гриппа и других ОРВИ // I Российский Национальный Конгресс "Человек и лекарство". — М.,1992. — С. 293.
6. *Ротанов М., Гребенникова Т. В., Бурцева Е. И., Шевченко Е. С.* Молекулярно-генетический анализ эпидемических штаммов вируса гриппа А, характеризующихся различной чувствительностью к ремантадину, на основе нуклеотидной последовательности М2-белка // Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер. — 2007. — Т. 9, № 4. — С. 292—297.
7. *Шевченко Е. С., Бурцева Е. И., Слепушкин А. Н.* и др. Спектр чувствительности к ремантадину вирусов гриппа А, циркулировавших в эпидемических сезонах 2002—2004 гг. // Вопр. вирусол. — 2005. № 5. — С. 32—35.
8. *Barr I. G., Hurt A. C., Iannello P.* et al. Increased adamantane resistance in influenza A(H3) viruses in Australia and neighboring countries in 2005 //Antiviral. Res. — 2007. Vol. 73. — P. 112—117.
9. *Bright R. A., Medina M. J., Xu X.* et al. Incidence of adamantane resistance among influenza A(H3N2) viruses isolated wourldwide from 1994 to 2005: a cause for concern // Lancet. — 2005. — P. 1175—1181.
10. *Bright R. A., Shay D. K., Shu B.* et al. Adamantane resistance among influenza A viruses isolated early during the 2005—2006 influenza season in the United States // J. A. M. A. —2006. — Vol. 295. — P. 891—894.
11. *Burtseva E. I., Shevchenko E. S., Zaplatnikov A. L.* et al. Influenza viruses Sensitivity to antivirals in Russia // Proceedings of International Conference on Options for the Control of Influenza VI, Toronto, Ontario, Canada, June 17—23. — 2007. — P. 442—445.
12. *Buxton R. C., Edwards B., Juo R. R.* et al. Development of a sensitive chemiluminescent neuraminidase assay for determination of influenza virus susceptibility to Zanamivir. //Anal. Biochem. — 2000. — Vol. 280. — P. 291—300.
13. *Carr J., Ives J., Kelly L.* et al. Influenza virus earring neuraminidase with reduced sensitivity to oseltamivir carboxylate has alered properties in vitro and is compromised for infectivity and replucative ability in vivo // Antiviral. Res. — 2002. — Vol. 54, N 2. — P. 79—88.
14. *Gubareva L. V., Webster R. G., Hayden F. G.* Detection of influenza virus; resistance to neuraminidase inhibitors by an enzyme inhibition assay // Antiviral. Res. — 2002. — Vol. 53. — P. 47—61.
15. *Hayden F.* Pandemic influenza — is an antiviral response realistic // Pediatr. Infect. Dis. J. — 2004. — Vol. 23, N 11. — P. 262—299.
16. http: www. who.int/csr/disease/influenza/oseltamivir_summary /en/index/html..
17. *Kiso M., Mitamura K., Sakai-Tagawa Y.* et al. Resistant influenza A viruses in children treated with oseltamivir: descriptive study // Lancet. — 2004. — Vol. 364. — P. 759—765.
18. *McKimm-Breschkin J. L.* Management of influenza virus infections with neuraminidase inhibitors: Detection, incidence, and implications of drug resistance // Treat. Respir. Med. — 2005. — Vol. 4. — P. 107—116.
19. *Roberts N. A.* Treatment of influenza with neuraminidase inhibitors: virological implications // Philos. Trans. R. Soc. London B. Biol. Sci. — 2001. — Vol. 356. — P. 1895—1897.
20. *Ward P., Small L, Smith J.* et al. Oseltamivir (Tamiflu) and its potential for use in the event of an influenza pandemic // J. Antimicrob.Chemother. — 2005. — Vol. 5. — P. 15—21.
21. *Whitley R. J., Hayden F. G., Reisinger K. S.* et al Oral oseltamivir treatment of influenza in children // Pediatr. Infect. Dis. J. — 2001. — Vol. 20. — P. 127—133.

Поступила 17.12.08

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2009

УДК 578.832.1:578.53].083.2(470 + 571) «2007—2008»

В. Т. Иванова[1], С. В. Трушакова[1], Т. А. Оскерко[1], Е. С. Шевченко[1], Л. В. Колобухина[1], Р. В. Вартанян[1], Н. В. Белякова[1], С. Б. Яцышина[2], Е. Л. Феодоритова[1], Н. Д. Зуева[3], Е. И. Бурцева[1]

Характеристика циркулировавших в России в сезоне 2007—2008 гг. эпидемических штаммов вирусов гриппа А и В

[1]ГУ НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского РАМН*; [2]ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора; [3]Центр крови ФМБА России, Москва

