

Л. М. Цыбалова, Н. Е. Горев, М. В. Потапчук, И. А. Репко, А. В. Коротков, М. В. Сергеева, А. Б. Комиссаров,
М. М. Писарева, В. В. Кузнецов, М. П. Грудинин, О. И. Киселев

Характеристика холодоадаптированного штамма вируса гриппа А/Гонконг/1/68/162/35 как потенциального донора аттенуации и высокой репродуктивности

ФГБУ НИИ гриппа Минздравсоцразвития России, Санкт-Петербург

Для производства живых и инактивированных вакцин в настоящее время применяются вирусные реассортанты, полученные на разных донорах генов внутренних белков.

На основе пандемического вируса А/Гонконг/1/68 (H3N2) разработан холодоадаптированный термочувствительный штамм А/Гонконг/1/68/162/35, имеющий высокую репродуктивность (9–9,5 lg ЭИД₅₀) и геммагглютинирующую (1:1024–1:2048) активность, а также маркеры аттенуации к человеку – ts-, ca-фенотип. Репродуктивная активность при 39°C составляет 1,0 lg, при 26°C – 8,5 lg. Полный сиквенс генома вируса выявил 16 мутаций, из них 10 в генах полимеразного комплекса и NP с соответствующими аминокислотными заменами. Стабильность маркеров аттенуации к человеку и высокой репродуктивности подтверждена повторным секвенированием генома после 10-кратного пассирования штамма на куриных эмбрионах. Полученные реассортанты штамма А/Гонконг/1/68/162/35 с “дикими” вирусами наследовали положительные свойства разработанного штамма (высокую репродуктивность, термочувствительность и холодovou адаптивность).

Ключевые слова: вирус гриппа, донор генов, реассортанты, живые и инактивированные вакцины

Characterization of Cold-adapted Influenza Strain A/HongKong/1/68/162/35 as a Potential Donor of Attenuation and High Reproduction

L. M. Tsybalova, N. E. Gorev, M. V. Potapchuk, I. A. Repko, A. V. Korotkov, M. V. Sergeeva, A. B. Komissarov, M. M. Pisareva, V. V. Kuznetsov, M. P. Grudinina, and O. I. Kiselev

Federal State Research Institute of Influenza, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia

Live and inactivated vaccines are currently produced using virus reassortants originating from various gene donors of internal proteins.

Based on the pandemic virus A/Hong Kong/1/68 (H3N2), a cold-adapted thermo-sensitive strain A/Hong Kong/1/68/162/35 was generated. It is distinguished for its high reproductive capacity (9-9.5 lg EID₅₀), and hemagglutinating activity (1:1024-1:2048). The strain has ts and ca phenotype: reproductive capacity at t = 39°C is 1.0 lg EID₅₀; at t = 26°C, 8.5 lg EID₅₀. A total of 16 mutations have emerged from comprehensive sequencing of the virus genome. Among them 10 mutations were located in the genes of polymerase complex and NP, with respective amino-acid substitutions. The stability of strain characteristics, such as attenuation to humans and high reproductive capacity, were confirmed by repeated sequencing of the genome after tenfold passing of the virus in chicken embryos. Reassortants of the strain A/Hong Kong/1/68/162/35 with the wild-type viruses have inherited useful features of donor virus.

Key words: influenza virus, gene donor, reassortants, live and inactivated vaccines

В настоящее время для производства живых (ЖГВ) и инактивированных (ИГВ) вакцин против гриппа используют реассортанты эпидемических вирусов и вирусов – доноров генов, кодирующих внутренние белки. Штаммы вируса гриппа А для ИГВ (производственные штаммы) с начала 70-х годов прошлого века получают на основе высокорепродуктивного безопасного для человека вируса А/PR/8/34. Для ЖГВ в качестве донора используют аттенуированные вирусы гриппа А(H2N2): в России – А/Ленинград/134/17/57 (А/Лен/17), в США – А/Ann Arbor/6/60ca (А/АА/6/60ca), разработанные соответственно научными коллективами во главе с Г. И. Александровой [1] и Н. Ф. Маассаб [12, 14]. Полученные доноры аттенуации обладают меньшей репродуктивной способностью, чем вирус А/PR/8/34, но передают вакцинным штаммам необходимые для ЖГВ свойства, такие как

аттенуацию к человеку, холодоадаптированность (ca) – способность активно размножаться при температуре 25–27°C и термочувствительность (ts) – слабую репродуктивную активность при повышенных температурах (39–40°C). Эти свойства определяют способность вакцинного штамма к репродукции в носоглотке привитого человека и инициацию иммунного ответа при невозможности размножаться в нижних дыхательных путях.

