



Осипкина О.В.¹, Воропаев Е.В.¹ ✉, Воропаева А.В.², Ковалев А.А.¹, Рышко А.Н.³, Акалович С.Т.³, Валентович Л.Н.³, Никифорова О.Л.¹, Гопоняко С.В.¹

¹ Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

² Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, Гомель, Беларусь

³ ООО «АртБиоТех», Минск, Беларусь

⁴ Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

Выявление и количественное определение ДНК вирусов рода Alphatorquevirus в биологическом материале здоровых добровольцев и пациентов с инфекционными заболеваниями и вторичным иммунодефицитным состоянием

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования, сбор данных, анализ и интерпретация данных, написание текста – Осипкина О.В.; концепция исследования, интерпретация данных, окончательное одобрение варианта статьи для опубликования – Воропаев Е.В.; концепция исследования, сбор данных – Воропаева А.В.; анализ данных, редактирование – Ковалев А.А.; дизайн исследования – Рышко А.Н.; дизайн исследования – Акалович С.Т.; анализ данных, редактирование – Валентович Л.Н.; сбор и анализ данных – Никифорова О.Л.; сбор и анализ данных – Гопоняко С.В.

Источники финансирования: исследование проведено в рамках выполнения задания ГПНИ «Трансляционная медицина», подпрограмма 4.2 «Фундаментальные аспекты медицинской науки» 3.38 «Разработать алгоритм прогнозирования пост-COVID-19-ассоциированной патологии на основании изучения клинико-лабораторных и функциональных показателей» (рег. № 20220464, руководитель проекта к. м. н., доцент Е.В. Воропаев, сроки выполнения задания – 2022–2024 гг.).

Благодарность: авторы выражают благодарность сотрудникам НИЛ УО «Гомельский государственный медицинский университет» за участие в проведении лабораторных исследований.

Подана: 17.10.2025

Принята: 01.12.2025

Контакты: voropaev.evgenii@gmail.com

Резюме

Введение. Вирусы рода Alphatorquevirus приобретают все большую привлекательность в качестве биомаркера в трансплантологии и других областях, таких как ревматология, онкология и инфекционные заболевания. Необходимы дальнейшие исследования для оценки клинической значимости количественного определения вирусов рода Alphatorquevirus как в крови, так и в другом биологическом материале.

Цель. Оценить распространенность и уровень нагрузки вирусами рода Alphatorquevirus в целевых группах населения г. Гомеля или Гомельской области.

Материалы и методы. Для оценки распространенности и вирусной нагрузки вирусами рода Alphatorquevirus использован разработанный молекулярно-генетический метод, основанный на мультиплексной ПЦР с детекцией в реальном времени с самостоятельно подобранными оригинальными олигонуклеотидными праймерами и молекулярным зондом к консервативному региону генома вирусов рода Alphatorquevirus. Исследования проведены в разном биологическом материале (плазма и лейкоциты крови, слюна, назофарингеальные мазки).

Результаты. Обнаружена высокая частота выявления вирусов рода Alphatorquevirus в разном биологическом материале групп здоровых добровольцев и пациентов с инфекционными заболеваниями и вторичным иммунодефицитным состоянием. Частота выявления в лейкоцитах в разных группах составила 81–97,6%, в плазме – 71,4–91,9%. В плазме и лейкоцитах крови группы здоровых добровольцев медиана вирусной нагрузки составила 3,01 log₁₀ копий ДНК Alphatorquevirus/мл [2,04; 3,27] и 2,58 log₁₀ копий ДНК Alphatorquevirus/10⁵ клеток [1,66; 3,25] соответственно, что значимо ниже, чем в других группах пациентов.

Заключение. Оценена распространенность и уровень нагрузки вирусами рода Alphatorquevirus в нескольких целевых группах населения г. Гомеля или Гомельской области.

Ключевые слова: лабораторная диагностика, количественная оценка, ПЦР, частота выявления, вирусная нагрузка

Olga V. Osipkina¹, Evgenii V. Voropaev¹ ✉, Alla V. Voropaeva², Alexey A. Kovalev¹, Aliksandr M. Rymko³, Sviatlana T. Akalovich³, Leonid N. Valentovich³, Olga L. Nikiforova¹, Svetlana V. Goponiako¹

¹ Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

² Republican Research Center of Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Belarus

³ ArtBioTech LLC, Minsk, Belarus

⁴ Institute of Microbiology, the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Detection and Quantification of DNA of Viruses of the Genus Alphatorquevirus in Biological Material of Healthy Volunteers and Patients with Infectious Diseases and Secondary Immunodeficiency

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: study concept and design, data collection, data analysis and interpretation, and writing – Osipkina O.; study concept, data interpretation, and final approval of the article for publication – Voropaev E.; study concept, data collection – Voropaeva A.; data analysis and editing – Kovalev A.; study design and analysis – Rymko A.; study design and analysis – Akalovich S.; data analysis and editing – Valentovich L.; data collection and data analysis – Nikiforova O.; data collection and data analysis – Goponiako S.

Sources of funding: the study was conducted as part of the State Program for Scientific Research "Translational Medicine" subprogram 4.2 "Fundamental Aspects of Medical Science" 3.38 "Develop an algorithm for predicting post-COVID-19 associated pathology based on the study of clinical, laboratory, and functional indicators" (registration number 20220464, project manager, PhD, Associate Professor E.V. Voropaev, assignment completion date: 2022–2024).

