



УДК:578, 577.21

**РЕКОМБИНАНТНЫЕ ГЕНОТИПЫ НОРОВИРУСОВ,  
СОДЕРЖАЩИЕ ПОЛИМЕРАЗУ GPP16, - ДОМИНИРУЮЩИЕ  
ЭТИОЛОГИЧЕСКИЕ АГЕНТЫ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ОСТРЫМ  
ГАСТРОЭНТЕРИТОМ В БЕЛАРУСИ В 2016 -2021 ГГ.**

**\*Поклонская Н.В., Амвросьева Т.В., Бельская И.В., Колтунова Ю.Б.,  
Шилова Ю.А.**

*Республиканский научно-практический центр  
эпидемиологии и микробиологии,  
Филимонова 23, г. Минск, 220114, Республика Беларусь  
[\\*labsanvir@gmail.com](mailto:labsanvir@gmail.com)*

**АБСТРАКТ**

Норовирусы – широко распространенные возбудители острого гастроэнтерита (ОГЭ). В последние годы рекомбинантные генотипы норовирусов, в состав которых входит РНК-полимеразы GPP16, получили глобальное распространение. Целью исследований был анализ генетического разнообразия циркулировавших в 2016 – 2021 гг. в Республике Беларусь норовирусов для установления вклада идентифицированных генотипов в формирование заболеваемости и изучения особенностей циркуляции их рекомбинантных вариантов, содержащих РНК-полимеразу GPP16.

Проведено секвенирование и генетический анализ фрагмента генома ORC1/ORC2 242 норовирусов из проб пациентов с ОГЭ, собранных в 2016-2021 гг. Установлено, что 199 изолятов норовируса (82,2% всех идентифицированных) были рекомбинантными. В этот период преобладали генотипы, содержащие полимеразу GPP16 (143 изолята, 71,9% от всех рекомбинантных генотипов) и ген VP1 генотипов GP.2, GP.3, GP.4, GP.12, GP.13. В общей структуре разнообразия идентифицированных генотипов они распределились следующим образом: GP.4[P16] – 42,0%, GP.2[P16] – 32,2%, GP.3[P16] – 16,8%, GP.12[P16] – 8,4%, GP.13[P16] – 0,7%. Наиболее длительно циркулировали генотипы GP.4[P16] и GP.2[P16] – с 2016-2017 по 2021 г. Их циркуляция сопровождалась возникновением групповой заболеваемости ОГЭ: генотип GP.2[P16] вызвал ее в 2016, 2018 и 2021 г., GP.4[P16] – в 2017 и 2021 г. Все исследованные изоляты разных рекомбинантных генотипов содержали один и тот же вариант гена РНК полимеразы GPP16, который получил глобальное распространение в мире в 2015-2017 гг. Сравнение нуклеотидных последовательностей изолятов внутри генотипов показало, что, несмотря на продолжительный период циркуляции, накопления мутаций и селекции отдельных геновариантов внутри генотипа не наблюдалось.

**Ключевые слова:** норовирусы, рекомбинантные генотипы, геноварианты, возбудители ОГЭ

**ВВЕДЕНИЕ**

Норовирусы – широко распространенные этиологические агенты острого гастроэнтерита, по частоте вызываемой ими спорадической заболеваемости уступающие только ротавирусам и являющиеся основной причиной групповой заболеваемости [1]. Вспышки норовирусной инфекции чаще всего регистрируются в закрытых и полужакрытых коллективах – больницах, интернатах, домах престарелых, детских лагерях, а также в организациях общепита – ресторанах, кафе, столовых. Как правило, реализуется контактно-бытовой и пищевой пути передачи вируса [2]. Норовирусная инфекция встречается у людей всех возрастов и обычно протекает легко, однако у



иммунокомпрометированных пациентов, маленьких детей и пожилых лиц может вызывать серьезное заболевание [3].

Норовирусы – мелкие, безоболочечные вирусы из сем. *Caliciviridae*, геном которых представлен одноцепочечной молекулой (+) РНК около 7500 нт. В составе генома выделяют три открытые рамки считывания (ОРС). ОРС 1 кодирует большой полипротеин, который расщепляется на 6 неструктурных белков (NS1/2, NS3, NS4, NS5, NS6, и NS7), ОРС 2 и ОРС3 кодируют основной (VP1) и минорный (VP2) капсидные белки, соответственно [4].

На основании нуклеотидной последовательности VP1 норовирусы разделяют на 7 геногрупп, которые далее подразделяются на большое количество генотипов [4, 5]. Норовирусы геногрупп GI, GII и GIV патогенны для человека, большинство заболеваний вызывают норовирусы геногруппы GII.

Норовирусы – чрезвычайно вариабельные вирусные агенты, в формировании генетического разнообразия которых участвуют как генетический дрейф, в результате высокого уровня точечных мутаций, так и генетический шифт вследствие рекомбинации между вирусами разных генотипов. Эти два процесса являются основной движущей силой эволюции норовирусов [6]. Рекомбинация норовирусов наиболее часто происходит в участке соединения ОРС1 и ОРС 2 [7], реже - внутри ОРС1, ОРС2 [8], а также между ОРС2 и ОРС3 [7]. Регион соединения ОРС 1 и ОРС2 является чрезвычайно важным, так как это участок между генами, кодирующими структурные и неструктурные белки, и рекомбинация в этой точке может влиять на патогенез, скорость репликации и взаимодействие с иммунной системой хозяина [9, 10].

Начиная с середины 90х годов, в мире доминировали норовирусы генотипа GII.4, распространение которого сопровождалось регулярной сменой (каждые 2-4 года) доминирующего эпидемического геноварианта, формировавшегося в результате генетического дрейфа и рекомбинации [11]. Последний эпидемический геновариант GII.4 Sydney 2012 был рекомбинантным и содержал РНК-полимеразу GII[P31] (по предыдущей классификации - GII[Pe]) [12]. Он циркулировал в нашей стране вплоть до 2019 г. Однако после 2015 года роль норовирусов, содержащих капсидный белок генотипа GII.4, в формировании эпидпроцесса существенно снизилась и, начиная с 2015 г., в мире стали регистрироваться множественные рекомбинантные генотипы норовирусов, в состав которых входила полимеразы GII[P16], имевшая практически идентичную нуклеотидную последовательность, а ген VP1 принадлежал разным генотипам - GII.1, GII.2, GII.3, GII.10, GII.12 [13]. Часть из них получила широкое распространение, другие встречались эпизодически. В Республике Беларусь, начиная с 2016 г., также регистрировалась циркуляция различных рекомбинантных генотипов норовирусов, содержащих ген РНК-полимеразы GII[P16].