Очевидно, получение штаммов для ИГВ и ЖГВ на разных донорах и проверка их соответствия стандартам требуют двойных затрат времени и ресурсов. Предпринимались попытки создать вирус, совмещающий свойства высокой репродуктивности и аттенуированности к человеку, например вирус А/PR/8/59/1 [9], но в практике этот донор применения не нашел. Н. Jin и соавт. [11] путем внесения в геном вируса А/

Контактная информация:

Цыбалова Людмила Марковна, д-р мед. наук, зам. дир.; e-mail: soveta@influenza.spb.ru

PR/8/34 мутаций, отвечающих за ts-фенотип у донора аттенуации А/АА/6/60са, получили высокорепродуктивный, температурочувствительный вирус. По мнению авторов, этот вирус будет более безопасным при создании реассортантов с высокопатогенными пандемическими вирусами.

Создание штамма вируса гриппа, обладающего высокой репродуктивностью и генетическими маркерами аттенуации к человеку – са и ts, было задачей данного исследования.

Материалы и методы

Вирусы. В работе использовали вирус гриппа А/Гонконг/1/68 (H3N2) – А/ГК/1/68, выделенный на куриных эмбрионах от больного человека в 1968 г. в Гонконге и переданный в НИИ гриппа из Всемирного центра по гриппу (Лондон) в 1969 г. Аттенуацию штамма А/ГК/1/68 проводили путем пассирования исходной популяции возбудителя на 10–11-дневных развивающихся куриных эмбрионах (РКЭ) при 32° и 26°С при заражающей дозе 10^3 – 10^4 ЭИД₅₀/0,2 мл. Инфекционную активность вирусов определяли титрованием в РКЭ, рассчитывали с помощью метода Рида и Менча и выражали в lg ЭИД₅₀/0,2 мл [15]. Холодоадаптированность (ХА) вирусов оценивали по результатам их сравнительного титрования в РКЭ при оптимальной и пониженной температурах. Штаммы считали холодоадаптированными, если разница инфекционных показателей при указанных температурах RCT (reproductive capacity at different temperatures) была не более 3 lg ЭИД₅₀. Температурочувствительным считали штамм, разница в инфекционной активности которого при оптимальной и повышенной (39°С) температурах составляла более 5 lg ЭИД₅₀.

Лабораторные животные. Использовали беспородных белых мышей в возрасте 16–18 нед и морских свинок в возрасте 5–6 мес, полученных из питомника лабораторных животных “Рапполово” (Россия, Ленинградская обл.). Животных выдерживали в карантине в течение 21 дня. При исследованиях руководствовались “Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных” (1977). Безвредность штамма А/ГК/са оценивали на мышцах и морских свинках. Первую группу мышей под легкой анестезией инфицировали интраназально аллантоисной жидкостью, содержащей вирус в дозе 6,5 lg ЭИД₅₀/05 мл. Второй группе мышей вирус вводили в той же дозе внутривенно. Морским свинкам вирус вводили подкожно в дозе 9 lg ЭИД₅₀/05 мл. Наблюдение за животными проводили в течение 14 дней после заражения. Ежедневно определяли массу тела и клинические признаки заболевания, включая состояние кожного покрова в месте введения вируса.

Репродукцию вируса в легких и носовых ходах мышей определяли на 3-и сутки после инокуляции по показателям титрования 10% суспензии органов в куриных эмбрионах и выражали в lg ЭИД₅₀/мл.

Специфичность вируса определяли в реакции торможения гемагглютинации по общепринятой методике [5] со специфическими иммунными крысинными сыворотками, используя 4 АЕ антигена и 1% взвесь эритроцитов кур. Использовали сыворотки к вирусам гриппа А субтипов Н1N1, Н2N2, Н3N2, гриппа В, а также к вирусам Сендай и болезни Ньюкасла (NDV).