Acknowledgments: the authors express their gratitude to the staff of the Research Laboratory of the Educational Institution "Gomel State Medical University" for their participation in laboratory research.

Submitted: 17.10.2025

Accepted: 01.12.2025

Contacts: voropaev.evgenii@gmail.com

Abstract

Introduction. Alphatorquevirus are increasingly gaining popularity as biomarkers in transplantation and other fields, such as rheumatology, oncology, and infectious diseases. Further research is needed to evaluate the clinical significance of quantifying Alphatorquevirus in both blood and other biological samples.

Purpose. To assess the prevalence and viral load of Alphatorquevirus viruses in target populations of Gomel and the Gomel region.

Materials and methods. To assess the prevalence and viral load of Alphatorquevirus viruses, we used a developed molecular genetic method based on multiplex real-time PCR detection with independently selected original oligonucleotide primers and a molecular probe targeting a conserved region of the Alphatorquevirus genome. The study was conducted using various biological samples (blood plasma and leukocytes, saliva, and nasopharyngeal swabs).

Results. A high frequency of Alphatorquevirus detection was found in various biological samples from healthy volunteers and patients with infectious diseases and secondary immunodeficiency. The detection rate in leukocytes in different groups ranged from 81 to 97.6%, while the detection rate in plasma was 71.4 to 91.9%. In the plasma and leukocytes of healthy volunteers, the median viral load was 3.01 log₁₀ Alphatorquevirus DNA copies/ml [2.04; 3.27] and 2.58 log₁₀ Alphatorquevirus DNA copies/10⁵ cells [1.66; 3.25] respectively, which is significantly lower than in other patient groups.

Conclusion. The prevalence and level of viral load of the Alphatorquevirus genus were assessed in several target population groups of Gomel and the Gomel region.

Keywords: laboratory diagnostics, quantitative assessment, PCR, detection rate, viral load

■ ВВЕДЕНИЕ

Torque teno virus (TTV) открыт в 1997 г. [1], позднее был включен в род Alphatorquevirus семейства Anelloviridae. Согласно Международному комитету по таксономии вирусов (ICTV), с 2021 г. все названия видов вирусов оформляют в бинамиальном формате, таким образом, Alphatorquevirus homin 1 – новое название вида Torque teno virus 1 (TTV 1) [2, 3]. Род Alphatorquevirus включает несколько десятков видов, традиционно в публикациях используют название TTV.

После открытия многие публикации были посвящены потенциальной роли TTV как этиологического агента в первую очередь заболеваний печени. В настоящее время известно, что инфекция TTV в большинстве случаев является хронической, и повсеместная распространенность, в том числе и среди здоровых людей, подтвержденная многими исследованиями, позволяет предположить, что TTV не является основным этиологическим агентом конкретного заболевания, но может быть кофактором, способствующим развитию патологического состояния [4]. С помощью метагеномного секвенирования было обнаружено, что у пациентов, получавших иммуносупрессивную терапию после трансплантации органов, TTV составлял более 65% виroma, в то время как у лиц, не получавших лечение, – всего 10% [5]. Репликация TTV, как и всех вирусов, составляющих виром, контролируется иммунной системой, и количественная оценка вирусной нагрузки TTV в крови считается потенциальным показателем функциональности иммунной системы. Большая часть исследований в последние годы направлена на изучение TTV как маркера иммуносупрессии у пациентов с иммунологическими нарушениями и воспалительными заболеваниями [6]. И так как TTV приобретает все большую привлекательность в качестве биомаркера в трансплантологии и других областях, таких как ревматология, онкология и инфекционные заболевания, необходим международный стандарт, такой же как те, которые

установлены Всемирной организацией здравоохранения для других вирусов, передающихся через кровь [7]. Вследствие отсутствия клеточной культуры или хорошо зарекомендовавшего себя серологического анализа диагностика инфекции TTV основана на молекулярных методах. Так, для использования в многонациональном клиническом исследовании TTV GUIDE TX стандартизация была достигнута с использованием теста количественной ПЦР и международных стандартов [8]. В консорциум проекта TTV GUIDE TX [9], объединившего врачей-трансплантологов, клинических вирусологов, специалистов в области здравоохранения, входят 19 партнеров из 7 европейских стран. Целью проекта (2021–2026) является персонализация иммуносупрессии путем мониторинга вирусной нагрузки TTV после трансплантации почки для оптимизации иммуносупрессивной терапии (минимизации риска инфицирования и отторжения) [10]. Основная концепция проекта – оценка иммунной системы на основе TTV с потенциальным применением в области трансплантации органов, аутоиммунных и инфекционных заболеваний, а также онкологии. Центральная гипотеза иммунного мониторинга с использованием TTV заключается в следующем: ослабление иммунной системы приводит к увеличению вирусной нагрузки, что указывает на риск инфицирования; усиление иммунитета – к снижению вирусной нагрузки и риску отторжения органа.

