

Н. В. Бреслав¹, Е. С. Шевченко¹, Д. Д. Абрамов², А. Г. Прилипов¹, М. М. Журавлева¹, Т. А. Оскерко¹,
Л. В. Колобухина¹, Л. Н. Меркулова¹, М. Ю. Щелканов¹, Е. И. Бурцева¹, Д. К. Львов¹

Эффективность применения антинейраминидазных химиопрепаратов во время пандемии гриппа и в постпандемический период

¹ФГБУ НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского Минздравсоцразвития России, Москва; ²ЗАО "НПФ ДНК-Технология", Москва

Появление новых штаммов пандемического вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 сделало необходимым выбор наиболее эффективных противогриппозных химиопрепаратов в целях успешного контроля распространения инфекции. Озельтамивир и занамивир — ингибиторы нейраминидазы вирусов гриппа — были рекомендованы экспертами ВОЗ для лечения и профилактики гриппа, в том числе вызванного пандемическими штаммами. Одной из основных проблем при использовании этиотропных препаратов является возникновение лекарственно-устойчивых штаммов. Значения IC_{50} для озельтамивири карбоксилата и занамивири, определенные в клеточном ИФА, составили 0,3—5,2 мкМ для большинства пандемических штаммов А(Н1N1)pdm09 и 1,6—8,6 мкМ для штаммов вируса гриппа В (2009—2010 гг.). Все изученные штаммы вирусов гриппа А(Н1N1)pdm09 (151) и В (22) были чувствительны к ингибиторам нейраминидазы (2009—2011 гг.). Впервые в России изолировали резистентный к озельтамивиру вирус гриппа А(Н1N1)pdm09 от пациента на 5-й день курса лечения этим препаратом.

Ключевые слова: *озельтамивир, занамивир, пандемия, вирусы гриппа А(Н1N1)pdm09 и В, нейраминидаза, мониторинг, резистентность, H275Y-мутация*

Efficacy of Anti-Neuraminidase Drugs Application during and after an Influenza Pandemic

N. V. Breslav¹, E. S. Shevchenko¹, D. D. Abramov², A. G. Prilipov¹, M. M. Zhuravleva¹, T. A. Oskerko¹,
L. V. Kolobukhina¹, L. N. Merkulova¹, M. Yu. Shchelkanov¹, E. I. Burtseva¹, D. K. Lvov¹

¹ Ivanovsky Institute of Virology, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, Moscow, Russia;
² DNA-Technology Ltd, Moscow, Russia

The emergent 2009 A(H1N1) pandemic brought into acute focus the problem of choosing the most effective anti-influenza drugs for successive influenza infection spreading control. Oseltamivir and zanamivir, influenza virus neuraminidase inhibitors (NAIs), were recommended by the WHO experts for the treatment and prevention of influenza, including that caused by pandemic strains. A major concern regarding the use of specific antiviral compounds is the emergence of the drug-resistant strains. Oseltamivir carboxylate and zanamivir IC_{50} values were equal to 0.3-5.2 μ M for the most of A(H1N1)pdm09 pandemic strains and 1.6-8.6 μ M for the strains of influenza B virus in cell-based ELISA assay (2009-2010 season). All the studied strains of influenza A(H1N1)pdm09 (151) and B (22) viruses were sensitive to NAIs (2009-2011 seasons). For the first time in Russia oseltamivir-resistant A(H1N1)pdm09 influenza virus was isolated from the patient on the 5th day of a treatment course of this drug.

