

# Разработка условий скрининга *in vitro* эффективных лекарственных препаратов в отношении возбудителя лихорадки Чикунгунья

С. Я. ЛОГИНОВА, В. Н. ЩУКИНА, С. В. САВЕНКО,  
Р. В. САХАРОВ, И. В. СУРОВЯТКИНА, \*С. В. БОРИСЕВИЧ

ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, Московская область, Сергиев Посад, Россия

## Development of the Screening Conditions *In Vitro* Effective Drugs Against The Causative Agent of Chikungunya Fever

SVETLANA YA. LOGINOVA, VERONIKA N. SCHUKINA, SERGEY V. SAVENKO,  
ROMAN V. SAKHAROV, IRINA V. SUROVYATKINA, \*SERGEY V. BORISEVICH

48<sup>th</sup> Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, *Sergiev Posad, Russia*

### Резюме

Вирус Чикунгунья (CHIKV) является представителем вирусов рода *Flavivirus* семейства *Flaviviridae* и относится к зоонозным арбовирусным инфекциям, переносимыми комарами рода *Aedes*. Лихорадка Чикунгунья вызывает взрывоопасные эпидемии с участием миллионов случаев. Существует настоятельная необходимость в разработке противовирусных препаратов широкого спектра. Актуальным является разработка модели скрининга *in vitro* эффективных препаратов. Для выбора оптимальных условий скрининга проведён сравнительный анализ чувствительности культур клеток к вирусу Чикунгунья, штамм FN198/66. Оценены динамика и уровень накопления вируса при различных инфицирующих дозах. Показано, что вирус Чикунгунья, штамм FN198/66, хорошо размножается в перевиваемых культурах клеток Vero V, Vero Cl008, ВНК-21/13 и КЛ-17. Все изученные линии клеток могут быть использованы для проведения скрининга эффективных неспецифических медицинских средств защиты в отношении вируса Чикунгунья.

**Ключевые слова:** вирус Чикунгунья; культура клеток; множественность инфицирования; негативные колонии

**Для цитирования:** Логинова С. Я., Щукина В. Н., Савенко В. В., Сахаров Р. В., Суровяткина И. В., Борисевич С. В. Разработка условий скрининга *in vitro* эффективных лекарственных препаратов в отношении возбудителя лихорадки Чикунгунья. *Антибиотики и химиотер.* 2023; 68: 1–2: 11–15. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-11-15>.

### Abstract

The Chikungunya virus (CHIKV) is a member of the *Flavivirus* genus, the *Flaviviridae* family, and is a zoonotic arbovirus infection transmitted by *Aedes* mosquitoes. Chikungunya fever causes explosive epidemics involving millions of cases. There is an urgent need to develop broad-spectrum antivirals. Actual is the development of a model of screening *in vitro* effective drugs. To select the optimal screening conditions, a comparative analysis of cell cultures sensitivity to Chikungunya virus, strain FN198/66 was carried out. The dynamics and level of virus accumulation at different infectious doses were estimated. It is shown that the Chikungunya virus, strain FN198/66, well propagated in transplantable cell cultures Vero V, Cl008 Vero, BHK-21/13 and TC-17. All studied cell lines can be used to screen for effective non-specific medical defenses against Chikungunya virus.

**Keywords:** *Chikungunya virus; cell culture; multiple infections; negative colonies*

**For citation:** Loginova S. Ya., Schukina V. N., Savenko S. V., Sakharov R. V., Borisevich S. V. Development of the screening conditions *in vitro* effective drugs against the causative agent of Chikungunya fever. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2023; 68: 1–2: 11–15. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-11-15>.

## Введение

В связи со сложившейся неблагополучной эпидемической ситуацией в мире по лихорадке Чикунгунья, активно проводятся исследования по выявлению эффективных противовирусных средств в отношении его возбудителя [1–6].