Эпидемический подъем заболеваемости гриппом в сезоне 2007—2008 гг. в России был обусловлен активной коциркуляцией вирусов гриппа A(H1N1), A(H3N2) и В. Центром экологии и эпидемиологии гриппа (ЦЭЭГ) были изучены свойства 334 эпидемических штаммов. Результаты сравнительного изучения специфичности коммерческих тест-систем для ПЦР диагностики гриппа "АмплиСенс Influenza virus A/B", "АмплиСенс Influenza virus A/H5N1" и вирусологических методов, в том числе изоляции, выявили их высокую корреляцию, что подтверждает возможность их широкого использования для мониторинга циркуляции вирусов гриппа в РФ. Все штаммы изолированы на культуре клеток MDCK. Вирусы гриппа A(H1N1) (127) являлись антигенными вариантами эталонов A/Соломоновы Острова/3/06 и A/Брисбен/59/07. Вирусы гриппа A(H3N2) (49) были антигенными вариантами эталонов A/Висконсин/67/05 и A/Брисбен/10/08. 157 штаммов вирусов гриппа В были представлены дрейф-вариантами эталонов В/Флорида/4/06 и В/Шанхай/361/02 линии В/Ямагата/16/88 и 1 штамм — В/Малайзия /2506/04 относился к линии В/Виктория/2/87. Изоляты активно взаимодействовали с эритроцитами человека группы крови 0(I) и значительно слабее — с куриными. Все 74 исследованных вируса гриппа A(H1N1) сохраняли чувствительность к ремантадину, в то же время 24 (77%) из 31 исследованных штамма A(H3N2) были резистентны. Изучение динамики формирования антител в донорских сыворотках, полученных в Москве и Московской области в разные периоды эпидемического процесса, выявило прирост антител к эталонным штаммам вирусов гриппа А и В, циркулировавшим в этот период.

Ключевые слова: *вирусы гриппа А и В, MDCK, донорские сыворотки*

The characteristics of epidemic influenza A and B virus strains circulating in Russia during the 2007-2008 season

V. T. Ivanova[1], S. V. Trushakova[1], T. A. Oskerko[1], E. S. Shevchenko[1], L. V. Kolobukhina[1], R. V. Vartanyan[1], N. V. Belyakova[1], S. B. Yatsyshina[2], E. L. Feodoritova[1], N. D. Zueva[3], E. I. Burtseva[1]

[1]D. I. Ivanovsky Research Institute of Virology, Russian Academy of Medical Sciences; [2]Central Research Institute of Epidemiology, Russian Inspectorate for the Protection of Consumer Rights and Human Welfare; [3]Blood Center, Federal Biology Agency, Moscow

In 2007-2008 in Russia, the epidemic upsurge of influenza morbidity was caused by the active circulation of influenza A(H1N1, A(H3N2), and B viruses. The center for Ecology and Epidemiology of Influenza studied 334 epidemic strains. The results of a comparative study of the svirus specificity of commercial test systems (AmpliSens Influ-

*123098, Москва, ул. Гамалеи, 16. Доктор биол. наук Валерия Тимофеевна Иванова, тел. 8-499-190-30-46.

enza virus A/B and AmpliSens Influenza virus A/H5N1) for the polymerase chain reaction diagnosis and virological assays, including virus isolation, revealed their high correlation, which confirms that they may be expensively used to monitor the circulation of influenza viruses in the Russian Federation. All the strains were isolated in the MDCK cell culture. Influenza A(H1N1) viruses (n = 127) were antigenic variants of the reference strains A/Solomon Islands/3/06 and A/Brisbane/59/07. Influenza A(H3N2) viruses (n = 49) were antigenic variants of the reference strains A/Wisconsin/67/05 and A/Brisbane/10/08. One hundred and fifty seven influenza B strains were drift variants of the reference strains B/Florida/4/06 and B/Shanghai/361/02 of lineage B/Yamagata/16/88 and one strain, a variant of Malaysia/2506/04 related to lineage B/Victoria/2/87. The isolates interacted actively with human 0(I) blood group erythrocytes and much more weakly with chicken ones. All study influenza A(H1N1) viruses (n = 74) preserved their sensitivity to rimantadine while 24 (77%) of the 31 study influenza A(H3N2) virus strains were resistant. A study of the time course of changes in the generation of antibodies in the donor sera obtained in Moscow and the Moscow Region in different periods of the epidemic process revealed an increase in antibodies to the reference influenza A and B virus strains circulating in this period.

Key words: *influenza A and B viruses, MDCK, donor sera*

Эпидемические подъемы заболеваемости гриппом ежегодно регистрируют в различных регионах России и в мире. Сравнивая антигенные свойства эпидемических штаммов вирусов гриппа А и В разных эпидемических сезонов следует отметить, что антигенный состав вирусной популяции — соотношение вирусов различных типов и эволюционных групп — варьирует в зависимости от сезона. Изменчивость генома вирусов гриппа и их коциркуляция приводит к возникновению и распространению вирусов гриппа А и В с новыми антигенными свойствами [3—6, 8, 10, 12]. Данная работа посвящена изучению распространения и свойств вирусов гриппа, вызвавших подъем заболеваемости в России в эпидемическом сезоне 2007—2008 гг.

