

генетических маркеров возбудителей клещевых инфекций имеют определенную связь с экологическими особенностями изучаемых территорий.

**УДК 619:616:578.834.1-091:636.8.053**

## **МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ SARS-COV-2, ЦИРКУЛИРУЮЩЕГО В ОРГАНИЗМЕ ЖИВОТНЫХ**

**Субботина И. А., Куприянов И. И.**

*ВГАВМ, г. Витебск*

Не смотря на объявление окончания пандемии COVID-19, данная болезнь не оставляет население планеты в покое, а ее возбудитель – коронавирус, получивший «имя» SARS-CoV-2, продолжает активно циркулировать в человеческой популяции и расширять спектр своих хозяев, инфицируя различные виды животных и прочно закрепляясь в их популяциях.

Сегодня уже известно, что гликопротеин Spike SARS-CoV-2 обладает широким тропизмом к хозяину в отношении рецепторов ACE-2 млекопитающих, несмотря на расхождение в аминокислоты в сайте связывания рецептора Spike на этих белках. Очевидно, широкий тропизм SARS-CoV-2 в месте проникновения вируса подтверждает потенциальный риск заражения широкого круга домашних животных, домашнего скота и диких животных. Во время пандемии COVID-19 были зарегистрированы естественные случаи передачи SARS-CoV-2 от человека животным, в том числе свободно гуляющим белохвостым оленям (*Odocoileus Virginianus*) в Северной Америке и выращиваемой американской норке (*Neovison vison*) на нескольких континентах. Чтобы понять потенциал вирусного тропизма, опосредованного ангиотензинпревращающим ферментом 2 (ACE-2), было изучено распределение рецепторов ACE-2 в тканях дыхательных путей и кишечника некоторых диких и полуодомашненных млекопитающих, включая парнокопытных (олений, быков, верблюдов, свиней, бегемота), различные виды кунных и ряда других животных с помощью иммуногистохимии. Экспрессия рецептора ACE-2 была обнаружена в бронхиальном или бронхиолярном эпителии нескольких европейских и азиатских видов оленей, двугорбого верблюда (*Camelus bactrianus*), европейского барсука (*Meles meles*), горностая (*Mustela erminea*), гиппопотама (*Hippopotamus amphibious*), морского тюленя (*Phocavitulina*), и хохлача (*Cystophoracristata*). Дальнейшее изучение рецепторов в носовых раковинах и трахее выявило редкую экспрессию рецептора ACE-2 в эпителиальных клетках слизистой оболочки и случайное появление в подслизистом железистом эпителии косули западной (*Capreolus capreolus*), лося (*Alces alces*) и альпаки (*Vicungapacos*).

Целью нашей работы стало изучение циркуляции вируса SARS-CoV-2 в популяциях различных видов животных.

Изучение циркуляции вируса SARS-CoV-2 проводилось в популяциях домашних и диких животных. Всего было задействовано 22 вида животных: кошка домашняя, собака, крупный рогатый скот, мелкий рогатый скот (овцы

и козы), кролик(декоративный и промышленные породы), морская свинка, шиншилла, свинья домашняя, лошадь, осел, норка американская, лиса чернобурая, хорь темный, мангуст, носуха, олень благородный, мышь желтогорлая, полевка рыжая, попугай волнистый, куры, лебедь-шипун.

Использовали следующий биологический материал: смывы со слизистых оболочек ротовой, носовой полостей, с прямой кишки и клоаки, кусочки паренхиматозных органов (легкие, сердце, печень, почки, селезенка, головной мозг, цельная кровь, сыворотка крови).

Для выявления РНК вируса в биологическом материале методом ПЦР использовали диагностическую тест-систему производителя «АртБиоТех» (г. Минск, Республика Беларусь), для выявления специфически антител к вирусу SARS-CoV-2 использовали набор для проведения ИФА производителя ID-Vet (Франция). Выделение вируса SARS-CoV-2 проводили на культуре клеток VERO. Секвенирование образцов, выделенных от животных, было выполнено с последующей сборкой последовательности вируса SARS-CoV-2. Использована технология NanoporeMinION с покрытием 2600x. Результаты были депонированы в базе GISAID [<https://gisaid.org/>].

