

УДК 578.2:578.5:578.7:578.8:614.4

ВВЕДЕНИЕ В МОЛЕКУЛЯРНУЮ ВИРУСОЛОГИЮ

© 2014 г. С.В. Нетёсов^{1,2}, Н.А. Маркович²

¹ Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия,
e-mail nauka@nsu.ru, svn15@hotmail.com;

² ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»,
Кольцово, Новосибирская область, Россия

Поступила в редакцию 20 февраля 2014 г. Принята к публикации 28 февраля 2014 г.

ВВЕДЕНИЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в период с 1992 г. по 2005 г. существенно снизилась доля смертности от инфекционных и паразитарных болезней (примерно на 15–20 %) (рис. 1). При этом смертность от сердечно-сосудистых и онкологических болезней значительно увеличилась. Несомненно, причиной снижения инфекционных и паразитарных болезней является расширение вакцинации в развивающихся и развитых странах. Причиной же повышения смертности от сердечно-сосудистых и онкологических болезней является увеличение продолжительности жизни: люди стали просто «доживать» до возраста, когда эти заболевания начинают превалировать. Что касается роста других причин смертности, то в значительной степени это является побочным (и печальным) следствием развития нашей цивилизации: рост числа автомобильных аварий, аварий на производстве, несчастных случаев.

На рис. 2 приведены причины смертности в России в 2000 и 2009 гг. по данным Госкомстата Российской Федерации. За 9 лет уменьшилась доля сердечно-сосудистых заболеваний, выросла доля онкозаболеваний и снизилась смертность от техногенных причин, убийств и самоубийств. Инфекционные заболевания как причина смертности в России находятся на пятом месте, как и в развитых странах. Соотношение же причин смертности в мире в целом иное в сравнении с Россией, поскольку 3/4 населения мира живет в развивающихся и слаборазвитых странах, в которых смертность от инфекционных болезней

высокая. Есть лишь одно значительное отличие России от ряда развитых стран, связанное с тем, что в России смертность от сердечно-сосудистых болезней значительно выше, чем от онкологических, тогда как в таких странах, как Япония, США и Норвегия, они приблизительно равны. Таким образом, в тех странах, где вакцинация против инфекций хорошо развита и где следят за качеством питьевой воды, смертность от инфекций как причины смертности – на пятом месте, а в тех странах, где этого нет, она – на первом месте.

РОЛЬ РАЗЛИЧНЫХ ПАТОГЕНОВ В ЭТИОЛОГИИ РАЗНЫХ ТИПОВ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Диаграмма этиологических причин желудочно-кишечных заболеваний детей в развивающихся странах, взятая из статьи Karikian (1993), приведена на рис. 3. Видно, что ротавирусы вызывают до 45 % таких инфекций, астровирусы – 7 %, калици- и аденовирусы – по 1 %, остальные вызваны бактериями и пока неизвестными возбудителями. Таким образом, вирусы являются причиной более 60 % желудочно-кишечных болезней у детей в развивающихся странах. Но кишечные инфекции являются причиной лишь 2–3 % всех инфекционных заболеваний человека, а основные инфекции человека вызывают респираторные заболевания. В начале XXI в. было проведено исследование этиологических причин таких инфекций в штате Мичиган, США (Monto, 2002). Выяснилось, что основную массу этих заболеваний вызывают риновирусы (рис. 4),

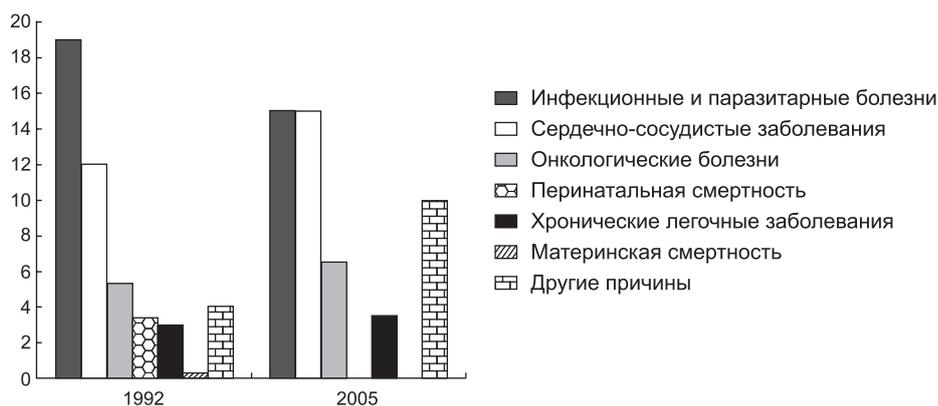


Рис. 1. Причины смертности в мире в 1992 и 2005 гг. (млн) по данным ВОЗ (http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/en/).

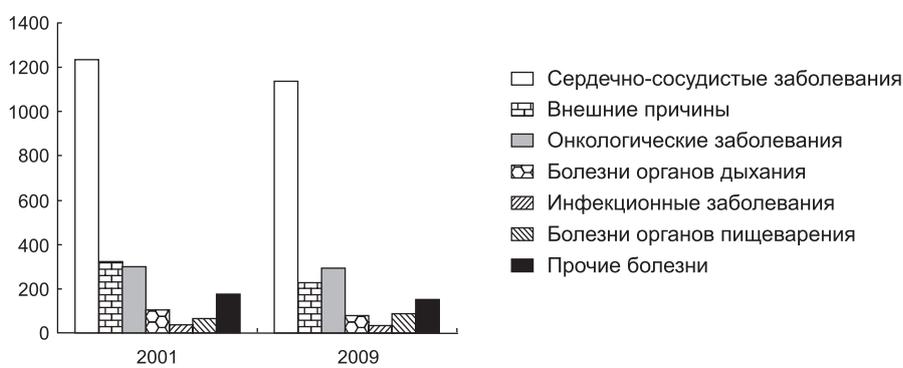


Рис. 2. Причины смертности в России в 2000 и 2009 гг. (сотни тыс.) – данные Госкомстата Российской Федерации (www.gks.ru).

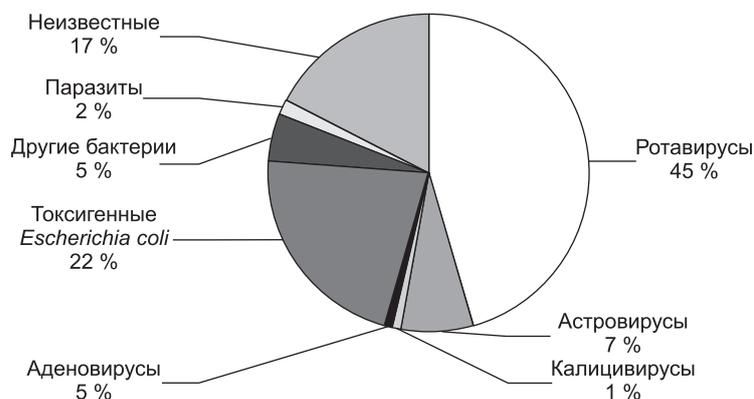


Рис. 3. Роль различных патогенов в этиологии желудочно-кишечных заболеваний детей в развивающихся странах (по: (Karikian, 1993. P. 627–630)).

после них идут коронавирусы, грипп занимает только 3-е место, парагрипп и респираторно-синцитиальный вирус – четвертое, далее идут бактерии, небольшую долю составляют аденовирусные инфекции и около 20% – неизвестные на тот момент инфекции. Кстати, грипп занимает

третье место из-за того, что он – единственная респираторная инфекция, против которой есть и применяются вакцины. В начале XXI в. были обнаружены и охарактеризованы метапневмовирусы человека, которые вызывают от 5 до 12% респираторных инфекций (Kahn, 2003; Hoogen

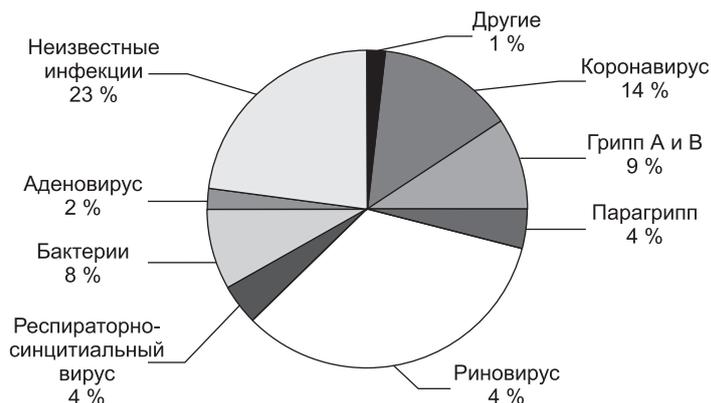


Рис. 4. Этиология респираторных заболеваний в штате Мичиган, США (по: (Monto, 2002. P. 4S–12S)).

et al., 2003; Williams *et al.*, 2004). Таким образом, сектор неизвестных инфекций на этой диаграмме, по-видимому, в 25–50 % случаев обусловлен метапневмовирусами. Следовательно, вирусные инфекции вызывают более 70 % респираторных заболеваний, что несколько больше, чем в случае желудочно-кишечных заболеваний.