Исследование применения вирусной нагрузки TTV в качестве потенциального биомаркера при инфекции COVID-19 проводится в 2 направлениях: для определения тяжести течения и прогноза и как предиктора ответа на введение вакцины [11]. В одном из исследований [12] обнаружена значимая связь между распределением вирусной нагрузки TTV в образцах слюны и тяжестью COVID-19 ($p=0,004$) и исходами заболевания ($p<0,001$). Медианная вирусная нагрузка у пациентов с тяжелым состоянием составила $4,99 \log_{10}$ копий/мл, у тех, кто вскоре был выписан, – $3,96 \log_{10}$ копий/мл, при смертельном исходе – $6,27 \log_{10}$ копий/мл [12].

В другой работе исследовали возможность использования количественного определения TTV в образцах из носоглотки при поступлении в отделение неотложной помощи в качестве раннего предиктора тяжести COVID-19 [13]. Повышенная нагрузка TTV наблюдалась у пациентов отделений интенсивной терапии (медиана $3,02 \log_{10}$ копий/мл) в сравнении с выписанными (2,215) или госпитализированными пациентами (2,24) ($p=0,006$). Многофакторный анализ выявил диабет, ожирение, гепатит, лихорадку, одышку, потребность в кислороде и нагрузку TTV в качестве предикторов поступления в отделения интенсивной терапии (пороговое значение $2,91 \log_{10}$ копий/мл (чувствительность 0,605 и специфичность 0,69)). Нагрузка TTV не была связана с другими факторами, такими как смерть или продолжительность госпитализации [13].

Опубликованы исследования, в которых изучается возможность использования вирусной нагрузки вируса TTV для прогноза реакции на вакцину SARS-CoV-2 у реципиентов трансплантата почки [14, 15]. Показано, что высокая вирусная нагрузка TTV до и во время вакцинации от SARS-CoV-2 предсказывает слабый ответ на вакцину у реципиентов почечного трансплантата [15].

Таким образом, опубликованы исследования, в которых выявлена значимая связь между величиной вирусной нагрузки TTV-ДНК в образцах слюны и тяжестью инфекции COVID-19 и исходом заболевания, показана роль уровня нагрузки TTV в мазках из носоглотки как предиктора поступления в отделение интенсивной терапии,

продемонстрирована предсказательная роль нагрузки TTV в отношении ответа на вакцину у реципиентов почечного трансплантата.

Почти все исследования, изучающие вирусы рода Alphatorquevirus при инфекционных и воспалительных процессах, показывают корреляцию между неблагоприятным исходом или прогрессированием заболевания и увеличением или более высокой нагрузкой [6].

Спустя более четверти века с момента открытия клинические последствия инфекции TTV являются предметом изучения. Метагеномные подходы способствуют выявлению новых генотипов Anelloviridae у пациентов, страдающих различными заболеваниями, включая болезнь Кавасаки, рак мозга, энцефалит и пародонтит [4]. Изучение вирусов рода Alphatorquevirus ведут в разных направлениях: исследуют потенциальные ассоциации анелловирусов с различными видами рака [16]; проводят анализ связи между наличием вирусов рода Alphatorquevirus, физической дряхлостью и когнитивными нарушениями [17]; определяют роль вирусов рода Alphatorquevirus как компонента виroma в вакциноиндуцированной иммунизации [18]; оценивают эффективность вирусов рода Alphatorquevirus как маркера иммунного статуса у пациентов с иммунодефицитом [19]; рассматривают возможности использования вирусов рода Alphatorquevirus в качестве векторов при разработке генетических лекарственных препаратов нового поколения [20]. Важно отметить, что и в Республике Беларусь проводят научные исследования по изучению тех или иных аспектов вирусов рода Alphatorquevirus [21, 22].

Необходимы дальнейшие исследования для оценки клинической значимости количественного определения TTV как в крови, так и в другом биологическом материале.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить распространенность и уровень нагрузки вирусами рода Alphatorquevirus в целевых группах населения г. Гомеля или Гомельской области.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на базе научно-исследовательской лаборатории (НИЛ) учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет». Исследование одобрено этическим комитетом УО «Гомельский государственный медицинский университет», протокол № 3 от 03.10.2019.

Для оценки распространенности и вирусной нагрузки вирусами рода Alphatorquevirus был отобран биологический материал в нескольких целевых группах пациентов. Участники исследования являлись жителями г. Гомеля или Гомельской области, были информированы о целях исследования и предстоящих процедурах (получено информированное письменное согласие).

Целевые группы пациентов:

- здоровые добровольцы (плазма и лейкоцитарная фракция крови), N=92, 16 (17,4 %) мужчин, 76 (82,6 %) женщин, средний возраст 39 лет ($\pm 12,44$);
- пациенты (плазма и лейкоцитарная фракция крови, слюна, назофарингеальные мазки) с установленным диагнозом вторичного иммунодефицитного состояния на фоне основного заболевания, находившиеся на стационарном лечении в гематологическом отделении для взрослых ГУ «Республиканский

научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», N=28, 12 (42,9%) мужчин, 16 (57,1%) женщин, средний возраст 59,82 ($\pm 18,50$);