Исходя из вышеизложенного, целью настоящей работы является анализ генетического разнообразия циркулировавших в 2016 – 2021 гг в Республике Беларусь норовирусов для установления вклада идентифицированных генотипов в формирование заболеваемости и изучения особенностей циркуляции их рекомбинантных вариантов, содержащих РНК-полимеразу GII[P16].

## Материалы и методы

В исследованиях были использованы 242 нуклеотидные последовательности норовирусов, обнаруженных в пробах фекалий детей и взрослых в 2016-2021 гг.

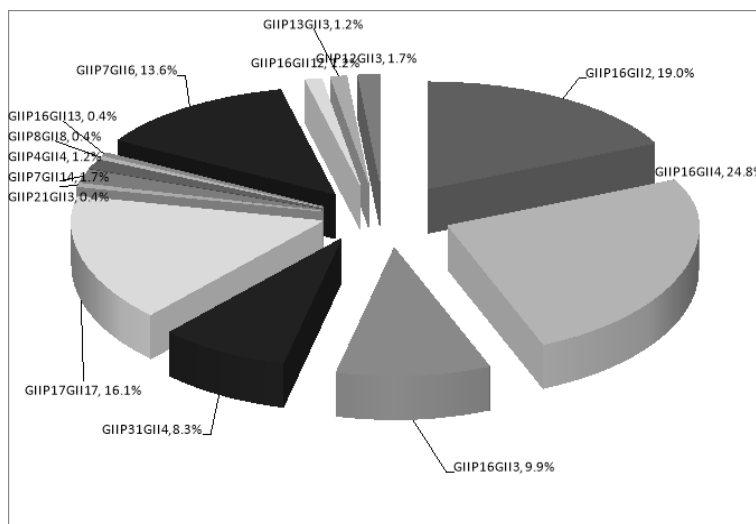
Выделение РНК норовирусов проводили с помощью коммерческих наборов «Рибо-преп» («АмплиСенс», Россия) и НК-экстра (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Беларусь) в соответствии с инструкцией по применению.

Для накопления фрагментов генома вируса с целью секвенирования использовали «5x АртМикс» («АртБиоТех», Беларусь), содержащий все необходимые компоненты для проведения ОТ-ПЦР в одной пробирке и комплекты праймеров, разработанных различными авторами [14,15]. Постановку реакции проводили в соответствии с инструкцией по применению «5x АртМикс», температуру и время отжига праймеров устанавливали в соответствии с рекомендациями разработчиков праймеров.

Реакцию секвенирования проводили с помощью набора «GenomLab Dye Terminator Cycle Sequencing with Quick Start Kit» (Beckman Coulter, США). Детекцию результатов осуществляли на приборе CEQ 8 000 (Beckman Coulter, США), анализ результатов - в MEGA7 [16]. Молекулярное типирование осуществляли с помощью программного продукта Norovirus Genotyping Tool Version 1.0, доступного для свободного использования в режиме онлайн [17], и BLAST, открытого для свободного использования [18].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

За период 2016-2021 гг. было получено 242 нуклеотидные последовательности (длиной 535 нуклеотидов) норовирусов II генотипа, содержащие фрагмент соединения ORC1 и ORC2 генома норовирусов, которые включали 3' конец гена РНК-полимеразы и 5' конец гена VP1. На основании анализа этих последовательностей проведено молекулярное типирование исследуемых норовирусов, результат которого представлен на рисунке 1.

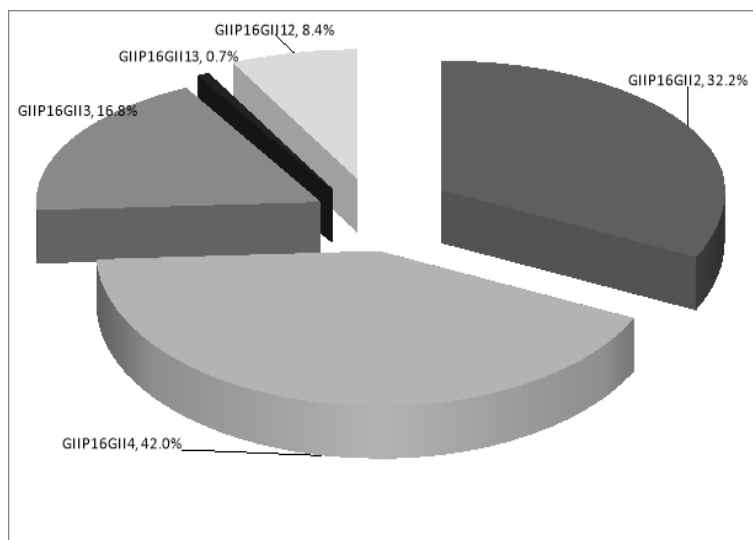


**Рис. 1.** Результат молекулярного типирования 242 изолятов норовирусов, идентифицированных в пробах пациентов с острым гастроэнтеритом в 2016-2021 гг.

Установлено, что большинство циркулировавших норовирусов имели рекомбинантный геном: только 17,7% изолятов несли гены РНК-полимеразы и капсидного белка VP1, принадлежавшие к одному генотипу. Причем основную часть этих изолятов составляли норовирусы генотипа GIIP.17[P17] Kawasaki 308 (16,1%), который появился в конце 2014 г. в Китае и получил глобальное распространение, вызвав многочисленные вспышки на территории различных стран. В Республике Беларусь этот генотип был зарегистрирован осенью 2015 г. и вызвал существенное ухудшение эпидситуации. Как видно из данных, представленных на рис. 3, он продолжал активно циркулировать в нашей стране

вплоть до 2020 г. На долю других не рекомбинантных норовирусов пришлось всего 1,6% изолятов, которые были представлены норовирусами GII.4[P4] и GII.8[P8].

Анализ рекомбинантных генотипов норовирусов (n=199, 82,2% от всех идентифицированных в 2016-2021 гг.) показал, что абсолютное их большинство содержали ген полимеразы генотипа GII.P16 – 71,9% от всех рекомбинантных генотипов и 59,1% от всех идентифицированных в 2016-2021 гг. Норовирусы, содержащие полимеразу GII[P16] (n=143), были представлены следующими рекомбинантными генотипами: GII.4[P16] – 42,0%, GII.2[P16] – 32,2%, GII.3[P16] – 16,8%, GII.12[P16] – 8,4%, GII.13[P16] – 0,7% (рисунок 2)



**Рис. 2.** Рекомбинантные рекомбинантный генотипы норовирусов, несущие полимеразу GII.P16, которые были идентифицированы у пациентов с ОГЭ в 2016-2021 гг.