TORCH-ИНФЕКЦИИ

Так называемые TORCH-инфекции представляют опасность для беременных женщин или для плода. В слове TORCH буквы означают: Т – токсоплазмозную инфекцию, О – Others – другие, R – Rubella (краснуха), С – цитомегаловирус (Cytomegalovirus), Н – герпесвирусная инфекция (Herpes).

Список так называемых «других» инфекций в настоящее время включает в себя: парвовирус В19 (B19V), вирус ветряной оспы (VZV), вирус лихорадки Западного Нила (West Nile virus), вирус кори (measles virus), энтеровирусы (enteroviruses), аденовирусы (adenoviruses), ВИЧ (human immunodeficiency virus (HIV)), вирусы гепатитов В и С (hepatitis B and C), вирус гепатита Е, хламидийные инфекции, сифилис, гонококковая инфекция, листериоз, вирус лимфоцитарного хориоменингита (lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV – данный вирус, хозяином которого являются мелкие грызуны, показал себя тератогенным возбудителем для людей) и, по всей видимости, еще ряд вирусов и бактерий. Часть этих инфекций вызывает вроде бы безобидные (для обычных людей) респираторные и желудочно-кишечные заболевания, но все TORCH-инфекции представляют особую

опасность именно для плода и беременных. Так, в последние десятилетия особо изучается парвовирус В19. Этот возбудитель малоизвестен обычному населению. В тех странах, где он изучается, его называют пятой детской инфекцией, она не представляет существенной опасности для взрослых и детей старше года, но для беременных женщин и плода очень опасна, потому что вызывает до 11 % внутриутробной гибели плода и некоторые другие последствия. Другой вирус – вирус гепатита Е – у заболевших беременных женщин вызывает 25 %-ую смертность, что существенно выше, чем даже смертность от заболевания натуральной оспой. Гепатит Е в последние годы начали тщательно изучать в странах Центральной Азии и в странах субтропиков и тропиков. В Новосибирской области он встречается эпизодически: 2–3 случая в год; за 10-летний период здесь обнаружено лишь 4 случая, причем все они были выявлены только у мужчин, и эти мужчины, по всей видимости, не успели эту инфекцию никому передать. Данную группу TORCH-инфекций надо изучать гораздо более тщательно, поскольку доля каждого такого патогена в патологии беременности в России пока остается не известной.

ВИРУСЫ: КЛАССИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Вирус (virus) по латыни означает «яд». Существует несколько определений вирусов, вот два из них:

– Вирус – микроскопическая частица, состоящая из белков, нуклеиновых кислот и нередко

еще и липидов (липиды происходят от клетки-хозяина) и способная инфицировать клетки живых организмов и размножаться в них.

– Вирусы – облигатные внутриклеточные организмы. Они по большей части лишены собственной системы, вырабатывающей энергию, белок-синтезирующей системы и имеют в зависимости от семейства различный набор элементов систем репликации и транскрипции.

Первое определение – структурное, а второе – функциональное, и оно, по всей видимости, вскоре будет корректироваться, потому что открыты гигантские вирусы, у которых есть элементы белоксинтезирующей системы и энерговырабатывающей системы, и вообще ученым известно лишь около 10 % вирусов, существующих в природе.

Вирусы как облигатные (зависимые) паразиты есть у бактерий, архей, грибов, простейших, растений, животных, людей и, как мы знаем, их можно искусственно создать для компьютеров и телефонов. Компьютерные и телефонные вирусы названы так не зря, потому что они ведут себя со своими «хозяевами» так же, как вирусы в живых организмах.

Классификацию вирусов сначала пытались построить на основе симптомов заболеваний (пример – гепатиты), потом – на основе сходства в нахождении в организме (миксовирусы) и, наконец, – на основе строения вирионов. И все эти попытки оказались неудачными.

Нынешняя классификация вирусов базируется на основе сходства и различий типов геномов, их строения, сходства основных генов (в частности на сходстве и различиях в последовательностях гена полимеразы) и антигенных свойств основных поверхностных белков (эти признаки коррелируют с геномной классификацией).

В отношении видов, генотипов, штаммов и изолятов до сих пор терминология окончательно не устоялась. Сейчас выходят серии статей с уточненными определениями таксономических единиц: рода, вида, генотипа, серотипа, штамма и изолята. Главной «библией» ученых-вирусологов, занимающихся таксономией вирусов, является переиздающаяся каждые 5–7 лет книга «Таксономия вирусов» (*Virus Taxonomy*). Последний раз она вышла в ноябре 2011 г. Книга весит примерно 6 кг, в ней около 3 тыс. страниц и в ее введении указано, что до сих пор пример-

Основные таксономические термины, используемые в вирусологии, и окончания названий разных типов таксонов вирусов:

- Царство вирусов – *Vira*.
- Отряд (порядок) – *virales*.
- Семейство – *viridae*.
- Подсемейство (есть не во всех семействах) – *virinae*.
- Род – *virus*.
- Вид – *virus*.
- Генотип или серотип.
- **Штамм** – охарактеризованный изолят.
- **Изолят** – это неохарактеризованный или минимально охарактеризованный конкретный штамм вируса.
 - **Квази-вид** – совокупность вирусов одного вида в зараженном организме, поскольку у большинства вирусов нет механизма коррекции репликации генома.

но одна треть вирусов не классифицирована в семейства и порядки и что это еще предстоит сделать исследователям.

Геномы вирусов могут состоять из ДНК или РНК. ДНК-геномные вирусы бывают с двуцепочечной и одноцепочечной ДНК, с наличием или отсутствием липидной оболочки. Некоторые семейства ДНК-вирусов человека (и отдельные семейства используемых человеком вирусов) приведены в табл. 1.

Среди РНК-геномных вирусов есть одно уникальное семейство реовирусов, геном которых представлен двуцепочечной РНК. Других живых организмов, помимо вирусов, с таким геномом нет. Все остальные РНК-вирусы имеют в качестве генома одноцепочечную РНК. Она бывает так называемой плюс-РНК (когда геномная РНК является также и матричной РНК для всех или части генов вируса), но немало вирусов имеют и так называемую минус-РНК: такая РНК не имеет свойств матрицы для синтеза белков. И наконец, некоторые вирусы с минус-РНК-геномом могут иметь фрагментированный геном: у ортомиксовирусов – 8, у буньявирусов – 3, у аренавирусов – 2 фрагмента. В табл. 2 приведен ряд семейств РНК-вирусов.