- пациенты (лейкоцитарная фракция крови) ГУЗ «Гомельская центральная городская клиническая поликлиника», филиал № 12, санатория республиканского унитарного предприятия «Гомельское отделение Белорусской железной дороги», учреждения «Гомельская областная клиническая поликлиника», УЗ «Гомельская университетская клиника – областной госпиталь инвалидов Великой Отечественной войны», перенесшие инфекцию COVID-19 в легкой форме, у которых отмечены те или иные проявления состояния после COVID-19 (U09,9), N=84, 23 (27,4%) мужчины, 61 (72,62%) женщина, средний возраст 53,45 ($\pm 6,66$);
- пациенты (плазма и лейкоцитарная фракция крови) с установленной коронавирусной инфекцией COVID-19 (U07,1 COVID-19, вирус идентифицирован) с тяжелым течением, ассоциированным с пневмонией, находившиеся на стационарном лечении в ГУЗ «Гомельская городская клиническая больница № 3», учреждении «Гомельская областная туберкулезная клиническая больница», N=113, 58 (51,3%) мужчин, 55 (48,7%) женщин, средний возраст 64,29 ($\pm 12,16$);
- пациентки репродуктивного возраста с впервые выявленным туберкулезом органов дыхания, подтвержденным бактериологически и гистологически (A15), находившиеся на стационарном лечении в учреждении «Гомельская областная туберкулезная клиническая больница», N=37, средний возраст 36,1 ($\pm 6,28$).

В группе пациентов с тяжелым течением COVID-19 вирусная нагрузка TTV была определена в динамике в 2 точках: на момент поступления пациента в стационар (точка 1) и через несколько дней пребывания в стационаре (точка 2), в среднем период наблюдения составил $28 \pm 14,7$.

Для выявления и количественного определения ДНК вирусов рода Alphatorquevirus человека использован разработанный молекулярно-генетический метод лабораторной диагностики, основанный на полимеразной цепной реакции с детекцией в реальном времени в мультиплексном формате с самостоятельно подобранными оригинальными олигонуклеотидными праймерами и молекулярным зондом к консервативному региону генома вирусов рода Alphatorquevirus, подробно описанный в утвержденной Министерством здравоохранения Республики Беларусь инструкции по применению № 014-0525 «Метод количественного определения вирусов TTV в биологическом материале» [23]. Экстракцию нуклеиновых кислот из образцов биологического материала проводили с использованием набора реагентов «РИБО-преп» («Амплиценс» ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, РФ) согласно инструкции производителя. Синтез праймеров и зондов осуществлен в ООО «АртБиоТех» (Республика Беларусь). Для проведения ПЦР применялись реагенты указанного выше производителя. Реакции амплификации, анализ и учет результатов осуществляли при помощи амплификатора Rotor Gene Q (QIAGEN, Германия). Программа амплификации: денатурация 1 цикл – 95 °C, 15 мин; 45 циклов (95 °C – 5 с, 63 °C – 10 с, 67 °C – 10 с), каналы детекции HEX/Yellow (TTV) и FAM/Green (β -глобин).

В плазме крови у пациентов с тяжелым течением COVID-19 и состоянием после COVID-19 методом иммуноферментного анализа (ИФА) с применением микропланшетного фотометра SunriseTecan (Австрия) и наборов реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (РФ) определены согласно инструкции производителя концентрации следующих маркеров: фактора некроза опухоли-альфа (ФНО-альфа), гамма-интерферона

(гамма-ИНФ), интерлейкина-8 (ИЛ-8), интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина-10 (ИЛ-10), С-реактивного белка (СРБ), прокальцитонина, иммуноглобулинов класса G (IgG) к поверхностному гликопротеину S (spike) коронавируса SARS-CoV-2.

Статистический анализ данных выполнялся с помощью языка программирования R (версия 4.5.0) с применением библиотеки tidyverse (версия 2.0.0) и пакетов ggstatsplot (версия 0.12.1), rstatix (0.7.2). Описание количественных признаков представлено в виде среднего значения и стандартного отклонения (Mean (SD)) в случае соответствия эмпирического распределения признаков нормальному распределению или в виде медианы и квартилей (Me (Q1; Q3)), минимума и максимума для оценки диапазона разброса значений показателя (Min; Max) в случае, когда признак имеет отличное от нормального распределение. Для проверки соответствия распределения количественных данных нормальному распределению применялся критерий Шапиро – Уилка (W). Категориальные признаки представлены в виде значений абсолютных и относительных частот (долей) встречаемости значений признака. Для определения значимости различий независимых групп применялся критерий Манна – Уитни. При сравнении 3 и более групп использовался тест Краскела – Уоллиса с последующим апостериорным сравнением групп попарно (тест Данна) и применением поправки на множественные сравнения (метод Холма). Сравнение 2 связанных выборок осуществлено с помощью критерия Вилкоксона. Сравнение долей категориальных признаков в независимых группах и анализ ассоциации между категориальными признаками выполнен с использованием критерия χ^2 Пирсона. Для таблиц сопряженности 2x2 применялась поправка Йетса на непрерывность, оценки силы связи – V-коэффициент Крамера. Оценка согласованности тестов проводилась с помощью коэффициентов каппа Коэна и каппа Флейса. Оценка силы связи между количественными показателями (анализ корреляционных связей) представлена с помощью непараметрического коэффициента корреляции ρ Спирмена (ρ Spearman). Уровень значимости принят равным 0,05.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты качественного выявления и количественного определения ДНК вирусов рода Alphatorquevirus в биологическом материале (лейкоциты и плазма крови, слюна, назофарингеальные мазки) пациентов с установленным диагнозом вторичного иммунодефицитного состояния на фоне основного заболевания представлены в таблице.

