



Геномный мониторинг вируса SARS-CoV-2, циркулировавшего на территории Кыргызской Республики в 2020–2021 гг.

А.Б. Джумаканова

*Департамент профилактики заболеваний и государственного санитарно-эпидемиологического надзора
Министерства здравоохранения Кыргызской Республики,
ул. Фрунзе, д. 535, г. Бишкек, 720033, Кыргызская Республика*

Резюме

Введение. РНК-содержащий вирус тяжелого острого респираторного заболевания SARS-CoV-2 быстро распространился по миру вследствие адаптации к хозяину путем генетической эволюции. Появление геновариантов с мутациями, повышающими контагиозность и трансмиссивность, могут негативно влиять на эффективность программ борьбы с заболеванием и снизить эффективность вакцинации.

Цель исследования: выявление доминирующих геновариантов вируса SARS-CoV-2, циркулирующих на территории Кыргызской Республики в 2020–2021 гг.

Материалы и методы. Геномный мониторинг был проведен на положительных мазках из носоглотки. Диагностику COVID-19 проводили методом ПЦР в реальном времени с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) на различных коммерческих тест-системах.

Определение геновариантов ($n = 15$) проводилось методом высокопроизводительного секвенирования на приборе MiSeq по протоколу ARTIC v3. Изучение мутационной изменчивости вируса SARS-CoV-2 проводили посредством кластерного анализа аминокислотных замен в S-белке по методу Уорда. Нуклеотидные последовательности из Кыргызстана ($n = 15$), России ($n = 16$), Индии ($n = 2$) и Китая ($n = 2$) выравнивали с помощью MAFFT. Филогенетическое дерево было создано с помощью метода максимального правдоподобия (ML) в IQ-TREE v1.6.12 с использованием процессов Nextstrain. Корнем дерева считались образцы SARS-CoV-2 Wuhan/Hu-1/2019 и Wuhan/WH01/2019, загруженными из базы данных GenBank®.

Результаты. Филогенетический анализ полученных данных выявил, что доминирующим геновариантом VOC был B.1.1.7 (Alpha), на долю которого приходилось 36,4 % (12/33), также был выявлен B.1.351 (Beta) VOC, на долю которого приходилось 6,1 % (2/33). При исследовании образцов на наличие аминокислотных замен в S-белке обнаружено, что изоляты B.1.1.7 Alpha (Британский) кластеризуются на две отдельные ветви.

Заключение. Изучение частоты и влияния мутаций на патогенетические свойства вируса, а также анализ преобладающих геновариантов вируса позволяют своевременно принимать меры по противодействию распространению вируса SARS-CoV-2 в стране. В связи с этим необходим постоянный геномный мониторинг за циркулирующими геновариантами COVID-19.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, COVID-19, ПЦР в реальном времени, новая коронавирусная инфекция.

Для цитирования: Джумаканова А.Б. Геномный мониторинг вируса SARS-CoV-2, циркулировавшего на территории Кыргызской Республики в 2020–2021 гг. // Здоровье населения и среда обитания. 2024. Т. 32. № 3. С. 63–69. doi: 10.35627/2219-5238/2024-32-3-63-69

Genome Monitoring of SARS-CoV-2 Circulating in the Kyrgyz Republic in 2020–2021

Aigul B. Dzhumakanova

*Department of Disease Prevention and State Sanitary and Epidemiological Surveillance of the Ministry of Health
of the Kyrgyz Republic, 535 Frunze Street, Bishkek, 720033, Kyrgyz Republic*

Summary

Introduction: The RNA-containing severe acute respiratory syndrome virus SARS-CoV-2 has spread rapidly around the world by adaptation to the host through genetic evolution. The emergence of variants with genetic mutations that increase contagiousness and transmission may hamper the effectiveness of disease control programs and efficacy of vaccination.

Objective: To establish dominant SARS-CoV-2 variants circulating in the Kyrgyz Republic in 2020–2021.

Materials and methods: Genomic monitoring was carried out based on positive results of testing nasopharyngeal swabs. SARS-CoV-2 was detected by a real-time reverse transcription –polymerase chain reaction (RT-PCR) assay using registered commercial test kits. Genetic variants ($n = 15$) were determined by high-throughput sequencing on a MiSeq device (Illumina, USA) using the COVID-19 ARTIC v3 protocol. Mutational variability of SARS-CoV-2 was examined using a cluster analysis of amino acid substitutions in the S protein applying Ward's method. Nucleotide sequences from Kyrgyzstan ($n = 15$), Russia ($n = 16$), India ($n = 2$), and China ($n = 2$) were aligned using MAFFT. IQ-TREE v1.6.12 was used to infer the phylogenetic tree by maximum likelihood applying Nextstrain processes. Isolates Wuhan/Hu-1/2019 and Wuhan/WH01/2019 downloaded from the GenBank® database were considered to be the root of the tree (reference).

Results: Phylogenetic data analysis revealed that SARS-CoV-2 B.1.1.7 (Alpha) was the dominant VOC variant, the proportion of which was as high as 36.4 % (12/33); B.1.351 (Beta) was also found (6.1 % or 2/33). When samples were examined for amino acid substitutions in the S-protein, B.1.1.7 Alpha (British) isolates were found to cluster into two distinct branches.