В настоящее время сложилась общая методология изучения противовирусных препаратов, традиционно используемая многими исследователями. Она включает доклиническую и клиническую стадии изучения, каждая из которых состоит из нескольких этапов [7–12]. Первым этапом лабораторного изучения противовирусной эф-

© Коллектив авторов, 2023

\*Адрес для корреспонденции: ул. Октябрьская, д. 11, 48 ЦНИИ, г. Сергиев Посад-6, Россия, 141306.  
E-mail: 48cnii@mail.ru

© Team of Authors, 2023

\*Correspondence to: E-mail: 48cnii@mail.ru

фективности препаратов являются исследования, проводимые с использованием культур клеток. Основой данных исследований является оценка влияния изучаемого препарата на репродукцию вируса в культуре клеток, выявляемая тем или иным способом, а биологические особенности возбудителя обуславливают выбор конкретного метода проведения данных исследований. В связи с тем, что чувствительность перевиваемых клеток к различным возбудителям не одинакова, кроме того, различные типы и линии клеток неодинаково чувствительны к воздействию противовирусных препаратов, необходимо предварительно проводить выбор культуры клеток и условия скрининга оценки эффективности [11]. Метод оценки эффективности неспецифических медицинских средств защиты (НМСЗ) в опытах с использованием культур клеток имеет несомненное преимущество в плане экспрессности.

Исследования показали, что оптимальная множественность инфицирования монослоя культуры клеток при оценке противовирусной эффективности препаратов должна составлять от 0,0001 до 0,001 условных единиц на клетку (уе/кл). При такой инфицирующей дозе высокоэффективные препараты, как правило, полностью подавляют репродукцию возбудителя, при инфицирующей дозе от 0,003 до 0,03 уе/клетку — на 4,0–4,5 lg уе/мл, а при 0,3 уе/клетку — всего на 1,4 lg уе/мл [10, 13].

В соответствии с данными литературы вирус накапливается в следующих культурах клеток: почки зелёной мартышки — Vero E-6, карцинома шейки матки — HeLa, почка сирийского хомяка — ВНК-21 и комаров *A.albopictus* — С6/36НТ [14–16].

Целью работы — разработка оптимальных условий скрининга *in vitro* эффективных химиопрепаратов, индукторов интерферона и рекомбинантных человеческих интерферонов в отношении возбудителя чикунгуньи.

## Материал и методы

**Вирус.** В работе использовали вирус Чикунгунья, штамм FN198/66, полученный из ГУ «НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского» РАМН, который хранится в Специализированной коллекции ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России.

**Культура клеток.** Использована перевиваемая культура клеток почек зелёных мартышек — Vero Cl008 и Vero V; почек

хомяков — ВНК-21/13; комаров *Aedes albopictus* — С6/36 и диплоидная культура клеток лёгкого эмбриона человека, клон КЛ-17. В качестве среды поддержания использовали полусинтетическую среду (ПС-4) на растворе Хенкса, содержащую 2% сыворотки крупного рогатого скота, соответственно. Перед применением препараты растворяли в физиологическом растворе.

**Оценка биологической активности вируса.** Биологическую активность вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, оценивали титрованием в культуре клеток Vero, Cl008 по формированию негативных колоний возбудителем под агаровым покрытием (lg БОЕ/мл).

Исследования проведены в соответствии с рекомендациями ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России [17].

**Статистический анализ.** Полученные результаты представляли в виде среднего  $\pm$  ошибка репрезентативности ( $\bar{X} \pm \delta_x$ ) [18].

## Результаты и обсуждение

В результате проведённых исследований выявлено, что максимальный уровень накопления вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, в культуре клеток Vero V зависит от величины инфицирующей дозы (табл. 1). При множественности инфицирования 0,00003 БОЕ на клетку максимум накопления приходится на 72 ч, при 0,003 и 0,0003 БОЕ на клетку — на 48 ч после заражения клеток Vero V. При этом следует отметить, что величина накопления вируса через 48 ч при использовании множественности инфицирования 0,003 и 0,0003 БОЕ на клетку достоверно (с вероятностью 95%) выше, чем при дозе 0,00003 БОЕ на клетку.