В результате проведенного мониторинга по изучению циркуляции SARS-CoV-2 в популяциях различных видов животных нами были получены положительные результаты исследований (выделение РНК вируса SARS-CoV-2 либо выделение специфически антител к SARS-CoV-2) в популяциях следующих 12 видов животных: кошка домашняя (*Felis catus* Linnaeus, 1758), собака (*Canis familiaris* Linnaeus, 1758), коза камерунская (*Capra hircus* Linnaeus, 1758), свинья домашняя (*Sus domesticus* Erxleben, 1777), лошадь (*Equus ferus* Boddaert, 1785), осел (*Equus asinus* Linnaeus, 1758), норка американская (*Neovison vison* Schreber, 1777), хорь темный (*Mustela putorius* Linnaeus, 1758), носуха (*Nasua nasua* Linnaeus, 1766), попугай волнистый (*Melopsittacus undulatus* Shaw, 1805), желтогорлая мышь (*Sylvaemus flavicollis* Melchior, 1834), рыжая полёвка (*Myodes glareolus* Schreber, 1780). Специфические антитела были выделены у кошки домашней (34,9%) и собаки (6,7%), с титром антител от 0.705 до 3.361.

У двух видов животных – кошки домашней и норки американской был выделен вирус и проведено его секвенирование. В ходе данного исследования была получена информация о 2 новых разновидностях вируса, относящихся по классификации Pangо к подтипу В.1. Также были выявлены и отдельные мутации в генетической структуре вируса (таблицы 1 и 2).

Согласно данных мониторинга циркулирующих штаммов, подтип В.1 представляет большую Европейскую линию, которая вызвала вспышку заболеваемости в северной Италии в начале 2020 года. Стоит отметить некоторые мутации найденные в последовательностях – D614G, например, затрагивает спайкбелок вируса, который играет важную роль в проникновении вируса в клетки хозяина. Мутация D614G связана с повышенной инфекционностью и стала доминирующим вариантом во всем мире. Мутация R682Q расположена в рецептор-связывающем домене (RBD) спайкбелка. Она может потенциально влиять на взаимодействие вируса с рецептором ACE-2,

также влияя на способность проникновения вируса внутрь клеток человека и животных.

**Таблица 1 - Список отличительных мутаций hCoV-19/mink/Belarus/RRPCEM-VIS\_22160/2021. Образец получен от Mustelaputorius furo (2020-06-22) – Betacoronavirus Clade GH. GISAID Accession ID: EPI\_ISL\_2521999.**

Ген	Аминокислотные замены
S	D614G
S	R682Q
N	S194L
NS3	Q57H
NS7a	T61I
NS7a	V93F
NS7b	L6M
NSP2	A360V
NSP8	T141M
NSP12	P323L

**Таблица 2 - Список отличительных мутаций hCoV-19/cat/Belarus/RRPCEM-VIS\_18840/2021. Образец получен от Feliscatus (2020/11/19) – Betacoronavirus Clade GH. GISAID Accession ID: EPI\_ISL\_2100634.**

Ген	Аминокислотные замены
S	D614G
N	S194L
NS3	Q57H
NS7a	T61I
NS7a	V93F
NS7b	L6M
NSP8	T141M
NSP12	P323L

Таким образом, проведенные исследования доказали возможность циркуляции SARS-CoV-2 в организме различных видов животных, вызывая у отдельных видов развитие инфекционной болезни и даже летальный исход. Проведенное полногеномное секвенирование вируса SARS-CoV-2, выделенного из организма кошки домашней и норки американской показало значимые мутации в генетической структуре возбудителя, позволяющие ему легче проникать в клетку различных видов животных. Выделение вируса в большом количестве из организма домашних питомцев говорит о необходимости проведения более глубокого изучения данного вопроса с точки зрения его эпидемиологической значимости.