Conclusion: The study of the frequency and influence of mutations on pathogenetic properties of the virus, as well as the analysis of the predominant variants of the virus will allow timely measures to be taken to counteract the spread of SARS-CoV-2 in the country. In this regard, continuous genome monitoring of circulating COVID-19 variants is necessary.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, real-time PCR, novel coronavirus disease.

Cite as: Dzhumakanova AB. Genome monitoring of SARS-CoV-2 circulating in the Kyrgyz Republic in 2020–2021. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya*. 2024;32(3):63–69. (In Russ.) doi: 10.35627/2219-5238/2024-32-3-63-69

Введение. В марте 2020 года Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объявила COVID-19 глобальной пандемией. В декабре 2019 года в г. Ухани (провинция Хубэй, КНР) был зарегистрирован первый случай заражения вирусом острого респираторного синдрома коронавируса 2 (SARS-CoV-2, COVID-19) [1–5]. SARS-CoV-2 является оболочечным одноцепочечным РНК-вирусом, относящимся к семейству *Coronaviridae*, роду *Betacoronavirus* [2, 6]. 30 января 2020 года ВОЗ объявила SARS-CoV-2 вспышкой и чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения, имеющей международное значение, а 11 марта 2020 года COVID-19 был объявлен пандемией [6].

Предполагается, что SARS-CoV-2 имеет зоонозное происхождение, хотя точный зоонозный источник исходного вируса и точность его появления у людей остаются неизвестными [7, 8]. Известно, что SARS-CoV-2 примерно на 96 % гомологичен с сарбековирусом летучих мышей RaTG13, а специфические гены высококонсервативны у COVID-19 и других коронавирусов летучих мышей [3, 9, 10]. Филогенетический анализ показывает регулярность случаев рекомбинации между SARS-CoV и коронавирусами летучих мышей [10, 11]. Исходя из этих данных возможно предположить, что вирус SARS-CoV-2 произошел от коронавирусов летучих мышей.

Рекомбинация РНК COVID-19 происходит с высокой скоростью [10, 12–15] и играет важную роль в их эволюции. Известно, что коронавирусы имеют самые большие известные геномы среди РНК-вирусов, что обеспечивает вирусу дополнительную пластичность для мутаций и рекомбинаций по сравнению с вирусами, содержащими меньший геном [10, 14]. Варианты SARS-CoV-2 обычно характеризуются совокупностью специфических мутаций, которые могут повысить их трансмиссивность, контагиозность, иммунологический уклон и фенотипические характеристики [16, 17]. Эти свойства позволили COVID-19 быстро распространиться по всему миру с резким увеличением числа случаев [18, 19].

По мере того как SARS-CoV-2 распространялся, вирусный геном продолжал приобретать новые мутации, некоторые из которых получили широкое распространение. До конца 2020 года наиболее заметной была мутация S-белка D614G. Вариант G614 стал доминирующим к июню 2020 года [20, 21]. Такое быстрое распространение, по-видимому, произошло из-за повышенной контагиозности, стабильности и трансмиссивности по сравнению с уханьской формой D614, что является результатом перехода к открытой конфигурации тримера S-белка, который необходим для связывания с ангиотензинпревращающим ферментом 2 (ACE2) [20] и входа в клетку-хозяина [3, 10, 20, 22].

Повышенная контагиозность вызывает особую озабоченность, поскольку она может потребовать введения более строгих мер общественного здравоохранения. Вариант уклонения от нейтрализации

антител может снизить эффективность вакцин, что потребует разработки новых или модификации существующих вакцин. Данные факторы оказывают существенное влияние на борьбу с пандемией [10].

Цель исследования – выявление доминирующих геновариантов вируса SARS-CoV-2, циркулирующих в Кыргызской Республике в 2020–2021 гг.

Материалы и методы. Биологическим материалом для исследования являлись мазки из носоглотки, мокрота и аутопсийный материал в вирусологической транспортной среде от лиц с подозрением на COVID-19, контактные лица и от лиц, выезжающих за пределы республики и сдающих биоматериал с профилактической целью согласно рекомендациям ВОЗ. Всего за период 2020–2021 гг. методом ОТ-ПЦР было исследовано 2 361 654 образца биоматериала. Из них вирус SARS-CoV-2 выявили только в мазках из носоглотки – 109 874 (5,9 %).

Диагностику COVID-19 проводили методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) на следующих зарегистрированных коммерческих тест-системах: ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «Вектор-ПЦРv-2019-nCoV-RG» (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Российская Федерация), ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «Вектор-OneStepПЦР-CoV-RG» (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Российская Федерация), «ОТ-ПЦР в режиме реального времени РеалБест РНК SARS-CoV-2» (АО «Вектор-Бест», Российская Федерация), «ОТ-ПЦР в режиме реального времени SARS-CoV-2/SARS-CoV» (ООО «ДНК-Технология-ТС», Российская Федерация), ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® Cov-Bat-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Российская Федерация), SunsureBiotech (Китайская Народная Республика, КНР), BioSpeedy (Турция), WHO (Германия), «Алсенс» (Республика Беларусь). Амплификацию и учет реакции проводили на приборах планшетного и роторного типа: RotorGene (Qiagen, Нидерланды), Biorad (Bio-Rad Laboratories, Соединенные Штаты Америки, США), DT-96 (ДНК-Технология, Российская Федерация) и GeneXpert (Cepheid GeneXpert, США) при экстренных ситуациях.