Как показано в таблице, ДНК вирусов рода Alphatorquevirus выявлена в различных биологических тканях и жидкостях: лейкоцитах и плазме крови, слюне, назофарингеальных мазках, что согласуется с литературными данными и обуславливает возможность разных путей передачи вирусов, включая парентеральный, половой, вертикальный и, возможно, фекально-оральный [24, 25].

Процент выявления ДНК вирусов рода Alphatorquevirus в данной группе высок – от 66,7 до 81,0% в зависимости от биологического материала. Доля совпадений (соответствующего результата – положительного или отрицательного) одновременно по всем 4 видам биологического материала в изучаемой группе пациентов составила 40,0% (умеренная степень согласия между выявлением в разном биологическом материале, коэффициент каппа Флейса 0,398). Установлена значимая сильная корреляционная связь (ρ Spearman=0,85, $p<0,001$) между величиной вирусной нагрузки

Результаты качественного выявления и количественного определения ДНК вирусов рода Alphatorquevirus в биологическом материале пациентов с установленным диагнозом вторичного иммунодефицитного состояния на фоне основного заболевания
Results of qualitative detection and quantitative determination of DNA of viruses of the genus Alphatorquevirus in biological material of patients with an established diagnosis of secondary immunodeficiency state against the background of the underlying disease

Признак	Лейкоциты крови (N=21)	Нозофарингеальный мазок (N=24)	Плазма крови (N=21)	Слюна (N=25)
ДНК TTV выявлена	17 (81,0%)	16 (66,7%)	15 (71,4%)	17 (68,0%)
ДНК TTV не выявлена	4 (19,0%)	8 (33,3%)	6 (28,6%)	8 (32,0%)
Медиана [Q1; Q3]	3,67 [1,88; 4,47]	3,21 [0,01; 4,19]	3,46 [0,01; 4,47]	4,08 [0,01; 5,68]

в лейкоцитарной фракции крови и нозофарингеальных мазках, между величиной вирусной нагрузки в лейкоцитарной фракции и слюне ($\rho_{\text{Spearman}}=0,76$, $p=0,0016$) и между величиной вирусной нагрузки в нозофарингеальных мазках и слюне ($\rho_{\text{Spearman}}=0,79$, $p<0,001$), в данной группе пациентов не обнаружено значимой связи между величиной вирусной нагрузки в плазме крови и лейкоцитах, плазме и нозофарингеальных мазках, плазме и слюне.

В группе здоровых добровольцев частота выявления ДНК вирусов рода Alphatorquevirus в лейкоцитах составила 87,0%, причем в 3,3% от общей группы ДНК обнаружена в диапазоне 500–1500 копий в мл. Частота выявления в плазме составила 75,0%, у 35 (38,04%) пациентов – в диапазоне 500–1500 копий в мл. Обнаружены некоторые отличия между частотой выявления в плазме и лейкоцитах (умеренная степень согласия между выявлением в разном биологическом материале, коэффициент каппа Коэна 0,37).

Вирусная нагрузка (медиана) в лейкоцитарной фракции и плазме составила 2,58 log₁₀ копий ДНК Alphatorquevirus/10⁵ клеток [1,66; 3,25] и 3,01 log₁₀ копий ДНК Alphatorquevirus/мл [2,04; 3,27] соответственно. Установлена значимая умеренная корреляционная связь между вирусной нагрузкой в лейкоцитарной фракции и плазме ($\rho_{\text{Spearman}}=0,62$, $p<0,001$).

ДНК вирусов рода Alphatorquevirus выявлена в лейкоцитах у 82 (97,6%) пациентов, перенесших инфекцию COVID-19 в легкой форме, у которых отмечены те или иные проявления состояния после COVID-19, медиана количественной вирусной нагрузки TTV в лейкоцитарной фракции крови составила 3,49 log₁₀ копий ДНК Alphatorquevirus/10⁵ клеток [2,9; 3,82].

Обнаружена повышенная концентрация следующих маркеров в плазме крови: ИЛ-6 – у 5 (5,9%) пациентов; ИЛ-8 – у 4 (4,8%) пациентов; ИЛ-10 – у 1 (1,2%); СРБ – у 25 (29,8%); прокальцитонин – у 1 (1,2%); ФНО-альфа – у 2 (2,4%); гамма-ИНФ – у 1 (1,2%). Не выявлены значимые отличия медианы вирусной нагрузки TTV в лейкоцитах между группами пациентов, имеющих нормальные и повышенные значения указанных маркеров в крови. Часть пациентов – 35 (41,7%) были вакцинированы против SARS-CoV-2, медиана концентрации IgG-SARS 2287,9 (1331,8; 4508,25), остальные – не вакцинированы – 49 (58,3%), медиана концентрации IgG-SARS 494,8 (219,31; 1800,6). Найдены значимые отличия между подгруппами вакцинированных и не вакцинированных по концентрации IgG-SARS ($p<0,001$), однако значимых отличий медианы нагрузки вирусами рода Alphatorquevirus в лейкоцитах между данными подгруппами не обнаружено.