Есть еще 2 семейства, вирусы которых используют для репликации механизм обратной транскрипции:

Таблица 1

ДНК-вирусы – патогены человека

Свойства генома и вириона	Отряд/Порядок	Семейство
Двухцепочечная ДНК, имеется липидная оболочка	Не определен	Poxviridae Herpesviridae Baculoviridae (цикл.)
Двухцепочечная ДНК, нет липидной оболочки	Не определен	Adenoviridae Iridoviridae Polyomaviridae Papillomaviridae
Двухцепочечная (частично) ДНК, нет липидной оболочки, репликация по механизму обратной транскрипции	Не определен	Hepadnaviridae
Одноцепочечная ДНК, нет липидной оболочки	Не определен	Inoviridae (M13) Parvoviridae (парвовирус B19) Circoviridae (патогены свиней)

Таблица 2

РНК-вирусы – патогены человека

Определяющие свойства	Порядок (класс/отряд)	Семейство
Двухцепочечная РНК, нет липидной оболочки	Не определен	Reoviridae
Одноцепочечная РНК, нет липидной оболочки, Плюс-геном, одна рамка считывания	Picornavirales	Picornaviridae Comoviridae Dicistroviridae Iflaviridae Marnaviridae Sequiviridae Schirnaviridae Не классифицированы Cheravirus, Torradovirus
Одноцепочечная РНК, нет липидной оболочки, Плюс-геном, несколько рамок считывания	Не определен	Astroviridae Caliciviridae Hepeviridae
Одноцепочечная РНК, есть липидная оболочка, Плюс-геном	Не определен	Togaviridae Flaviviridae
Одноцепочечная РНК, есть липидная оболочка, Плюс-геном	Nidovirales	Roniviridae Coronaviridae Arteriviridae
Одноцепочечная РНК, есть липидная оболочка, Минус-геном	Mononegavirales	Paramyxoviridae Rhabdoviridae Filoviridae
Одноцепочечная РНК, есть липидная оболочка, Минус-геном, фрагментированный	Не определен	Orthomyxoviridae Bunyaviridae Arenaviridae

– Гепаднавирусы (Hepadnaviridae) – ДНК-содержащие оболочечные вирусы (кольцевая частично двуцепочечная ДНК; ревертаза/ДНК-полимераза кодируется геномом.

– Ретровирусы (Retroviridae) – РНК-содержащие оболочечные вирусы; ревертаза/РНК-полимераза кодируется геномом (ВИЧ-вирус).

ГИПОТЕЗЫ О ПРОИСХОЖДЕНИИ ВИРУСОВ

Вирусы, заражающие представителей трех царств – Archaea, Bacteria и Eukarya, часто имеют специфические особенности этих царств, и поэтому предполагается, что вирусы появились очень рано в ходе эволюции жизни. В настоящее время обсуждаются следующие гипотезы их происхождения:

- вирусы появились первыми из всех организмов;
- вирусы – деградировавшая форма бактерий;
- вирусы – деградировавшая форма клеточных органелл – митохондрий и др.;
- вирусы – эволюционировавшие мобильные элементы генома.

Согласно имеющимся косвенным данным, ученые считают, что сначала возник мир РНК, а мир ДНК появился гораздо позже. По всей видимости, сначала возникли РНК-вирусы, а позднее – ДНК-вирусы. Причем вирусы, вероятно, имеют множественное происхождение, и поэтому для разных отрядов и семейств вирусов предложены разные гипотезы. И похоже, что вирусы с двуцепочечным РНК-геномом (семейство Реовирусы) – одни из самых древних.

СТРОЕНИЕ И ГЕНОМ ВИРУСОВ

У самых простых вирусов в центре вириона (вирусной частицы) находится нуклеокапсид – это нуклеиновая кислота (в данном случае – РНК), окруженная С-белком (capsid protein) (рис. 5). В липидную мембрану, окружающую нуклеокапсид, встроены мембранный белок М, а снаружи вириона в нее вставлены «шипы» из оболочечного (Envelope) белка Е. Так устроен вирус клещевого энцефалита, в состав вириона которого входят всего 3 вышеупомянутых вирусных белка.

На рис. 6 приведена карта генома вируса клещевого энцефалита. Слева расположены участки генома, кодирующие структурные белки С, М, Е. При этом гены расположены в таком порядке, в котором выстроены соответствующие белки от центра вируса к периферии: сначала С-белок окружает РНК, потом их окружает клеточная мембрана, в которую встраивается сначала М-белок, а потом Е-белок. За генами, кодирующими неструктурные белки, идут гены, кодирующими структурные белки (полимераза, протеаза, хеликаза, которая расплетает РНК при репликации, и ряд белков с не очень понятной пока функцией). Здесь особых закономерностей в последовательности генов пока не выявлено, за исключением того, что ген вирусной полимеразы обычно располагается последним.

РАЗЛИЧНЫЕ ТИПЫ УГРОЗ ОТ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Изучение молекулярной биологии вирусов привело к раскрытию ряда новых вирусных угроз или изменений в части уже существовавших ранее вирусных угроз.

В качестве примера приведена картина динамики заболеваемости клещевым энцефалитом в Европе по годам и странам (рис. 7). Она весьма заметно отличается от таковой для России, потому что вирус клещевого энцефалита (ВКЭ) в России существует и циркулирует давно, а в Европу он начал распространяться сравнительно недавно. Особо показательна динамика заболеваемости (ВКЭ) в Швейцарии:

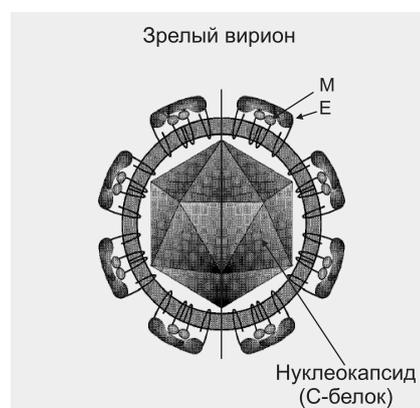


Рис. 5. Схема строения зрелого вириона вируса клещевого энцефалита.

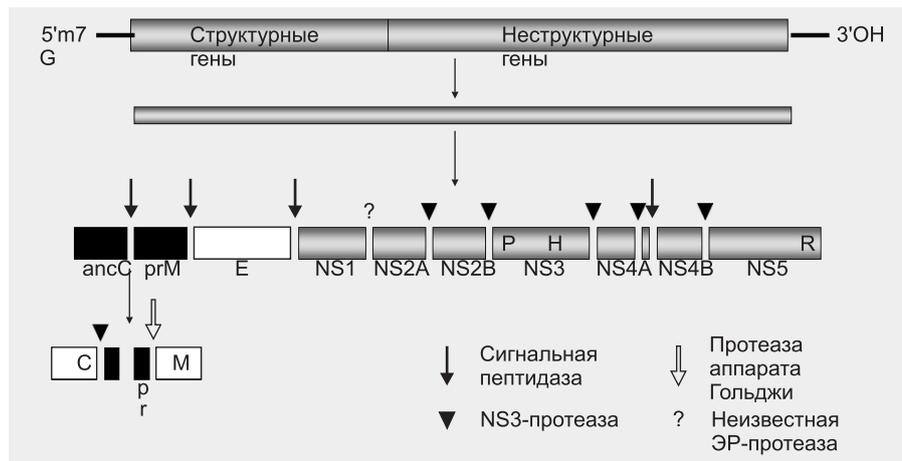


Рис. 6. Геном представителя рода *Flavivirus*.

Прямоугольники ниже карты генома показывают вирусные белки, производимые из полипротеина путем процессинга клеточными и вирусными протеазами. Структурные белки выделены черным цветом. Буквы P, H и R показывают расположение вирусных NS3-протеазы, NS3 РНК-геликазы и NS5 РНК-зависимой РНК-полимеразы. Карта генома не масштабирована.

клещевой энцефалит там не регистрировали до 1975 г., потом начали регистрировать и заметили нарастание этого заболевания. Сейчас в каждой поликлинике Швейцарии имеется плакат с изображением клеща и призывом вакцинироваться, чтобы избежать угрозы данного

серьезного заболевания. Ситуация, описанная для Швейцарии, складывается также в Германии и во многих других странах. Следует обратить внимание на два следующих примера. В Австрии, где уже в 1980-е гг. была разработана вакцина (Австрия явилась первым производи-

