриппа подтипа H5N8, выделенных на территории РФ в 2020 г. и описанных ранее [3]. Фактов реассортации геномных сегментов вируса A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 с изолятами других подтипов или генетических клад подтипа H5 не установлено.

Был выполнен анализ аминокислотной последовательности белка гемагглютинаина изолята A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 H5N8. В рецептор-связывающей части вирусного протеина были обнаружены аминокислоты G₂₂₅QRG₂₂₈ (по нумерации подтипа H3), рис. 2.

Согласно ранее проведенным исследованиям, группа аминокислот G₂₂₅QRG₂₂₈ характерна для вирусов гриппа, выделенных от птиц, и нацелена на рецепторы группы SAα-2,3-gal [4].

В соответствии с имеющимися в литературе данными, вирусный гемагглютинин содержит маркерные аминокислоты, расположенные в области связывания с рецепторами, являющиеся консервативными для выделенных от птиц изолятов и отличающиеся от соответствующих аминокислот у изолятов, выделенных от млекопитающих [4, 5]. В таблице 1 указаны аминокислотные остатки белка гемагглютинаина, определяющие рецепторную специфичность, характерную для вируса гриппа птиц подтипа H5 и вируса гриппа человека.

Для изолята A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 во всех указанных позициях (кроме 159, 222, 227) находятся аминокислотные остатки, характерные для вируса гриппа птиц. В трех позициях расположены аминокислотные остатки, не характерные для вируса гриппа человека и вируса гриппа птиц.

Вирусы ВППП подтипа H5 способны инфицировать человека, несмотря на то что их гемагглютинин преимущественно взаимодействует с клеточными рецепторами SAα-2,3-gal. Однако при успешной репродукции вируса гриппа в клетках млекопитающих исследователи выявляли мутации в других вирусных генах, которые предполагаются как маркеры адаптации вируса гриппа для размножения в организме млекопитающих [6–11]. В таблице 2 указаны аминокислотные остатки белков изолята A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020, отвечающие за репродукцию вируса гриппа в организме птиц или млекопитающих. Аминокислотные замены, помогающие вирусу гриппа размножаться в клетках млекопитающих, обнаружены только в белках NP (замена 70G) и PB1 (замена 13P). Во всех остальных позициях отмечены аминокислотные остатки, характерные для вируса гриппа птиц.

Дополнительно был осуществлен анализ предсказанной аминокислотной последовательности ви-

Таблица 1

Аминокислотные остатки белка гемагглютинаина, определяющие рецепторную специфичность вируса гриппа (по подтипу H3)

Table 1
HA protein amino acid residues related to receptor specificity of influenza virus (according to H3 type)

Номер позиции (по подтипу H3)	A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020	Вирус гриппа птиц	Вирус гриппа человека
136	S	S	T
153	W	W	–
158	N	N/D	N
159	D	N	S
183	H	H	–
190	E	E	D
194	L	L	I
221	S	S	P
222	Q	K	–
225	G	G/N	D
226	Q	Q	L/I
227	R	S	A
228	G	G	S

русных белков, определяющих его чувствительность к лекарственным препаратам. В настоящее время лекарственными средствами с изученным механизмом действия являются соединения адамантанового ряда: римантадин и амантадин. Данные препараты являются блокаторами ионных каналов, формируемых белком M2 вируса гриппа А. Устойчивость вируса гриппа к действию римантадина и амантадина может быть обусловлена возникновением мутаций в белке M2 (L26F, 27 V27A, 30 (A→V/P), 31 (S→N/R), 34 G34E), в результате которых происходит изменение конфигурации ионного канала. У изолята A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 было выявлено наличие в белке M2 следующих аминокислот: лейцин (26L), изолейцин (27I), аланин (30A), серин (31S), глицин (34G), что указывает на его чувствительность к препаратам адамантанового ряда [10].

