

=====

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

=====

МРНТИ: 34.25;76.31

Г.В. ЛУКМАНОВА¹, Н.Г. КЛИВЛЕЕВА¹, Т.И. ГЛЕБОВА¹, А.А. АЙТЖАНОВА^{1*},
Н.С. ОНГАРБАЕВА¹, М.Г. ШАМЕНОВА¹, Д.А. ИСМАГУЛОВА¹, Е.И. ИСАЕВА²

¹Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии, Алматы, Казахстан

²Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им.
почетного академика Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия

*e-mail: aida_91_20@mail.ru

УСТОЙЧИВОСТЬ ВИРУСОВ ГРИППА К ЭТИОТРОПНЫМ ПРЕПАРАТАМ

doi: 10.53729/MV-AS.2022.04.021

Аннотация

Респираторные вирусные инфекции, являясь наиболее распространенными среди всех заболеваний человека, наносят огромный ущерб здоровью людей и экономике. Социркуляция разных вирусов и вариативность их соотношения от сезона к сезону осложняет подбор средств для профилактики и лечения. Кроме того, часто имеет место инфицирование вирусами с устойчивостью к специфическим препаратам. Проблема резистентности инфекционных агентов к лекарственным средствам на сегодняшний день является одной из главных задач, стоящих перед биологическими и медицинскими науками. Лекарственная устойчивость вирусов является результатом изменений их наследственных свойств и нередко связана с избыточным использованием препаратов. Вероятность появления устойчивых к препаратам штаммов вирусов нарастает с увеличением продолжительности лечения в клинической практике. Наряду с этим, более 30% резистентных штаммов обнаруживается у больных, никогда не принимавших этиотропные препараты. Поэтому важно выявить соотношение чувствительных и устойчивых штаммов в популяции, изучить механизмы возникновения устойчивости и возможные способы её преодоления. Вирусы гриппа, изолированные в Казахстане с 2015 г., проявляют чувствительность к препаратам на основе озельтамивира и широкий спектр восприимчивости к препаратам адамантанового ряда. Изучение чувствительности аборигенных вирусов к противовирусным препаратам предоставляет информацию для формирования рекомендаций по использованию лекарственных средств для лечения и профилактики гриппозной инфекции у населения. Рациональное использование и подбор лекарственных средств может позволить снизить экономические потери, связанные с временной нетрудоспособностью части населения в эпидемический период.

Ключевые слова: лекарственная резистентность, респираторные вирусы, противовирусные препараты.

Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ), к числу которых относятся грипп и коронавирус, являются самыми массовыми повторяющимися инфекциями человечества и представляют серьезную проблему для общественного здравоохранения. По социальной значимости, огромному ущербу наносимому здоровью населения и экономике, ОРВИ находятся на первом месте среди всех заболеваний человека [1, 2]. На долю сезонных ОРВИ приходится 10–30% временной нетрудоспособности населения. Обычно ОРВИ составляют до 40% всех заболеваний взрослых, более 80% всей инфекционной патологии, более 60% заболеваний среди детей. Ежегодно сезонные эпидемии приводят примерно к 3–5 миллионам случаев тяжелой болезни и примерно к 250–500 тысячам случаев смерти [3]. В результате последней пандемии 2019–2022 гг., вызванной коронавирусом SARS-CoV-2, заболели более 638 млн. человек, умерли 6,62 млн. [4].

В результате массовых противоэпидемических мероприятий в последние три года снизилась заболеваемость гриппом и другими ОРВИ, но тем не менее никогда не падала до нуля. В последнее время наблюдается социркуляция разных респираторных вирусов и этиологическая расшифровка эпидемического процесса варьирует из года в год [5], что осложняет эпидемическую ситуацию и, соответственно, подбор средств для профилактики и лечения [6, 7, 8]. Особую сложность создает факт быстрой адаптации вирусов к используемым химиопрепаратам с формированием частичной или полной резистентности.

Эффективная стратегия по борьбе с респираторными вирусами предполагает применение этиотропных химиопрепаратов, оказывающих непосредственное воздействие на специфическую мишень – вирусный белок, участвующий в цикле репликации [9, 10].

Наиболее распространенные на сегодняшний день на отечественном рынке этиотропные препараты против гриппа представлены четырьмя группами:

- блокаторы ионного канала (адамантаны, ремантадин);
- специфический шаперон гемагглютиниона (НА) (арбидол);
- ингибиторы нейраминидазы (НА) (тамифлю (озельтамивир), реленза, перамивир);
- ингибиторы NP-белка (ингавирин).

Этиотропные химиопрепараты против коронавируса в настоящий момент находятся на стадии разработки и испытаний [11], лечение осуществляется в основном симптоматическое и предотвращающее осложнения [12]. Рекомендованный в 2020 г. для лечения COVID-19 в США Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (U.S. Food and Drug Administration) [13] препарат «Ремдесивир», ингибирующий РНК-зависимую РНК-полимеразу вируса [14, 15], вызывает еще множество сомнений и не рекомендован ВОЗ [16].

Проблема терапии респираторных вирусных инфекций на сегодняшний день далека от решения, поскольку часто имеет место инфицирование вирусами с устойчивостью к специфическим препаратам. Лекарственная устойчивость является результатом изменений наследственных свойств вирусов и развивается при многократном применении препаратов [17, 18]. Резистентность обусловлена мутациями в том вирусном белке, который является мишенью действия для препарата [19, 20].

Так, ВГ А(H1N1)pdm09, вызвавший первую пандемию XXI века, изначально оказался резистентным к препаратам адамантанового ряда, но чувствительным к ингибиторам НА вирусов гриппа. Однако активное использование озельтамивира привело к появлению уже в апреле 2009 г. нескольких резистентных мутантов в популяции нового пандемического штамма. Это определило актуальность расширения мониторинга возникновения устойчивых вариантов при дальнейшем широком применении препарата, особенно при лечении легких форм и профилактике заболевания. Устойчивость к озельтамивиру в 63% случаев связана с терапевтическим и профилактическим использованием препарата, 37% резистентных штамма обнаружены у пациентов, которые ранее не принимали специфические противовирусные препараты, что можно объяснить передачей устойчивых штаммов от человека к человеку [21].

Резистентность ВГ к препаратам адамантанового ряда достигает 90% в некоторых странах, например, в США [22] обусловлена мутациями в положениях 26, 27, 30, 34 М2 белка [23]. Установлено, что замены V28L и S31N в структуре этого белка современных пандемических вирусов строго ассоциированы с резистентностью к противовирусным препаратам адамантанового ряда [24, 25].

Проблема химиорезистентности касается и НА-ингибиторов [26]. С 1999 г., когда они появились на рынке, и вплоть до начала сезона 2007–2008 гг. подавляющее большинство циркулирующих вирусов гриппа сохраняло чувствительность к этим препаратам, а резистентные штаммы встречались не более чем в 6% случаев. Однако в течение следующих 1–2 лет доля устойчивых возбудителей резко возросла [27]. Так, в Японии она к 2008–2009 гг. увеличилась практически до 100%. В сезоне 2012–2013 гг., неоднократно

появлялись сообщения о выявлении у больных штаммов А (H1N1)pdm09, устойчивых к озельтамивиру [28]. В ряде случаев устойчивые штаммы выявлялись у лиц, не подвергавшихся лечению НА-ингибиторами, что является доказательством циркуляции резистентных штаммов среди населения.