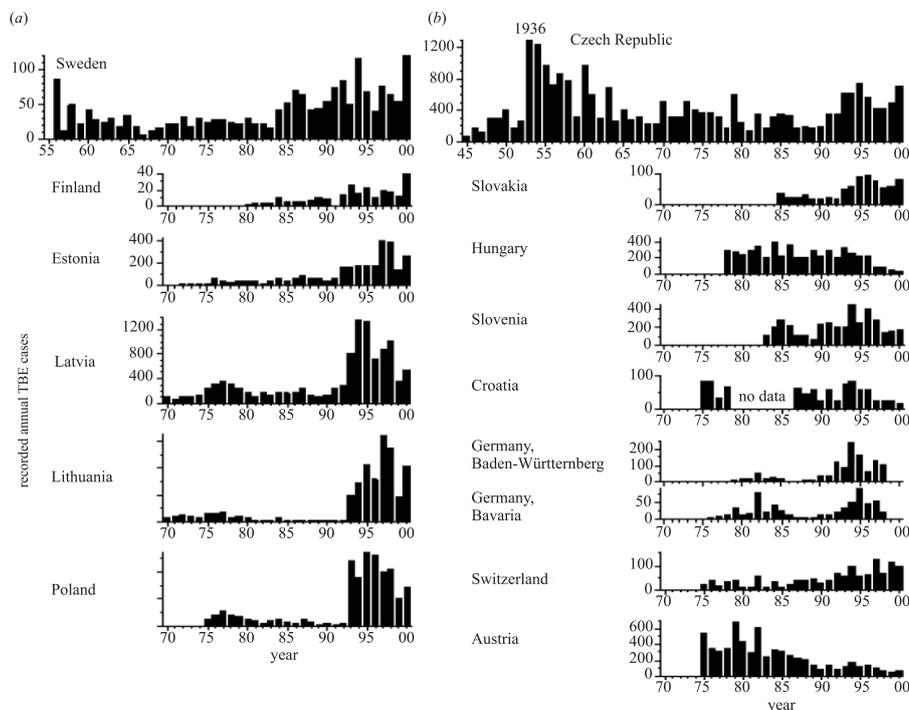


Рис. 7. Заболеваемость клещевым энцефалитом в Европе по годам и странам (<http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/TBE-in-EU-EFTA.pdf>, Donoso Mantke *et al.*, 2008. P. 1–9).

Типы угроз вирусных инфекций:

- Возникающие и вновь возникающие инфекции, которые переходят к человеку в основном от животных.
- Искорененные и искореняемые инфекции (натуральная оспа, полиомиелит, корь, гепатит В, паротит).
- Инфекции, связанные с наркоманией.
- Биотерроризм.

телем вакцины против клещевого энцефалита в Европе), заболеваемость после начала широкого применения вакцины кардинально снизилась. В Эстонии, Латвии и Литве, где с отделением от СССР, по всей видимости, произошел отказ от вакцинации против клещевого энцефалита, наоборот, заболеваемость возросла. Сейчас Эстония, Латвия и Литва начали закупать вакцину против клещевого энцефалита (вероятно, в Австрии и Германии, а также в России: вакцина российского производства имеет примерно такие же качества, как импортные, но является более дешевой).

За последние 20 лет удалось узнать, насколько среднеевропейские штаммы вируса клещевого энцефалита отличаются от сибирских штаммов. Раньше считалось, что в Европе циркулирует только центральноевропейский генотип вируса, который значительно отличается от сибирского генотипа, но оказалось, что геномных отличий всего 2–3 % и, кроме того, все больше данных свидетельствуют о том, что в Европу проник и сибирский генотип вируса.

Сейчас выделяют следующие типы угроз от вирусных инфекций.

Возникающие и вновь возникающие инфекции. В качестве иллюстрации к «возникающим» инфекциям на рис. 8 показано филогенетическое древо генома семейства коронавирусов с включением в него ТОРС-коронавируса, вызвавшего в 2003 г. в мире эпидемию так называемой «атипичной пневмонии». На этом древе также представлены данные по геномам коронавирусов, которые были выделены от пальмовых цветков и енотовидных собак, обитающих в Китае; они образуют отдельную ветвь по отношению к вирусам человека. Эта ветвь коронавирусов животных совсем немного отличается от выделенных от человека штаммов –

делецией из 29 нуклеотидов в одном из генов, тогда как размер всего генома составляет более 29 тыс. нуклеотидов, т. е. делеция составляет 0,1 % от размера генома. Кроме того, в геномах вирусов человека выявлены еще 2 мутации в S-гене, которые и обусловили вместе с делецией возникновение патогенности для человека.

Другая иллюстрация к возникающим инфекциям – это последние данные по происхождению вируса гепатита С (ВГС). С момента открытия этого вируса предполагалось, что ВГС перешел на человека от обезьян. Но в 2011 г. появилась работа о выявлении вируса гепатита от собак с большой гомологией с ВГС человека (Кароо *et al.*, 2011). Сначала этот вирус исследователи выявили у собак и назвали его вирусом гепатита собак (canine hepatitis virus, CHV), потому что он присутствовал в печени (исследовали всего 5 собак, которые погибли от невыясненного желудочно-кишечного заболевания). Интересно отметить, что количество РНК этого вируса в образцах дыхательных путей было выше, чем в печени. Далее биоинформационный анализ

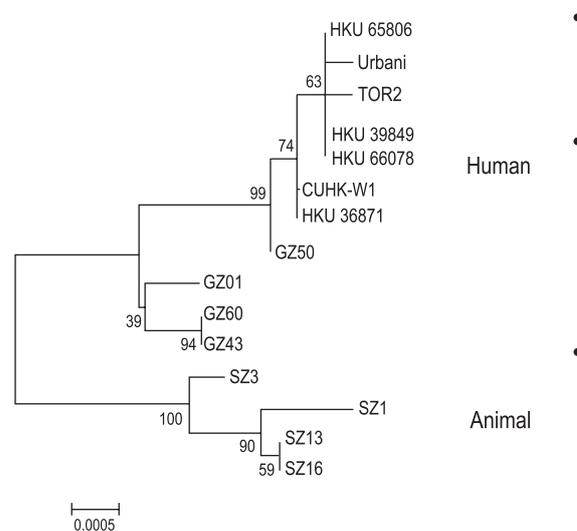


Рис. 8. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей S-гена коронавирусов животных и ТОРС-коронавируса человека.

Полные последовательности геномов ТОРС-коронавирусов человека и животных имели 99,8 % гомологии. SZ3 и SZ16 различались по 18 нуклеотидам, тогда как вирусы человека из 5 различных географических мест (GZ50, CUHK-W1, Tor-2, HKU-39848 и Urbani) отличались только по 14 нуклеотидам. HKU и CUHK-W1 – вирусы человека из Гонконга; Urbani – из Ханоя; TOR2 – из Канады; GZ – из Гуанчжоу; SZ1, SZ3, SZ16 – вирусы пальмовых цветков (*Paguma larvata*); SZ13 выделен из енотовидной собаки. Данные взяты из: (Guan *et al.*, 2003. P. 276–278).

преобразование может повториться и снова возникнет вирус, подобный по патогенности вирусу натуральной оспы, что весьма опасно для неиммунной популяции человека. Таким образом, продолжающиеся разработки более совершенной вакцины против этого заболевания вполне оправданы этим обстоятельством, а вовсе не угрозой биотерроризма.

Параллельно выяснилась и еще одна любопытная вещь. Мы знаем, что Эдвард Дженнер вакцинировал людей корочками от больных оспой коров, поскольку он заметил, что доярки оспой не болеют. Но когда стали изучать геномы современных вирусов осповакцины, выяснилось, что они ближе к вирусу оспы буйволов, чем к вирусу оспы коров. Изучение архивов показало, что в Китае и Индии в XVIII в. существовали обычаи по срыванию оспенных корочек с буйволов и втиранию их в кожу людей. Более того, сохранились письменные свидетельства того, что какой-то отставной английский полковник, приехавший из Индии, начал внедрять это в Англии, но к нему отнеслись с недоверием, поскольку он не был врачом. Так что нынешняя осповакцина произошла, вернее всего, от вируса оспы буйволов, а не от вируса оспы коров, хотя Дженнер, возможно, все-таки использовал последний вирус.