Определение геновариантов проводилось методом высокопроизводительного секвенирования на приборе MiSeq (Illumina, США) по протоколу ARTIC v3 с последующим биоинформационным анализом в соответствующих аккредитованных лабораториях ведущих референс лабораториях ВОЗ.

Для исследования были отобраны 33 образца, в том числе 10 образцов, имеющих пороговый цикл ст ниже 27, и 4 образца, имеющих цикл до 31. Нуклеотидные последовательности 33 образцов, выделенных на территории Кыргызской Республики, и 20 образцов из GISAID¹ выравнивали с помощью MAFFT². 19 образцов были удалены в силу низкого качества сиквенса. Кластерный анализ был проведен с применением восходящего агломеративного

¹ GISAID. 2024. Tracking of variants. [Электронный ресурс.] Режим доступа: <https://gisaid.org/hcov19-variants/> (дата обращения 14 января 2024).

² MAFFT version 7. Multiple alignment program for amino acid or nucleotide sequences. [Электронный ресурс.] Режим доступа: <https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/index.html> (дата обращения: 14 января 2024 г.).

подхода по методу Уорда³, который предполагает объединение ближайших кластеров, расчет их суммы квадратов отклонений и объединение в кластеры объектов с наименьшим приращением величины суммы квадратов отклонений. Исходное предковое дерево было создано с помощью филогенетического анализа с использованием метода максимального правдоподобия (ML) в IQ-TREE v1.6.12 [23] по модели нуклеотидных замен GTR, которая была выбрана как наиболее подходящая в jModelTest 2.1.7 [24]. Для проверки геноварианта методом ML к выравненным последовательностям из Кыргызской Республики были добавлены эталонные последовательности геновариантов и их сублиний, которые были взяты из базы данных последовательностей SARS-CoV-2 GISAID. Изменения аминокислотных замен S-белков изолятов COVID-19, выделенных на территории Кыргызской Республики, позволил определить 2 клада образцов SARS-CoV-2 с высокой статистической поддержкой (PP $\approx$ 1,0 во всех случаях). В результате субтипирования кыргызских образцов удалось выявить наиболее часто циркулирующие варианты VOC в Кыргызской Республике и в мире – Альфа (B.1.1.7) и Бета (B.1.351). При исследовании мутаций в структурных белках SARS-CoV-2 разных генетических вариантов зафиксировано наибольшее разнообразие замен в S-белке: D138H, A262T, N501Y, D614G и A892V, являющихся примерами общих мутаций между вариантами B.1.1.7 Alpha и B.1.351 Beta. Полученное филогенетическое дерево было подтверждено с использованием локального экземпляра рабочего процесса Nextstrain⁴, который

использует анализ ML, реализованный в Tree-Time [25]. Общий набор данных для анализа Nextstrain ML содержал 35 последовательностей SARS-CoV-2: 15 последовательностей S-белков вируса из Кыргызской Республики и 20 полных геномов глобальных последовательностей SARS-CoV-2 в качестве внешней группы, взятых в открытой базе данных. Визуализация дерева была проведена онлайн с помощью Auspice версии 2.24.0⁵. Корнем дерева считались образцы SARS-CoV-2 Wuhan/Hu-1/2019 и Wuhan/WH01/2019, загруженные из базы данных GenBank®. Репрезентативность отбора образцов для секвенирования была обеспечена согласно критериям, рекомендованным ВОЗ⁶.

Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием стандартных методов описательной статистики с помощью программы Microsoft Office Excel 2010.

Результаты. С целью определения геновариантов SARS-CoV-2, вызывающих озабоченность (variant of concern, VOC) и представляющих интерес (variants of interest, VOI), было исследовано 53 клинических образца с положительным результатом ПНК COVID-19. В результате проведения секвенирования было получено 33 нуклеотидные последовательности генома коронавируса SARS-CoV-2 с покрытием от 91 до 99 % bp.

Анализ данных проведенных исследований показал, что доминирующим являлся геновариант B.1.1.7 (Alpha) – 36,4 % (12/33), B.1.1.141 – 12,1 % (4/33), B.1.1.29, B.1.1.289 и B.1.1.294 – по 9,1 % (3/33), B.1.351 (Beta) и B.1.1.84 – по 6,1 % (2/33) (рис. 1).

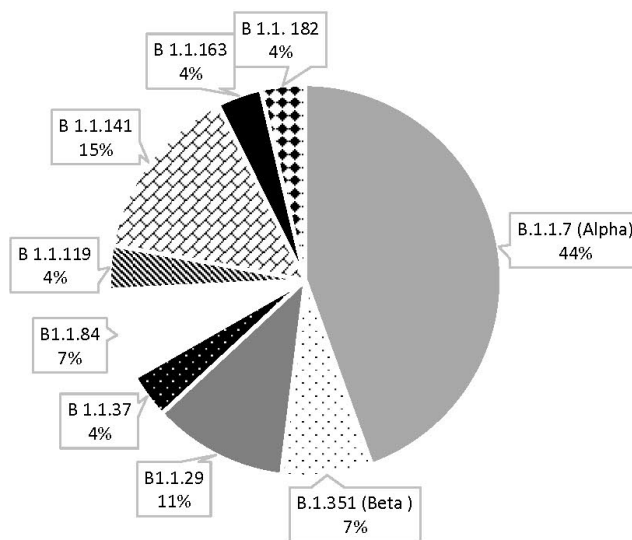


Рис. 1. Структура геновариантов вируса SARS-CoV-2, выделенных на территории Кыргызской Республики в 2020–2021 гг.