При дозе инфицирования 0,00004 и 0,0004 БОЕ на клетку в Vero Cl008 максимальный уровень накопления вируса отмечен через 72 ч после инфицирования с последующим выходом на плато через 96 ч (табл. 2). При увеличении инфицирующей дозы вируса до 0,004 БОЕ на клетку максимальный уровень накопления вируса выявлен через 48 ч после заражения клеток с последующим выходом на плато через 72 ч. При этом следует отметить, что уровень накопления вируса на 48, 72 и 96 ч после инфицирования статистически не отличался от таковых показателей для всех изученных инфицирующих доз.

В культуре клеток ВНК-21/13 при множественности инфицирования 0,00001 БОЕ на клетку максимум накопления приходится на 48 ч и составляет 5,85 lg БОЕ/мл (табл. 3). Через 72 ч

**Таблица 1.** Результаты изучения динамики и уровня накопления вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, в культуре клеток Vero V

**Table 1.** The results of studying the dynamics and level of accumulation of the Chikungunya virus, strain FN198/66, in the Vero V cell culture

Множественность инфицирования, БОЕ на клетку	Уровень накопления вируса после инфицирования, lg БОЕ/мл, $\bar{X} \pm \delta_x$			
	через 24 ч	через 48 ч	через 72 ч	через 96 ч
0,00003	3,50 $\pm$ 0,09	6,72 $\pm$ 0,07	7,20 $\pm$ 0,04	7,22 $\pm$ 0,02
0,0003	4,04 $\pm$ 0,05	6,94 $\pm$ 0,06	7,01 $\pm$ 0,05	7,00 $\pm$ 0,06
0,003	5,58 $\pm$ 0,04	6,94 $\pm$ 0,06	7,04 $\pm$ 0,08	6,90 $\pm$ 0,05

**Таблица 2.** Результаты изучения динамики и уровня накопления вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, в культуре клеток Vero Cl008  
**Table 2.** The results of the study of the dynamics and level of accumulation of the Chikungunya virus, strain FN198/66, in cell culture Vero Cl008

Множественность инфицирования, БОЕ на клетку	Уровень накопления вируса после инфицирования, lg БОЕ/мл, $\bar{X} \pm \delta_x$			
	через 24 ч	через 48 ч	через 72 ч	через 96 ч
0,00004	3,50±0,09	5,48±0,07	6,00±0,04	5,83±0,02
0,0004	4,00±0,04	5,83±0,06	6,13±0,03	5,93±0,07
0,004	4,48±0,02	5,84±0,05	6,14±0,08	6,00±0,05

**Таблица 3.** Результаты изучения динамики и уровня накопления вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, в культуре клеток ВНК-21/13  
**Table 3.** The results of studying the dynamics and level of accumulation of the Chikungunya virus, strain FN198/66, in the cell culture VNK-21/13

Множественность инфицирования, БОЕ на клетку	Уровень накопления вируса после инфицирования, lg БОЕ/мл, $\bar{X} \pm \delta_x$			
	через 24 ч	через 48 ч	через 72 ч	через 96 ч
0,00001	3,40±0,02	5,85±0,01	4,69±0,08	3,55±0,03
0,0001	5,80±0,04	5,98±0,04	4,704±0,03	3,73±0,04
0,001	6,31±0,03	6,00±0,03	4,72±0,04	3,602±0,07

**Таблица 4.** Результаты изучения динамики и уровня накопления вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, в культуре клеток С6/36  
**Table 4.** Results of studying the dynamics and level of accumulation of the Chikungunya virus, strain FN198/66, in C6/36 cell culture

Множественность инфицирования, БОЕ на клетку	Уровень накопления вируса после инфицирования, lg БОЕ/мл, $\bar{X} \pm \delta_x$			
	через 24 ч	через 48 ч	через 72 ч	через 96 ч
0,00004	≤1,0	2,35±0,08	5,55±0,03	5,65±0,09
0,0004	1,96±0,38	5,92±0,07	6,50±0,02	6,78±0,04
0,004	2,32±0,03	6,55±0,04	7,22±0,04	7,36±0,02