Материалы и методы

Носоглоточные смывы, гемагглютинирующие изоляты, вирусы гриппа были получены от больных с диагнозом гриппа или ОРВИ на территории России. Материалы поступали из опорных баз Федеральных государственных учреждений здравоохранения (ФГУЗ) Центры гигиены и эпидемиологии, сотрудничающих с Центром экологии и эпидемиологии гриппа (ЦЭЭГ) НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского РАМН, и ряда других региональных вирусных лабораторий РФ. Вирусы изолировали в культуре клеток MDCK по методу H. Davies и соавт. [9], а также в 10-дневных куриных эмбрионах (КЭ).

Исследованы 192 сыворотки, полученные в период с сентября 2007 г. по июль 2008 г. от доноров в возрасте 20—30 лет, живущих в Москве и Московской области.

Антигенную структуру гемагглютинирующих изолятов изучали в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) по общепринятому методу. Использовали рекомендованные ВОЗ современные референс-штаммы вирусов гриппа: A(H1N1) — A/Новая Каледония/20/99, A/Соломоновы Острова/3/2006, A/Брисбен/59/2007; A(H3N2) — A/Висконсин/67 /05, A/Брисбен/10/07; B — B/Шанхай/361/02 и B/Флорида/4/06 линии B/Ямагата/16/88 (Ямагатская линия); B/Малайзия/2506/04 линии B/Виктория/2/87 (Викторианская линия) [11, 14] и набор приготовленных к ним сывороток. Штаммы были получены из справочных центров ВОЗ и коллекции ЦЭЭГ. Для удаления неспецифических ингибиторов сыворотки обрабатывали нейраминидазой нехолерного вибриона 18 ч при 37°С, затем прогревали 30 мин при 56°С.

Идентификацию вирусов в носоглоточных смывах, эпидемических и эталонных штаммах проводили с помощью 2 коммерческих тест-систем: "АмплиСенс Influenza virus A/B" и "АмплиСенс Influenza virus A/H5N1", а также новых тест-систем "Амплисенс Influenza virus A/H1N1", "Амплисенс Influenza virus A/H3N2", разработанных в Центральном НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. Тест-системы содержали праймеры для участков генов, кодирующих белки M1 и NS, гемагглютинина подтипов H1, H3, нейраминидазы — N1, N2. Регистрировали результаты методом ПЦР в реальном времени.

Чувствительность эритроцитов к вирусам гриппа проводили в реакции гемагглютинации (РГА) с использованием 0,75% взвеси эритроцитов 0(1) группы крови человека и 1% взвеси эритроцитов кур. Для определения термочувствительности поверхностного белка гемагглютинина (НА) вируссодержащие жидкости прогревали в течение 1 ч при 56°С. Гемагглютинирующую активность вирусов определяли в РГА до и после прогрева вируссодержащей жидкости.

Чувствительность к ремантадину определяли по подавлению вирусной репродукции в культуре клеток MDCK при концентрации препарата 5 мг/мл с последующей оценкой результатов методом иммуноферментного анализа [2, 7].

Результаты и обсуждение

В течение эпидемического сезона 2007—2008 гг. в ЦЭЭГ исследованы 334 эпидемических штамма вирусов гриппа, которые были получены из ФГУЗ различных регионов России или выделены из материалов от больных в ЦЭЭГ. Вирусы изолированы в период с декабря 2007 г. по апрель 2008 г. от больных в возрасте от 1,5 мес до 73 лет (табл. 1). Эффективность изоляции вирусов из смывов за сезон в ЦЭЭГ составила 45%, по результатам других лабораторий — 11%. Следует отметить, что в последние годы практически все эпидемические штаммы изолировали на культуре клеток MDCK [1]. Это обусловлено ярко выраженным тропизмом современных вирусов к культуре клеток MDCK по сравнению с ранее традиционной системой изоляции — КЭ. Для усовершенствования надзора за распространением вирусов гриппа в стране в ЦЭЭГ апробированы 2 коммерческие тест-системы фирмы "Амплисенс" для идентификации вирусов в биологическом материале методом ПЦР в реальном времени (табл. 2).

Таблица 1

Распространение и биологические свойства эпидемических штаммов эпидемического сезона 2007—2008 гг.

Распространение и антигенные свойства					Биологические свойства							
					термочувствительность НА Nc/Nu (%)	взаимодействие вирусов с эритроцитами			изоляция вирусов на КЭ из смывов		адаптация вирусов, изолированных на MDCK к КЭ	
							СГТ					
тип вируса	период изоляции	Nи	эталонные штаммы	федеральные округа		Nи штаммов	человека, группа крови 0(I)	кур	Nи смывов	$N_{КЭ}$	Nи штаммов	$N_{MDCK \rightarrow КЭ}$
A(H1N1)	22.12.07—10.04.08	127	A/Соломоновы острова/3/06, A/Брисбен/59/07	Северо-Западный, Центральный, Приволжский, Южный, Сибирский, Дальневосточный	5/15 (33)	15	5,8 ± 0,3	2,7 ± 0,6	20	3	8	8
A(H3N2)	12.01.08—07.04.07	49	A/Висконсин/67/05, A/Брисбен/10/08	Центральный, Приволжский, Уральский, Дальневосточный	10/10 (100)	10	5,0 ± 0,4	3,2 ± 0,7	4	0	нс	нс
B/Ямагата/16/88 линия	22.12.07—29.04.07	157	B/Шанхай/361/02, B/Флорида/4/06	Центральный, Приволжский, Сибирский, Дальневосточный	6/6 (100)	6	7,3 ± 0,6	6,8 ± 0,5	8	0	4	4
B/Виктория/2/87 линия	10.03.08	1	B/Малайзия/2506/04	Центральный	нс	нс	нс	нс	нс	нс	нс	нс