Резистентность к препаратам специфического действия обусловлена мутациями в генах, кодирующих их белки-мишени. К настоящему времени учеными во всем мире выявлен ряд таких мутаций в геноме ВГ. Так, устойчивость к тамифлю среди штаммов А/H1N1 и А/H2N2 выявлена за счет активного сайта R292K и E119G NA [29]. Замена H275Y в поверхностном гликопротеиде NA вируса гриппа отвечает за устойчивость к озельтамивиру [30]. В Нидерландах был изолирован пандемический штамм вируса гриппа А(H1N1)pdm09 с мутацией I223R в NA, вызвавшей снижение чувствительности ко всем существующим ингибиторам NA вирусов гриппа. Сообщалось о штаммах А(H1N1)pdm09, выявленных в Сингапуре и Австралии в 10 и 30% случаев соответственно, с мутацией S247N в белке NA, которая привела к снижению чувствительности вирусов к озельтамивиру и занамивиру [31]. Устойчивые к озельтамивиру вирусы А(H1N1)pdm09 с H275Y-мутацией были изолированы от пациентов в Южной Корее [32–35]. Было высказано предположение о существовании двух сопутствующих H275Y-мутации замен в белке NA сезонных штаммов А(H1N1) — V234M и R222Q, поддерживающих вирусную жизнеспособность и обеспечивающих стабильную работу NA. Изучение на модели хорька пары устойчивого и чувствительного к озельтамивиру штаммов ВГ А(H1N1) pdm09 показало различие в 275-м положении белка NA [36]. Первый случай изоляции резистентного к этому препарату штамма ВГ типа В с мутацией R152K в NA описан в 1998 г. [37]. В 2007—2008 гг. в Мьянме были обнаружены ВГ А(H3N2) (< 1,5% изученных случаев) с мутациями Q136K и S31N в белках NA и M2 соответственно, которые обладали пониженной чувствительностью как к занамивиру, так и к ремантадину [38].

Молекулярно-эпидемиологические данные многих исследований подтверждают, что H275Y-мутация часто бывает вызвана селективным отбором под воздействием специфического лечения [39]. Также в Южной Корее в NA вируса гриппа А(H1N1)pdm09, изолированного от пациента, принимавшего озельтамивир и перамивир, была обнаружена I117M-мутация, которая может быть связана с пониженной чувствительностью к озельтамивиру [40].

Формирование устойчивости ВГ к препаратам приводит к проблеме, когда набор существующих противовирусных средств оказывается малоэффективным. Вследствие этого в клинической практике увеличивается продолжительность лечения, что, в свою очередь, способствует селекции устойчивых к препаратам штаммов и вероятность их появления нарастает. Поэтому крайне важно иметь не только как можно более широкий спектр противогриппозных препаратов с различным механизмом действия, но также понять механизмы возникновения устойчивости и возможные способы ее преодоления.

Работы по изучению устойчивости ВГ к химиопрепаратам и причин ее формирования ведутся во многих исследовательских центрах во всем мире. В связи с высокой мутационной изменчивостью ВГ, циркулирующие в различных регионах и в разное время, могут существенно различаться. Поэтому рекомендации по профилактике, лечению и вакцинации, разработанные за рубежом, часто оказываются неактуальными для отечественного здравоохранения.

Полученные данные могут способствовать раннему выявлению опасных, устойчивых к лечению штаммов и своевременной организации противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение распространения инфекции. Выявление маркеров резистентности к химиопрепаратам позволяет ускорить процесс определения устойчивости вновь появляющихся штаммов вируса и уточнить стратегию лечения и профилактики гриппа среди населения Республики.

В Казахстане также ведутся работы, цель которых — изучение проблемы формирования лекарственно-устойчивых форм вирусов, а также поиск путей преодоления

резистентности. Выполнены эксперименты по адаптации эталонных штаммов ВГ A/FPV/Waybrige/78 (H7N7) и A/Swine/Iowa/30 (H1N1) к высоким концентрациям противовирусных препаратов тамифлю и ремантадин. Показано, что референсные штаммы ВГ A/H1N7 и A/H7N7 обладают определенной чувствительностью к вышеуказанным этиотропным химиопрепаратам, получены адаптированные к данным лекарственным средствам мутантные варианты этих штаммов с измененными биологическими свойствами основных поверхностных белков. Анализ данных секвенирования подтвердил корреляцию между изменением фенотипических проявлений белков гемагглютинина и NA и модификацией генетического аппарата. Выявлена замена в молекуле белка M1 в положении 207, принимающая участие в формировании устойчивости к препарату тамифлю, ранее не указанная в литературе. Сделано предположение о мультигенном характере возникновения резистентности к тамифлю [41].

Данные по чувствительности эталонных вирусов в отношении лекарственных препаратов послужили основанием для проведения подобного рода исследований на казахстанских штаммах вируса гриппа [42].

Изучение чувствительности к химиопрепаратам показало гетерогенность популяции казахстанских вирусов гриппа по этому признаку. Так, репродукция всех изученных вирусов ингибировалась препаратом Тамифлю в разной степени эффективности: Ингибирующая концентрация (ИК₅₀) варьировала в широком диапазоне значений: от 0,60±0,3 до 25,38±1,5 мг/мл. По отношению к ремантадину вирусы в целом проявили меньшую степень чувствительности: репродукция 73,91% изолятов с антигенной формулой A/H1N1 ингибировалась препаратом в различных дозах (ИК₅₀ составила 3,49±0,3 – 25,50±3,0 мг/мл), 26,09% изолятов оказались к данному препарату полностью резистентными. К арбидолу и ингавируну все исследуемые вирусы проявили резистентность [43, 44]. Молекулярно-биологический анализ аборигенных штаммов ВГ показал, отсутствие молекулярных детерминант устойчивости у всех исследуемых изолятов к препаратам адамантанового ряда и к препаратам на основе озельтамивира (Тамифлю) [45, 46, 47].

Изучение молекулярных и генетических характеристик штаммов является основным звеном как системы мониторинга эволюционных изменений в геноме вируса, так и чувствительности к противовирусным лекарственным средствам. Мутации, являющиеся маркерами устойчивости к противовирусным препаратам, представляют интерес с точки зрения генетического признака, позволяющего идентифицировать резистентный штамм. Кроме того, они являются новой генетической особенностью, способной влиять на вирулентные и репродуктивные свойства вируса. Изучение устойчивости респираторных вирусов к химиопрепаратам способствует разработке эффективной тактики борьбы, как с эталонными, так и новыми аборигенными штаммами. Также это позволяет выявить новые, генетически измененные варианты вирусов, потенциально опасные для человека, провести коррекцию способов лечения и профилактики гриппа, что очень важно для практической эпидемиологии.

Финансирование: Работа выполнена в рамках Научно-технической программы Комитета науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан: BR10965178 «Разработка оригинальных отечественных препаратов с противовирусной активностью, эффективных в отношении COVID-19 и гриппа».

Литература:

1 Seto W.H., Conly J.M., Pessoa-Silva C.L. et al. Infection prevention and control measures for acute respiratory infections in healthcare settings: an update East Mediterr Health J. 2013; 19 (Suppl. 1): S39–47.