**Таблица 5.** Результаты изучения динамики и уровня накопления вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, в культуре клеток КЛ-17  
**Table 5.** The results of studying the dynamics and level of accumulation of the Chikungunya virus, strain FN198/66, in the cell culture KL-17

Множественность инфицирования, БОЕ на клетку	Уровень накопления вируса после инфицирования, lg БОЕ/мл, $\bar{X} \pm \delta_x$			
	через 24 ч	через 48 ч	через 72 ч	через 96 ч
0,004	1,902±0,03	≤1,0	≤1,0	≤1,0
0,04	2,80±0,04	3,84±0,04	3,95±0,07	5,75±0,02
0,4	3,21±0,03	4,92±0,03	5,60±0,05	5,77±0,04

после инфицирования выявлено статистически достоверное (с вероятностью 95%) снижение накопления возбудителя. При инфицирующей дозе 0,0001 и 0,001 БОЕ на клетку не выявили статистически значимого (с вероятностью 95%) отличия динамики и уровня накопления вируса по сравнению с дозой вируса 0,00001 БОЕ на клетку, при этом максимум накопления отмечен через 24 ч после инфицирования клеток. Уровень накопления вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, в культуре клеток ВНК-21/13 при множественности инфицирования 0,001 БОЕ на клетку статистически выше (с вероятностью 95%), чем при двух других инфицирующих дозах.

В культуре клеток С6/36 при низкой инфицирующей дозе (0,00004 БОЕ на клетку) максимальный уровень накопления вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, отмечен через 96 ч (табл. 4).

При увеличении множественности инфицирования в 10 и 100 раз накопление вируса в культуре клеток С6/36 через 72 ч после инфицирования достоверно (с вероятностью 95%) не отличалось от такового при применении дозы 0,00004 БОЕ на клетку. Следует отметить, что максимум накопления вируса отметили также через 96 ч. Выявлена зависимость уровня накопления вируса от дозы инфицирования (достоверность повышения накопления с вероятностью 95%).

При инфицировании диплоидных клеток лёгкого эмбриона человека КЛ-17 в дозе 0,004 БОЕ на клетку на протяжении всего срока наблюдения вирус не выявлен. При дозе 0,04 БОЕ на клетку максимум накопления вируса приходится на 96 ч и составляет 5,75 lg БОЕ/мл (табл. 5). С увеличением инфицирующей дозы вируса до 0,4 lg БОЕ на клетку отмечен более высокий уро-

вень накопления вируса (с вероятностью 95%). Максимальный уровень накопления вируса отмечен через 72 ч после инфицирования с последующим выходом на плато через 96 ч.

Таким образом, в перевиваемых клетках почек зелёных мартышек (Vero V и Vero Cl008) в изученном диапазоне инфицирующих доз максимальный уровень накопления вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, отмечен через 72 ч после заражения и пик накопления не зависел от множественности инфицирования. Эти линии клеток могут быть использованы для проведения скрининга эффективных НМСЗ в отношении вируса Чикунгунья. Условия проведения скрининга: доза инфицирования 0,00003–0,00004 БОЕ на клетку при инкубировании в течение 72 ч при 37°C.

Перевиваемая культура клеток почек хомяка (ВНК-21/13) также может быть использована для

скрининга НМСЗ в отношении вируса Чикунгунья с инфицирующей дозой 0,00001 БОЕ на клетку при инкубировании в течение 48 ч при 37°C.

Диплоидные клетки лёгкого эмбриона человека могут быть использованы для изучения противовирусной эффективности в отношении вируса Чикунгунья видоспецифических препаратов (например, человеческих интерферонов) при инфицирующей дозе 0,4 БОЕ на клетку, инкубировании в течение 72 ч при 37°C.