Кроме соединений адамантанового ряда существуют блокаторы вирусной нейраминидазы, наиболее распространенными из них являются осельтамивир и занамивир. Большинство вирусов, имеющих устойчивость к осельтамивиру, имеют замену гистидина

Таблица 2
Аминокислотные остатки, определяющие спектр хозяев вируса гриппа

Table 2
Amino acid residues determining influenza virus host range

Белок / номер позиции	A/chicken/Astrakhan/ 2171-1/2020	Вирус гриппа птиц	Вирус гриппа млекопитающих
PB1			
13	P	L	P
99	H	H	Y
368	I	I	V
PB2			
44	A	A	S
81	T	T	M
199	A	A	S
271	T	T	A
588	A	A	I
613	V	V	I
627	E	E	K
661	A	A	T
674	A	A/S	T
701	D	D	N
702	K	K	R
PA			
28	P	P	L
55	D	D	N
65	S	S	L
100	V	V	A
356	K	K	R
382	E	E	D
400	S	Q/T/S	L
409	S	S	N
552	T	T	S
NP			
33	V	V	I
61	I	I	L
100	R	R	V
109	I	I	V
136	L	L	M
214	R	R	K
283	L	L	P
293	R	R	K
313	F	F	Y
375	D	D	G/E
M1			
137	T	T	A
M2			
16	E	E	G
20	S	S/N	N
28	I	I	I/V
55	L	L	F
78	Q	Q	K
NEP			
70	G	S	G

на тирозин в позиции 274 (H274Y) [11]. В ходе анализа маркер резистентности к осельтамивиру у изолята A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 не обнаружен. Однако в ряде проведенных исследований было показано, что устойчивость к ингибиторам нейраминидазы варьирует в зависимости от подтипа NA вируса гриппа и что различные мутации NA могут вызывать разные уровни устойчивости. Так, для вирусов подтипа N2 было найдено 4 маркерных замены, способные формировать полную или частичную устойчивость к осельтамивиру и занамивиру [12].

На заключительном этапе был проведен анализ на маркеры вирулентности для млекопитающих. В результате исследования установлено наличие аминокислоты серин (S) в позиции 42 белка NS1. Данная замена является маркером вирулентных свойств для мышей и способна противодействовать индукции интерферона в клетке-хозяине, а также предотвратить активацию пути NF-κB при иммунном ответе [7]. Кроме этого, были выявлены аминокислотные замены 30D, 215A в белке M1, признанные детерминантами патогенности для мышей [13].

Таким образом, несмотря на отсутствие известных маркерных аминокислотных замен у изученного вируса, необходимых для успешной репликации в организме млекопитающих, выявление маркеров вирулентности для лабораторных животных свидетельствует о необходимости проведения дополнительных исследований по изучению биологических свойств вируса гриппа птиц подтипа H5N8.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований было установлено, что вирус A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 генетически максимально близок к изолятам ВГП подтипа H5N8, выявленным в 2020 г. во время вспышек гриппа птиц на территории РФ, и принадлежит к генетической кладе 2.3.4.4 подтипа H5. Полногеномное секвенирование позволило установить отсутствие реассортации геномных сегментов исследованного изолята как с вирусами гриппа других подтипов, так и с ранее выделенными на территории РФ вирусами подтипа H5N8 генетической клады 2.3.4.4. Анализ молекулярных маркеров вируса свидетельствует об адаптации вируса A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 к организму птиц и отсутствии адаптационных мутаций к организму млекопитающих, в том числе и человека. Маркеры устойчивости вируса к противовирусным препаратам адамантанового ряда, осельтамивиру и занамивиру не выявлено.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 3–13 см. REFERENCES)

1. Волков М. С., Ирза В. Н., Варкентин А. В. Опыт ликвидации высокопатогенного гриппа птиц на территории Российской Федерации в 2016–2017 гг. *Ветеринария сегодня*. 2018; 1 (24): 3–10. DOI: 10.29326/2304-196X-2018-1-24-3-7.
2. Волкова М. А., Чвала И. А., Ярославцева П. С., Сосипаторова В. Ю., Осипова О. С., Чвала И. А. Серологический мониторинг гриппа птиц в Российской Федерации в 2017–2018 годах. *Ветеринария сегодня*. 2019; 2 (29): 3–11. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-2-29-3-7.

REFERENCES

1. Volkov M. S., Irza V. N., Varkentin A. V. History of highly pathogenic avian influenza eradication in Russian Federation in 2016–2017. *Veterinary Science Today*. 2018; 1 (24): 3–10. DOI: 10.29326/2304-196X-2018-1-24-3-7.