Как уже было сказано выше, в мире на стадии искоренения находится также и вирус полиомиелита. Сейчас он циркулирует всего в 4–5 странах, хотя из этих стран бывают иногда заносы вируса в соседние страны, в том числе в Россию такой занос в 2010 г. случился из Афганистана в Узбекистан, потом в Таджикистан и в Россию. Случаев заболевания было всего несколько, но пришлось потратить много вакцины против полиомиелита и усилий врачей, чтобы блокировать вспышку и не дать ей распространиться. Существует опасение, связанное с возможной эволюцией родственных вирусов. На филогенетическом древе (рис. 10) рода энтеровирусов видно, что соседом вирусов полиомиелита является вирус Коксаки А21. Гомология последовательностей их генома составляет всего 60 %, но дело в том, что вирус Коксаки А21 практически не вызывал заболеваний в тех странах, где использовалась живая противополиомиелитная вакцина. А сейчас, когда живую вакцину перестают использовать, заболеваемость вирусом Коксаки А21 медленно растет в развитых странах. Этот рост, вернее всего, связан с прекращением вакцинации против полиомиелита живой вакциной. При более широком прекращении вакцинации живой вакциной заболеваемость

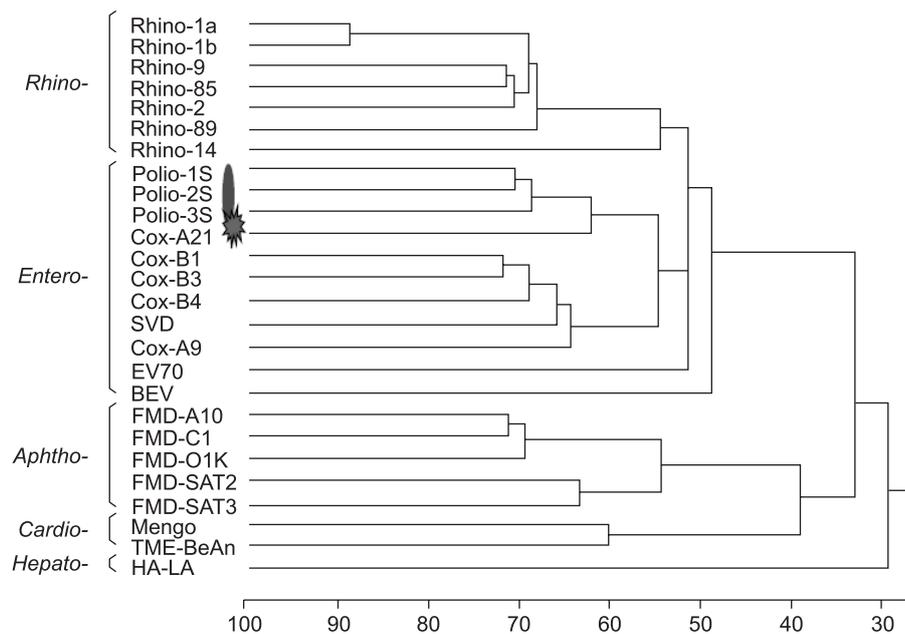


Рис. 10. Филогенетическое древо семейства Пикорнавирусов.

вирусом Коксаки А21 будет расти и далее. А энтеровирусы быстро эволюционируют, и не исключена вероятность того, что вирус Коксаки А21, мутируя, станет не менее патогенным для человека, чем полиовирус, и если вакцинация против полиомиелита прекратится, то человечество от него не будет защищено. Таким образом, если прекращение вакцинации против оспы оправдано, то прекращать вакцинацию против полиомиелита, по всей видимости, не стоит, потому что родственные ему вирусы, эволюционируя, будут вызывать инфекционные заболевания.

Инфекции, связанные с наркоманией. В 1990-е годы в России активному распространению целого ряда инфекций (ВИЧ, гепатиты В и С) способствовал всплеск наркомании. Проблема усугублялась использованием многоразовых шприцев. К чему это привело в России на рубеже столетий, видно на примере гепатита С на рис. 11. Всплеск наркомании в России был обусловлен тяжелой моральной обстановкой в стране после дефолта 1998 г. и стремительным ростом импорта наркотиков из Афганистана. Почти одновременно с вводом в Афганистан американских войск в России был организован Федеральный Комитет по борьбе с наркотиками, и оба эти обстоятельства способствовали резкому снижению уровня наркомании в нашей стране. Постепенное снижение наблюдается и сейчас, благодаря, во-первых, усилиям пограничных войск в Таджикистане, а также пограничных, таможенных и антинаркотических служб России по пресечению транспорта наркотиков. Например, в результате этих мер на границе России с Казахстаном задерживают сейчас во много раз больше наркотиков, чем в 2000 г. Кроме того, в стране также заметно активизирована антинаркотическая пропаганда, хотя

и не так интенсивно, как этого можно было бы ожидать в связи с тяжелой ситуацией в России с потреблением наркотиков.

В нашем исследовании всех проб, взятых в течение 2002 г. в инфекционных больницах Новосибирска и положительных на вирусные гепатиты, методами молекулярной генетики для вируса гепатита С было показано, что в более старших возрастных группах доля генотипа 1 выше, а доля генотипа 3 ниже, чем у молодых (рис. 12).

Генотип 1 – это исторически мажорный генотип для России, Европы и большинства стран Северной Азии. Генотип 3 – генотип Ближнего Востока, в Афганистане превалирует именно генотип 3. К наиболее вероятному объяснению этого относится тот факт, что одной из процедур по грубой очистке наркотиков, по всей видимости, была сорбция примесей в них препаратами отбракованной в Афганистане и инфицированной ВГС донорской крови. Когда наша исследовательская группа опубликовала эти данные в 2004 г. (Shustov *et al.*, 2005), то без этого объяснения было достаточно сложно пройти экспертизу в зарубежном журнале, так как данные выглядели слишком необычными (заметим, что размер исследованной популяции – 3 тыс. человек). Но потом почти одновременно с нашей работой вышли работы в Италии и в США, где были описаны такие же возрастные закономерности распределения генотипов ВГС. Так что получается, что инфицирование преимущественно генотипом 3 ВГС было связано с употреблением внутривенных наркотиков, импортированных из Афганистана. С появлением этих данных стали проводиться исследования проб наркотиков на наличие вирусов.

Биотерроризм. За исключением известных случаев рассылки писем со спорами сибирской



Рис. 11. Сравнение динамик заболеваемости острым гепатитом С в России, США, Италии, Чехии, Германии и Норвегии на 100 000 населения (по данным интернет-сайтов министерств здравоохранения этих стран).

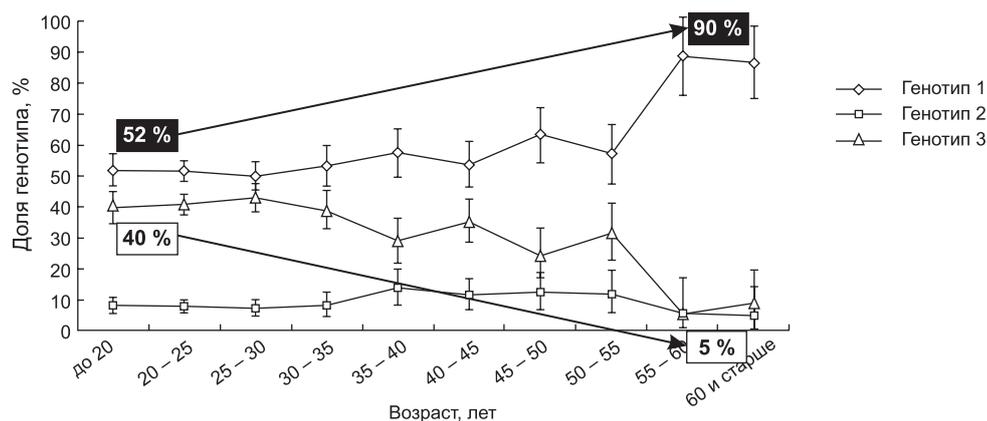


Рис. 12. Доля (%) изолятов HCV генотипов 1, 2 и 3 в возрастных группах с 5-летними интервалами (приведено по: (Shustov *et al.*, 2005. P. 382–389)).

язвы в 2001 г. (www.anthraxinvestigation.com), больше случаев биотерроризма не было. И сейчас угроза биотерроризма уже не считается значимой. Природа – вот кто наш главный «биотеррорист»!

ПРИКЛАДНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ РАЗВИТИЯ ВИРУСОЛОГИИ

Три прикладных направления развития вирусологии, которые тесно связаны с прогрессом в области молекулярной биологии и молекулярной генетики вирусов, – это диагностика вирусных инфекций, лечение вирусных заболеваний и развитие вакцинных технологий.