Анализ интенсивности циркуляции идентифицированных норовирусных генотипов проводили на основании оценки доли каждого из них среди всех выявленных по годам в период с 2016 по 2021 (рисунок 3). Установлено, что циркуляция рекомбинантных генотипов GII.4[P16] и GII.2[P16] началась в 2016 г. и продолжалась вплоть до 2021 г. При этом рекомбинантный генотип GII.2[P16] был доминирующим в 2016 г. (66,7% всех идентифицированных норовирусов), затем его доля постепенно снижалась (25% – в 2017 г., 11,7% – в 2018 г., 4,9% – в 2019 г.), после чего она опять стала возрастать, достигнув в 2021 г. 25% в общей структуре идентифицированных изолятов норовирусов. Рекомбинантный генотип GII.4[P16] также был зарегистрирован впервые в 2016 г. и его доля оказалась относительно невелика (6,7%). Однако в последующие годы он циркулировал приблизительно с одинаковой интенсивностью и входил в число преобладающих генотипов норовирусов: 2017 г. – 33,3% от всех изолятов, 2018 г. – 25,0%, 2019 г. – 29,5%, 2020 г. – 20,5%, 2021 г. – 31,3%.

Рекомбинантный генотип GII.3[P16] впервые был зарегистрирован в нашей стране в 2017 г. и его доля составила 13,9%. Циркуляция этого рекомбинантного генотипа продолжалась вплоть до 2019 г., при этом в 2018 г. он был преобладающим (31,7% всех типированных изолятов).

Рекомбинантный генотип GII.12[P16] циркулировал в 2019-2021 гг., но распространение его было крайне незначительным: в 2019 г. он составил 3,3%, в 2021 – 6,3% от всех генотипированных норовирусов. Единичные находки рекомбинантного генотипа GII.13[P16] (0,4% от всех идентифицированных) были

обнаружены в 2019 г., в дальнейшем его циркуляция не регистрировалась (Рисунок 3).

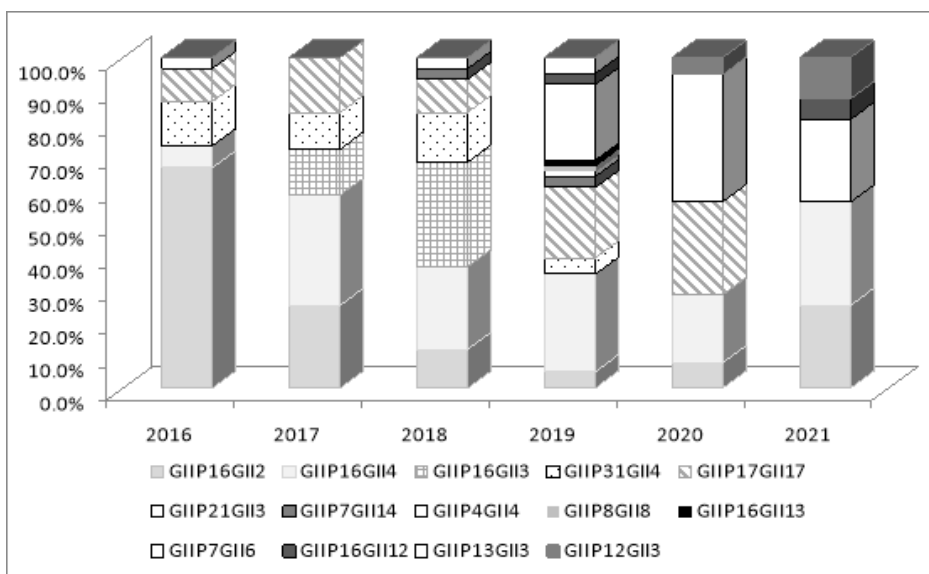


Рис. 3. Циркуляция различных генотипов норовирусов по годам в период 2016 – 2021.

В период 2016-2021 гг. проведена расшифровка 24 эпизодов групповой заболеваемости, вызванных норовирусами, в том числе 20 из них были этиологически связаны с норовирусами II геногруппы (рисунок 4). Рекомбинантные генотипы норовирусов, содержащие РНК-полимеразу GIIP16, явились этиологическими агентами 7 эпизодов, в том числе генотип GIIP2[P16] вызвал 2 эпизода в 2016 г., 1 – в 2018 г. и 1 – в 2021 г; генотип GIIP3[P16] был причиной 1 эпизода в 2017 г. и 1 эпизода в 2018 г; с генотипом GIIP4[P16] ассоциировался 1 эпизод в 2017 г. и 1 эпизод в 2021 г.

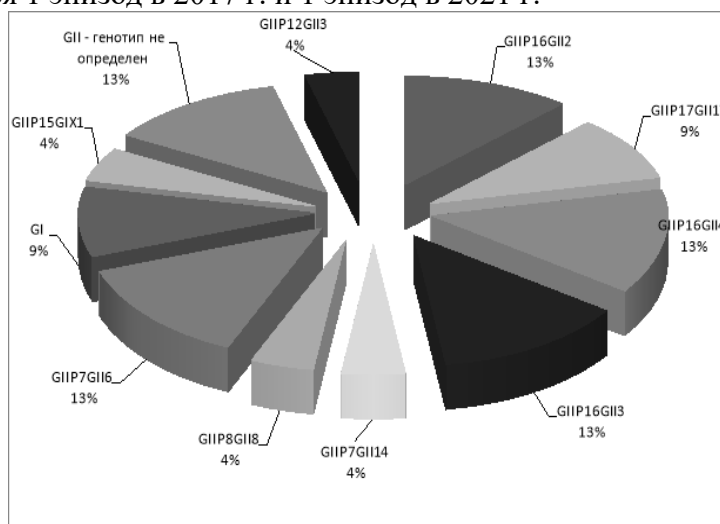


Рис. 4. Доля различных рекомбинантных генотипов норовирусов в формировании групповой заболеваемости в 2016 – 2021 гг.