2 <https://www.who.int/ru>

3 Зайцева О.В. Современные возможности профилактики и лечения острых респираторных заболеваний. РМЖ 2011;23:1458. http://www.rmj.ru/articles/bolezni_dykhatelynykh_putey/Sovremennyye_vozmoghnosti_profilaktiki_i_lecheniya_ostryh_respiratornykh_zabolevaniy/#ixzz4TX3fqhGc

4 https://www.google.com/search?q=%D1%81%D1%82%D0%B0%D1%82%D0%B8%D1%81%D1%82%D0%B8%D0%BA%D0%B0+%D0%BF%D0%BE+%D0%BA%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%BD%D0%B0%D0%B2%D0%B8%D1%80%D1%83%D1%81%D1%83+%D0%B2+%D0%BC%D0%B8%D1%80%D0%B5&bih=871&biw=1280&hl=ru&ei=LgV3Y6vFB4aDxc8P66eisAI&oq=%D1%81%D1%82%D0%B0%D1%82%D0%B8%D1%81%D1%82%D0%B8%D0%BA%D0%B0+%D0%BF%D0%BE+%&gs_lcp=Cgxn3Mtd2l6LXNlcnAQAQgEMgUIABCABDIFCAAQgAQyBQgAEIAEMggIAB CABBDJAzIFCAAQgAQyBQgAEIAEMgUIABCABDIFCAAQgAQyBQgAEIAEMgUIABCABDolCAAQgAQsAM6CAgAELEDEIMBOggIABCABBCxAzoLCAAQgAQsQMgQwE6EQguEIAEELED EIMBEMcBENEDOGgILhCxAxCDAToLCC4QgAQsQMgQwE6CwguEIAEELEDENQCOgQIABAD OgsILhCABBDHARCvAUoECEYYAUoECEYYAFCZB1iuL2C7TGgBcAB4AIABlwGIAAkNkgEEMC 4xNjgBAKABAcgBACABAQ&sclient=gws-wiz-serp Дата обращения – 22.11.2022.

5 Киселев О.И. Основные генетические факторы патогенности вирусов гриппа типа А и место пандемического вируса среди патогенных штаммов В: под ред. О.И. Киселева Геном пандемического вируса гриппа А/Н1N1v-2009. СПб.-М.: Компания «Димитрейд График Групп®», 2011:121-123.

6 Кливлеева Н.Г., Лукманова Г.В., Глебова Т.И. Противовирусные препараты для профилактики и лечения гриппа и ОРВИ. В: «Вопросы современной науки»: коллект. науч. монография; [под ред. Н.Р. Красовской]. Т. 52. М.: Интернаука, 2020:7-31. <https://www.internauka.org/monograph/modern-science/52>.

7 Иванова В.Т., Матюшина Р.О., Слепушкин А.Н. и др. Эпидемические штаммы вирусов гриппа А и В в сезоне 2005-2006 гг. в России. В: Вирол. 2008;4:13-18.

8 Киселев О.И., Ершов Ф.И., Быков А.Т., Покровский В.И. Пандемия гриппа 2009/2010: противовирусная терапия и тактика лечения СПб., 2010:97.

9 FDA. Antiviral Drug Advisory Committee. Gaithersburg: Centre for Drug Evaluation and Research 2002: 1–266.

10 Шульдяков А.А., Кузнецов В.И., Ляпина Е.П. Современные подходы к химиотерапии ОРВИ и гриппа - некоторые аспекты проблемы Трудный пациент 2010;8(12):4-7. <http://medi.ru/doc/310216.htm>

11 Berezin V, Bogoyavlenskiy A, Alexyuk M, Alexyuk P. Plant Metabolites as Antiviral Preparations Against Coronaviruses. J. Med Food 2021;10:1028-1038. doi: 10.1089/jmf.2020.0190

12 Клинический протокол диагностики и лечения: коронавирусная инфекция Covid-19 у взрослых. Одобрен Объединенной комиссией по качеству медицинских услуг МЗ РК от 25.07.2022 (Протокол №166) Доступен: <https://diseases.medelement.com/disease/%D0%BA%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%BD%D0%B0%D0%B2%D0%B8%D1%80%D1%83%D1%81%D0%BD%D0%B0%D1%8F-%D0%B8%D0%BD%D1%84%D0%B5%D0%BA%D1%86%D0%B8%D1%8F-c%D0%BEvid-19-%D1%83-%D0%B2%D0%B7%D1%80%D0%BE%D1%81%D0%BB%D1%8B%D1%85-6-%D1%80%D0%B5%D0%B4%D0%B0%D0%BA%D1%86%D0%B8%D1%8F-%D0%BA%D0%BF-%D1%80%D0%BA-2022/17238> (дата обращения: 13.10.2022)

13 FDA Allows For 'Emergency Use' of Remdesivir, Experimental Coronavirus Drug. Time. Associated Press (1 мая 2020). Дата обращения: 2 мая 2020.

14 Gordon C. J., Tchesnokov E. P., Feng J. Y., Porter D. P., Götte M. The antiviral compound remdesivir potently inhibits RNA-dependent RNA polymerase from Middle East respiratory syndrome coronavirus. The Journal Of Biological Chemistry 2020; 10 April; 295(15): 4773—4779. doi:10.1074/jbc.AC120.013056. PMID 32094225.

15 Gordon C. J., Tchesnokov E. P., Woolner E., Perry J. K., Feng J. Y., Porter D. P., Götte M. Remdesivir is a direct-acting antiviral that inhibits RNA-dependent RNA polymerase from severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 with high potency. The Journal Of Biological Chemistry 2020; 15 May; 295(20): 6785—6797. doi:10.1074/jbc.RA120.013679 PMID 32284326.

16 WHO recommends against the use of remdesivir in COVID-19 patients. <https://www.who.int/news-room/feature-stories/detail/who-recommends-against-the-use-of-remdesivir-in-covid-19-patients> Дата обращения: 13.10.2022.

17 Железникова Г. Ф., Иванова В. В., Монахова Н. Е. Варианты иммунопатогенеза острых инфекций у детей. СПб: Фолиант, 2007:254.