Диагностика вирусных инфекций. В табл. 3 приведены основные использовавшиеся ранее и используемые сейчас методы. Упомянутый здесь метод прямого наблюдения в поле микроскопа сейчас практически никто не применяет, потому что для этого нужна высокая концентрация (как минимум 1 млн частиц/мл) и высокая чистота патогена. Инфекционность, тестируемая по образованию бляшек, показывает, что исследователь имеет дело с вирусом, но не дает возможности идентифицировать патоген. Выявление антител класса IgM методом иммуноферментного анализа возможно на 7–8-й день после инфицирования, но дело в том, что бурные симптомы при респираторных инфекциях наступают уже на 2-й день, а в случае, например, заболевания вирусом гриппа на 7–8-й день вируса в крови уже нет. Так что

в случае обычных вирусных респираторных и желудочно-кишечных инфекций для выбора лечения этот метод не подходит. Выявление вирусного антигена методом иммуноферментного анализа или РПГА возможно в короткий период максимальной концентрации вируса в организме, что для острых инфекций происходит на 2–3-е сутки развития вируса в организме. И понятно, что отрицательный результат анализа не означает, что патогена в организме нет: его концентрация просто ниже порога выявления. Таким образом, остается метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), к которому долгое время относились с недоверием из-за значительного количества ложнопозитивных результатов. В нынешних его версиях он признан высоконадежным, если используются отработанные, правильные технологии обработки проб и составления реакционных смесей. В варианте «Real Time ПЦР» этот метод используется даже в полевых условиях и дает весьма надежные и очень точные результаты. Сейчас основная, но решаемая проблема этого метода диагностики – в правильном выборе ПЦР-праймеров, потому что те диагностические наборы, которые разработаны до сих пор, все-таки не выявляют некоторые генотипы вирусов, так как у них есть замены в участках, комплементарных праймерам. Работу по изучению генетического разнообразия патогенных для человека вирусов необходимо продолжать во всем мире именно для этих целей.

Таблица 3

Сравнение методов количественного выявления маркеров патогенов
(использованы данные из: (Егоров и др., 1991))

Метод выявления	Предел чувствительности	Недостатки
Прямой подсчет в поле электронного (вирусы) или светового (бактерии) микроскопа	10^6 частиц в мл как минимум	Нужна высокая концентрация чистого патогена
Инфекционность по образованию бляшек	100–1000 частиц/мл	Время анализа – 1–3 дня
Выявление антител класса IgM методом ELISA	–	Возможно не ранее 7–8 дня после инфицирования
Выявление антигенов методом ELISA или РПГА	10^6 частиц антигена/мл или 50 пкг	Возможно только во время максимума инфекции
Выявление генома методом ПЦР	100–1000 частиц/мл	Слишком высокая чувствительность – метод может дать ложнопозитивные результаты!

Лечение и профилактика вирусных заболеваний. На рис. 13 изображена краткая схема репликации вируса иммунодефицита человека. Этот вирус выбран нами потому, что он имеет, пожалуй, наибольшее число стадий развития среди всех РНК-вирусов. Поэтому на его примере можно показать, как селективируют и разрабатывают противовирусные препараты. На рис. 13 приведены все стадии его репликации и белыми метками обозначены те из них, на которые уже разработаны ингибиторы репликации. В частности, ингибиторы геномной транскрип-

тазы (это стадия превращения геномной РНК в кДНК) – один из самых распространенных сейчас классов препаратов против ВИЧ, причем найдены и применяются ингибиторы как нуклеотидной, так и нуклеотидной природы. И они нередко употребляются вместе, потому что при использовании только одного препарата довольно быстро вырабатывается резистентность. Вторая белая метка – это ингибиторы фермента интегразы, встраивающего вирусную РНК в хромосому хозяина, которые также либо бывают аналогами нуклеотидов, либо имеют не-

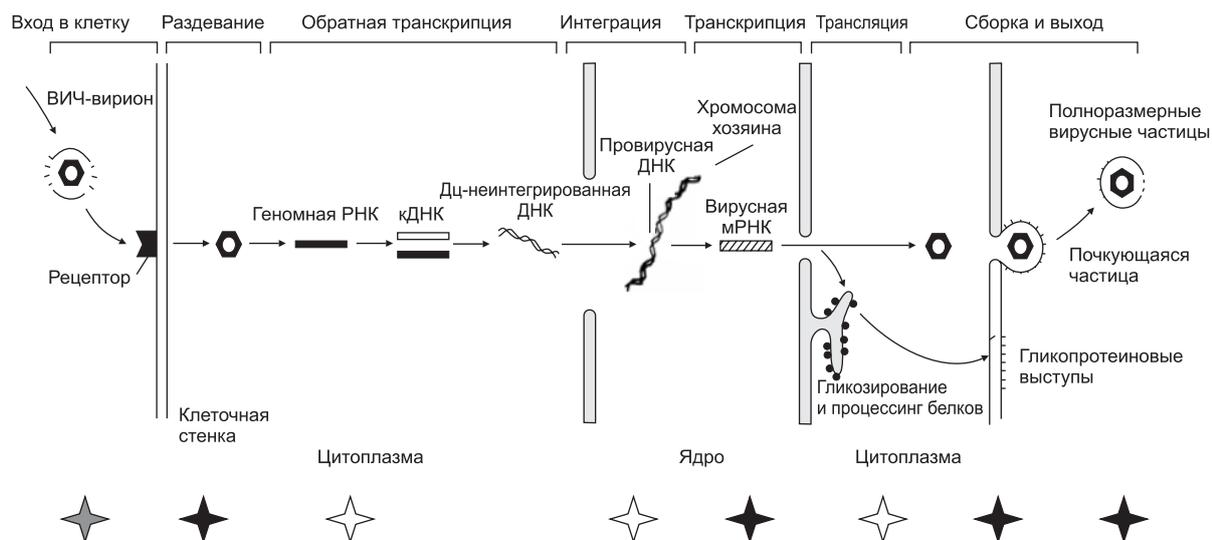


Рис. 13. Цикл развития вируса иммунодефицита человека.

Метками обозначены различные этапы развития вирусной инфекции, на которых можно воздействовать препаратами.

нуклеотидную природу. И наконец, разработаны ингибиторы протеаз (третья метка), которые применяются с первыми двумя классами препаратов. Как сейчас уже показано, с помощью ежедневного комплексного применения этих препаратов можно продлить жизнь ВИЧ-инфицированным на 15–20 лет.

Черными метками на рисунке обозначены стадии, для которых в принципе можно разработать ингибиторы, но они пока не разработаны. Одна из возможностей (которая, кстати, прорабатывается исследователями) – разработка рекомбинантных антител, которые связываются с клеточным рецептором к вирусу ВИЧ и тем самым ингибируют его присоединение к клетке. Но этот препарат надо применять за несколько часов до заражения и, на наш взгляд, есть гораздо более эффективные средства против заражения (например, презервативы), чем это средство, тем не менее такой препарат проходит клинические испытания. Вакцины-то против ВИЧ пока нет, может, кто-то и рискнет применять и такой препарат.

В табл. 4 приведены результаты применения вакцин в России в последние годы в сравнении с периодом, когда вакцин от этих болезней не было. Например, в 1980 г. заболеваемость корью составила 133,9 тыс. в год, смертность от кори – более 1 %, причем максимальная смертность была у детей возрастом до года. Сейчас корь является причиной гибели 50% детей до года в странах, где нет вакцинации. В 2009 г. в России был всего 101 случай кори на всю страну, т. е. мы вплотную приблизились к развитым странам, в частности в США в 2008 г. было около 80 случаев кори, из них 60 – завозных (статистические данные России

по заболеваемости взяты с интернет-сайтов www.fcgsen.ru и www.gks.ru, а США – www.cdc.gov).

Ситуация по паротиту в России сейчас немного хуже, чем с корью, но массовое применение живой и хорошо хранящейся вакцины началось лишь в последние два десятилетия, и ведь сейчас-то результат тоже впечатляющий. С полиомиелитом мы практически справились: еще в 1990 г. в СССР было лишь 0,09 случая на 100 000 человек, в основном – в странах Средней Азии. В 2005 г. был один подозрительный случай, связанный с ненадежной вакцинацией, а в 2010 г. был завоз этой инфекции в Россию, о чем писалось выше, но с этими проявлениями быстро справились путем кольцевой вакцинации.