2. Volkova M. A., Chvala I. A., Yaroslavtseva P. S., Sosipatorova V. Yu., Osipova O. S., Chvala I. A. Serological monitoring for avian influenza in the Russian Federation in 2017–2018. *Veterinary Science Today*. 2019; 2 (29): 3–11. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-2-29-3-7.
3. Lewis N. S., Banyard A. C., Whittard E., Karibayev T., Al Kafagi T., Chvala I., et al. Emergence and spread of novel H5N8, H5N5 and H5N1 clade 2.3.4.4 highly pathogenic avian influenza in 2020. *Emerg. Microbes Infect.* 2021; 10 (1): 148–151. DOI: 10.1080/22221751.2021.1872355.
4. Stevens J., Blixt O., Tumpey T. M., Taubenberger J. K., Paulson J. C., Wilson I. A. Structure and receptor specificity of the hemagglutinin from an H5N1 influenza virus. *Science*. 2006; 312 (5772): 404–410. DOI: 10.1126/science.1124513.
5. Matrosovich M. N., Gambaryan A. S., Teneberg S., Piskarev V.E., Yaminikova S. S., Lvov D. K., et al. Avian influenza A viruses differ from human viruses by recognition of sialyloligosaccharides and gangliosides and by a higher conservation of the HA receptor-binding site. *Virology*. 1997; 233 (1): 224–234. DOI: 10.1006/viro.1997.8580.
6. Seo S. H., Hoffmann E., Webster R. G. The NS1 gene of H5N1 influenza viruses circumvents the host anti-viral cytokine responses. *Virus Res*. 2004; 103 (1–2): 107–113. DOI: 10.1016/j.virusres.2004.02.022.
7. Jiao P., Tian G., Li Y., Deng G., Jiang Y., Liu C., et al. A single-amino-acid substitution in the NS1 protein changes the pathogenicity of H5N1 avian influenza viruses in mice. *J. Virol.* 2008; 82 (3): 1146–1154. DOI: 10.1128/JVI.01698-07.
8. Gabriel G., Dauber B., Wolff T., Planz O., Klenk H. D., Stech J. The viral polymerase mediates adaptation of an avian influenza virus to a mammalian host. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2005; 102 (51): 18590–18595. DOI: 10.1073/pnas.0507415102.
9. Dreier C., Resa-Infante P., Thiele S., Stanelle-Bertram S., Walendy-Gnirß K., Speiseder T., et al. Mutations in the H7 HA and PB1 genes of avian influenza A viruses increase viral pathogenicity and contact transmission in guinea pigs. *Emerg. Microbes Infect.* 2019; 8 (1): 1324–1336. DOI: 10.1080/22221751.2019.1663131.
10. Dong G., Pens C., Luo J., Wang C., Han L., Wu B., et al. Adamantane-resistant influenza A viruses in the world (1902–2013): Frequency and distribution of M2 gene mutations. *PLoS One*. 2015; 10 (3): e0119115. DOI: 10.1371/journal.pone.0119115.
11. McAuley J. L., Gilbertson B. P., Trifkovic S., Brown L. E., McKimm-Breschkin J. L. Influenza virus neuraminidase structure and functions. *Front. Microbiol.* 2019; 10:39. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00039.
12. Aoki F. Y., Boivin G., Roberts N. Influenza virus susceptibility and resistance to oseltamivir. *Antivir. Ther.* 2007; 12 (4 Pt B): 603–616. PMID: 17944268.
13. Fan S., Deng G., Song J., Tian G., Suo Y., Jiang Y., et al. Two amino acid residues in the matrix protein M1 contribute to the virulence difference of H5N1 avian influenza viruses in mice. *Virology*. 2009; 384 (1): 28–32. DOI: 10.1016/j.virol.2008.11.044.

Поступила 25.03.2021

Принята в печать 19.05.2021

Received on 25.03.2021

Approved for publication on 19.05.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Зиняков Николай Геннадьевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Андреев Артем Валерьевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Овчинникова Евгения Валерьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Козлов Антон Александрович, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Жестков Павел Дмитриевич, аспирант, ведущий технолог референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Андрейчук Дмитрий Борисович, кандидат биологических наук, заведующий референтной лабораторией вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Чвала Илья Александрович, кандидат ветеринарных наук, заместитель директора по НИР и мониторингу ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Nikolay G. Zinyakov, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Artem V. Andriyasov, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Yevgeniya V. Ovchinnikova, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Anton A. Kozlov, Candidate of Science (Biology), Junior Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Pavel D. Zhestkov, Post-Graduate Student, Leading Technologist, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Dmitry B. Andreychuk, Candidate of Science (Biology), Head of Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Ilya A. Chvala, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Deputy Director for Research and Monitoring, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.