Исследование трансмиссивности штамма А/ГК/са. Морских свинок инфицировали без наркоза, вводя в оба носовых хода по 200 мкл вируса в дозе 6,5 lg ЭИД₅₀/0,4 мл. Через 20 ч к зараженным животным подсаживали по 2 интактные свинки. Назальные смывы получали до и на 2, 5, 8 и 12-е сутки после заражения/контакта путем пропускания 1,0 мл стерильного фосфатно-солевого буфера (PBS) через носовые ходы животного. Репродукцию вируса оценивали по результатам титрования назальных смывов.

Секвенирование. С целью выявления мутаций, возникших в процессе аттенуации штамма, 6 “внутренних” генов (PB2, PB1, PA, NP, M и NS) итогового штамма А/Гонконг/1/68/162/35 (А/ГК/са) и двух промежуточных вариантов (А/ГК/7 и А/ГК/162) были секвенированы и сопоставлены с последовательностями соответствующих генов дикого вируса А/ГК/1/68, взятыми из базы данных GenBank (номера последовательностей AF348170, AF348172, AF348174, AF348180, AF348188, AF348198). Вирусную РНК из аллантоисной жидкости выделяли с использованием коммерческого набора РИБО-сорб (ФГУ ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия). Сегменты генома амплифицировали методом ОТ-ПЦР с использованием специально подобранных пар праймеров, набора РЕВЕРТА-Л для обратной транскрипции и комплекта реагентов для ПЦР производства ФГУ ЦНИИ эпидемиологии. Очистку ПЦР-продуктов осуществляли методом горизонтального электрофореза в 1,7% агарозном геле с последующим выделением ДНК с помощью коммерческого набора QIA Quick Gel Extraction Kit (“Qiagen”, США). Реакцию секвенирующей ПЦР ставили с использованием коммерческого набора ABI PRISM BigDye Terminator v3.1 Kit (“Applied Biosystems”, США). Анализ продуктов реакции секвенирования, очищенных от остаточных терминаторов, проводили с помощью системы ABI PRISM 3100-Avant Genetic Analyzer (“Applied Biosystems”, США). Сборку нуклеотидных последовательностей, их обработку и выравнивание осуществляли в программном пакете Vector NTI 10 Advance (“Invitrogen”, США).

Результаты и обсуждение

В 1969–1970 гг. в НИИ гриппа в процессе подготовки ЖГВ на волонтерах были изучены реактогенные и иммуногенные свойства вируса А/ГК/1/68, прошедшего несколько пассажей в РКЭ. Экспериментальные серии препаратов из вариантов штамма А/ГК/1/68 готовили и контролировали в соответствии с МРТУ-42 на ЖГВ. Концентрация активного вируса, вводившегося волонтерам, составляла $10^{6,0-7,4}$ ЭИД₅₀/0,2 мл. Было показано, что варианты вируса А/ГК/1/68, прошедшие свыше 15 пассажей в РКЭ, были безвредными для людей и по показателям реактогенности отвечали требованиям, предъявляемым к вакцинным штаммам [3]. Полученный штамм А/ГК/1/68/25 использовали в качестве ЖГВ, но его разработку в качестве донора аттенуации не проводили.

В начале 2000-х годов работа с вирусом была возобновлена с целью создания единого донора для реассортантов, используемых в производстве вакцин обоих типов (ЖГВ и ИГВ). Дальнейшую аттенуацию пассажного варианта А/ГК/1/68/25 проводили путем пассирования в РКЭ с инкубацией последних при

Биологические свойства пассажных вариантов вируса гриппа А/Гонконг/1/68

Штамм	Инфекционная активность, lg ЭИД ₅₀ /0,2 мл, при			RCT ₂₆	RCT ₃₉	Гемагглютинирующая активность, ГАЕ
	26°C	32°C	39°C			
А/Гонконг/1/68/15	2,5	7,25	5,0	4,75	2,25	1:64
А/Гонконг/1/68/150	2,5	8,5	н/и	н/и	н/и	1:512
А/Гонконг/1/68/162/10	3,0	8,5	н/и	н/и	н/и	1:512–1:1024
А/Гонконг/1/68/162/35	8,5	9,0	1,0	0,5	8,0	1:1024–1:2048

Примечание. н/и – не исследовали.