- 18 Beigel J., Bray M. Current and future antiviral therapy of severe seasonal and avian influenza. *Antiviral. Research.* 2008; 78: 91-102.
- 19 Романцов М.Г., Киселев О.И., Сологуб Т.В. Этиопатогенетическая фармакотерапия ОРВИ и гриппа. <http://www.lvrach.ru/2011/02/15435132/>
- 20 Романцов М.Г., Ершов Ф.И., Коваленко А.Л. Противовирусные препараты для лечения ОРВИ и гриппа у детей (клинический обзор) *Фундаментальные исследования* 2010;9:76-87. URL: <http://www.fundamental-research.ru/ru/article/view?id=13379> (дата обращения: 14.10.2016).
- 21 Федякина И.Т., Щелканов М.Ю., Дерябин П.Г. и др. Изучение чувствительности пандемических вирусов гриппа А 2009 H1N1 и высоковирулентных вирусов гриппа птиц А(H5N1) к противогриппозным химиопрепаратам. *Антибиотики и химиотерапия* 2011;56:3-4.
- 22 Ленева И.А. Пандемический вирус гриппа 2009 H1N1 и современные противогриппозные препараты. *РМЖ* 2010;9:597 http://www.rmj.ru/articles/infektsiya/Pandemicheskiy_virus_grippa_2009_H1N1_i_sovremennye_protivogrippoznye_preparaty/#ixzz4NJyqR2x9
- 23 Monto A. Viral susceptibility and the choice of influenza antivirals. *Clinical Infectious Diseases* 2008; 47:346–348.
- 24 Barik S. New treatments for influenza. *BMC Med.* 2012;10:104. doi: 10.1186/1741–7015–10–104.
- 25 Garten R.J. et al. Antigenic and genetic characteristics of swine origin 2009 A(H1N1) influenza viruses circulating in humans. *Science* 2009;325:197–201.
- 26 Цветков В.В., Деева Э.Г., Даниленко Д.М., и др. Молекулярно-генетические факторы патогенности вируса гриппа А(H1N1)pdm09. *Эпидемиология и инфекционные болезни* 2014;19(4):4-11.
- 27 Dixit R., Khandaker G., Ilgoutz S. Emergence of oseltamivir resistance. *Infectious Disorders — Drug Targets.* 2013; 13 (1): 35–45.
- 28 Устойчивость к противомикробным препаратам Информационный бюллетень №194 Апрель 2015 г. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/ru/>
- 29 http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/en/
- 30 Brookes D.W., Miah Sh., Lackenby A., Hartgroves L., Barclay W.S., Pandemic H1N1 2009 influenza virus with the H275Y oseltamivir resistance neuraminidase mutation shows a small compromise in enzyme activity and viral fitness, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* March 2011, Vol. 66, Issue 3: 466–470. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq486>
- 31 Weekly Epidemiol. Rec. 2011; 45: 497—508. <http://www.who.int/wer>, WHO. Influenza A(H1N1) Virus Resistance to Oseltamivir: 2008 Southern Hemisphere Influenza Season. http://www.who.int/csr/disease/influenza/oseltamivir_summarysouth2008/en/index.html.-2008.
- 32 Calatayud L., Lackenby A., Reynolds A. et al. Oseltamivir-resistant pandemic (H1N1) 2009 virus infection in England and Scotland, 2009—2010. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17: 1807—1815.
- 33 Shin S.Y., Kang C., Gwack J. et al. Drug-resistant pandemic (H1N1) 2009, South Korea. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17: 702—704.
- 34 Sleeman K., Sheu T.G., Moore Z. et al. Influenza B viruses with mutation in the neuraminidase active site, North Carolina, USA, 2010—2011. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17: 2043—2046.
- 35 Ujiike M., Ejima M., Anraku A. et al. Monitoring and characterization of oseltamivir-resistant pandemic (H1N1) 2009 virus, Japan, 2009—2010. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17: 470—479. *Weekly Epidemiol. Rec.* 2011; 45: 497—508. <http://www.who.int/wer>.
- 36 Duan S., Boltz D.A., Seiler P. et al. Oseltamivir-resistant pandemic H1N1/2009 influenza virus possesses lower transmissibility and fitness in ferrets. *PLoS Pathog.* 2010; 6 (7): e1001022.
- 37 Gubareva L.V., Matrosovich M.N., Brenner M.K. et al. Evidence for zanamivir resistance in an immunocompromised child infected with influenza B virus. *Emerg. Infect. Dis.* 1998;178:1257—1262.
- 38 Бреслав Н.В., Шевченко Е.С., Абрамов Д.Д. и др. Эффективность применения антинейраминидазных химиопрепаратов во время пандемии гриппа и в постпандемический период. *Вопросы вирусологии* 2013;58(1):28-32.
- 39 Dapat C., Suzuki Y., Saito R. et al. Rare influenza A (H3N2) variants with reduced sensitivity to antiviral drugs. *Emerg. Infect. Dis.* 2010;16:493-496.
- 40 Yi H., Lee J.Y., Hong E.H. et al. Oseltamivir-resistant pandemic (H1N1) 2009 virus, South Korea. *Emerg. Infect. Dis.* 2010;16:1938-1942.
- 41 Коротецкий И.С., Зубенко Н.В., Швидко С.В. и др. Анализ структурных изменений генов вируса гриппа А, ответственных за формирование фенотипа устойчивости к лекарственным

препаратам. В: Вклад микробиологии и вирусологии в современную биоиндустрию: матер. междунар. науч. конф. Алматы, 2016:284-285.

42 Glebova T.I., Klivleyeva N.G., Lukmanova G.V., Saktaganov N.T., Baimukhametova A.M. 2018–2019 antiviral drug sensitivity of the influenza virus strains isolated from various regions of Kazakhstan. Russian Journal of Infection and Immunity. 2021;11(6):1159-1166. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-ADS-1497>

43 Глебова Т.И., Кливлеева Н.Г., Лукманова Г.В. и др. Характеристика вирусов гриппа А(H1N1), выделенных в Аральском регионе Республики Казахстан в 2015 г. В: Вклад микробиологии и вирусологии в современную биоиндустрию: матер. междунар. науч. конф. Алматы, 2016:313-317.

44 Lukmanova, G.V., Klivleyeva, N.G., Glebova, T.I., Sayatov, M.H., Ongarbayeva, N.S., Saktaganov, N.T., Shamenova, M.G., Kalkozhayeva, M.K., Baiseit, S.B., Baimukhametova, A.M., Amirasheva, L.K., Webby, R.J. Sensitivity of 2015 Kazakhstan influenza viruses to chemotherapy drugs. Bulletin of the national academy of sciences of the republic of Kazakhstan 2018;4:18-22. <https://www.webofscience.com/wos/woscc/full-record/WOS:000450771300003>

45 Lukmanova G., Klivleyeva N., Glebova T., Saktaganov N., Ongarbayeva N., Baimukhametova A. Study of the 2019 A/H1N1 influenza virus susceptibility to chemotherapy drugs in ovo. Biotechnology & Biotechnological Equipment. Issue sup1: Special Issue: European Biotechnology Congress 2020. Poster Abstracts 2021;35:S62-128. Published online: 26 Feb 2021. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/13102818.2020.1871545>

46 Glebova T.I., Klivleyeva N.G., Lukmanova G.V., Saktaganov N.T., Ongarbayeva N.S. Sensitivity of influenza virus strains isolated from various regions of Kazakhstan in 2018–2019 to antiviral drugs. Clinical Medicine (Russian Journal). 2021;99(4):276-281. <https://doi.org/10.30629/0023-2149-2021-99-4-276-281>

47 Klivleyeva N., Ongarbayeva N., Korotetskiy I., Glebova T., Saktaganov N., Shamenova M., Baimakhanova B., Shevtsov A., Amirgazin A., Berezin V., Webby R. Complete Genome Sequence of Swine Influenza Virus Isolate A/swine/Karaganda/04/2020 (H1N1) from Kazakhstan. Microbiology Resource Announcements 2021;10(39):e00786 10:e00786-21. <https://doi.org/10.1128/MRA.00786-21>

Г.В. ЛУКМАНОВА¹, Н.Г. КЛИВЛЕЕВА¹, Т.И. ГЛЕБОВА¹, А.А. АЙТЖАНОВА^{1*},
Н.С. ОНГАРБАЕВА¹, М.Г. ШАМЕНОВА¹, Д.А. ИСМАГУЛОВА¹, Е.И. ИСАЕВА²

¹Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы, Алматы, Қазақстан

²Академик Н.Ф. Гамалей атындағы эпидемиология және микробиология федералды
ғылыми-зерттеу орталығы, Мәскеу, Ресей