В группе с тяжелым течением COVID-19 на момент поступления в стационар ДНК вирусов рода Alphatorquevirus была выявлена у 102 (90,3%) пациентов в плазме и у 108 (95,6%) в лейкоцитах. На второй точке исследования через некоторое время пребывания в стационаре ДНК вирусов рода Alphatorquevirus установлена у 93 (82,30%) пациентов в плазме и у 109 (96,5%) в лейкоцитах. Обнаружены некоторые отличия между частотой определения в плазме и лейкоцитах на первой точке исследования (умеренная степень согласия, коэффициент каппа Коэна 0,33) и более выраженные – на второй точке (удовлетворительная степень согласия между выявлением в разном биологическом материале, коэффициент каппа Коэна 0,2).

Медиана вирусной нагрузки в плазме на первой точке исследования составила 3,40 log₁₀ копий ДНК Alphatorquevirus/мл [3,13; 3,70], на второй точке исследования – 3,22 log₁₀ копий ДНК Alphatorquevirus/мл [2,94; 3,61]. Медиана вирусной нагрузки в лейкоцитарной фракции крови на первой и второй точке исследования составила 3,67 log₁₀ копий ДНК Alphatorquevirus/10⁵ клеток [3,09; 3,91] и 3,05 log₁₀ копий ДНК Alphatorquevirus/10⁵ клеток [2,48; 3,53] соответственно. В первой точке исследования установлена значимая сильная корреляционная связь между вирусной нагрузкой в лейкоцитарной фракции и плазме ($\rho_{\text{Spearman}}=0,74$, $p<0,001$), во второй – умеренная корреляционная связь ($\rho_{\text{Spearman}}=0,64$, $p<0,001$).

В динамике у пациентов данной группы обнаружено значимое снижение вирусной нагрузки в лейкоцитарной фракции и плазме ($p<0,001$), что, вероятно, связано с терапией, проводимой в соответствии с диагнозом. Так, в одном из исследований [26] была выявлена корреляция между уровнями вирусной нагрузки ТТВ в слюне и SARS-CoV-2 в носу и ротоглотке ($p=0,0085$). Уровень ТТВ снижался по мере исчезновения симптомов в группе, инфицированной SARS-CoV-2 ($p=0,0285$), но оставался неизменным в группе с отрицательным результатом теста на SARS-CoV-2. Высказано предположение о том, что последовательное измерение ТТВ в слюне имеет потенциальное значение для оценки вероятности разрешения симптомов у лиц с положительным результатом теста на SARS-CoV-2 [26].

Не выявлено значимой разницы между величиной вирусной нагрузки Alphatorquevirus и последующей длительностью пребывания в стационаре. Проведен анализ корреляции между величиной вирусной нагрузки Alphatorquevirus в лейкоцитах и плазме и повышенной концентрацией маркеров ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, СРБ, прокальцитонина, ФНО-альфа, гамма-ИНФ. Обнаружена слабая отрицательная корреляция ТТВ на второй точке исследования и повышенная концентрация ИЛ-6, для остальных маркеров корреляция не найдена.

ДНК вирусов рода Alphatorquevirus установлена у 34 (91,9%) пациенток репродуктивного возраста с впервые диагностированным туберкулезом органов, вирусная нагрузка (медиана) в плазме составила 3,20 log₁₀ копий ДНК Alphatorquevirus/мл [2,95; 3,85].

Таким образом, частота выявления ДНК вирусов рода Alphatorquevirus в плазме пациентов составила: 71,4% (пациенты с диагнозом вторичного иммунодефицитного состояния), 75,0% (здоровые добровольцы), 90,3% (с тяжелым течением COVID-19) и 91,9% (пациентки репродуктивного возраста с впервые диагностированным туберкулезом). Обнаружены значимые отличия между группами по частоте определения ДНК вирусов рода Alphatorquevirus (общий тест хи-квадрат, $p=0,0051$); согласно результатам апостериорного попарного сравнения частота выявления ДНК вирусов

рода Alphatorquevirus в плазме значимо выше в группе пациентов с тяжелым течением COVID-19, чем в группе здоровых добровольцев ($p=0,0063$), а также в группе пациентов с диагнозом вторичного иммунодефицитного состояния ($p=0,043$). Обнаружены значимые различия по величине вирусной нагрузки Alphatorquevirus в плазме между пациентами группы здоровых добровольцев и группы с тяжелым течением COVID-19 ($p<0,001$), группы с диагнозом вторичного иммунодефицитного состояния ($p=0,02$) и группы с впервые диагностированным туберкулезом ($p=0,003$).