Таблица 2

Мутации в генах штамма А/Гонконг/1/68/162/35 (ГКса) и соответствующие аминокислотные замены по отношению к исходному вирусу А/Гонконг/1/68 (ГК/1/68) и пассажным вариантам А/Гонконг/1/68/7 (ГК7) и А/Гонконг/1/68/162 (ГК162)

Ген	Нуклеотид	ГК/1/68	ГК/7	ГК/162	ГКса	АК	ГК/1/68	ГК7	ГК162	ГКса	
PB2	375	G	G	T	T	120	Glu	Glu	Asp	Asp	
	1093	T	T	C	C	360	Tyr	Tyr	His	His	!!
	1765	A	G	G	G	584	Ile	Val	Val	Val	
PB1	1145	C	C	A	A	374	Ala	Ala	Glu	Glu	!!
	1417	A	A	A	G	465	Arg	Arg	Arg	Gly	!!
	1903	C	C	T	T	627	Pro	Pro	Ser	Ser	!!
PA	1347	G	G	G	A	441	Met	Met	Met	Ile	
	2042	A	G	G	G	673	Lys	Arg	Arg	Arg	
NP	304	G	G	A	A	102	Gly	Gly	Arg	Arg	
	875	A	A	A	G	292	Glu	Glu	Glu	Gly	!!
M	613	G	G	A	A	M1:205	Val	Val	Ile	Ile	
	691	G	G	A	A	M1:231	Asp	Asp	Asn	Asn	!
	785	A	A	C	C						
	787	C	T	T	T	M2:33	Ile	Ile	Leu	Leu	
NS	264	C	G	G	G	NS1:81	Ile	Met	Met	Met	
	676	A	A	G	G	NS1:219	Lys	Lys	Glu	Glu	!!

Примечание. ГК/1/68 – штамм А/Гонконг/1/68(Н3N2), нуклеотидные последовательности генов которого взяты из базы данных GenBank (номера последовательностей AF348170, AF348172, AF348174, AF348180, AF348188, AF348198). Нуклеотидные последовательности штаммов ГК7, ГК162 и ГКса определены по данным секвенирования. Нумерация нуклеотидных и аминокислотных замен дана относительно штамма ГКса. !! – аминокислотные замены сопровождаются сменой заряда/полярности/гидрофильности аминокислоты; АК – аминокислота.

32–33°C в течение 48 ч. Дополнительно выполнено 137 пассажей. Затем штамм А/ГК/1/68/162 был подвергнут холодной адаптации путем 35 последовательных пассажей в РКЭ при температуре инкубации 26°C. Всего в целях аттенуации штамма было проведено 162 пассажа при оптимальной температуре и 35 пассажей – при пониженной.

В процессе аттенуации были изучены репродуктивная и гемагглютинирующая активность, чувствительность к ингибиторам сывороток животных, антигенные свойства пассажных вариантов в перекрестной РТГА. Варианты вируса А/ГК/1/68, полученные на разных этапах аттенуации, активно размножались в РКЭ, где они накапливались до $10^{8,5}$ – $10^{9,5}$ ЭИД₅₀/0,2 мл, взаимодействовали с термостабильными γ -ингибиторами сывороток различных лабораторных животных до титра 1:80–1:320. Чувствительность вируса к сывороточным ингибиторам была неизменной. В РТГА вирус реагировал со штаммспецифической крысиной сывороткой А/ГК/1/68 до титра 1:160 и не реагировал с типоспецифическими сыворотками к вирусам гриппа А/Н1N1, А/Н2N2, современным штаммам А/Н3N2, В и сыворотками к вирусам Сендай и NDV.

Вирус А/ГК/са был безвреден при парентеральном введении. В течение периода наблюдения все животные были живы и не имели признаков заболевания. Максимальная потеря массы тела у мышей при внутрибрюшинном введении составила 2,6%, при интраназальном – 3,2%. Максимальная потеря массы тела морских свинок составила 4,1%. В месте введения не обнаружено признаков некроза или абсцесса. К концу срока наблюдения у всех животных масса тела превысила исходную.

При интраназальном введении репродукция штамма А/ГК/са в дыхательных путях мышей при заражающей дозе 6 lg ЭИД₅₀/0,2 мл составила в носовых ходах 5,5 lg ЭИД₅₀/мл, в легких – 2,75 lg ЭИД₅₀/мл. Интраназальное введение вируса А/ГК/са морским свинкам не вызывало признаков заболевания. Вирус репродуцировался в носовых ходах животных, и на 2-е сутки после введения выделялся из назальных смывов в титрах 3,2–5,45 lg ЭИД₅₀/мл. У контактных морских свинок вирус не выделялся, за исключением единственного эпизода выделения на 2-е сутки после контакта в титре 0,5 lg ЭИД₅₀/мл, что не позволяет достоверно судить о продуктивной вторичной инфекции.