Примечание. Nи — число исследованных штаммов, смывов; Nc — число штаммов с НА, нечувствительным к нагреванию; СГТ — средний геометрический титр вирусов в РГА; $N_{КЭ}$ — число штаммов, изолированных на КЭ; $N_{MDCK \rightarrow КЭ}$ — число штаммов, изолированных на MDCK и перешедших на КЭ; нс — не исследовано.

Показана высокая специфичность систем для установления типа вирусов на примере 20 эталонных штаммов, циркулировавших в период с 1977 по 2008 г. В 100% исследованных эпидемических штаммов выявлено совпадение результатов ПЦР и данных РТГА. При сравнительном анализе носоглоточных смывов (76) методом ПЦР и результатов изоляции из них вирусов в культуре клеток MDCK установлено, что процент совпадений составлял для системы "АмплиСенс Influenza virus A/B" и "АмплиСенс Influenza virus A/H5N1" 79,7 и 100% соответственно. Подтверждена специфичность системы "АмплиСенс Influenza virus A/H5N1" при идентификации нейраминидазы N1 у эталонных штаммов. При субтипировании нейраминидазы 24 эпидемических штаммов вирусов гриппа A(H1N1) 2007—2008 гг. изоляции системой "АмплиСенс Influenza virus A/H5N1" выявлено у них наличие нейраминидазы N1, что в совокупности с данными РТГА позволили их идентифицировать как вирусы гриппа A(H1N1). Апробация новой системы "Амплисенс Influenza virus H1N1, H3N2" с 13 эталонными и 15 эпидемическими штаммами вирусов гриппа A(H1N1) и A(H3N2), изолированными с 1977 по 2008 г., показала ее специфичность и возможность дальнейшего прохождения этапов по лицензированию. Таким образом, результаты исследования взятых тест-систем подтвердили возможность использования их в дальнейшем для быстрой идентификации РНК вирусов гриппа А и В в биологических материалах при мониторинге за распространением гриппа на территории России.

Изучение антигенной специфичности НА у эпидемических штаммов показало, что эпидемиче-

Таблица 2

Определение вирусов гриппа в биологических образцах методом ПЦР с использованием тест-системы "Амплисен"

Биологический материал	Количество образцов	Тест-система	Способ детекции	Удельный вес совпадений данных ПЦР с данными по изоляции и РТГА*, %
Носоглоточные смывы 2007—2008 гг.	29**	Influenza virus A/B	ПЦР-электрофорез	100
	29**	Influenza virus A/H5N1	ПЦР в реальном времени	100
	74	Influenza virus A/B	ПЦР в реальном времени	79,7
Эталонные штаммы 1977—2008 гг.	20	Influenza virus A/B		
	7	Influenza virus A/H1N1		
	6	Influenza virus A/H3N2	ПЦР в реальном времени	100*
Эпидемические штаммы 2007—2008 гг.	24	Influenza virus A/H5N1		
	39	Influenza virus A/B		
	7	Influenza virus A/H1N1		
	8	Influenza virus A/H3N2		

Примечание. * — % совпадений данных ПЦР с данными по РТГА; ** — одинаковые образцы.