Fig. 1. SARS-CoV-2 variants isolated in the Kyrgyz Republic in 2020–2021

³ PennState Eberly College of Science. Applied Multivariate Statistical Analysis. [Электронный ресурс.] Режим доступа: <https://online.stat.psu.edu/stat505/lesson/14/14.7> (дата обращения 29 февраля 2024 г.).

⁴ Genomic epidemiology of SARS-CoV-2 with subsampling focused globally. [Электронный ресурс.] Режим доступа: <https://nextstrain.org/ncov/gisaid/global/6m> (дата обращения: 14 января 2024 г.).

⁵ Snyk Vulnerability Database [Электронный ресурс.] Режим доступа: <https://security.snyk.io/package/npm/auspice/2.24.0> (дата обращения: 14 января 2024 г.).

⁶ World Health Organization. Surface sampling of coronavirus disease (COVID-19): a practical “how to” protocol for health care and public health professionals. Epidemiological protocol. [Электронный ресурс.] Режим доступа: [https://www.who.int/publications/i/item/surface-sampling-of-coronavirus-disease-\(covid-19\)-a-practical-how-to-protocol-for-health-care-and-public-health-professionals](https://www.who.int/publications/i/item/surface-sampling-of-coronavirus-disease-(covid-19)-a-practical-how-to-protocol-for-health-care-and-public-health-professionals) (дата обращения: 14 января 2024 г.).

Согласно классификации Центра по контролю и профилактике заболеваний США⁷ (ВОЗ⁸) было обнаружено 14 изолятов VOC вариантов COVID-19. Данные изоляты относились к геновариантам Alpha (B.1.1.7) «Британский» и Beta (B.1.351) «ЮАР». Остальные геноварианты относились к вариантам VOI.

На рис. 2 представлено филогенетическое дерево, построенное на основе полногеномных нуклеотидных последовательностей SARS-CoV-2, циркулирующих на территории Кыргызской Республики.

Всего для построения филогенетического дерева геновариантов VOC было использовано 35 полногеномных последовательностей SARS-CoV-2, из которых 15 были последовательностями изолятов COVID-19, выделенных на территории Республики Кыргызстан в рамках данного исследования. Были добавлены нуклеотидные последовательности исследованных ранее изолятов COVID-19, выделенных на территории Российской Федерации – 16, на территории Индии – 2 и города Ухани (КНР) – 2.

Филогенетический анализ изученных геномов вируса SARS-CoV-2 показал, что 35 полных последовательностей генома сгруппированы в пять отдельных генетических кластеров – 20B, 20I/501Y, V1, 20A, 19A и 20A/N.194L.

С целью детального изучения эволюции, геномного разнообразия и динамики мутационной изменчивости вируса SARS-CoV-2, циркулирующего на территории Кыргызской Республики, нами был проведен кластерный анализ аминокислотных замен в S-белке. Результаты проведенного анализа представлены в табл. 1 и 2.

Основное число аминокислотных замен в S-белке обнаружено у изолятов, принадлежащих к Британскому варианту B. 1.1.7 Alpha. Обнаружено, что изоляты B.1.1.7 Alpha (Британский) кластеризуются на две отдельные ветви. У изолятов, принадлежащих к южно-африканскому варианту B.1.351 Beta, аминокислотных замен в S-белке не обнаружено.

Обсуждение. В данном исследовании описаны геноварианты коронавируса тяжелого острого респираторного синдрома 2 (SARS-CoV-2), циркулирующие на территории Кыргызской Республики в 2021 г. Положительные изоляты COVID-19 были получены от пациентов с симптомами коронавирусной инфекции.

Вирусам SARS-CoV-2 свойственны часто возникающие мутации, которые связаны с чрезвычайно высокой скоростью роста и являются механизмом адаптации к одной и той же клетке-хозяину [10, 26, 27]. Геновариант Alpha (B.1.1.7) отличается от последовательности SARS-CoV-2 исходного дикого штамма примерно на 30 мутаций и включает сотни тысяч доступных в настоящее время последовательностей [27, 28]. Вариант Alpha был впервые обнаружен в городе Кенте (Великобритания) в конце лета 2020 года, а к середине декабря 2020 года составил более трети инфицированного населения страны [27]. К 2021 г. штамм SARS-CoV-2 Alpha (B.1.1.7/GR/501Y.V1/20I) из Великобритании быстро распространился по континентальной Европе, США, Латинской Америке и Российской Федерации [16, 17, 27, 29–32]. Полученные в нашем исследовании данные согласуются с данными из источников литературы,