### Дополнительная информация

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Литература/References

1. *Yactayo S., Staples J. E., Millot V. et al.* Epidemiology of Chikungunya in the Americas. *J Infect Dis.* 2016; 214 (Suppl 5): 441–445. doi: 10.1093/infdis/jiw390. PMID: PMC5137246.
2. *Salata C., Calistri A., Parolin C. et al.* Antiviral activity of cationic amphiphilic drugs. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2017; 15 (5): 483–492. doi: 10.1080/14787210.2017.1305888. Epub 2017 Mar 20.
3. *Wang Y.M., Lu J.W., Lin C.C. et al.* Antiviral activities of niclosamide and nitazoxanide against chikungunya virus entry and transmission. *Antiviral Res.* 2016; 135: 81–90. doi: 10.1016/j.antiviral.2016.10.003. Epub 2016 Oct 11.
4. *Abdelnabi R., Neyts J., Delang L. et al.* Towards antivirals against chikungunya virus. *Antivir Res.* 2015; 121: 59–68. doi: 10.1016/j.antiviral.2015.06.017. Epub 2015 Jun 25.
5. *Lani R., Hassandarvish P., Shu M.-H. et al.* Antiviral activity of selected flavonoids against Chikungunya virus. *Antivir Res.* 2016; 133: 50–61. doi: 10.1016/j.antiviral.2016.07.009. Epub 2016 Jul 25.
6. *Crance J.M., Scaramozzino N., Jouan A., Garin D. et al.* Interferon, ribavirin, 6-azauridine and glycyrrhizin: antiviral compounds active against pathogenic flaviviruses. *Antiviral Res.* 2003; 58 (1): 73–79. doi: 10.1016/s0166-3542(02)00185-7.
7. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, 2005. [Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novykh farmakologicheskikh veshchestv. Moscow: FGBU «NTsESMP» Minzdravsotsrazvitiya Rossii, 2005. (in Russian)]
8. *Лагушкин Н.А., Митин Н.И., Старовойтова В.А. и др.* Методические подходы к поиску антивирусных препаратов, их испытание и оценка. Вирусные ингибиторы и механизм их действия. Рига: 1977; 138–149. [*Lagushkin N.A., Mitin N.I., Starovojtova V.A. i dr.* Metodicheskie podkhody k poisku antivirusnykh preparatov, ikh ispytanie i otsenka. Virusnye ingibitory i mekhanizm ikh dejstviya. Riga: 1977; 138–149. (in Russian)]
9. *Ильенко В.И.* Методы отбора соединений, обладающих противовирусной активностью в отношении возбудителя гриппа. Сборник. Методические вопросы научной разработки противовирусных средств. Минск: 1977; 15–29. [*Ilenko V.I.* Metody otbora soedinenij, obladajushchikh protivovirusnoj aktivnost'ju v otnoshenii vzbuditelya grippa. Sbornik. Metodicheskie voprosy nauchnoj razrabotki protivovirusnykh sredstv. Minsk: 1977; 15–29. (in Russian)]

## Информация об авторах

*Логинова Светлана Яковлевна* — д. б. н., ведущий научный сотрудник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, Московская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID: 0000-0001-6732-8404. eLibrary Spin: 8764-7946

*Шукина Вероника Николаевна* — к. б. н., научный сотрудник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, Мос-