В целом рекомбинантные генотипы норовирусов, содержащие РНК-полимеразу GIIP16, стали причиной 39% зарегистрированных в 2016-2021 гг. эпизодов групповой заболеваемости, что относительно не много, учитывая интенсивность их циркуляции. Распределение эпизодов групповой заболеваемости по годам представлено на рисунке 5. Как видно из рисунка, эпизоды групповой заболеваемости, вызванные рекомбинантными генотипами

норовирусов, несущими полимеразу GII[P16], были зарегистрированы в 2016, 2017, 2018 и 2021 г. Генотип GII.2[P16] явился причиной данной заболеваемости в 2016, 2018 и 2021 г., генотип GII.3[P16] – в 2017 и 2018 г., генотип GII.4[P16] – в 2017 и 2021 г.

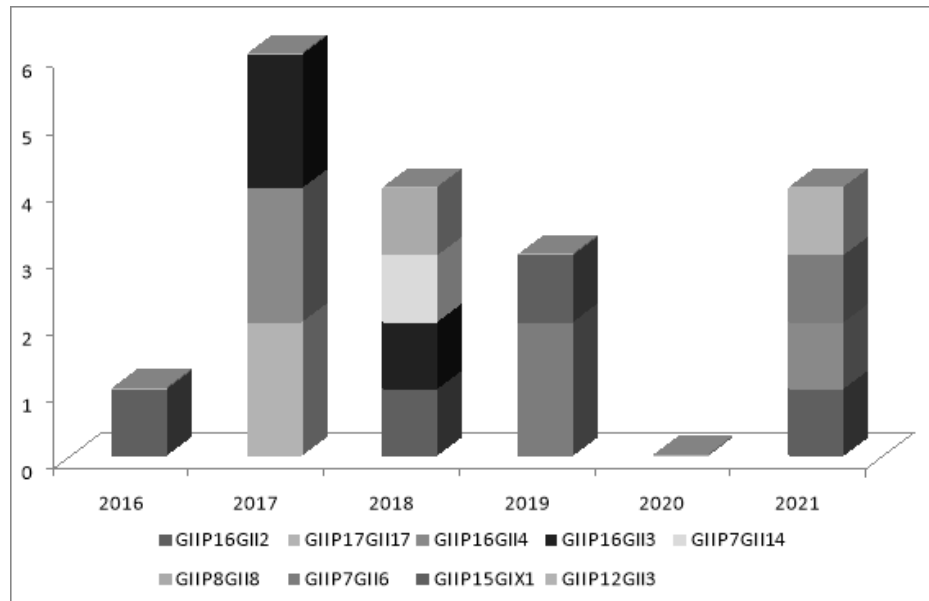


Рис. 5. Генотипы норовирусов, вызвавшие групповую заболеваемость в различные годы в 2016- 2021 гг.

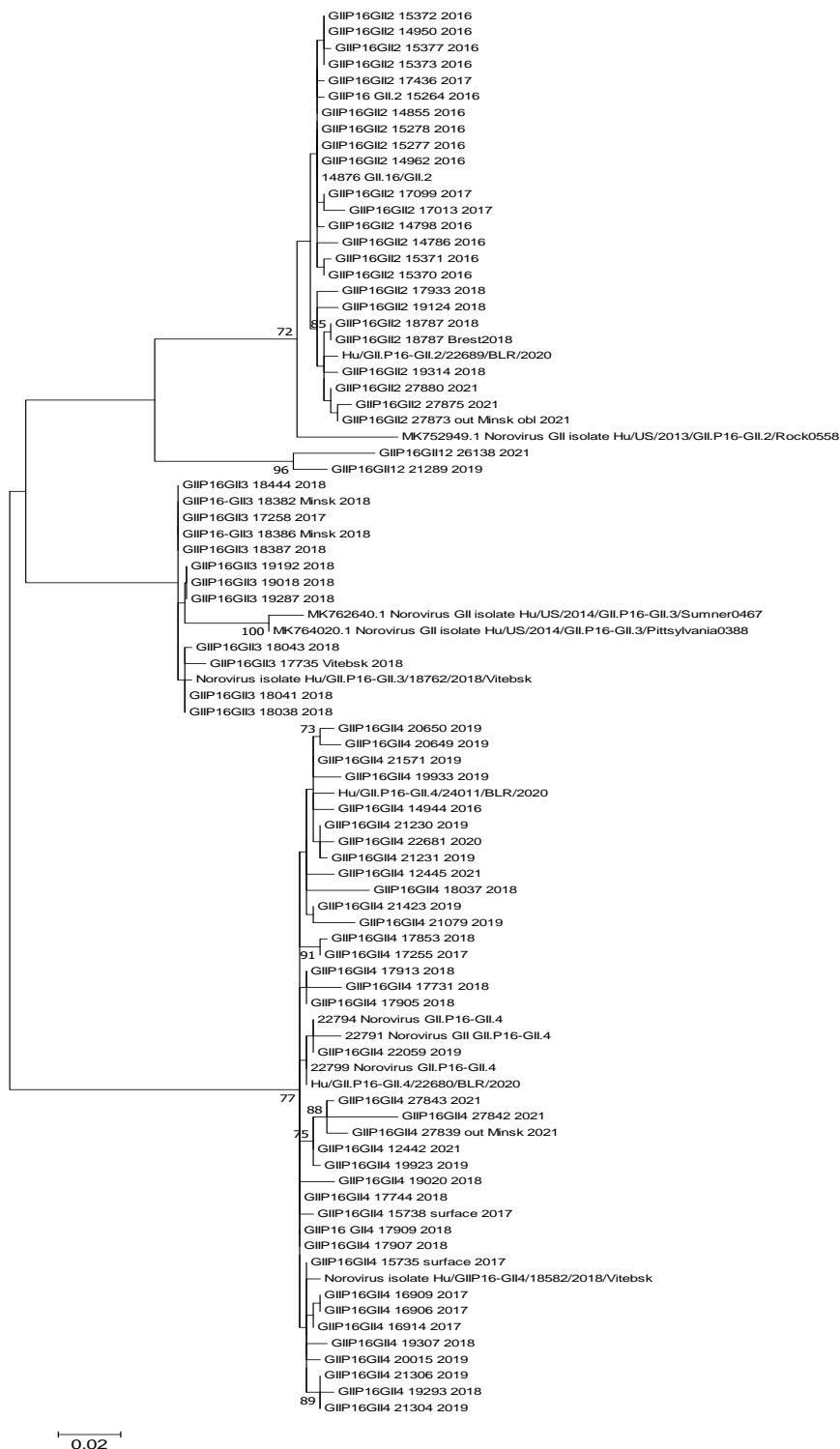
Ранее зарубежными исследователями было показано, что ген РНК-полимеразы GII[P16], который получил глобальное распространение в последние годы среди различных рекомбинантных генотипов норовирусов, имел общее происхождение и относился к одному генетическому варианту [13]. Для того чтобы установить, содержали ли рекомбинантные генотипы норовирусов, циркулировавших в Беларуси, именно этот геновариант РНК-полимеразы GIIP16, было проведено сравнение фрагмента этого гена исследуемых изолятов между собой и с нуклеотидными последовательностями референсных штаммов. В качестве референсных использовали нуклеотидные последовательности из базы данных GenBank МК752949, МК762640, МК764020, которые содержали ген РНК-полимеразы, не получившей глобальное распространение в последние годы, а также последовательность MT125877, содержащую фрагмент гена РНК-полимеразы GII[P16], имевшей глобальное распространение в последние годы [13]. Установлено, что все изоляты рекомбинантных генотипов GII2[P16] GII3[P16], GIIP4[P16], GII12[P16] имели 99,4%-97,4% сходства между собой и только 94,8-95,8% сходства по гену РНК-полимеразы при сравнении их с последовательностями МК752949, МК762640, МК764020, которые несли ген РНК-полимеразы «старых» типов.