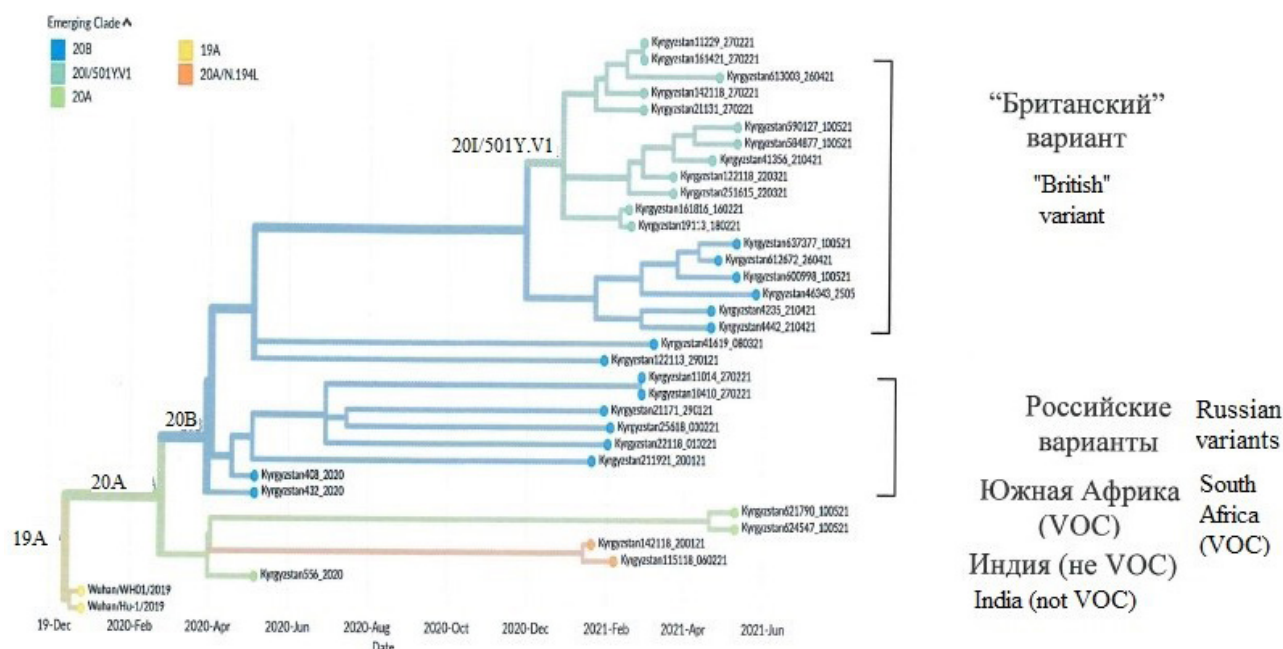


Рис. 2. Филогенетическое дерево геномов вируса SARS-CoV-2 VOC, циркулировавших на территории Кыргызской Республики в 2020–2021 гг. Добавлены нуклеотидные последовательности, исследованные ранее

Fig. 2. The phylogenetic tree of SARS-CoV-2 VOC genomes circulating in the Kyrgyz Republic in 2020–2021. Nucleotide sequences previously investigated have been added

⁷ Centers for Disease Control and Prevention. [Электронный ресурс.] Режим доступа: <https://www.cdc.gov/>, (дата обращения 14 января 2024 г.).

⁸ World Health Organization. Tracking SARS-CoV-2 variants. [Электронный ресурс.] Режим доступа: <https://www.who.int/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/> (дата обращения: 14 января 2024 г.).

Таблица 1. Аминокислотные замены в S-белке изолятов SARS-CoV-2, принадлежащих к Британскому варианту B.1.1.7 Alpha**Table 1. Amino acid substitutions in the S protein of SARS-CoV-2 isolates belonging to the British B.1.1.7 Alpha variant**

Изолят / Isolate	69-70del	S98F	D138H	Y145del	A262T	D290D	N501Y	A570D	D614G	P681H	T716I	A892V	S982A	P1079S	D1118H
kyrgyzstan41356/210421	+	+	+	+	–	–	–	+	+	+	+	–	+	–	+
kyrgyzstan584877/100521	+	+	+	+	–	–	–	+	+	+	+	–	+	–	+
kyrgyzstan590127/100521	+	+	+	+	–	–	–	+	+	+	+	–	+	–	+
kyrgyzstan46343/250521	+	–	–	+	+	–	–	+	+	+	+	+	+	–	+
kyrgyzstan613003/260421	+	–	–	+	+	–	+	+	+	+	+	–	+	+	+
kyrgyzstan637377/100521	+	–	–	+	–	+	–	+	+	+	+	–	+	–	+
kyrgyzstan612672/260421	+	–	–	+	–	+	–	+	+	+	+	–	+	–	+
kyrgyzstan4235/210421	+	–	–	+	–	–	–	+	+	+	+	–	+	–	+
kyrgyzstan4442/210421	+	–	–	+	–	–	–	+	+	+	+	–	+	–	+
kyrgyzstan600998/100521	+	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	–	+	–	+
kyrgyzstan630889/100521	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–	–	+	–	+
kyrgyzstan624535/100521	+	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–	–	+

Примечание: жирным шрифтом отмечены мутации, по которым определяется принадлежность к британскому варианту.

Notes: mutations, by which the belonging to the British variant is determined, are in bold.

Таблица 2. Мутации в S-гене для геномов, принадлежащих к южно-африканскому варианту B.1.351. Beta**Table 2. Mutations in the S gene for genomes belonging to the South African variant B.1.351. Beta**

Изолят / Isolate	*L18P	D80A	D138H	D215G	*242-244del	A262T	K417N	E484K	N501Y	D614G	A701V	A892V
kyrgyzstan624547 / 100521	+	+	+			+			+		+	+
kyrgyzstan62179 / 100521	+	+	+			+			+		+	+

Примечание: жирным шрифтом отмечены мутации, по которым определяется принадлежность к южно-африканскому варианту; (*) – мутация, встречающаяся не для всех южно-африканских вариантов.