ский подъем заболеваемости гриппом был обусловлен коциркуляцией вирусов гриппа A(H1N1), A(H3N2) и B. При этом в западных и центральных регионах РФ наиболее активно циркулировали вирусы гриппа A(H1N1)и B, в то время как на Дальнем Востоке (Владивосток) — A(H3N2) и B. Установлено, что первые изоляты, поступавшие в начале эпидемического сезона на протяжении всего периода наблюдения в ЦЭЭГ, были вирусами гриппа A(H1N1). Их регистрировали в разных регионах России от западных до восточных границ, включая центральные и южные регионы. Анализ 127 эпидемических штаммов вирусов гриппа A(H1N1) показал, что вирусная популяция может быть условно разделена на две части. В первую группу входили штаммы (41%), которые поступали в начале эпидемического сезона и были близко родственны эталону A/Соломоновы Острова/3/2006, при этом они взаимодействовали с сывороткой к этому эталону в пределах от 1 до 1/2 гомологичного титра. По мере развития эпидемического процесса в ЦЭЭГ стали поступать штаммы с отличными антигенными свойствами НА. Взаимодействие с этой сывороткой уменьшилось до 1/64 гомологичного титра. Для уточнения антигенной структуры отличных от этого эталона вирусов, 12 штаммов исследовали с сывороткой к новому эталону — A/Брисбен/59/07(H1N1) [15]. Они взаимодействовали с сывороткой от 1/2 до 1/16 гомологичного титра. Из этой группы 9 штаммов нейтрализовались до 1/2 гомологичного титра. Среди них выявлено 3 промежуточных варианта, которые взаимодействовали с сыворотками к обоим эталонам до 1/2 гомологичного титра. В группе зарегистрировано 2 штамма, изолированных в Центральном округе, которые слабо взаимодействовали с сыворотками к обоим эталонам. Однако наиболее слабое взаимодействие наблюдалось у штамма A/Москва/80/08 с крысиной сывороткой к A/Брисбен/59/07 до 1/16 гомологичного титра, с сывороткой из набора ВОЗ до титра 1/20, при гомологичном —1/20480. Совокупность полученных результатов свидетельствует, что 59% вирусной популяции A(H1N1) были подобны или являлись дрейф-вариантами эталона A/Брисбен/59/07. Рассматривая циркуляцию вирусов гриппа A(H1N1) с 2000 г. по настоящее время, можно отметить, что вирусы, подобные эталону A/Новая Каледония/20/99, были причиной обширных эпидемий, наблюдаемых в период с 2000 по 2001 г. в разных регионах России. В последующих сезонах эти вирусы регулярно регистрировались в стране, но они не доминировали в вирусных популяциях [5, 6, 8]. В 2006—2007 гг. наблюдался резкий всплеск активности гриппа A(H1N1) и соответственно рост числа вирусных изолятов из всех регионов страны. Это связано с появлением и активной циркуляцией в России вирусов, подобных эталону A/Соломоновы Острова/3/06 [6].

Таким образом, последние годы характеризуются активным антигенным дрейфом НА вирусов гриппа A(H1N1).

Вирусы гриппа A(H3N2) более часто изолировали во второй половине эпидемического сезона 2007—2008 гг. Всего было исследовано 49 штаммов. Антигенный анализ гемагглютинина вирусов показал, что 39% штаммов были подобны эталону A/Висконсин/67/05 и взаимодействовали с иммунной сывороткой к эталону в пределах 1—1/2 гомологичного титра; другая часть популяции была подобна новому эталону A/Брисбен/10/07 (см. табл. 1). Об этом говорят результаты анализа антигенных свойств 19 эпидемических штаммов вируса гриппа A(H3N2), проведенного с двумя сыворотками к разным эталонным штаммам. Показано, что все вирусы взаимодействовали с сывороткой к A/Брисбен/10/07 до полного титра, в то же время с сывороткой к A/Висконсин/07/05 — от 1/2 до 1/8 гомологичного титра. Кроме того, выявлены 2 штамма, представляющие дрейф-варианты эталона A/Брисбен/10/07. Полученные результаты свидетельствуют о наличии в популяции штаммов A(H3N2) вирусов гриппа, подобных новому эталонному варианту — A/Брисбен/10/07, и указывают на продолжающийся дрейф молекулы НА подтипа Н3 вируса гриппа А.

Анализ антигенных свойств 157 штаммов вируса гриппа В определил их принадлежность к Ямагатской линии. При этом их взаимодействие с сыворотками к эталонам этой линии составило: к новому (B/Флорида/4/06) — от 1/4 до 1/16, к предыдущему эталону (B/Шанхай/361/02) от 1/8 до 1/64 гомологичного титра. Выявлены 3 штамма, для которых степень ингибирования гомологичными сыворотками к обоим эталонам составила 1/32—1/64 титра. Полученные данные свидетельствуют об антигеном дрейфе НА вирусов гриппа этой линии. В популяции вирусов гриппа В один штамм (B/Москва/115/08) идентифицирован как дрейф-вариант эталона B/Малайзия/2506/04 Викторианской линии. Он взаимодействовал с гомологичной сывороткой до 1/2 титра. Эти результаты указывали, что вирусы Викторианской линии циркулировали в стране, но их активность была низкой. Рассматривая циркуляцию штаммов вирусов гриппа В в России в XXI веке, следует отметить, что начиная с эпидемического сезона 2003—2004 гг., когда в циркуляцию возвратились вирусы Викторианской группы [5], чередовалось доминирование представителей Ямагатской и Викторианской линий. Рассматривая популяционный иммунитет в целом с сентября 2007 по июнь 2008 г., в Московском регионе выявлена динамика увеличения уровня антител к современным штаммам вирусов гриппа А и В от начала к концу эпидемического сезона. Рост СГТ составил: для антител к вирусу гриппа A/H1N1 с 4,3 ± 0,3 до 5,4 ± 0,3 $\log_2$, к вирусу гриппа A/H3N2 с 4,1 ± 0,2 до 5,0 ± 0,2 $\log_2$. Что касается вирусов гриппа В СГТ к эталону B/Флорида/4/06 Ямагатской линии в сыворотках доноров повысился с 7,6 ± 0,2 до 8,2 ± 02 $\log_2$. В предыдущем сезоне (2006—2007 гг.) был выявлен прирост антител к штаммам Викторианской линии. Таким образом, серологические данные подтвердили результаты, полученные вирусологическими методами о циркуляции эволюционных линий.