Полученные результаты показали, что все включенные в настоящее исследование норовирусы содержали ген РНК-полимеразы GII[P16], получивший глобальное распространение в мире после 2016 г., вне зависимости от того, к какому генотипу относился их капсидный белок.

Далее был проведен сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента соединения ORC1/ORC2, полученных от изолятов одного и того же генотипа в течение всего периода его циркуляции. Как оказалось, все изоляты генотипа GII.2[P16], выявленные в период с 2016 по 2021 гг., имели не более 0-2% различий, генотипа GII.3[P16] - 0-0,7% различий, генотипа GIIP16GII - 0,2-2,4% различий. Результат филогенетической реконструкции (рисунок 6) также не позволил обнаружить формирования каких либо отдельных кластеров в течение всего периода циркуляции. На основании



этих данных был сделан вывод о том, что циркуляция генотипов GI.2[P16], GI.3[P16], GI.4[P16] в 2016-2021 гг. не сопровождалась селекцией новых геновариантов в пределах этих генотипов, по крайней мере при анализе региона ОРС1/ОРС2 соединения.



**Рис. 6.** Филогенетическое древо, построенное методом максимального правдоподобия, с использованием двухпараметрической модели нуклеотидных замен Кимуры на основании анализа фрагмента 535 нт соединения ОРС1/ОРС2 генома норовирусов генотипов GI.2[P16], GI.3[P16], GI.4[P16], GI.12[P16].

В анализ включены нуклеотидные последовательности 84 изолятов, циркулировавших в Беларуси в 2016-2021 гг., 3 нуклеотидные



последовательности референсных штаммов МК752949, МК762640, МК764020. Цифры в узлах древа – значения бутстрепинга, слева в углу – шкала эволюционного расстояния (нуклеотидных замен/сайт)

## ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ данных литературы свидетельствует о том, что рекомбинантные генотипы норовирусов, содержащие РНК-полимеразу GII.16, получили широкое глобальное распространение в последние 5 лет [13]. Мы провели сравнение полученных результатов о сроках циркуляции рекомбинантных генотипов GII.2[P16], GII.3[P16], GII.4[P16], GII.12[P16] и данных, представленных другими странами в международную систему молекулярного мониторинга CaliciNet [13]. По информации зарубежных исследователей рекомбинантный генотип GII.4[P16] впервые был зарегистрирован в конце 2015 г., а наиболее активно циркулировал в течение эпидсезонов (декабрь-апрель) 2016-2017 и 2017-2018 гг. В нашей стране этот рекомбинантный генотип получил широкое распространение, начиная с 2017 г. Рекомбинантный генотип GII.2[P16] появился в мире в 2016 г. и вызвал значительный рост заболеваемости норовирусной инфекцией в Азии [19,20]. Интересно, что первые изоляты данного генотипа в Беларуси также были идентифицированы в 2016 г., что указывает на практически одновременное его глобальное распространение. Рекомбинантный генотип GII.3[P16] впервые в сети CaliciNet был зарегистрирован в январе 2018 г., тогда как в нашей стране первые изоляты этого генотипа были получены во время групповой заболеваемости в октябре 2017 г. Поиск в базе данных GenBank показал, что наиболее ранние изоляты GII.3[P16] были идентифицированы весной-летом 2016 г. в Индии. Рекомбинантный генотип GII.12[P16] впервые был обнаружен в Беларуси в 2019 г., продолжил циркуляцию до 2021 г. но не участвовал активно в формировании заболеваемости ОГЭ.

Ранее проведенный зарубежными авторами масштабный анализ нуклеотидных последовательностей гена РНК-полимеразы GII[P16] показал, что они входили в состав 3 групп: вирусы первой группы циркулировали с 1975 по 2015 и содержали вариант полимеразы, обозначенный «extant A», вирусы второй группы циркулировали в 2010-2017 гг. и содержали полимеразу варианта «extant B», вирусы третьей группы получили глобальное распространение в 2016-2017 гг. и содержали вариант гена полимеразы, обозначенный «new» [13]. Полученные результаты показали, что все включенные в настоящее исследование изоляты содержали ген РНК-полимеразы варианта «new», вне зависимости от того, к какому генотипу относился их капсидный белок.

Результаты проведенного нами молекулярного типирования свидетельствовали о том, что норовирусы GII.2[P16] и GII.4[P16] циркулировали в нашей стране довольно длительное время – по меньшей мере, в течение 6 лет. Более того, они вызвали эпизоды групповой заболеваемости и значительную часть спорадических случаев острого гастроэнтерита в 2021 г. спустя 6 лет после появления. Эти факты не согласуются с предшествующими результатами молекулярного мониторинга норовирусов, как в нашей стране, так и за рубежом. Согласно наблюдениям предшествующих лет, появление нового генотипа норовируса сопровождалось резким ростом спорадической заболеваемости и/или увеличением количества вспышек в течение 1-2 лет, после чего этот генотип исчезал, или продолжал выявляться в небольшой доле проб от пациентов со спорадическими случаями ОГЭ в течение 2-4 лет. Можно предположить, что наблюдаемая ситуация длительной циркуляции рекомбинантных генотипов GII.2[P16] и GII.4[P16] с 2016 по 2021 г. связана с ограничениями,



обусловленными пандемией COVID-19. Соблюдение большинством населения санитарно-гигиенических требований – использование санитайзеров, частое мытье рук и ношение масок, снижение активности населения и уменьшение контактов привело к снижению частоты передачи не только респираторных, но и кишечных вирусов, в том числе - норовирусов, для которых контактно-бытовой путь является основным. Соответственно, циркуляция вирусов среди населения происходила менее интенсивно и доля иммунных к данному геноварианту индивидуумов росла медленнее, чем в предшествующие годы. Поэтому мы наблюдали более длительную циркуляцию одних и тех же генотипов. Ограничение трансграничных перемещений населения привело также к снижению вероятности заносов новых генотипов, которые привели бы к вытеснению старых.