*e-mail: aida_91_20@mail.ru

ТҰМАУ ВИРУСТАРЫНЫҢ ЭТИОТРОПТЫ ПРЕПАРАТТАРҒА ТӨЗІМДІЛІГІ

Түйін

Респираторлық вирустық инфекциялар барлық аурулары арасында жиі кездеседі, адамдардың денсаулығы мен экономикасына үлкен зиян келтіретін аурулар қатарына жатады. Әр түрлі вирустардың айналымы және олардың маусымнан маусымға қатынасының өзгергіштігіне байланысты алдын-алу және емдеу шараларын таңдауды қиындатады. Сонымен қатар, белгілі бір препараттарға төзімді вирустар инфекциясы жиі кездеседі. Инфекциялық қоздырғыштардың дәрілік заттарға төзімділік мәселесі бүгінгі күні биология және медицина ғылымдарының алдында тұрған негізгі мәселелердің бірі болып табылады. Вирустардың дәріге төзімділігі олардың тұқым қуалайтын қасиеттерінің өзгеруінің нәтижесі болып табылады және көбінесе препаратты шамадан тыс қолданумен байланысты. Дәріге төзімді штаммдардың пайда болу ықтималдығы клиникалық тәжірибеде емдеу ұзақтығымен байланысты. Сонымен қатар, төзімді штаммдардың 30%-дан астамы этиотропты препараттарды ешқашан қабылдамаған науқастарда кездеседі. Сондықтан популяциядағы сезімтал және төзімді штаммдардың арақатынасын анықтау және төзімділіктің пайда болу механизмдерін және оны жеңудің мүмкін жолдарын түсіну маңызды. Қазақстанда 2015 жылдан бері оқшауланған тұмау вирустары оселтамивир негізіндегі препараттарға және адамнан препараттарға кең ауқымды сезімталдықты көрсетеді. Қоздырғыштардың вирусқа қарсы

препараттарға сезімталдығын зерттеу халық арасында тұмау инфекциясын емдеу және алдын алу үшін препараттарды қолдану бойынша ұсыныстарды қалыптастыру үшін ақпарат береді. Дәрілік заттарды ұтымды пайдалану және таңдау эпидемия кезеңінде халықтың бір бөлігінің уақытша еңбекке жарамсыздығына байланысты экономикалық шығындарды азайтуға мүмкіндік береді.

Кілтті сөздер: дәріге төзімділік, респираторлық вирустар, вирусқа қарсы препараттар.

IRSTI: 34.25;76.31

G.V. LUKMANOVA¹, N.G. KLIVLEYEVA¹, T.I. GLEBOVA¹, A.A. AITZHANOVA^{1*},
N.S. ONGARBAYEVA¹, M.G. SHAMENOVA¹, D.A. ISMAGULOVA¹, E.I. ISAEVA²

¹Research and Production Center for Microbiology and Virology, Almaty, Kazakhstan

²Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary
academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia

*e-mail: aida_91_20@mail.ru

RESISTANCE OF INFLUENZA VIRUSES TO ETIOTROPIC DRUGS

doi: 10.53729/MV-AS.2022.04.021

Abstract

Respiratory viral infections, being the most widespread among all diseases in humans, cause enormous damage to human health and the economy. The co-circulation of various viruses and the variability of their correlation from season to season complicate the selection of agents for the prevention and treatment. In addition, infection with viruses that are resistant to specific drugs occurs frequently. Drug resistance in infectious agents is one of the major challenges of our time facing the biological and medical sciences. Drug resistance among viruses is the outcome of changes in their hereditary properties and is often associated with excessive use of medicines. The likelihood of the emergence of drug-resistant strains increases with the treatment duration in clinical practice. At the same time, more than 30% of resistant strains are found in patients who have never taken etiotropic drugs. It is therefore important to reveal the correlation between sensitive and resistant strains in the population and to understand the mechanisms for the emergence of resistance and possible ways to overcome it. Influenza viruses isolated in Kazakhstan since 2015 reveal sensitivity to oseltamivir-based drugs and a wide range of susceptibility to adamantane drugs. Study of the sensitivity of native viruses to antiviral drugs provides information for the formation of recommendations for the use of drugs intended to treat and prevent influenza infection in the population. Rational use and selection of drugs can reduce economic losses associated with a temporary disability among a part of the population during the epidemic period.

Keywords: drug resistance, respiratory viruses, antiviral drugs.

Acute respiratory viral infections (ARVI), which include influenza and coronavirus, are the most large-scale recurrent infections of mankind and pose a serious public health problem. In terms of social significance, huge damage to the health of the population and the economy, ARVIs take the first place among all human diseases [1, 2]. The share of seasonal acute respiratory viral infections accounts for 10-30% of temporary disability of the population. Usually ARVIs account for up to 40% of all adult diseases, more than 80% of all infectious diseases, more than 60% of childhood diseases. Every year seasonal epidemics lead to about 3-5 million cases of severe illness and about 250-500 thousand deaths [3]. The last pandemic caused by a coronavirus SARS-CoV-2 in 2019-2022, initiated a disease in more than 638 million people and claimed about 6.62 million lives [4].

As a result of large-scale anti-epidemic measures, the incidence of influenza and other acute respiratory viral infections has decreased over the past three years, however nevertheless never dropped to zero. The co-circulation of various respiratory viruses has recently been observed while the etiological interpretation of the epidemic process varies from year to year [5], which complicates the epidemic situation and, accordingly, the selection of agents for prevention and

treatment [6, 7, 8]. A particular difficulty is formed by the fact that viruses rapidly adapt to the used chemotherapy drugs with the formation of partial or complete resistance.

An effective strategy to combat respiratory viruses proposes the use of etiotropic chemotherapy drugs that have a direct influence on a specific target - a viral protein involved in the replication cycle [9, 10].

The most common etiotropic drugs used against influenza are represented on the domestic market today by four groups:

- ion channel blockers (adamantanes, rimantadine);
- specific hemagglutinin (HA) chaperone (arbidol);
- neuraminidase (NA) inhibitors (tamiflu (oseltamivir), relenza, peramivir)
- NP-protein inhibitors (ingavirin).

Etiotropic chemotherapy drugs against coronavirus are currently at the stage of development and testing [11], the treatment provided is in general symptomatic and preventing complications [12]. Remdesivir, a drug recommended in 2020 for the treatment of COVID-19 in the United States by the U.S. Food and Drug Administration [13] which inhibits the RNA-dependent RNA polymerase of the virus [14, 15], still raises many doubts and is not recommended by WHO [16].

The problem of therapy for respiratory viral infections is far from being solved today, since infection with viruses that are resistant to specific drugs often takes place. Drug resistance is the outcome of changes in the hereditary properties of viruses and develops with repeated use of drugs [17, 18]. Resistance is caused by mutations in the viral protein that is the target for the drug action [19, 20].

IV A(H1N1)pdm09, which caused the first pandemic in XXI century, initially turned out to be resistant to adamantane drugs, but susceptible to NA inhibitors of influenza viruses. However, the active use of oseltamivir has resulted in April 2009 in the emergence of several resistant mutants among the population of the novel pandemic strain. This determined the relevance of expanding monitoring of the emergence of resistant variants with further widespread use of the drug, especially in the treatment of mild forms and the prevention of the disease. Resistance to oseltamivir in 63% of cases is associated with the therapeutic and prophylactic use of the drug, 37% of resistant strains were detected in patients who had not previously taken specific antiviral drugs, which can be explained by the transfer of resistant strains from person to person [21].