Общее количество аминокислотных замен во внутренних и неструктурных белках разработанного штамма А/ГК/са и существующих доноров аттенуации

Белок	Количество аминокислотных замен		
	А/ГК/са	А/Лен/17*	А/АА/6/60са*
PB2	3	1(ts)	1(ts)
PB1	3	2(ts)	4(ts)
PA	2	2	2
NP	2	0	1(ts)
M1	2	1	0
M2	1	1	1
NS1	2	0	1
NS2	0	1	0
РНП-комплекс	10	5	8

Примечание. * – цитируется по [4].

По мере увеличения количества пассажей инфекционная и гемагглютинирующая активность вируса возрастала как при оптимальной, так и при пониженной температуре (табл. 1). Инфекционная активность вируса по сравнению с исходным штаммом выросла почти на 2 lg ЭИД₅₀/мл при 32°C и на 6 lg ЭИД₅₀/мл при 26°C (RСТ₂₆ = 0,5). При 39°C инфекционная активность уменьшилась на 4 порядка (RСТ₃₉ = 8,0). Штамм приобрел са; ts-фенотип. Гемагглютинирующая активность вируса выросла в 20–40 раз.

При секвенировании генов вируса А/ГК/са по сравнению с исходным эпидемическим вирусом выявлен ряд мутаций во всех генах, кодирующих внутренние и неструктурные белки (табл. 2). Часть мутаций привела к аминокислотным заменам: по 2 замены в белках PA, PB1, NP, M1, NS1, 3 замены в белке PB2 и 1 замена в белке M2. Основное количество мутаций произошло при пассировании при оптимальной температуре. На этапе пассирования при пониженной температуре появились мутации в генах и соответствующих белках PA(M441I) и NP(E292G). После 10-кратного пассирования вируса А/ГК/са в РКЭ было проведено повторное секвенирование генов внутренних белков. Показано, что все отмеченные мутации сохранились.

Разработанный штамм А/ГК/са по своей репродуктивной (минимум 9 lg ЭИД₅₀/0,2 мл) и гемагглютинирующей активности (1:1024–1:2048) не уступает используемому донору высокой репродуктивности А/PR/8/34. По отношению к донору аттенуации А/Лен/17 [1] репродуктивность штамма А/ГК/са была выше на 1,5–2 lg. Реассортанты, полученные на доноре А/ГК/са с генетически удаленными вирусами гриппа А (H5N1, H3N2, H3N8), наследовали эти свойства [6], представляющие ценность при производстве вакцин, так как они позволяют увеличить выход антигена. Способность штамма А/ГК/са репродуцироваться при пониженных температурах была более выражена по сравнению с донором А/Лен/17 [1], а также с донором А/АА/6/60са [12] (8,5 lg против 6,5 и 6,8 lg ЭИД₅₀ соответственно), что предполагает лучшую приживаемость вакцинных штаммов в верхних дыхательных путях. Уровень репродукции А/ГК/са в верхних дыхательных путях мышей был на 2,75 lg ЭИД₅₀ выше, чем в легких, тогда как для донора А/Лен/17 эти показатели были сравнимы [8]. Кардинальный признак аттенуации вируса к человеку – термочувствительность – был сопоставим для штамма А/ГК/са и существующих доноров.

Показано, что термочувствительность ХА-доноров аттенуации определяется генами полимеразного комплекса. Так, для донора А/Лен/17 решающее значение в аттенуации имели мутации в генах PB2 и PB1, приведшие к заменам в соответствующих белках [4, 13]. Анализ генома реассортантов с донором А/АА/6/60са показал, что ts-фенотип обеспечивается мутациями в генах PB1, PB2 и NP [12]. В штамме А/Краснодар/101/59/35 ts-мутации обнаружены в генах PB1, PA, NP [2]. Очевидно, полигенный контроль ts-фенотипа является залогом стабильности этого признака [7, 10, 13]. В полученном штамме А/ГК/са мутации имели место во всех генах полимеразного комплекса и гене NP в количестве, превышающем мутации в каждом из существующих доноров аттенуации (табл. 3). Это свидетельствует о глубоком изменении генома исходного эпидемического вируса и предполагает стабильность ts- и са-фенотипа вируса А/ГК/

са. Все мутации в генах А/ГК/са были специфичны и отличались по локализации от мутаций в донорах А/Лен/17 и А/АА/6/60са. Это касалось и М-гена. Вместо предположительно универсальной мутации для ХА-штаммов, приводящей к замене Ala 86 ser в белке M2, в А/ГК/са присутствовала замена Ile 33 Leu.