Notes: mutations, by which the belonging to the South African variant is determined, are in bold; (*) – mutation not found for all South African variants.

согласно которым на территории Кыргызской Республики в начале 2021 г. также доминировал геновариант Alpha (B.1.1.7) «Британский». Широкое распространение геноварианта – результат повышенной на 90 % по сравнению с предшественниками трансмиссивности Alpha [17, 33]. Исследование, проведенное Вассалло и соавт. (2021), показало, что пациенты, инфицированные вариантом Alpha, имели в 3,8 раза более высокий риск смерти или перевода в отделение интенсивной терапии (ОИТ) по сравнению с теми, кто заразился исходным диким штаммом [6, 18].

Анализ аминокислотных замен в исследованных нами образцах выявил 9 мутаций – 69-70del, Y145del, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H. Наши данные согласуются с данными источников литературы о том, что геноварианту Alpha свойственно большое количество мутаций (всего 27, исключая мутацию D614G), из которых 20 (17 аминокислотных замен и 3 делеции) являются изменяющимися аминокислотами. Восемь из этих мутаций находятся в гене S [10]. Делеция в положении 69/70 (69/70del) произошла в нескольких других линиях SARS-CoV-2 в связи с изменениями RBD и может быть связана с уклонением от иммунитета или с инфекционностью [10]. Мутация N501Y находится внутри RBD и влияет на аффинность связывания с рецептором ACE2 [10, 34]. Мутация P681H прилегает к участку расщепления

фурином на стыке доменов S1 и S2 белка-шипа, что улучшает трансмиссивность вируса и проникновение в клетки легких [10, 35, 36]. Недавние данные свидетельствуют о том, что частота мутаций в положении 681 растет экспоненциально во всем мире [10, 37]. Эти данные могут свидетельствовать о процессе эволюции данного геноварианта коронавируса в локальных популяциях на территории Кыргызской Республики.

Еще одним геновариантом вируса SARS-CoV-2, выявленным на территории Кыргызской Республики в нашем исследовании, был геновариант Beta (B.1.351). Первый случай геноварианта Beta-варианта был выявлен в заливе Нельсона Манделы (Южно-Африканская Республика, ЮАР) в октябре 2020 года. К концу ноября 2020 года эта линия преобладала в Восточно-Капской и Западно-Капской провинциях ЮАР. К январю 2021 года было известно о 415 случаях заражения этим вариантом, обнаруженных в 13 разных странах [27]. Анализ аминокислотных замен в исследованных нами образцах выявил 9 мутаций – L18P, D80A, D215G, 242-244del, K417N, E484K, N501Y, D614G, A701V. Согласно данным литературы этот геновариант имеет 19 мутаций (исключая D614G), включая 8 мутаций в области гена S, в дополнение к вариативным изменениям в положении L242 (делеция или другая несинонимичная замена) [27, 38]. Три из этих мутаций находятся в ключевых

сайтах RBD, связанных с уклонением от иммунного ответа: N501Y (общий с Alpha), E484K и K417N [10, 35]. Эти мутации могут привести к изменениям конформации, ставящие под угрозу эффективность вакцин [27, 39–41].

Выявленные на территории Кыргызской Республики геноварианты являются широко распространенными, которые стали доминирующими вариантами не только в тех географических регионах, где они были впервые идентифицированы. По состоянию на 14 января 2024 года⁹ геноварианты Alpha «Британский» и Beta «ЮАР» являются широко распространенными и были зарегистрированы в 190 странах и 131 стране соответственно. Быстрое распространение различных геновариантов SARS-CoV-2 убедительно свидетельствует о том, что эти варианты имеют преимущества в передаче перед предковыми вирусами [10].