IV resistance to adamantane drugs reaches 90% in certain countries, for example, in the USA [22] it is due to mutations in positions 26, 27, 30, 34 of the M2 protein [23]. It has been established that the substitutions V28L and S31N in the structure of this protein of modern pandemic viruses are strongly associated with resistance to adamantane antiviral drugs [24, 25].

The problem of chemoresistance also concerns NA inhibitors [26]. From 1999, when they appeared on the market, until the beginning of the 2007-2008 season the vast majority of circulating influenza viruses remained sensitive to these drugs while resistant strains were found in no more than 6% of cases. However, over the next 1–2 years, the proportion of resistant pathogens has risen significantly [27]. In Japan, by 2008-2009, it increased to almost 100%. In the 2012–2013 season, there were repeated reports of detection of A(H1N1)pdm09 strains that are resistant to oseltamivir in patients [28]. In a number of cases, resistant strains were detected in individuals not treated with NA inhibitors, which is evidence of the circulation of resistant strains among the population.

Resistance to specific drugs is caused by mutations in the genes encoding their target proteins. By this time scientists around the world have identified a number of such mutations in the IV genome. For instance, resistance to Tamiflu among strains A/H1N1 and A/H2N2 was revealed owing to the active site R292K and E119G NA [29]. The H275Y substitution in the NA surface glycoprotein of the influenza virus is responsible for resistance to oseltamivir [30]. In the Netherlands, a pandemic strain of influenza virus A(H1N1)pdm09 was isolated with the I223R mutation in NA, which caused a decrease in sensitivity to all existing NA inhibitors of influenza viruses. A(H1N1)pdm09 strains were reported that were identified in Singapore and Australia in 10 and 30% of cases, respectively, with the S247N mutation in the NA protein, which led to a

decrease in the sensitivity of viruses to oseltamivir and zanamivir [31]. Oseltamivir-resistant A(H1N1)pdm09 viruses with the H275Y mutation have been isolated from patients in South Korea [32-35]. It was suggested that there are two H275Y mutation-associated substitutions in the NA protein of seasonal A(H1N1) strains, V234M and R222Q, which maintain viral viability and ensure stable NA activity. Study of a pair of oseltamivir-resistant and oseltamivir-sensitive IV A(H1N1) pdm09 strains in a ferret model has demonstrated a difference in the 275 position of the NA protein [36]. The first case of isolation of a type B IV strain resistant to this drug with the R152K mutation in NA was described in 1998 [37]. During the 2007-2008 season in Myanmar, IV A(H3N2) (<1.5% of examined cases) with Q136K and S31N mutations in NA and M2 proteins, respectively, were detected, which had reduced sensitivity to both zanamivir and rimantadine [38].

Molecular epidemiological data from numerous studies confirm that the H275Y mutation is frequently caused by selective selection under the effect of specific treatment [39]. In South Korea, the I117M mutation was also found in the NA of the A(H1N1)pdm09 influenza virus isolated from a patient taking oseltamivir and peramivir, which may be associated with reduced sensitivity to oseltamivir [40].

The formation of IV resistance to drugs leads to a problem when a set of existing antiviral agents is ineffective. As a result, selection of drug-resistant strains is observed in patients, and the likelihood of their emergence rises with increasing duration of treatment in clinical practice. It is therefore extremely important to have not only the widest possible range of anti-influenza drugs with different mechanisms of action, but also to understand the mechanisms of resistance and possible ways to overcome it.

Studies on the resistance of influenza viruses to chemotherapy drugs and the reasons for its formation are being carried out in numerous research centers around the world. Due to the high mutational variability, IVs circulating in different regions and at different times can vary significantly. Therefore, recommendations for prevention, treatment and vaccination developed abroad often turn out to be irrelevant for domestic health care.

The data obtained can contribute to the early detection of dangerous, treatment-resistant strains and the timely organization of anti-epidemic measures aimed at preventing the spread of infection. Identification of markers of resistance to chemotherapeutic agents makes it possible to accelerate the process of determining the resistance of newly emerging virus strains and to clarify the strategy for the treatment and prevention of influenza among the population of the Republic.

Work is also being carried out in Kazakhstan, the purpose of which is to study the issue of the development of drug-resistant forms of viruses as well as to find ways to overcome resistance. Experiments were carried out on the adaptation of IV reference strains

A/FPV/Waybrige/78 (H7N7) and A/Swine/Iowa/30 (H1N1) to high concentrations of the antiviral drugs Tamiflu and Rimantadine. It was shown that the reference strains IV A/H1N7 and A/H7N7 have certain sensitivity to the above-named etiotropic chemotherapy drugs; mutant variants of these strains adapted to these drugs with modified biological properties of the major surface proteins were obtained. Analysis of sequencing data confirmed the correlation between changes in the phenotypic manifestations of hemagglutinin and NA proteins and modification of the genetic apparatus. A substitution in the M1 protein molecule at position 207, which is involved in the formation of resistance to the drug Tamiflu, has been identified, which has not been previously reported in the literature. An assumption was made about the multigenic nature of the emergence of resistance to Tamiflu [41].

Data on the sensitivity of reference viruses to drugs served as the basis for conducting such studies on the Kazakhstan strains of influenza virus [42].

Study of sensitivity to chemotherapy drugs showed the heterogeneity of the population of the Kazakhstan influenza viruses according to this characteristic. The reproduction of all examined viruses was inhibited by Tamiflu to varying degrees of effectiveness: the inhibitory concentration (IC₅₀) varied over a wide range of values from 0.60±0.3 to 25.38±1.5 mg/mL. With regard to rimantadine, viruses in general showed a lower degree of sensitivity: the reproduction of 73.91%

of isolates with the antigenic formula A/H1N1 was inhibited by the drug at various doses (IC_{50} was $3.49 \pm 0.3 - 25.50 \pm 3.0$ mg/mL), 26.09% of the isolates were completely resistant to this drug. All examined viruses developed resistance to arbidol and ingavirin [43, 44]. Molecular biological analysis of indigenous IV strains showed the absence of molecular determinants of resistance in all studied isolates to adamantane drugs and oseltamivir-based drugs (Tamiflu) [45, 46, 47].

Study of the molecular and genetic characteristics of strains is a major link in both the system for monitoring evolutionary changes in the virus genome and sensitivity to antiviral drugs. Mutations that are the markers of resistance to antiviral drugs are of interest from the point of view of a genetic trait that makes it possible to identify a resistant strain. In addition, they are a novel genetic feature that can affect the virulent and reproductive properties of the virus. The study of the resistance of respiratory viruses to chemotherapy drugs promotes the development of effective tactics for combating both reference and novel native strains. It also makes it possible to identify new, genetically modified variants of viruses that are potentially dangerous to humans, to correct methods for treating and preventing influenza, which is very important for practical epidemiology.

Funding

The work was carried out within the framework of Scientific-Technical Program "Development of original domestic drugs with antiviral activity efficient against COVID-19 and influenza" within the framework of targeted MSHE RK funding.