## **ВЫВОДЫ**

Анализ результатов молекулярного типирования норовирусов, циркулировавших среди населения Беларуси в 2016-2021 гг., проведенный по фрагменту ORC1/ORC2 их генома, показал, что в этот период 82,2% всех идентифицированных генотипов были рекомбинантными. Среди них преобладали генотипы, содержащие полимеразу GII[P16] (71,9%) и ген VP1 генотипов GII.2, GII.3, GII.4, GII.12, GII.13. Доли отдельных рекомбинантных генотипов распределялась следующим образом: GII.4[P16] – 42,0%, GII.2[P16] – 32,2%, GII.3[P16] – 16,8%, GII.12[P16] – 8,4%, GII.13[P16] – 0,7%. Наиболее длительно циркулировали генотипы GII.4[P16] и GII.2[P16] – с 2016-2017 по 2021 г. При этом их циркуляция сопровождалась возникновением вспышек в разные годы: генотип GII.2[P16] вызвал групповую заболеваемость в 2016, 2018 и 2021 г., GII.4[P16] – в 2017 и 2021 г. Все исследованные изоляты разных рекомбинантных генотипов содержали один и тот же вариант гена РНК полимеразы GII[P16], который получил глобальное распространение в мире в 2015-2017 гг. Сравнение нуклеотидных последовательностей изолятов внутри генотипов показало, что, несмотря на относительно длительный период циркуляции, не наблюдалось накопления мутаций и селекции отдельных геновариантов внутри генотипа. Все изоляты, идентифицированные с 2016 по 2021 годы, обладали 98-100% сходством нуклеотидных последовательностей и группировались в составе единых монофилетических кластеров, каждый из которых соответствовал генотипу. Можно предположить, что более длительный период циркуляции генотипов GII.4[P16] и GII.2[P16] обусловлен повышенными санитарно-гигиеническими мерами и ограничениями, обусловленными пандемией COVID-19, которые привели к снижению эффективности распространения отдельных генотипов норовирусов в популяции и, соответственно, более медленному накоплению иммунной прослойки к каждому из них. Сохранение части неиммунного населения обусловило более длительный, чем обычно, период циркуляции норовирусных генотипов, а закрытие границ и уменьшение трансграничных контактов привело к отсутствию заносов новых геновариантов, которые могли бы вытеснить ранее циркулировавшие.

## **Финансирование**

Данная работа выполнена в рамках задания «Установить этиологическую структуру вирусных кишечных инфекций, разработать алгоритм надзора за возбудителями на основе карты их молекулярно-генетического разнообразия» научных исследований и разработок общегосударственного отраслевого



назначения, направленных на научно-техническое обеспечение деятельности Министерства здравоохранения Республики Беларусь (источник финансирования – государственный бюджет Республики Беларусь).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ahmed S.M., Hall A.J., Robinson A.E., Verhoef L., Premkumar P., Parashar U.D., Koopmans M., Lopman B.A. Global prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis: A systematic review and meta-analysis// *Lancet Infect. Dis.* -2014.- Vol. 14. -P. 725-730.
2. Shah M.P., Wikswo M.E., Barclay L., Kambhampati A., Shioda K., Parashar U.D., Vinje J., Hall A.J. Near Real-Time Surveillance of U.S. Norovirus Outbreaks by the Norovirus Sentinel Testing and Tracking Network-United States, August 2009–July 2015// *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* -2017.- Vol. 66. -P.185-189.
3. Hall A.J., Lopman B.A., Payne D.C., Patel M.M., Gastanaduy P.A., Vinje J., Parashar U.D. Norovirus disease in the United States// *Emerg. Infect. Dis.* - 2013.- Vol. 19. -P.1198-1205.
4. Green K. Caliciviridae: The Noroviruses. In *Fields' Virology*, 6th ed.; Knipe, D.M., Howley, P.M., Eds.; LippincottWilliams & Wilkins: Philadelphia, PA, USA, 2013.
5. Vinje J. Advances in laboratory methods for detection and typing of norovirus// *J. Clin. Microbiol.* - 2015.- Vol. 53. -P.373-381.
6. Ludwig-Begall L.F., Mauroy A., Thiry E. Norovirus recombinants: Recurrent in the field, recalcitrant in the lab-A scoping review of recombination and recombinant types of noroviruses// *J. Gen. Virol.* - 2018.- Vol. 99. -P. 970-988.
7. Eden J.S., Tanaka M.M., Boni M.F., Rawlinson W.D., White P.A. Recombination within the pandemic norovirus GII.4 lineage// *J. Virol.* -2013.-Vol.87.- P.6270-6282.
8. Rohayem J., Munch J., Rethwilm A. Evidence of recombination in the norovirus capsid gene// *J. Virol.* -2005.- Vol. 79.- P. 4977-4990.
9. Bull R.A., Eden J.S., Rawlinson W.D., White P.A. Rapid evolution of pandemic noroviruses of the GII.4 lineage// *PLoS Pathog.* - 2010.- Vol. 6. - e1000831.
10. Tohma K., Lepore C.J., Ford-Siltz L.A., Parra G.I. Phylogenetic Analyses Suggest that Factors Other Than the Capsid Protein Play a Role in the Epidemic Potential of GII.2 Norovirus // *mSphere.* - 2017.- Vol. 2.- e00187-17.
11. Siebenga J.J., Vennema H., Zheng D.P., Vinje J., Lee B.E., Pang X.L., Ho E.C., Lim W., Choudekar A., Broor S. et al. Norovirus illness is a global problem: Emergence and spread of norovirus GII.4 variants, 2001-2007// *J. Infect. Dis.* - 2009.- Vol.200.-P. 802-812.
12. Cannon J.L., Barclay L., Collins N.R., Wikswo M.E., Castro C.J., Magana L.C., Gregoricus N., Marine R.L., Chhabra P., Vinje J. Genetic and Epidemiologic Trends of Norovirus Outbreaks in the United States from 2013 to 2016 Demonstrated Emergence of Novel GII.4 Recombinant Viruses// *J. Clin. Microbiol.* - 2017.- Vol. 55.- P.2208-2221.
13. Barclay L., Cannon J.L., Wikswo M.E. et al. Emerging Novel GII.P16 Noroviruses Associated with Multiple Capsid Genotypes// *Viruses.* - 2019. - Vol.11, №6. -P.535.
14. Kong, B-H.; Lee, S-G.; Han S-H. et al. Development of Enhanced Primer Sets for Detection of Norovirus// *Biomed Res Int.* - 2015: 103052. <http://doi:10.1155/2015/103052>.