Заключение. Эпидемические волны COVID-19 часто ассоциируются с появлением новых геновариантов вируса SARS-CoV-2. Появление геновариантов, несущих мутации, повышающих контагиозность и трансмиссивность, а также способствующих уклонению от антител, могут потенциально негативно влиять на эффективность программ борьбы с заболеванием, снизить эффективность вакцинации и привести к новым пандемиям. Проведение геномного мониторинга за циркулирующими на территории Кыргызской Республики геновариантами вируса SARS-CoV-2 может служить предиктором развития коронавирусной инфекции в стране, что и позволит своевременно принимать меры по противодействию распространению вируса SARS-CoV-2.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Li Q, Tang B, Bragazzi NL, Xiao Y, Wu J. Modeling the impact of mass influenza vaccination and public health interventions on COVID-19 epidemics with limited detection capability. *Math Biosci.* 2020;325:108378. doi: 10.1016/j.mbs.2020.108378
- Wu F, Zhao S, Yu B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature.* 2020;579(7798):265–269. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3
- Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature.* 2020;579(7798):270–273. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7
- Wang C, Liu Z, Chen Z, et al. The establishment of reference sequence for SARS-CoV-2 and variation analysis. *J Med Virol.* 2020;92(6):667–674. doi: 10.1002/jmv.25762
- Kumar M, Taki K, Gahlot R, Sharma A, Dhangar K. A chronicle of SARS-CoV-2: Part-I – Epidemiology, diagnosis, prognosis, transmission and treatment. *Sci Total Environ.* 2020;734:139278. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.139278
- Nasereddin A, Al-Jawabreh A, Dumaidi K, Al-Jawabreh A, Al-Jawabreh H, Erekat S. Tracking of SARS-CoV-2 Alpha variant (B.1.1.7) in Palestine. *Infect Genet Evol.* 2022;101:105279. doi: 10.1016/j.meegid.2022.105279
- Boni MF, Lemey P, Jiang X, et al. Evolutionary origins of the SARS-CoV-2 sarbecovirus lineage responsible for the COVID-19 pandemic. *Nat Microbiol.* 2020;5(11):1408–1417. doi: 10.1038/s41564-020-0771-4
- MacLean OA, Lytras S, Weaver S, et al. Natural selection in the evolution of SARS-CoV-2 in bats created a generalist virus and highly capable human pathogen. *PLoS Biol.* 2021;19(3):e3001115. doi: 10.1371/journal.pbio.3001115
- Ellis P, Somogyvári F, Virok DP, Nosedá M, McLean GR. Decoding Covid-19 with the SARS-CoV-2 genome. *Curr Genet Med Rep.* 2021;9(1):1–12. doi: 10.1007/s40142-020-00197-5
- McLean G, Kamil J, Lee B, et al. The impact of evolving SARS-CoV-2 mutations and variants on COVID-19 vaccines. *mBio.* 2022;13(2):e0297921. doi: 10.1128/mbio.02979-21
- Li X, Giorgi EE, Marichannelowda MH, et al. Emergence of SARS-CoV-2 through recombination and strong purifying selection. *Sci Adv.* 2020;6(27):eabb9153. doi: 10.1126/sciadv.abb9153
- Bobay LM, O'Donnell AC, Ochman H. Recombination events are concentrated in the spike protein region of Betacoronaviruses. *PLoS Genet.* 2020;16(12):e1009272. doi: 10.1371/journal.pgen.1009272
- Lai MM, Cavanagh D. The molecular biology of coronaviruses. *Adv Virus Res.* 1997;48:1–100. doi: 10.1016/S0065-3527(08)60286-9
- Su S, Wong G, Shi W, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol.* 2016;24(6):490–502. doi: 10.1016/j.tim.2016.03.003
- Lytras S, Hughes J, Martin D, et al. Exploring the natural origins of SARS-CoV-2 in the light of recombination. *Genome Biol Evol.* 2022;14(2):evac018. doi: 10.1093/gbe/evac018
- Volz E, Mishra S, Chand M, et al. Assessing transmissibility of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. *Nature.* 2021;593(7858):266–269. doi: 10.1038/s41586-021-03470-x
- Slavov SN, Bezerra RDS, Rodrigues ES, et al. Genomic monitoring of the SARS-CoV-2 B.1.1.7 (WHO VOC Alpha) in the Sao Paulo state, Brazil. *Virus Res.* 2022;308:198643. doi: 10.1016/j.virusres.2021.198643
- Vassallo M, Manni S, Klotz C, et al. Patients admitted for variant Alpha COVID-19 have poorer outcomes than those infected with the old strain. *J Clin Med.* 2021;10(16):3550. doi: 10.3390/jcm10163550
- Velavan TP, Meyer CG. The COVID-19 epidemic. *Trop Med Int Health.* 2020;25(3):278–280. doi: 10.1111/tmi.13383
- Yurkovetskiy L, Wang X, Pascal KE, et al. Structural and functional analysis of the D614G SARS-CoV-2 spike protein variant. *Cell.* 2020;183(3):739–751.e8. doi: 10.1016/j.cell.2020.09.032
- Korber B, Fischer WM, Gnanakaran S, et al.; Sheffield COVID-19 Genomics Group. Tracking changes in SARS-CoV-2 spike: Evidence that D614G increases infectivity of the COVID-19 virus. *Cell.* 2020;182(4):812–827.e19. doi: 10.1016/j.cell.2020.06.043
- Plante JA, Liu Y, Liu J, et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. *Nature.* 2021;592(7852):116–121. doi: 10.1038/s41586-020-2895-3
- Nguyen LT, Schmidt HA, von Haeseler A, Minh BQ. IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol Biol Evol.* 2015;32(1):268–274. doi: 10.1093/molbev/msu300
- Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. jModelTest 2: More models, new heuristics and parallel computing. *Nat Methods.* 2012;9(8):772. doi: 10.1038/nmeth.2109
- Sagulenko P, Puller V, Neher RA. TreeTime: Maximum-likelihood phylodynamic analysis. *Virus Evol.* 2018;4(1):vex042. doi: 10.1093/ve/vex042
- Tian X, Li C, Huang A, et al. Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):382–385. doi: 10.1080/22221751.2020.1729069
- Melnik A, Mohebbi F, Knyazev S, et al. From Alpha to Zeta: Identifying variants and subtypes of SARS-CoV-2 via clustering. *J Comput Biol.* 2021;28(11):1113–1129. doi: 10.1089/cmb.2021.0302
- Rambaut A, Holmes EC, O'Toole Á, et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist

⁹ GISAID. 2024. Tracking of variants. [URL: <https://gisaid.org/hcov19-variants/>] (дата обращения: 14 января 2024 г.).