Частота определения ДНК вирусов рода Alphatorquevirus в лейкоцитах пациентов составила: 81% – пациенты с диагнозом вторичного иммунодефицитного состояния, 87,0% – здоровые добровольцы, 95,6% – с тяжелым течением COVID-19 и до 97,6% – пациенты, перенесшие инфекцию COVID-19 в легкой форме. Обнаружены значимые отличия между группами по частоте выявления (общий тест хи-квадрат, $p=0,0048$); согласно результатам апостериорного попарного сравнения показано, что частота выявления ДНК вирусов рода Alphatorquevirus в группе пациентов с тяжелым течением COVID-19 значимо выше, чем в группе здоровых добровольцев ($p=0,049$), а также в группе пациентов с диагнозом вторичного иммунодефицитного состояния ($p=0,047$); частота выявления ДНК вирусов рода Alphatorquevirus в группе пациентов, перенесших инфекцию COVID-19 в легкой форме, значимо выше, чем в группе здоровых добровольцев ($p=0,02$), а также в группе пациентов с диагнозом вторичного иммунодефицитного состояния ($p=0,02$). Обнаружены значимые различия по величине вирусной нагрузки Alphatorquevirus в лейкоцитах между пациентами группы здоровых добровольцев и группы с тяжелым течением COVID-19 ($p<0,001$), группы с диагнозом вторичного иммунодефицитного состояния ($p<0,001$) и группы пациентов, перенесших инфекцию COVID-19 в легкой форме ($p<0,001$). В плазме и лейкоцитах крови группы здоровых добровольцев отмечена значимо более низкая вирусная нагрузка Alphatorquevirus.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обнаружена высокая частота выявления ДНК вирусов рода Alphatorquevirus – от 66,7 до 97,6% – в группах здоровых добровольцев и пациентов с инфекционными заболеваниями и вторичным иммунодефицитным состоянием. ДНК вирусов рода Alphatorquevirus найдена в различном биологическом материале: плазме и лейкоцитах крови, слюне, назофарингеальных мазках. Установлена значимая умеренная корреляционная связь между вирусной нагрузкой в лейкоцитарной фракции и плазме крови ($r_{Spearman}=0,62$, $p<0,001$) группы здоровых добровольцев и пациентов с тяжелым течением COVID-19 ($r_{Spearman}=0,64$, $p<0,001$), значимая сильная корреляционная связь ($r_{Spearman}=0,85$, $p<0,001$) между величиной вирусной нагрузки в лейкоцитарной фракции крови и назофарингеальных мазках, между величиной вирусной нагрузки в лейкоцитарной фракции и слюне ($r_{Spearman}=0,76$, $p=0,0016$) и между величиной вирусной нагрузки в назофарингеальных мазках и слюне ($r_{Spearman}=0,79$, $p<0,001$) в группе пациентов с диагнозом вторичного иммунодефицитного состояния. Выявлены значимые различия по величине вирусной нагрузки ТТВ в плазме между пациентами группы здоровых добровольцев и группы с тяжелым течением COVID-19 ($p<0,001$), группы с диагнозом вторичного иммунодефицитного состояния ($p=0,02$) и группы с впервые диагностированным туберкулезом ($p=0,003$). Обнаружены значимые различия по величине вирусной нагрузки Alphatorquevirus в лейкоцитах между

пациентами группы здоровых добровольцев и группы с тяжелым течением COVID-19 ($p < 0,001$), группы с диагнозом вторичного иммунодефицитного состояния ($p < 0,001$) и группы пациентов, перенесших инфекцию COVID-19 в легкой форме ($p < 0,001$). В плазме и лейкоцитах крови группы здоровых добровольцев медиана вирусной нагрузки составила 3,01 log₁₀ копий ДНК Alphatorquevirus/мл [2,04; 3,27] и 2,58 log₁₀ копий ДНК Alphatorquevirus/10⁵ клеток [1,66; 3,25] соответственно, что значительно ниже, чем в других группах пациентов (перенесших инфекцию COVID-19 в легкой форме, с тяжелым течением COVID-19, с впервые выявленным туберкулезом и с диагнозом вторичного иммунодефицитного состояния).