15. George S., Menon V.K., Ramani S. et al. Comparison of primers for the detection of genogroup II noroviruses in India// Indian J Med Microbiol. - 2012. -Vol. 30, №1. - P.24-29
16. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets// Molecular Biology and Evolution.- 2016. - Vol.33 - P. 1870-1874
17. Kroneman A., Vennema H., Deforche K., et al. An automated genotyping tool for enteroviruses and noroviruses.// J Clin Virol. - 2011. -Vol. 51, №2. - P.121-5.
18. Altschul S., Gish W., Miller W. et al. Basic local alignment search tool.// Journal of Molecular Biology. - 1990. -Vol.215, №3. - P.403-410
19. Ao Y., Wang J., Ling H., He Y., Dong X., Wang X., et al. Norovirus GII.P16/GII.2-associated gastroenteritis, China, 2016// Emerg Infect Dis.- 2017.- Vol.23. -P.1172-1175.
20. Liu L.T., Kuo T.Y., Wu C.Y., Liao W.T., Hall A.J., Wu .FT. Recombinant GII.P16-GII.2 norovirus, Taiwan, 2016// Emerg Infect Dis.- 2017.-Vol.23. -P.1180-1183.

## REFERENCES

1. Ahmed S.M., Hall A.J., Robinson A.E., Verhoef L., Premkumar P., Parashar U.D., Koopmans M., Lopman B.A. Global prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect. Dis.*, 2014, vol. 14, pp. 725-730.
2. Shah M.P., Wikswo M.E., Barclay L., Kambhampati A., Shioda K., Parashar U.D., Vinje J., Hall A.J. Near Real-Time Surveillance of U.S. Norovirus Outbreaks by the Norovirus Sentinel Testing and Tracking Network-United States, August 2009–July 2015. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.*, 2017, vol. 66, pp.185-189.
3. Hall A.J., Lopman B.A., Payne D.C., Patel M.M., Gastanaduy P.A., Vinje J., Parashar U.D. Norovirus disease in the United States. *Emerg. Infect. Dis.*, 2013, vol. 19, pp.1198-1205.
4. Green K. Caliciviridae: The Noroviruses. In Fields' Virology, 6th ed.; Knipe, D.M., Howley, P.M., Eds.; Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA, USA, 2013.- Vol. 1.
5. Vinje J. Advances in laboratory methods for detection and typing of norovirus. *J. Clin. Microbiol.*, 2015, vol. 53, pp.373-381.
6. Ludwig-Begall L.F., Mauroy A., Thiry E. Norovirus recombinants: Recurrent in the field, recalcitrant in the lab-A scoping review of recombination and recombinant types of noroviruses. *J. Gen. Virol.*, 2018, vol. 99, pp. 970-988.
7. Eden J.S., Tanaka M.M., Boni M.F., Rawlinson W.D., White P.A. Recombination within the pandemic norovirus GII.4 lineage. *J. Virol.*, 2013.,vol.87, pp.6270-6282.
8. Rohayem J., Munch J., Rethwilm A. Evidence of recombination in the norovirus capsid gene. *J. Virol.*, 2005, vol. 79, pp. 4977-4990.
9. Bull R.A., Eden J.S., Rawlinson W.D., White P.A. Rapid evolution of pandemic noroviruses of the GII.4 lineage. *PLoS Pathog.*, 2010, vol. 6, - e1000831.
10. Tohma K., Lepore C.J., Ford-Siltz L.A., Parra G.I. Phylogenetic Analyses Suggest that Factors Other Than the Capsid Protein Play a Role in the Epidemic Potential of GII.2 Norovirus. *mSphere*, 2017, vol. 2, - e00187-17.
11. Siebenga J.J., Vennema H., Zheng D.P., Vinje J., Lee B.E., Pang X.L., Ho E.C., Lim W., Choudekar A., Broor S. et al. Norovirus illness is a global problem: Emergence and spread of norovirus GII.4 variants, 2001-2007. *J. Infect. Dis.*, 2009, vol.200, pp. 802-812.



12. Cannon J.L., Barclay L., Collins N.R., Wikswo M.E., Castro C.J., Magana L.C., Gregoricus N., Marine R.L., Chhabra P., Vinje J. Genetic and Epidemiologic Trends of Norovirus Outbreaks in the United States from 2013 to 2016 Demonstrated Emergence of Novel GII.4 Recombinant Viruses. *J. Clin. Microbiol.*, 2017, vol. 55, pp.2208-2221.

13. Barclay L., Cannon J.L., Wikswo M.E. et al. Emerging Novel GII.P16 Noroviruses Associated with Multiple Capsid Genotypes. *Viruses*, 2019, vol.11, no.6, pp.535.

14. Kong, B-H.; Lee, S-G.; Han S-H. et al. Development of Enhanced Primer Sets for Detection of Norovirus. *Biomed Res Int.*, 2015:103052. <http://doi:10.1155/2015/103052>.

15. George S., Menon V.K., Ramani S. et al. Comparison of primers for the detection of genogroup II noroviruses in India. *Indian J Med Microbiol.*, 2012, vol. 30, no.1, pp.24-29

16. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution.*, 2016, vol.33, pp. 1870-1874

17. Kroneman A., Vennema H., Deforche K., et al. An automated genotyping tool for enteroviruses and noroviruses. *J Clin Virol.*, 2011, vol. 51, no.2, pp.121-125.