<https://doi.org/10.35627/2219-5238/2024-32-3-63-69>
Original Research Article

- genomic epidemiology. *Nat Microbiol.* 2020;5(11):1403–1407. doi: 10.1038/s41564-020-0770-5
29. Washington NL, Gangavarapu K, Zeller M, *et al.* Emergence and rapid transmission of SARS-CoV-2 B.1.1.7 in the United States. *Cell.* 2021;184(10):2587–2594.e7. doi: 10.1016/j.cell.2021.03.052
 30. Gaymard A, Bosetti P, Feri A, *et al.* ANRS MIE AC43 COVID-19; French viro COVID group. Early assessment of diffusion and possible expansion of SARS-CoV-2 Lineage 201/501Y.V1 (B.1.1.7, variant of concern 202012/01) in France, January to March 2021. *Euro Surveill.* 2021;26(9):2100133. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2021.26.9.2100133
 31. Loconsole D, Centrone F, Morcavallo C, *et al.* Rapid spread of the SARS-CoV-2 variant of concern 202012/01 in southern Italy (December 2020–March 2021). *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(9):4766. doi: 10.3390/ijerph18094766
 32. Акимкин В.Г., Попова А.Ю., Хафизов К.Ф., и др. COVID-19: эволюция пандемии в России. Сообщение II: динамика циркуляции геновариантов вируса SARS-CoV-2. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2022;99(4):381–396. doi: 10.36233/0372-9311-295
 33. Akimkin VG, Popova AY, Khafizov KF, *et al.* COVID-19: Evolution of the pandemic in Russia. Report II: Dynamics of the circulation of SARS-CoV-2 genetic variants. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii.* 2022;99(4):381–396. (In Russ.) doi: 10.36233/0372-9311-295
 34. Davies NG, Abbott S, Barnard RC, *et al.* CMMID COVID-19 Working Group; COVID-19 Genomics UK (COG-UK) Consortium. Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. *Science.* 2021;372(6538):eabg3055. doi: 10.1126/science.abg3055
 35. Starr TN, Greaney AJ, Hilton SK, *et al.* Deep mutational scanning of SARS-CoV-2 receptor binding domain reveals constraints on folding and ACE2 binding. *Cell.* 2020;182(5):1295–1310.e20. doi: 10.1016/j.cell.2020.08.012
 36. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Pöhlmann S. A multibasic cleavage site in the spike protein of SARS-CoV-2 is essential for infection of human lung cells. *Mol Cell.* 2020;78(4):779–784.e5. doi: 10.1016/j.molcel.2020.04.022
 37. Peacock TP, Goldhill DH, Zhou J, *et al.* The furin cleavage site in the SARS-CoV-2 spike protein is required for transmission in ferrets. *Nat Microbiol.* 2021;6(7):899–909. doi: 10.1038/s41564-021-00908-w
 38. Maison DP, Ching LL, Shikuma CM, Nerurkar VR. Genetic characteristics and phylogeny of 969-bp S gene sequence of SARS-CoV-2 from Hawai'i reveals the worldwide emerging P681H mutation. *Hawaii J Health Soc Welf.* 2021;80(3):52–61.
 39. Tegally H, Wilkinson E, Giovanetti M, *et al.* Detection of a SARS-CoV-2 variant of concern in South Africa. *Nature.* 2021;592(7854):438–443. doi: 10.1038/s41586-021-03402-9
 40. Galloway SE, Paul P, MacCannell DR, *et al.* Emergence of SARS-CoV-2 B.1.1.7 lineage – United States, December 29, 2020 – January 12, 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2021;70(3):95–99. doi: 10.15585/mmwr.mm7003e2
 41. Tang JW, Toovey OTR, Harvey KN, Hui DDS. Introduction of the South African SARS-CoV-2 variant 501Y.V2 into the UK. *J Infect.* 2021;82(4):e8–e10. doi: 10.1016/j.jinf.2021.01.007
 42. Zucman N, Uhel F, Descamps D, Roux D, Ricard J-D. Severe reinfection with South African severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) variant 501Y.V2. *Clin Infect Dis.* 2021;73(10):1945–1946. doi: 10.1093/cid/ciab129

Сведения об авторе:

✉ **Джумаканова** Айгуль Бейшебаевна – начальник Центра лабораторных испытаний Департамента профилактики заболеваний и Госсанэпиднадзора МЗ КР; e-mail: aigul.dzumkanova.dgsn@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-9065-6744>.

Информация о вкладе автора: автор подтверждает единоличную ответственность за концепцию и дизайн исследования, сбор и анализ данных, интерпретацию результатов, а также подготовку рукописи.

Соблюдение этических стандартов: все пациенты подписали добровольное информированное согласие на проведение исследований и обработку полученных результатов.

Финансирование: исследование проведено без спонсорской поддержки.

Конфликт интересов: автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Статья получена: 23.01.24 / Принята к публикации: 10.03.24 / Опубликовано: 29.03.24

Author information:

✉ **Aigul B. Dzumkanova**, Head of the Testing Laboratory Center, Department of Disease Prevention and State Sanitary and Epidemiological Surveillance of the Ministry of Health of the Kyrgyz Republic; e-mail: aigul.dzumkanova.dgsn@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-9065-6744>.

Author contribution: The author confirms sole responsibility for the study conception and design, data collection, analysis and interpretation of results, and manuscript preparation.

Compliance with ethical standards: All patients signed an informed consent to participate in the study.

Funding: This research received no external funding.

Conflict of interest: The author has no conflicts of interest to declare.

Received: January 31, 2024 / Accepted: March 10, 2024 / Published: March 29, 2024