Результаты изучения биологических свойств эпидемических штаммов сезона 2007—2008 гг. приведены в табл. 1. Сравнительные исследования эффективности изоляции эпидемических штаммов на тканях КЭ и культуре клеток MDCK показали, что попытки изолировать вирусы гриппа A(H3N2) и B на КЭ из смывов (12) были отрицательными. Следует отметить, что исследовали смывы, из которых были выделены вирусы на культуры клеток MDCK. Эффективность изоляции штаммов вируса гриппа A(H1N1) составила 15% — на КЭ удалось выделить

3 штамма из 20 носоглоточных смывов, положительных при выделении на MDCK. Сложность изоляции вирусов гриппа A(H3N2) и B на КЭ, регистрируемая и в других странах, привела к большим трудностям с отбором вакцинных штаммов [12].

Исследование способности перехода вирусов, выделенных на MDCK, репродуцироваться на клетках КЭ — адаптационных свойств эпидемических штаммов, показало, что все 8 штаммов вируса гриппа A(H1N1), как и 4 штамма вируса гриппа B, изолированные на MDCK, сохранили способность репродуцироваться на КЭ.

Результаты исследования взаимодействия эпидемических штаммов сезона 2007—2008 гг. с эритроцитами человека 0(I) группы крови показали, что они были более чувствительны к вирусам гриппа A по сравнению с куриными (см. табл. 1). СГТ вирусов составляли с человеческими эритроцитами от 5,0 до 5,8 $\log_2$, с эритроцитами кур 3,2—2,7 $\log_2$. Не было выявлено существенных различий по чувствительности взятых для исследования эритроцитов к эпидемическим штаммам вируса гриппа B. В этом случае показатели СГТ варьировали в пределах 6,0—7,3 $\log_2$. Полученные данные свидетельствуют, что эритроциты млекопитающих остаются более чувствительными к современным вирусам гриппа, чем эритроциты птиц. Этот феномен, описанный нами для штаммов более ранних сезонов, регистрируется и у эпидемических штаммов 2007—2008 гг. Он объясняется различной чувствительностью современных вирусов гриппа человека к клеточным рецепторам [3, 13, 15]. Следует отметить, что у изолятов вирусов гриппа птиц A(H5N1), выделенных от заболевших людей, обнаружено 3 мутанта, способных распознавать оба типа рецепторов [16].

Исследование термочувствительности НА у ряда штаммов вирусов гриппа A(H1N1) показало, что вирусы гриппа были гетерогенны по этому признаку. Все исследованные штаммы вирусов гриппа A(H3N2) и B имели стабильный гемагглютинин.

В продолжение начатых исследований проведено изучение чувствительности популяции эпидемических штаммов вирусов гриппа A(H1N1) и A(H3N2) к ремантадину. Исследована чувствительность 105 штаммов гриппа A (74 вируса A(H1N1) и 31 A(H3N2) эпидемического сезона 2007—2008 гг. Все вирусы гриппа A(H1N1) были чувствительными к ремантадину. Из числа вирусов гриппа A(H3N2) выявлено 24 (77%) штамма, резистентных к ремантадину, что превышает соответствующие показатели сезонов 2005—2006 и 2006—2007 гг. в 1,6 и 2,2 раза соответственно. Полученные результаты свидетельствует о разной чувствительности вирусов гриппа A(H1N1) и A(H3N2) к ремантадину в популяции штаммов этого сезона. Такая гетерогенность, по-видимому, может быть связана с особенностями циркуляции вирусов и их активности в эпидемическом процессе.

При сравнении результатов исследования эпидемических штаммов, циркулировавших в 2007—2008 гг. в России, с данными, полученными в предыдущих эпидемических сезонах, следует отметить, что характерное отличие этого сезона — высокая циркуляция и изоляция вирусов гриппа A(H1N1), продолжение циркуляции вирусов гриппа (H3N2), чередование циркуляции антигенных вариантов современных эталонов вирусов гриппа B двух эволюционных линий, продолжающийся дрейф НА среди вирусов гриппа A и B. Отмечена гетерогенность популяции эпидемических штаммов вирусов гриппа A и B по чувствительности к системам выделения, способности к репродукции при переходе из одной системы изоляции в другую, чувствительности эритроцитов птиц и человека к штаммам, чувствительности вирусов гриппа A(H1N1) и A(H3N2) к ремантадину.