В 1979 г., когда была получена Нобелевская премия за первую генно-инженерную работу, в США был сконструирован и первый штамм-продукцент вакцины против гепатита В. Уже в 1983 г. начались ее клинические испытания, в 1985 г. вакцина была разрешена для проведения клинических испытаний третьей стадии (массовой). С 1995 г. эта вакцина стала обязательной для вакцинации новорожденных детей в США. Ее применение в России также дало очень хороший результат, и по сравнению с 1980 г. заболеваемость в России снизилась почти в 10 раз, а по сравнению с 1990 г. – в 20 раз. Сейчас по заболеваемости гепатитом В Россия практически сравнялась с другими развитыми странами.

С краснухой, к сожалению, у нас в стране начали бороться с помощью вакцинации недавно, но возможно, что через 3–5 лет она будет элиминирована среди российского населения и останутся только случаи завоза из развивающихся стран, где такой вакцинации нет.

Таблица 4

Успехи вакцинации

Инфекция	Заболеваемость на 100 тыс. человек в России по годам				
	1980	1990	2005	2007	2009
Корь	133,9	16,2	0,29	0,11	0,07 (101 случай, стадия элиминации)
Паротит	386,9	81,0	2,12	1,31	0,65
Полиомиелит (о.в.п.)	0,06	0,03	0,0 (0,23)	0,0	0,0 (на территории России элиминирован)
Гепатит В	22,2	43,2	8,56	5,26	2,7
Краснуха	124,1	140,3	100,12	21,61	1,14 (через 3–5 лет – элиминация)

Примечание. Статистические данные по заболеваемости взяты с интернет-сайтов (www.fcgsen.ru и www.gks.ru).

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

Методы молекулярной эпидемиологии позволяют расследовать случаи инфицирования людей, выявлять источники и цепочки передачи вирусных инфекций.

Расследование рассылки конвертов с бациллами сибирской язвы. В октябре 2001 г. в США была выявлена рассылка конвертов с бациллами сибирской язвы, в результате которой умерло 5 человек. Правительство США потратило около 100 млн долларов для того, чтобы предотвратить распространение этой инфекции из почтовых сортировочных пунктов и защитить людей, которые были в контакте с этими конвертами. С этой целью были организованы пункты разъяснения и профилактики, и более 20 000 человек было предложено профилактически принимать антибиотики в течение 60 дней. Методами молекулярной эпидемиологии были охарактеризованы специфические генетические особенности выявленного штамма сибирской язвы, в результате чего сначала выявили лабораторию, из которой предположительно и были взяты штаммы, а потом вышли на след человека, который это сделал. Правда, возбудитель сибирской язвы – не вирус, а бактерия, но путем молекулярно-эпидемиологического анализа последовательностей нескольких генов ряда штаммов была идентифицирована холодильная камера, в которой хранились рассылаемые бациллы и к которой имел доступ ограниченный круг лиц. Среди них был выявлен предполагаемый преступник, который, как выяснилось, имел психическое отклонение (www.anthraxinvestigation.com).

Расследование случая совместного заражения ВГС и ВИЧ-1. В 1990-х годах в США был расследован случай заражения женщины ее сожителем-врачом (приведено по: (Vogel, 1998)). При ежегодном медосмотре выяснилось, что она заражена ВГС и ВИЧ-1, хотя год назад анализы ее крови этого не показывали. Она вела весьма здоровый образ жизни, и единственный человек, с которым она имела близкие контакты, был ее сожитель, врач по образованию, который делал ей уколы в связи с простудным заболеванием, именно поэтому он и стал подозреваемым. Специалисты-генетики секвенировали

геномы выявленных у нее изолятов и сравнили их с последовательностями геномов вирусов больных, которых он лечил и которые не были с этой женщиной в контакте, выяснилась их тождественность, и в результате его осудили на очень большой срок. Это первый случай в мире, когда методы молекулярной эпидемиологии привели к заслуженному осуждению виновного человека.

Сейчас с помощью такого же методологического подхода выявляют эпидемические цепочки в случаях передачи ВИЧ-инфекции, ступени эволюции вирусов гриппа и многих других вирусов. И это становится рутинным методом в исследованиях путей передачи и эволюции вирусов. Таким образом, методы молекулярной биологии стали сейчас и методами расследования преступлений, эпидемических цепочек, а также методами исследования эволюции вирусов.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВИРУСОВ

В настоящее время разработан целый ряд направлений практического использования вирусов.

Диагностика бактериальных заболеваний. Существуют бактерии (например разные виды сальмонелл), которые можно быстро идентифицировать с помощью бактериофагов. Сначала бактерии из проб высевают на питательный агар. Когда вырастают бляшки, их заражают специфическими бактериофагами. Присутствие целевой бактерии определяют с помощью выявления лизиса. Этот метод применялся, когда не было иммуноферментного анализа. Сейчас он практически не используется, так как трудно пополнять и надежно хранить набор специфических бактериофагов (Шлегель, 1987).

Лечение бактериальных заболеваний. Существуют высокоспецифичные бактериофаги, которые быстро лизируют только свои бактериофагохозяйя. Раньше так лечили дифтерию. Применяли только поверхностно, так как были сложности с хранением бактериофагов, и они не были достаточно очищены для применения на человеке. Сейчас эта методология переживает второе рождение и используется для борьбы с множеством антибиотикоустойчивыми штаммами.

В частности, такой метод был бы перспективен при лечении туберкулеза (Brüssow, 2007).

Борьба с насекомыми-вредителями. Выявлены и охарактеризованы высокоспецифичные энтомопатогенные вирусы (денсовирусы из семейства Парвовирусов и Бакуловирусы), которые применяются для борьбы с комарами и сельскохозяйственными насекомыми-вредителями. Пока это дорого, но зато экологически безопасно ввиду крайне высокой специфичности этих вирусов и их полной безвредности для млекопитающих (Mettenmeyer, 2002; Ильиных, 2007).

Борьба с нежелательными животными. Когда-то завезенные в Австралию кролики стали настоящим бедствием из-за быстрого размножения и распространения за счет отсутствия естественных врагов в сочетании с избытком корма. Нашли способ контролировать их численность с помощью вируса миксомы кроликов. Этот метод применили последовательно, двигаясь с одного побережья Австралии до другого, но во многом из-за неодномоментности применения селектировалась раса кроликов, устойчивых к этому вирусу, поэтому сейчас разрабатывают второе и третье поколения других вирусов для борьбы с этими животными (<http://www.animalcontrol.com.au/rabbit.htm>).

Живые и инактивированные вакцины. Наиболее эффективные и долговременно действующие вакцины – это живые вакцины: против оспы, кори, паротита, краснухи, полиомиелита. В качестве инактивированных вакцин можно привести примеры вакцин против гриппа, гепатита А, клещевого энцефалита и др. (Grammatikos *et al.*, 2009).

Генная терапия. С целью лечения генетических дефектов применяют аденовирусы, AAV, ретровирусные векторы и др. На эту технологию в 1999 г. был принят мораторий на 3 года в связи со смертью пациента, имевшего редкий дефект иммунной системы. Пациент имел редчайшую генетическую особенность и был крайне чувствителен к заражению аденовирусами, с помощью которых проводили генотерапевтическое лечение (Marshall, 2000).

Лечение раковых заболеваний. Вирусы используются для специфического лизиса дефектных раковых клеток. Это направление развивается в России, в том числе в ГНЦ ВБ «Вектор» и

Новосибирском государственном университете (Kochneva *et al.*, 2011). Давно показано, что вирусы лучше размножаются в раковых клетках, чем в обычных. Это свойство можно усиливать путем модификации вирусов. Кроме того, в них можно вводить гены, которые усиливают апоптоз раковых клеток. В Китае уже два типа аденовирусов разрешены для широкого клинического применения. В США сейчас проходят более 30 клинических испытаний 1-й и 2-й фаз с целью проверки методов лечения различных типов рака с применением вирусов (данные взяты с сайта www.clinicaltrials.gov). Но есть сложности: вирусы определенных семейств лизируют раковые клетки только с определенными дефектами, которые обуславливают раковое перерождение клеток. Эти дефекты удалось выявить пока только для нескольких видов опухолей, когда можно с хорошей предсказуемостью применять эти вирусы. Надо еще многое узнать о генетической природе рака, чтобы определиться с тем, какие вирусные препараты против каких типов клеток наиболее эффективны.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дальнейшее развитие вирусологии связано со следующими основными задачами:

1. Выявление инфекционных агентов заболеваний, считавшихся «неинфекционными»: диабет, сердечно-сосудистые заболевания, рак и др. Сейчас становится ясным, что значительная часть заболеваний диабетом вызвана инфекцией вирусом краснухи в возрасте до 7 лет в момент перестройки иммунной системы. Таких случаев отмечено по публикациям уже несколько сотен. И сейчас становится ясным, что вакцинацию против краснухи надо делать не только беременным женщинам, но и детям, с 2–3 лет, что и делается уже в развитых странах, где давно применяется тройная вакцина (корь, паротит, краснуха).