References:

- 1 Seto W.H., Conly J.M., Pessoa-Silva C.L. et al. Infection prevention and control measures for acute respiratory infections in healthcare settings: an update East Mediterr Health J. 2013; 19 (Suppl. 1): S39–47.
- 2 <https://www.who.int/ru>
- 3 Zajceva O.V. Sovremennye vozmozhnosti profilaktiki i lecheniya ostryh respiratornyh zabolevaniy. RMZh 2011;23:1458. Available from: http://www.rmj.ru/articles/bolezni_dykhatelnykh_putey/Sovremennye_vozmoghnosti_profilaktiki_i_lecheniya_ostryh_respiratornyh_zabolevaniy/#ixzz4TX3fqhGc
- 4 https://www.google.com/search?q=%D1%81%D1%82%D0%B0%D1%82%D0%B8%D1%81%D1%82%D0%B8%D0%BA%D0%B0+%D0%BF%D0%BE+%D0%BA%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%BD%D0%B0%D0%B2%D0%B8%D1%80%D1%83%D1%81%D1%83+%D0%B2+%D0%BC%D0%B8%D1%80%D0%B5&bih=871&biw=1280&hl=ru&ei=LgV3Y6vFB4aDxc8P66eisAI&oq=%D1%81%D1%82%D0%B0%D1%82%D0%B8%D1%81%D1%82%D0%B8%D0%BA%D0%B0+%D0%BF%D0%BE+&gs_lcp=Cgxnd3Mtd2l6LXNlcuAQAQAgEMgUIABCABDIFCAAQgAQyBQgAEIAEMggIABCABBDJAziFCAAQgAQyBQgAEIAEMgUIABCABDIFCAAQgAQyBQgAEIAEMgUIABCABDoICAAQgAQsAM6CAgAELEDEIMBOggIABCABBCxAzoLCAAQgAQsQMqgwE6EQguEIAEELED EIMBEMcBENEDOGgILhCxAXCDAToLCC4QgAQsQMqgwE6CwguEIAEELEDENQCOgQIABAD OgsILhCABBDHARCvAUoECEYYAUoECEYYAFCZB1iuL2C7TGgBcAB4AIABlwGIAakNkgEEMC4xNJgBAKABAcgBAcABAQ&sclient=gws-wiz-serp Last accessed 22.11.2022
- 5 Kiselev O.I. Osnovnye geneticheskie faktory patogennosti virusov grippa tipa A i mesto pandemicheskogo virusa sredi patogennyh shtammov V: pod red. O.I. Kiseleva Genom pandemicheskogo virusa grippa A/H1N1v-2009. SPb.-M.: Kompaniya «Dimitrejd Grafik Grupp®», 2011:121-123.
- 6 Klivleyeva N.G., Lukmanova G.V., Glebova T.I. Protivovirusnye preparaty dlja profilaktiki i lecheniya grippa i ORVI. V: «Voprosy sovremennoj nauki»: kollekt. nauch. monografija; [pod red. N.R. Krasovskoj]. T. 52. M.: Internauka, 2020:7-31. <https://www.internauka.org/monograph/modern-science/52>.
- 7 Ivanova V.T., Matjushina R.O., Slepishkin A.N. i dr. Jependicheskie shtammy virusov grippa A i V v sezone 2005-2006 gg. v Rossii Vopr. virusol. 2008;4:13-18.
- 8 Kiselev O.I., Ershov F.I., Bykov A.T., Pokrovskij V.I. Pandemija grippa 2009/2010: protivovirusnaja terapija i taktika lechenija SPb.,2010:97.
- 9 FDA. Antiviral Drug Advisory Committee. Gaithersburg: Centre for Drug Evaluation and Research 2002: 1–266.

10 Shul'djakov A.A., Kuznecov V.I., Ljapina E.P. Sovremennye podhody k himioterapii ORVI i grippa - nekotorye aspekty problemy Trudnyj pacient 2010;8(12):4-7. Available from: <http://medi.ru/doc/310216.htm>

11 Berezin V, Bogoyavlenskiy A, Alexyuk M, Alexyuk P. Plant Metabolites as Antiviral Preparations Against Coronaviruses. *J. Med Food* 2021;10:1028-1038. doi: 10.1089/jmf.2020.0190

12 Klinicheskij protokol diagnostiki i lechenija: koronavirusnaja infekcija Covid-19 u vzroslyh. Odobren Ob#edinennoj komissiej po kachestvu medicinskih uslug MZ RK ot 25.07.2022 (Protokol №166) Available from: <https://diseases.medelement.com/disease/%D0%BA%D0%BE%D1%80%D0%B E%D0%BD%D0%B0%D0%B2%D0%B8%D1%80%D1%83%D1%81%D0%BD%D0%B0%D1%8F-%D0%B8%D0%BD%D1%84%D0%B5%D0%BA%D1%86%D0%B8%D1%8F-c%D0%BEvid-19-%D1%83-%D0%B2%D0%B7%D1%80%D0%BE%D1%81%D0%BB%D1%8B%D1%85-6-%D1%80%D0%B5%D0%B4%D0%B0%D0%BA%D1%86%D0%B8%D1%8F-%D0%BA%D0%BF-%D1%80%D0%BA-2022/17238> (Last accessed: 13.10.2022)

13 FDA Allows For 'Emergency Use' of Remdesivir, Experimental Coronavirus Drug. *Time*. Associated Press (1 мая 2020). Last accessed: 2 мая 2020.

14 Gordon C.J., Tchesnokov E.P., Feng J.Y., Porter D.P., Götte M. The antiviral compound remdesivir potently inhibits RNA-dependent RNA polymerase from Middle East respiratory syndrome coronavirus. *The Journal Of Biological Chemistry* 2020; 10 April; 295(15): 4773—4779. doi:10.1074/jbc.AC120.013056. PMID 32094225.

15 Gordon C.J., Tchesnokov E.P., Woolner E., Perry J.K., Feng J.Y., Porter D.P., Götte M. Remdesivir is a direct-acting antiviral that inhibits RNA-dependent RNA polymerase from severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 with high potency. *The Journal Of Biological Chemistry* 2020; 15 May; 295(20): 6785—6797. doi:10.1074/jbc.RA120.013679 PMID 32284326.

16 WHO recommends against the use of remdesivir in COVID-19 patients. <https://www.who.int/news-room/feature-stories/detail/who-recommends-against-the-use-of-remdesivir-in-covid-19-patients> Дата обращения: 13.10.2022.

17 Zheleznikova G.F., Ivanova V.V., Monahova N.E. Varianty immunopatogeneza ostryh infekcij u detej. *SPb: Foliant*, 2007:254.

18 Beigel J., Bray M. Current and future antiviral therapy of severe seasonal and avian influenza. *Antiviral. Research*. 2008; 78: 91-102.

19 Romancov M.G., Kiselev O.I., Sologub T.V. Jetiopatogeneticheskaja farmakoterapija ORVI i grippa. <http://www.lvrach.ru/2011/02/15435132/>

20 Romancov M.G., Ershov F.I., Kovalenko A.L. Protivovirusnye preparaty dlja lechenija ORVI i grippa u detej (klinicheskij obzor) *Fundamental'nye issledovanija* 2010;9:76-87. Available from: <http://www.fundamental-research.ru/ru/article/view?id=13379> (Last accessed: 14.10.2016).

21 Fedjakina I.T., Shhelkanov M.Ju., Derjabin P.G. i dr. Izuchenie chuvstvitel'nosti pandemicheskikh virusov grippa A 2009 H1N1 i vysokovirulentnyh virusov grippa ptic A(H5N1) k protivogrippoznym himiopreparatam. *Antibiotiki i himioterapija* 2011;56:3-4.