10. *Чижов Н.П., Еришов Ф.И., Индулен М.К.* Основы экспериментальной химиотерапии вирусных инфекций. Рига, 1988. [*Chizhov N.P., Ershov F.I., Indulen M.K.* Osnovy eksperimental'noj khimioterapii virusnykh infektsij. Riga, 1988. (in Russian)]
11. *Вотьяков В.И., Галегов Г.А., Бореко Е.И. и др.* Первичное изучение антивирусных свойств синтетических и природных соединений. Методические рекомендации. Минск: 1986. [*Votyakov V.I., Galegov G.A., Boreko E.I. i dr.* Pervichnoe izuchenie antivirusnykh svoystv sinteticheskikh i prirodnykh soedinenij. Metodicheskie rekomendatsii. Minsk: 1986. (in Russian)]
12. *Дьяков С.И., Чижов Н.П., Сидоренко С.В.* Современные антибиотики и противовирусные препараты в экспериментальной химиотерапии бактериальных и вирусных инфекций. Минск: 1988. [*D'yakov S.I., Chizhov N.P., Sidorenko S.V.* Sovremennye antibiotiki i protivovirusnye preparaty v eksperimental'noj khimioterapii bakterial'nykh i virusnykh infektsij. Minsk: 1988. (in Russian)]
13. *Вотьяков В.И., Андреева О.И., Мишаева Н.П.* Оценка специфического действия антивирусных веществ при экспериментальных вирусных энцефалитах. Минск: 1986. [*Votyakov V.I., Andreeva O.I., Mishaeva N.P.* Otsenka spetsificheskogo dejstviya antivirusnykh veshchestv pri eksperimental'nykh virusnykh entsefalitakh. Minsk: 1986. (in Russian)]
14. *Gigante A., Gómez-SanJuan A., Delang L. et al.* Antiviral activity of [1,2,3]triazolo[4,5-d]pyrimidin-7(6H)-ones against chikungunya virus targeting the viral capping nsP1. *Antiviral Res.* 2017; 144: 216–222. doi: 10.1016/j.antiviral.2017.06.003. Epub 2017 Jun 12.
15. *Mounce B. C., Cesaro T., Carrau L. et al.* Curcumin inhibits Zika and chikungunya virus infection by inhibiting cell binding. *Antiviral Res.* 2017; 142: 148–157. doi: 10.1016/j.antiviral.2017.03.014. Epub 2017 Mar 24.
16. *Gómez-Calderón C., Mesa-Castro C., Robledo S. et al.* Antiviral effect of compounds derived from the seeds of *Mammea americana* and *Tabernaemontana cymosa* on Dengue and Chikungunya virus infections. *BMC Complement Altern Med.* 2017; 17 (1): 57. doi: 10.1186/s12906-017-1562-1.
17. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, 2012. [Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovanij lekarstvennykh sredstv. M.: FGBU «NTsESMP» Minzdravsotsrazvitiya Rossii, 2012. (in Russian)]
18. *Ашмарин И.П., Воробьев А.А.* Статистические методы в микробиологических исследованиях. Ленинград: Медгиз, 1962; 180. [*Ashmarin I.P., Vorob'ev A.A.* Statisticheskie metody v mikrobiologicheskikh issledovaniyakh. Leningrad: Medgiz, 1962; 180. (in Russian)]

## About the authors

*Svetlana Ya. Loginova* — D. Sc. in Biology, Leading researcher at the 48<sup>th</sup> Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID: 0000-0001-6732-8404. eLibrary Spin: 8764-7946

*Veronika N. Schukina* — Ph. D. in Biology, Researcher at the 48<sup>th</sup> Central Scientific Research Institute of the Ministry of De-

ковская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID: 0000-0002-5461-3641. eLibrary Spin: 1504-4433

*Савенко Сергей Владимович* — старший научный сотрудник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, Московская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID: 0000-0002-5175-916X. eLibrary Spin: 6353-7075

*Сахаров Роман Владимирович* — старший научный сотрудник, ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, Московская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID: 0000-0001-6155-1365

*Суровяткина Ирина Владимировна* — к. б. н., научный сотрудник, ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, Московская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID: 0000-0001-7096-3580

*Борисевич Сергей Владимирович* — д. б. н., профессор, академик РАН РФ, начальник института ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, Московская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID: 0000-0002-6742-3919. eLibrary Spin: 5753-3400

fence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID: 0000-0002-5461-3641. eLibrary Spin: 1504-4433

*Sergey V. Savenko* — Senior researcher at the 48<sup>th</sup> Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID: 0000-0002-5175-916X. eLibrary Spin: 6353-7075

*Roman V. Sakharov* — Senior researcher at the 48<sup>th</sup> Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID: 0000-0001-6155-1365

*Surovyatkina Irina Vladimirovna* — Ph. D. in Biology, Researcher, FSBI «48 Central Research Institute» of the Ministry of Defense of Russia», Moscow region, Sergiev Posad, Russia. ORCID ID: 0000-0001-7096-3580

*Sergey V. Borisevich* — D. Sc. in Biology, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of the Institute, 48<sup>th</sup> Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID: 0000-0002-6742-3919. eLibrary Spin: 5753-3400