2. Дальнейшая автоматизация и совершенствование диагностики. Развитие технологий в мире направлено, в том числе и на ускорение и упрощение диагностики заболеваний в ближайшем будущем. Например, на то, чтобы в случае первых же признаков лихорадки можно было, поместив палец в специальный автомат, доступный в публичном месте (например в су-

Вирусы тюльпанов

Вирусы опасны не только для человека, но и для животных (например, цыплят на птицефабриках вакцинируют как минимум против 4 инфекций, а вакцины для них есть против 8 инфекций), а также растений. Один из наиболее известных примеров поражения растений вирусами – вирус, вызывающий пестролепестность тюльпана.



Еще в начале XX в. сложилось мнение о вирусном происхождении пестролепестности тюльпанов, а соответствующий вирус назвали вирусом мозаики тюльпана. Этот вирус поражает все виды растений семейства лилейных, но в разной степени. Главным симптомом, сигнализирующим о присутствии вируса в организме растений, является изменение окраски цветка: она становится неоднородной. Это связано с нарушением процесса образования пигмента антоциана, окрашивающего растения в красный цвет. Данный вирус опасен еще и тем, что луковицы пораженного тюльпана мельчают и с каждым годом будут давать обезображенные цветки, пока болезнь не уничтожит все присущие растению индивидуальные сортовые признаки. Поэтому обнаруженные больные тюльпаны во время цветения должны выбраковываться и удаляться с грядки.

Переносчиками вируса мозаики тюльпана являются трипсы, белокрылки, тля и другие насекомые. Наиболее критическими периодами являются стабилизация тепла в конце мая и появление этих насекомых. Поэтому рекомендуется своевременно выявлять и убирать зараженные растения до начала распространения болезни, других мер борьбы или профилактики пока не существует. Любопытно, что этот вирус обнаружен и у садовых лилий, но на них заражение не проявляется фенотипически. Однако из-за этого будет неправильным культивировать тюльпаны по соседству с лилиями, потому что иначе будут загублены сорта тюльпанов. И поэтому же нецелесообразно чередовать почву под тюльпаны и лилии (<http://liidweb.com/node/10242> и <http://www.lepestok.kharkov.ua/bio/s20091101.htm>).

Некоторые новейшие результаты в области вирусологии, важные для населения Западной Сибири. В последние годы сотрудниками ряда лабораторий, в том числе и при участии авторов статьи, обнаружен неоднократный завоз туристами вируса лихорадки денге из стран Южной Азии на территорию Западной Сибири, в том числе в Новосибирск. В последние 3 года таких случаев выявлено более 50 (см. <http://doctor54.ru/read-2915.html>). Данная инфекция не распространяется на территории Сибири только благодаря тому, что в данном регионе не встречается разновидность комаров, являющихся разносчиком данного вируса.

Одной из причин энцефалита является вирус Западного Нила, который тоже выявляется на территории Сибири (см. <http://04.rosпотребнадзор.ru/index.php/epid-otdel/44-epid-otdel/1243-25082011.html>). Существуют прогнозы о росте доли в заболеваемости лихорадками и энцефалитами на территории Западной Сибири, потому что волна распространения этих заболеваний идет из европейской части России, где вирус Западного Нила приводит к нескольким сотням случаев заболевания в год. А в США, например, ежегодно диагностируется до 20 тыс. инфекций данным вирусом, которые требуют госпитализации. До конца прошлого столетия вирус Западного Нила в США был неизвестен и распространился после того, как в 1999 г. случился его завоз в страну (см. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs354/ru/>).

пермаркете), через 2 часа получить по мобильной связи результат с диагнозом, какой возбудитель обнаружен. Такие экспериментальные автоматы уже есть, но пока они стоят только в некоторых больницах и поликлиниках в США.

3. Разработка новых методов лечения и лекарств для лечения вирусных заболеваний. Основная задача в этом направлении – поиск новых ингибиторов вирусных ферментов, которые не ингибируют ферменты хозяина.

4. Разработка новых, более эффективных вакцин. Здесь следует отметить, что до сих пор не существует вакцин против таких опасных и распространенных заболеваний, как гепатит С и ВИЧ-инфекция.

5. Разработка на основе вирусов новых средств генотерапии и лечения рака. Вирус сконструирован самой природой весьма рационально и функционально, но ничто не мешает сделать его полезным для лечения и профилактики целого ряда заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

- Егоров А.М., Осипов А.П., Дзантиев Б.Б., Гаврилова Е.М. Теория и практика иммуноферментного анализа. М.: Высш. шк., 1991. С. 126.
- Ильиных А.В. Эпизоотология бакуловирусов // Изв. РАН. Сер. биол. 2007. № 5. С. 524–533.
- Шлегель Г. Общая микробиология. Пер. с нем. М., 1987. С. 142.
- Brüssow H. Phage Therapy: The Western Perspective / Eds S. McGrath, D. van Sinderen. Bacteriophage: Genetics and Molecular Biology, Caister Acad. Press, Norfolk, UK. 2007.
- Donoso Mantke O., Schädler R., Niedrig M. A survey on cases of tick-borne encephalitis in European countries // Euro Surveill. 2008. V. 13. No. 17. P. 1–9.
- Esposito J., Fenner F. Poxviruses // Fields Virology. 4th Ed. Lippincott Williams and Wilkins. A Wolters Kluwer Company. 2001. V. 2. P. 2888.
- Grammatikos A.P., Mantadakis E., Falagas M.E. Meta-analyses on Pediatric Infections and Vaccines // Infectious Disease Clinics of North America. 2009. V. 23. No. 2. P. 431–457.
- Guan Y., Zheng B.J., He Y.Q. *et al.* Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China // Science. 2003. V. 302. No. 5643. P. 276–278.
- Hoogen van den B.G., van Doornum G.J., Fockens J.C. *et al.* Prevalence and clinical symptoms of human metapneumovirus infection in hospitalized patients // J. Infect. Dis. 2003. V. 188. No. 10. P. 1571–1577.
- Kahn J.S. Human metapneumovirus: a newly emerging respiratory pathogen // Curr. Opin. Infect. Dis. 2003. V. 16. No. 3. P. 255–258.
- Kapikian A.Z. Viral gastroenteritis // JAMA. 1993. V. 269. No. 5. P. 627–630.
- Kapoor A., Simmonds P., Gerold G. *et al.* Characterization of a canine homolog of hepatitis C virus // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2011. V. 108. No. 28. P. 11608–11613.
- Kochneva G.V., Loktev V.B., Svyatchenko V.A. *et al.* Oncolytic viruses: perspectives and problems // Epidemiology and Sanitary. 2011. No. 3. P. 10–17.
- Marshall E. Gene Therapy on Trial // Science. 2000. V. 288. No. 5468. P. 951–957.
- Mettenmeyer A. Viral insecticides hold promise for bio-control // Farming Ahead. 2002. V. 124. P. 50–51.
- Monto A.S. Epidemiology of viral respiratory infections // Am. J. Med. 2002. V. 112. Suppl. 6A. P. 4S–12S.
- Shustov A.V., Kochneva G.V., Sivolobova G.F. *et al.* Molecular epidemiology of the hepatitis C virus in Western Siberia // J. Med. Virol. 2005. V. 77. No. 3. P. 382–389.
- Vogel G. HIV Strain analysis debuts in murder trial // Science. 1998. V. 282. No. 5390. P. 851–852.
- Williams J.V., Harris P.A., Tollefson S.J. *et al.* Human metapneumovirus and lower respiratory tract disease in otherwise healthy infants and children // N. Engl. J. Med. 2004. V. 350. No. 5. P. 443–450.