18. Altschul S., Gish W., Miller W. et al. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology.*, 1990, vol.215, no.3, pp.403-410

19. Ao Y., Wang J., Ling H., He Y., Dong X., Wang X., et al. Norovirus GII.P16/GII.2-associated gastroenteritis, China, 2016. *Emerg Infect Dis.*, 2017, vol.23, pp.1172-1175.

20. Liu L.T., Kuo T.Y., Wu C.Y., Liao W.T., Hall A.J., Wu .FT. Recombinant GII.P16-GII.2 norovirus, Taiwan, 2016. *Emerg Infect Dis.*- 2017.-Vol.23. -P.1180-1183.

## ҚҰРАМЫНДА ПОЛИМЕРАЗА GII.P16 БАР РЕКОМБИНАНТТЫ НОРОВИРУСТАР ГЕНОТИПТЕРІ, - БЕЛАРУСИЯДА 2016 -2021 ЖЫЛДАРЫ АСҚЫНҒАН ГАСТРОЭНТЕРИТКЕ ТҮРТКІ БОЛҒАН ЭТИОЛОГИЯЛЫҚ АГЕНТТЕР

\* Поклонская Н.В., Амвросьева Т.В., Бельская И.В., Колтунова Ю.Б., Шилова Ю.А.

Республикалық эпидемиология және микробиология  
ғылыми-практикалық орталығы,  
Филимонова 23, Минск қ., 220114, Беларусь Республикасы  
[\\*labsanvir@gmail.com](mailto:labsanvir@gmail.com)

### ТҮЙІН

Норовирустар – асқынған гастроэнтериттің (АГЭ) кенінен танылған қоздырғыштары. Соңғы жылдары құрамында РНҚ-полимераза GII.P16 болатын рекомбинантты норовирустар генотипі жер жүзінде жаппай тарап отыр. Зерттеулердің мақсаты аурудың пайда болуына сәйкестендірілген генотиптердің әсерін анықтау және құрамында РНҚ-полимераза GII.P16 болатын рекомбинантты норовирус нұсқаларының таралу ерекшеліктерін зерттеп білу үшін Беларусь Республикасында 2016 – 2021 жылдары тараған норовирустардың генетикалық алуан түрлілігіне талдау жасау болатын.

2016-2021 жылдар ішінде жинақталған АГЭ бар пациенттердің сынамаларынан алынған норовирустардың ORC1/ORC2 242 геномы фрагменттеріне сервенирлеу жүргізілді

және генетикалық талдау жасалды. Барлық біріздендірілген генотиптердің 82,2%-ы рекомбинантты екені анықталды. Сол кезеңде құрамында полимераза GII.P16 бар және GII.2, GII.3, GII.4, GII.12, GII.13 генотиптерінің VP1 гені бар генотиптер басым болды (71,9%). Жалпы құрамда біріздендірілген генотиптердің алуантүрлілігі былайша орналасты: GII.4[P16] – 42,0%, GII.2[P16] – 32,2%, GII.3[P16] – 16,8%, GII.12[P16] – 8,4%, GII.13[P16] – 0,7%. 2016-2017 жылдар мен 2021 жыл аралығында ең ұзақ айналып жүрген генотиптер GII.4[P16] мен GII.2[P16]. Олардың жайылуы жаппай АГЭ ауруының пайда болуына әкелді: генотип GII.2[P16] оны 2016, 2018 және 2021 жылы туғызды, GII.4[P16] – 2017 және 2021 жылы. Зерттелген әртүрлі рекомбинантты генотиптердің барлық изоляттары РНҚ генінің сол бір ғана полимераза GII.P16 нұсқасын құрады, ол 2015-2017 жылдары дүниежүзінде жер жаһанға тарады. Генотиптердің ішіндегі изоляттардың нуклеотидті тізбектілігін салыстыру ұзақ уақыт бойы айналып тарауына қарамастан, жекелеген генонұсқалардың мутацияға ұшырауы мен селекциясы жоқ екендігін көрсетті.

Негізгі сөздер: норовирустар, рекомбинантты генотиптер, генонұсқалар, АГЭ қоздырғыштары.

## RECOMBINANT NOROVIRUS GII.P16 POLYMERASE GENOTYPES WERE PREDOMINANT ETIOLOGIC AGENTS OF ACUTE GASTROENTERITIS IN BELARUS IN 2016 -2021

\*Paklonskaya N.V., Amvrosieva T.V, Belskaya I.V., Kaltunova Yu.B., Shilova Yu.A.

*Republican Scientific and Practical Center  
for Epidemiology and Microbiology  
Filimonova st. 23, Minsk, 220114, the Republic of Belarus  
\*labsanvir@gmail.com*

### ABSTRACT

Noroviruses are widespread causative agents of acute gastroenteritis (AGE). In recent years, recombinant genotypes of noroviruses, which include RNA-polymerase GII[P16], have become globally widespread. The aim of the research was to analyze the genetic diversity of noroviruses circulating in 2016–2021 in the Republic of Belarus in order to establish the contribution of the identified genotypes to the formation of morbidity and to study the features of the circulation of their recombinant variants containing RNA polymerase GII [P16]. Sequencing and genetic analysis of a fragment of the ORF1 / ORF2 genome of 242 noroviruses from patients with AGE collected in 2016-2021 was carried out. It was found that 199 norovirus isolates (82.2% of all identified) were recombinant. During this period, genotypes containing GII.P16 polymerase and the VP1 gene of genotypes GII.2, GII.3, GII.4, GII.12, GII.13 prevailed (143 isolates, 71.9% of all recombinant genotypes). The proportion of individual recombinant genotypes was distributed as follows: GII.4 [P16] - 42.0%, GII.2 [P16] - 32.2%, GII.3 [P16] - 16.8%, GII.12 [P16] - 8.4%, GII.13 [P16] - 0.7%. The genotypes GII.4 [P16] and GII.2 [P16] circulated for the longest time - from 2016-2017 to 2021. Their circulation was accompanied by the emergence of outbreaks of AGE: genotype GII.2 [P16] caused outbreaks in 2016, 2018 and 2021, GII.4 [P16] - in 2017 and 2021. All investigated isolates of different recombinant genotypes contained the same variant of the GII.P16 RNA polymerase gene, which became globally distributed in the world in 2015-2017. Comparison of the nucleotide sequences of isolates within genotypes showed that, despite the long circulation period, there were no accumulation of mutations and no selection of genovariants within the genotype.

Key words: noroviruses, recombinant genotype, genovariant, AGE causative agent