Вклад в фенотип аттенуации штамма А/ГК/са внесли, по всей вероятности, не только изменения в геноме, произошедшие в стадии холодовой адаптации, но и в стадии пассирования при оптимальной температуре. Появление четырех мутаций, в том числе в генах полимеразного комплекса, уже на уровне 7-го пассажа в КЭ (см. табл. 3) и ареактогенность для волонтеров штамма после 15-го пассажа [3] косвенно подтверждают это предположение. Однако точное геновое картирование признаков, определяющих ts, са, авирулентность штамма А/ГК/са – кандидата в доноры аттенуации и высокой репродуктивности – еще предстоит исследовать.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александрова Г. И., Климов А. И. Живая вакцина против гриппа. СПб: Наука; 1994. 151 с.
2. Гендон Ю. З. Живая холодоадаптированная гриппозная вакцина: современное состояние. Вопросы вирусологии. 2011; 56 (1): 4–17.
3. Жилова Г. П., Ермолаева О. М., Орлов В. А. и др. Получение нового вакцинного штамма вируса гриппа А2 Гонконг. В кн.: Иммунология и специфическая профилактика гриппа у детей: Сборник трудов ВНИИ гриппа. Л.: 1971: 166–75.
4. Киселева И. В., Ларионова Н. В., Voeten J. T. M. и др. Ведущая роль генов полимеразного комплекса в аттенуации доноров отечественной живой гриппозной вакцины А и В. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2010; 6: 41–7.
5. Методические указания МУ 3.3.2.1758–03. Методы определения показателей качества иммунобиологических препаратов для профилактики и диагностики гриппа. М.; 2003.
6. Патент РФ на изобретение «Вирус гриппа А/Гонконг/1/68/162/35 – универсальный донор внутренних генов для вакцинных и производственных штаммов». Заявка № 2011131124 от 25.07.2011.
7. Belshe R. B. Current status of live attenuated influenza virus vaccine in the US. Virus Res. 2004; 103: 177–85.
8. Desheva J. A., Lu X. H., Rekstin A. R. et al. Characterization of influenza A H5N2 reassortant as a candidate for live-attenuated and inactivated vaccines against highly pathogenic H5N1 viruses with pandemic potential. Vaccine. 2006; 24: 6859–66.
9. Egorov A. Y., Medvedeva T. E., Polezhaev F. I. et al. Peculiarities of obtaining and characterization of a cold-adapted A/PR/8/34 influenza virus variant. Acta Virol. – 1984; 28: 19–25.
10. Jin H., Lu B., Zhou H. et al. Multiple amino acid residues confer temperature sensitivity to human influenza virus vaccine strains

(FluMist) derived from cold – adapted A/Ann Arbor/6/60. *Virology*. 2003; 306: 18–24.

11. Jin H., Zhou H., Lu B., Kemble J. Imparting temperature sensitivity and attenuation in ferrets to A/Puerto Rico/8/34 influenza virus by transferring the genetic signature for temperature sensitivity from cold-adapted A/Ann Arbor/6/60. *J. Virol.* 2004; 78: 995–8.
12. Kendal A. P., Maassab H. F., Alexandrova G. I., Ghendon Y. Z. Development of cold-adapted recombinant live attenuated influenza A vaccines in the USA and USSR. *Antiviral Res.* 1981; 1: 339–65.

13. Klimov A. I., Kiseleva I. V., Alexandrova G. I., Cox N. J. Genes coding for polymerase proteins are essential for attenuation of the cold-adapted A/Leningrad/134/17/57 (H2N2) influenza virus. *International Congress Series*. 2001; 1219: 955–59.
14. Maassab H. Adaptation and growth characterization of influenza virus at 25°C. *Nature*. 1967; 213: 612–4.
15. Reed L. I., Muench H. A simple method of estimation fifty per cent endpoints. *Am. J. Hyg.* 1938; 27: 493–97.