Популяции вирусов гриппа A и B в России в 2007—2008 гг. включали как дрейф-варианты эталонных штаммов, рекомендованных на сезон 2007—2008 гг. (A/Соломоновы Острова/3/06 (H1N1), A/Висконсин/67/05(H3N2), B/Малайзия / 2506/04 [11]), так и штаммы, рекомендованные ВОЗ в качестве вакцинных на эпидемический сезон 2009 г., — A/Брисбен/59/07(H1N1), A/Брисбен/10/8(H3N2), B/Флорида/4/06 (Ямагатской линии) [14]. Что касается ситуации с гриппозной инфекцией в других странах в 2007—2008 гг., то наблюдали разную активность вирусов гриппа A и B. Во многих странах, например в Австрии, Бельгии, Чили, Уругвае и др., регистрировали коциркуляцию вирусов A(H1N1) и B. Высокая активность вирусов гриппа A(H3N2) была зафиксирована в США и Республике Беларусь. Анализ антигенных свойств вирусов установил, что в популяциях вирусов гриппа A(H1N1) большинство штаммов были родственны эталону A/Брисбен/59/207. Эпидемические штаммы вирусов гриппа A(H3N2), циркулировавшие в мире в сезоне 2007—2008 гг., были близки к новому эталону — штамму A/Брисбен/10/2007. Вирусы гриппа B широко циркулировали и вызывали вспышки заболеваемости во многих странах и континентах, в основном доминировали вирусы гриппа Ямагатской линии, подобные B/Флорида/4/06. Штаммы, подобные современным представителям Викторианской линии (B/Малайзия/2506/04), были изолированы в Южном полушарии — в Австралии, Гонконге, Новой Зеландии. Анализ данных литературы и полученных нами свидетельствует, что у вирусов гриппа A и B продолжался процесс изменчивости вирионных белков, который и привел к наблюдаемой в мире картине циркуляции вирусов гриппа [14].

Таким образом, вирусологические серологические исследования показали, что в России, как и в мире, в эпидемический сезон 2007—2008 гг., активно циркулировали вирусы гриппа A(H3N2), A(H1N1) и B (Ямагатской линии). Наибольшая активность вирусов гриппа A(H1N1) и B была отмечена в Центральной части страны, в то время как вирусов A(H3N2) и B — на востоке. По антигенным свойствам поверхностных белков они соответствовали референс-штаммам, варианты которых вызывали эпидемические подъемы во всем мире в эпидемическом сезоне 2007—2008 гг. или являлись их дрейф-вариантами. По антигенным свойствам НА отмечено неполное совпадение между вакцинными и эпидемическими штаммами, особенно в отношении вакцинного вируса гриппа B, что могло снизить эффективность профилактики.

Авторы благодарны сотрудникам, приславшим свои материалы из ФГУЗ Центры гигиены и эпидемиологии Великого Новгорода, Москвы, Ярославля, Владимира, Липецка, Пензы, Томска, Владивостока и других регионов РФ. Работа частично поддержана грантом МНТЦ № 3070.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бурцева Е. И., Иванова В. Т., Оскерко Т. А.* и др. Свойства вирусов гриппа А и В, выделенных на куриных эмбрионах и культуре клеток MDCK // Вопр. вирусол. — 2001. — Т. 46, № 1. — С. 29—31.
2. *Бурцева Е. И., Шевченко Е. С., Ленева И. А.* и др. Чувствительность к ремантадину и арбидолу вирусов гриппа, вызвавших эпидемические подъемы заболеваемости и России в сезоне 2004—2005 // Вопр. вирусол. — 2007. — Т. 52, № 2. — С. 24—28.
3. *Гендон Ю. З.* Пандемия гриппа: предположения и факты // Журн. микробиол. — 2008. — № 5. — С. 109—118.
4. *Иванова В. Т., Бурцева Е. И., Слепушкин А. И.* и др. Распространение и свойства эпидемических штаммов вирусов гриппа А и В, вызвавших подъемы заболеваемости в России в 1999—2002 гг. // Вопр. вирусол. — 2003. — Т. 48, № 4. — С. 11—16.
5. *Иванова В. Т., Бурцева Е. И., Слепушкин А. Н.* и др. Особенности вирусов гриппа, обусловивших эпидемический подъем заболеваемости гриппом в России в 2002—2003 гг. Возврат в циркуляцию вирусов гриппа В/Виктория/2/87-подобных // Вопр. вирусол. — 2004. — Т. 49, № 3. — С. 12—17.
6. *Иванова В. Т., Курочкина Я. Е., Бурцева Е. И.* и др. Распространение и биологические свойства эпидемических штаммов вирусов гриппа А, В, циркулировавших в сезоне 2006—2007 гг. // Вопр. вирусол. — 2008. — Т. 53, № 5. — С. 19—23.
7. *Ленева И. А., Фадеева Н. И., Федякина И. Т.* и др. Применение иммуноферментной индикации вируспецифических антигенов в изучении нового противогриппозного препарата арбидола // Химико-фармацевт. журн. — 1994. — № 9. — С. 4—8.
8. *Соминина А. А., Киселев О. И., Литвинова О. М.* и др. Анализ эпидемии гриппа, сезон 2004—2005 гг. по результатам исследования выделенных вирусов и дифференциальной диагностики ОРВИ // Грипп, гриппоподобные заболевания, их профилактика. — СПб., 2005. — С. 39—56.
9. *Davies H. W., Appleyard C., Cunningham P.* et al. The use of continuous cell line for the isolation of influenza virus // Bull. WHO. — 1978. — Vol. 56. — P. 5519—5524.
10. *Ferguson N. M., Bush R. M.* Influenza evolution and immune selection // Options for the Control of Influenza Y. — Amsterdam, 2004. — P. 12—16.
11. Influenza Activity-United States and Worldwide, 2007-08 Season // Morbid. Mortal. Wkly. Rep. — 2008. — Vol. 57, N 25. — P. 692—693. www.cdc.gov/mmwr
12. *Klimov A.* Evolution of influenza viruses and vaccine strain selection process // Programme Abstract book. The third European influenza conference, Vilamoura, Portugal. — 2008. — P. 40—42.
13. *Morishita T., Nobusava E., Nakajima K., Nakajima S.* Study on the molecular basis for loss of the ability of recent influenza A(H1N1) viruses strains to agglutinate chicken crythrocytes // J. Gen. Virol. — 1996. — Vol. 77. — P. 2499—2506.
14. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in 2009 southern hemisphere influenza scason. Weelky epidemiological record. — 2008. — Vol. 83, N 41. — P. 366—372.
15. *Rogers G. N., Paulson V. C.* Receptor determinates of human and animal influenza virus isolates: differences in receptor specificity of the H3 haemagglutinin based on species of origin // Virology. — 1983. — Vol. 127. — P. 361—373.
16. *Yamada S., Suzuki Y., Suzuki T.* et al. Hemagglutinin mutation responsible for the binding of H5N1 influenza type receptors // Nature. — 2006. — Vol. 444. — P. 378—380.