Не обнаружено корреляции между величиной вирусной нагрузки Alphatorquevirus и повышенной концентрацией маркеров ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, СРБ, прокальцитонина, ФНО-альфа, гамма-ИНФ в плазме крови пациентов с тяжелым течением COVID-19.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Nishizawa T., Okamoto H., Konishib K., et al. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997 Dec;241(1):92–97. doi: 10.1006/bbrc.1997.7765
2. Virus Taxonomy: 2024 Release International Committee on Taxonomy of Viruses. Available at: <https://ictv.global/taxonomy> (accessed 22.09.2025).
3. Varsani A., Kraberger S., Oppriessnig T., et al. Anelloviridae taxonomy update 2023. *Arch Virol.* 2023;168:277. doi: 10.1007/s00705-023-05903-6
4. Lapa D., Del Porto P., Minosce C., et al. Clinical Relevance of Torque Teno Virus (TTV) in HIV/HCV Coinfected and HCV Monoinfected Patients Treated with Direct-Acting Antiviral Therapy. *J Clin Med.* 2021 May 13;10(10):2092. doi: 10.3390/jcm10102092
5. De Vlaminck I., Khush K.K., Strehl C., et al. Temporal response of the human virome to immunosuppression and antiviral therapy. *Cell.* 2013 Nov 21;155(5):1178–87. doi: 10.1016/j.cell.2013.10.034
6. Gore E.J., Gard L., Niesters H.G.M., Van Leer Buter C.C. Understanding torquetenovirus (TTV) as an immune marker. *Front Med (Lausanne).* 2023 Jun 13;10:1168400. doi: 10.3389/fmed.2023.1168400
7. Baylis S.A., Wallace P., McCulloch E., et al. Standardization of Nucleic Acid Tests: the Approach of the World Health Organization. *J Clin Microbiol.* 2019 Jan 2;57(1):e01056–18. doi: 10.1128/JCM.01056-18
8. Gore E.J., Gard L., Bourgeois P., et al. Validation, implementation and quality control of a Torque Teno Virus qPCR in a multinational clinical trial. *Journal of Clinical Virology.* 2024;175:105738. doi: 10.1016/j.jcv.2024.105738
9. The consortium. TTV GUIDE. Available at: <https://www.ttv-guide.eu/team> (accessed 10.10.2025).
10. Personalisation of immunosuppression by monitoring viral load post kidney transplantation – a randomised controlled phase II trial. CORDIS – EU research results. Available at: <https://cordis.europa.eu/project/id/896932/reporting> (accessed 10.10.2025).
11. Focosi D., Baj A., Azzi L., et al. TTV viral load as a predictor of antibody response to SARS-CoV-2 vaccination. *J Heart Lung Transplant.* 2023 Feb;42(2):143–144. doi: 10.1016/j.healun.2022.10.025
12. Caixeta R.A.V., Batista A.M., Caetano M.W., et al. Investigation of Oral Shedding of Torquetenovirus (TTV) in Moderate-to-Severe COVID-19 Hospitalised Patients. *Viruses.* 2024 May 24;16(6):831. doi: 10.3390/v16060831
13. Feghoul L., Caillaud A., Peyrony O., et al. Respiratory torque teno virus load at emergency department visit predicts intensive care unit admission of SARS-CoV-2 infected patients. *J Med Virol.* 2023 Dec;95(12):e29319. doi: 10.1002/jmv.29319
14. Imhof C., Messchendörp L., van Baarle D., et al. The Time-Dependent Association of Torque Teno Virus Load with the Level of SARS-CoV-2 S1 IgG Antibodies Following COVID-19 Vaccination in Kidney Transplant Recipients. *Viruses.* 2023 Oct 31;15(11):2189. doi: 10.3390/v15112189
15. Solis M., Benotmane I., Gallais F., et al. Torque teno virus viral load predicts SARS-CoV-2 vaccine response in kidney transplant recipients. *J Med Virol.* 2023 Jul;95(7):e28936. doi: 10.1002/jmv.28936
16. Tang J.Y., Chen T.B., Kouznetsova V.L., et al. Anelloviruses and Cancer. *J Infect Dis.* 2025 Feb 20;231(2):298–306. doi: 10.1093/infdis/jiae626
17. Giacconi R., Laffon B., Costa S., et al. Association of Torquetenovirus Viremia with Physical Frailty and Cognitive Impairment in Three Independent European Cohorts. *Gerontology.* 2023;69(6):684–693. doi: 10.1159/000528169
18. Cianci R., Caldarelli M., Brani P., et al. Role of the Virome in Vaccine-Induced Immunization. *Vaccines (Basel).* 2025 Aug 23;13(9):895. doi: 10.3390/vaccines13090895
19. Medina J.B., França Vieira E., Silva F., et al. Torque teno virus as a marker of immune status in immunocompromised patients: A systematic review. *Eur J Clin Invest.* 2025 Aug;55(8):e70068. doi: 10.1111/eci.70068
20. Brani P., Manzoor H.Z., Spezia P.G., et al. Torque Teno Virus: Lights and Shades. *Viruses.* 2025 Feb 27;17(3):334. doi: 10.3390/v17030334
21. Voropaev E., Osipkina O., Voropaeva A., et al. Molecular genetic method for the quantification of Torque Teno Virus DNA. *BSMU – at the forefront of medical science and practice.* 2024; 14(1):23–29. (in Russian)
22. Semenov V.M., Dmitrachenko T.I., Yahorau S.K., et al. TTV DNA level as a marker of cellular immune intensity response in patients with generalized bacterial infection. *Vestnik VGMU.* 2024;23(4):79–86. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/uroven-dnk-ttv-kak-marker-napryazhennosti-kletochnogo-immunnogo-otveta-u-patsientov-s-generalizovannoy-bakterialnoy-infektsiyey> (accessed 25.09.2025). doi: 10.22263/2312-4156.2024.4.79. (in Russian)
23. Osipkina O., Voropaev E., Rymko A., et al. Method for quantitative determination of TTV viruses in biological material. Instructions for use № 014-0525. 30.06.2025. Available at: <http://med.by/methods/book.php?book=3515> (accessed 25.09.2025). (in Russian)
24. Arze C.A., Springer S., Dudas G., et al. Global genome analysis reveals a vast and dynamic anellovirus landscape within the human virome. *Cell Host Microbe.* 2021 Aug 11;29(8):1305–1315.e6. doi: 10.1016/j.chom.2021.07.001
25. Deb B., Uddin A., Chakraborty S. Composition, codon usage pattern, protein properties, and influencing factors in the genomes of members of the family Anelloviridae. *Arch Virol.* 2021 Feb;166(2):461–474. doi: 10.1007/s00705-020-04890-2
26. Mendes-Correa M.C., Tozetto-Mendoza T.R., Freire W.S., et al. Torquetenovirus in saliva: A potential biomarker for SARS-CoV-2 infection? *PLoS One.* 2021 Aug 24;16(8):e0256357. doi: 10.1371/journal.pone.0256357