Поступила 31.05.12

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 616.921.5-084:614.4

А. А. Соминина, М. П. Грудинин, М. Ю. Еропкин, Е. А. Смородинцева, М. М. Писарева, А. Б. Комиссаров, Н. И. Коновалова, Д. М. Даниленко, Т. М. Гудкова, О. И. Киселев

Развитие надзора за гриппом в России в системе национального центра ВОЗ по гриппу

ФГБУ НИИ гриппа Минздравсоцразвития России, Санкт-Петербург

Представлен анализ развития эпидемии гриппа сезона 2010–2011 г. Установлена ведущая роль вирусов гриппа А(H1N1)pdm09 и В Викторианской линии в структуре эпидемической заболеваемости при небольшом участии вируса А(H3N2). По антигенным свойствам выделенные в России вирусы оказались родственными штаммам, введенным в состав вакцин. Дрейф-варианты вируса А(H1N1)pdm09, выделенные в Астрахани и Санкт-Петербурге, были признаны сотрудничающим центром (СЦ) ВОЗ в Лондоне в качестве родоначальников трех новых генетических групп возбудителя.

Ключевые слова: *грипп, заболеваемость, ПЦР, ИФ, генетический анализ*

Development of Influenza Surveillance in Russia in the System of the WHO National Influenza Center

A. A. Sominina, M. P. Grudinina, M. Yu. Eroptkin, E. A. Smorodintseva, M. M. Pisareva, A. B. Komissarov, N. I. Konovalova, D. M. Danilenko, T. M. Gudkova, and O. I. Kiselev

Federal State Research Institute of Influenza, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia

Analysis of development influenza activity season 2010–2011 is presented. Significant participation of influenza A(H1N1)pdm09 virus and influenza B of Victoria lineage virus in the epidemic morbidity structure with minor participation of A(H3N2) virus was revealed. The influenza viruses isolated in Russia according to antigenic properties were similar to the strains included in the vaccine composition. Drift variants of influenza A(H1N1)pdm09 viruses isolated in Astrakhan and St.-Petersburg were recognized using WHO CC in London as representatives of three new genetic groups.

Key words: *influenza, morbidity, polymerase chain reaction, IFA, genetic analysis*

Грипп – инфекция, известная со времен Гиппократа (V век до н. э.), которая не имеет себе равных по скорости глобального распространения. Некоторые субтипы возбудителя, в частности А(H5N1), отнесены к особо опасным в связи с высокой (около 60%) летальностью заболевших. Этот вирус пока не приобрел свойственной вирусам гриппа способности к трансмиссии среди людей, поскольку имеет прямое происхождение от вируса H5N1 птиц, но оказался способным преодолевать барьер хозяина и при тесном контакте инфицировать человека [12]. В последнее время в двух лабораториях США и Нидерландов показана возможность приобретения такого свойства в результате последовательного пассирования вируса H5N1 на лабораторных животных (хорьках) или реассортации генов вирусов гриппа А(H5N1) и А(H1N1) [11]. С учетом важности проблемы гриппа по инициативе акад. А. А. Смородинцева в России в марте 1967 г. был организован ВНИИ гриппа,

одним из основных направлений деятельности которого был определен надзор за гриппом и ОРВИ в стране [7]. Быстро и четко организованная деятельность института при поддержке со стороны Министерства здравоохранения СССР привела к его признанию на международном уровне и созданию на базе института Национального центра по гриппу (НЦГ), признанного ВОЗ в 1971 г. одним из участников Глобальной сети надзора за гриппом (GISN). Важный вклад в это направление деятельности в свое время внесли проф. Т. Я. Лузянина и сотр., проф. Ю. Г. Иванников и сотр., затем его продолжили акад. О. И. Киселев, проф. А. А. Соминина, канд. мед. наук Л. Е. Камфорин, д-р мед. наук И. Г. Маринич, в настоящее время оно развивается с привлечением современных методов молекулярной диагностики, антигенного и филогенетического анализа, что дает ценную информацию для понимания эволюции возбудителей гриппа и позволяет контроли-

Контактная информация:

Соминина Анна Адольфовна, д-р мед. наук, проф., зав. каф.; e-mail: anna@influenza.spb.ru