Поступила 19.02.09

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2009

УДК 615.371:578.825.11].036.8

О. А. Бархалева[1], И. П. Ладыженская[1], М. С. Воробьева[1], Н. В. Шалунова[1], Р. Я. Подчерняева[2], Г. Р. Михайлова[2], Т. В. Хорошева[3], И. Ф. Баринский[2]

"Витагерпавак" — первая отечественная вакцина против вируса просто герпеса, полученная на перевиваемой линии клеток Vero B

[1]ФГУН ГИСК им. Л. А. Тарасевича*, [2]ГУ НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского РАМН; [3]ЗАО "Фирма "Витафарма", Москва

"Витагерпавак" — вакцина герпетическая культуральная инактивированная сухая получена с использованием в качестве субстрата для накопления вируса простого герпеса (ВПГ) 1-го типа (штамм УС) и 2-го типа (штамм ВН) перевиваемой линии клеток Vero B.
Проведены сравнительные клинические испытания вакцины "Витагерпавак", в качестве препарата сравнения использовалась аналогичная вакцина "Герповакс" производства НИИ вакцин и сывороток, Санкт-Петербург (при изготовлении которой в качестве субстрата для накопления ВПГ 1-го и 2-го типа используется первично трипсинизированная культура клеток куриного эмбриона).
В испытаниях были изучены переносимость и лечебная эффективность вакцин у больных с диагнозом хронического, часто рецидивирующего герпеса.
Получены положительные результаты испытаний, которые свидетельствуют о целесообразности внедрения в практику лечения хронической рецидивирующей герпетической инфекции различной локализации новой вакцины "Витагерпавак".
Вакцина "Витагерпавак" зарегистрирована в РФ и разрешена для применения в медицинской практике.

Ключевые слова: *вакцина, вирус простого герпеса, перевиваемая линия клеток, первично трипсинизированная культура клеток*

Vitaherpavac is the first Russian herpes simplex virus vaccine obtained on the Vero B continuous cell line

O. A. Barkhaleva[1], I. P. Ladyzhenskaya[1], M. S. Vorobyeva[1], N. V. Shalunova[1], R. Ya. Podchernyaeva[2], G. R. Mikhailova[2], T. V. Khorosheva[3], I. F. Barinsky[2]

[1]L. A. Tarasevich State Research Institute for Standardization and Control of Medical Biological Preparations; [2]D. I. Ivanovsky Research Institute of Virology, Russian Academy of Medical Sciences; [3]ZAO Vitafarma Firm, Moscow

Vitaherpavac, a dry inactivated herpes simplex virus (HSV) culture vaccine, has been obtained, by using the Vero B continuous cell line as a substrate for accumulation of herpes simplex virus types 1 (US strain) and 2 (VN strain). Vitaherpavac and the similar vaccine Herpovax made by the Research Institute of Vaccines and Sera, Saint Petersburg (for which preparation a primary trypsinized chick embryo cell culture used as a substrate for accumulation of HSV types 1 and 2), underwent comparative clinical trials.

*121002, Москва, пер. Сивцев Вражек, д. 41. Канд. биол. наук Оксана Александровна Бархалева, e-mail: oksan_75@mail.ru.