22 Leneva I.A. Pandemicheskij virus grippa 2009 H1N1 i sovremennye protivogrippoznye preparaty. *RMZh* 2010;9:597 http://www.rmj.ru/articles/infektsiya/Pandemicheskij_virus_grippa_2009_H1N1_i_sovremennye_protivogrippoznye_preparaty/#ixzz4NJyqR2x9

23 Monto A. Viral susceptibility and the choice of influenza antivirals. *Clinical Infectious Diseases* 2008; 47:346—348.

24 Barik S. New treatments for influenza. *BMC Med*. 2012;10:104. doi: 10.1186/1741-7015-10-104.

25 Garten R.J. et al. Antigenic and genetic characteristics of swine origin 2009 A(H1N1) influenza viruses circulating in humans. *Science* 2009;325:197—201.

26 Cvetkov V.V., Deeva Je.G., Danilenko D.M., i dr. Molekuljarno-geneticheskie faktory patogenosti virusa grippa A(H1N1)pdm09. *Jepidemiologija i infekcionnye bolezni* 2014;19(4):4-11.

27 Dixit R., Khandaker G., Ilgoutz S. Emergence of oseltamivir resistance. *Infectious Disorders — Drug Targets*. 2013; 13 (1): 35—45.

28 Ustojchivost' k protivomikrobnym preparatam *Informacionnyj bjulleten' №194* April' 2015 g. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/ru/>

29 http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/en/

30 Brookes D.W., Miah Sh., Lackenby A., Hartgroves L., Barclay W.S., Pandemic H1N1 2009 influenza virus with the H275Y oseltamivir resistance neuraminidase mutation shows a small compromise

in enzyme activity and viral fitness, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* March 2011, Vol. 66, Issue 3: 466–470. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq486>

31 Weekly Epidemiol. Rec. 2011; 45: 497–508. <http://www.who.int/wer>, WHO. Influenza A(H1N1) Virus Resistance to Oseltamivir: 2008 Southern Hemisphere Influenza Season. http://www.who.int/csr/disease/influenza/oseltamivir_summarysouth2008/en/index.html.-2008.

32 Calatayud L., Lackenby A., Reynolds A. et al. Oseltamivir-resistant pandemic (H1N1) 2009 virus infection in England and Scotland, 2009–2010. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17: 1807–1815.

33 Shin S.Y., Kang C., Gwack J. et al. Drug-resistant pandemic (H1N1) 2009, South Korea. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17: 702–704.

34 Sleeman K., Sheu T.G., Moore Z. et al. Influenza B viruses with mutation in the neuraminidase active site, North Carolina, USA, 2010–2011. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17: 2043–2046.

35 Ujike M., Ejima M., Anraku A. et al. Monitoring and characterization of oseltamivir-resistant pandemic (H1N1) 2009 virus, Japan, 2009–2010. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17: 470–479. *Weekly Epidemiol. Rec.* 2011; 45: 497–508. <http://www.who.int/wer>.

36 Duan S., Boltz D.A., Seiler P. et al. Oseltamivir-resistant pandemic H1N1/2009 influenza virus possesses lower transmissibility and fitness in ferrets. *PLoS Pathog.* 2010; 6 (7): e1001022.

37 Gubareva L.V., Matrosovich M.N., Brenner M.K. et al. Evidence for zanamivir resistance in an immunocompromised child infected with influenza B virus. *Emerg. Infect. Dis.* 1998;178:1257–1262.

38 Breslav N.V., Shevchenko E.S., Abramov D.D. i dr. Jefferktivnost' primeneniya antinejraminidaznyh himiopreparatov vo vremja pandemii grippa i v postpandemicheskij period. *Voprosy virusologii* 2013;58(1):28-32.

39 Daput C., Suzuki Y., Saito R. et al. Rare influenza A (H3N2) variants with reduced sensitivity to antiviral drugs. *Emerg. Infect. Dis.* 2010;16:493-496.

40 Yi H., Lee J.Y., Hong E.H. et al. Oseltamivir-resistant pandemic (H1N1) 2009 virus, South Korea. *Emerg. Infect. Dis.* 2010;16:1938-1942.

41 Korotetskiy I.S., Zubenko N.V., Shvidko S.V. i dr. Analiz strukturnyh izmenenij genov virusa grippa A, otvetstvennyh za formirovanie fenotipa ustojchivosti k lekarstvennym preparatam. V: Vklad mikrobiologii i virusologii v sovremennuju bioindustriju: mater. mezhdunar. nauch. konf. Almaty, 2016:284-285.

42 Glebova T.I., Klivleyeva N.G., Lukmanova G.V., Saktaganov N.T., Baimukhametova A.M. 2018–2019 antiviral drug sensitivity of the influenza virus strains isolated from various regions of Kazakhstan. *Russian Journal of Infection and Immunity.* 2021;11(6):1159-1166. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-ADS-1497>

43 Glebova T.I., Klivleyeva N.G., Lukmanova G.V. i dr. Harakteristika virusov grippa A(H1N1), vydelennyh v Aral'skom regione Respubliki Kazahstan v 2015 g. V: Vklad mikrobiologii i virusologii v sovremennuju bioindustriju: mater. mezhdunar. nauch. konf. Almaty, 2016:313-317.

44 Lukmanova, G.V., Klivleyeva, N.G., Glebova, T.I., Sayatov, M.H., Ongarbayeva, N.S., Saktaganov, N.T., Shamenova, M.G., Kalkozhayeva, M.K., Baiseit, S.B., Baimukhametova, A.M., Amirasheva, L.K., Webby, R.J. Sensitivity of 2015 Kazakhstan influenza viruses to chemotherapy drugs. *Bulletin of the national academy of sciences of the republic of Kazakhstan* 2018;4:18-22. <https://www.webofscience.com/wos/woscc/full-record/WOS:000450771300003>

45 Lukmanova G., Klivleyeva N., Glebova T., Saktaganov N., Ongarbayeva N., Baimukhametova A. Study of the 2019 A/H1N1 influenza virus susceptibility to chemotherapy drugs in ovo. *Biotechnology & Biotechnological Equipment.* Issue sup1: Special Issue: European Biotechnology Congress 2020. Poster Abstracts 2021;35:S62-128. Published online: 26 Feb 2021. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/13102818.2020.1871545>

46 Glebova T.I., Klivleyeva N.G., Lukmanova G.V., Saktaganov N.T., Ongarbayeva N.S. Sensitivity of influenza virus strains isolated from various regions of Kazakhstan in 2018–2019 to antiviral drugs. *Clinical Medicine (Russian Journal).* 2021;99(4):276-281. <https://doi.org/10.30629/0023-2149-2021-99-4-276-281>

47 Klivleyeva N., Ongarbayeva N., Korotetskiy I., Glebova T., Saktaganov N., Shamenova M., Baimakhanova B., Shevtsov A., Amirgazin A., Berezin V., Webby R. Complete Genome Sequence of Swine Influenza Virus Isolate A/swine/Karaganda/04/2020 (H1N1) from Kazakhstan. *Microbiology Resource Announcements* 2021;10(39):e00786 10:e00786-21. <https://doi.org/10.1128/MRA.00786-21>