Key words: *Oseltamivir, Zanamivir, Pandemic, A(H1N1)pdm09 and B Influenza viruses, Neuraminidase, Monitoring, Resistance, H275Y mutation*

На протяжении последних десятилетий ежегодно во многих странах мира, включая Россию, регистрируют сезонные эпидемии гриппа, вызываемые циркуляцией вирусов А(Н1N1), А(Н3N2) и В. Ситуация изменилась весной 2009 г. в связи с появлением нового вируса гриппа А(Н1N1)pdm09, подобного свиному, который представляет собой реассортант вирусов гриппа А человека, свиней и птиц [24]. Этот штамм получил широкое распространение по всему миру, и 11 июня 2009 г. ВОЗ официально декларировала начавшуюся эпидемию гриппа как пандемию 6-го уровня. В России первые случаи инфицирования пандемическим вирусом гриппа начали регистрировать с мая 2009 г., а пик заболеваемости пришелся на ноябрь [2].

В период пандемии гриппа терапия и особенно профилактика специфическими химиопрепаратами являются основными способами своевременной защиты населения и контроля распространения вирусной ин-

фекции. К таким препаратам относятся ингибиторы нейраминидазы (NA) вирусов гриппа А и В: озельтамивир (TamifluTM) и занамивир (RelenzaTM). Озельтамивир выпускается в виде капсул или суспензии для детей. Являясь сложным эфиром, озельтамивир с помощью печеночных эстераз метаболизируется в активную форму соединения — озельтамивири карбоксилат, который широко распределяется по всему организму человека, достигая высоких концентраций в плазме крови, что указывает на его обширное системное действие [15].

В связи с появлением с 2007 г. резистентных к озельтамивиру эпидемических штаммов вируса гриппа А(Н1N1) эксперты ВОЗ включили занамивир в список рекомендаций Планов подготовки к пандемии [25]. Препарат выпускается в форме сухого порошка для ингаляций, а в особо тяжелых клинических случаях применяется внутривенно [7]. Занамивир

Контактная информация:

Бреслав Наталья Владимировна, канд. биол. наук, и. о. ст. науч. сотр.; e-mail: n.belyakova1983@gmail.com

поступает в респираторный тракт человека при помощи ингалятора (Diskhaler, "Glaxo Wellcome") и, не подвергаясь метаболизму, достигает высоких концентраций уже через несколько минут после приема, что является благоприятным фактором для снижения вероятности появления лекарственно-устойчивых вариантов вирусов гриппа. Биодоступность занамивира составляет всего около 2%, что очень важно, когда системное действие препарата на организм пациента нежелательно. Из-за существующих ограничений в использовании занамивир несколько реже применяется в медицинской практике во многих странах мира, поэтому появление резистентных штаммов к этому препарату становится менее вероятным [13].

Ингибитор NA вирусов гриппа А и В перамивир с внутривенным способом введения применяется в клинической практике для лечения пациентов с тяжелыми формами гриппозной инфекции в Японии и Южной Корее [13, 22]. Не так давно японскими исследователями был создан новый ингибитор NA вирусов гриппа пролонгированного действия ланинамивир октаноат, который, являясь октановым эфиром активного метаболита ланинамивира, эффективен в отношении устойчивых к озельтамивиру штаммов А(Н1N1) [19]. Препарат вводится в респираторный тракт человека однократно аэрозольным путем.

К существенным особенностям современного эпидемического процесса относятся формирование штаммов вирусов гриппа, резистентных к специфическим химиопрепаратам с противовирусной активностью, и устойчивая (не связанная с лечением или профилактикой) их циркуляция и передача от человека к человеку [25]. Вирус гриппа А(Н1N1)pdm09, вызвавший первую пандемию XXI века, изначально оказался резистентным к препаратам адамантанового ряда, но чувствителен к ингибиторам NA вирусов гриппа [14]. Однако активное использование озельтамивира привело к появлению уже в апреле 2009 г. нескольких резистентных мутантов в популяции нового пандемического штамма (Бельгия, Япония, Канада), что определило актуальность расширения мониторинга возникновения устойчивых вариантов при дальнейшем его широком применении, особенно при лечении легких форм и профилактике заболевания [23]. К 5 октября 2011 г. в 32 странах мира было зарегистрировано 605 случаев резистентности к озельтамивиру [22]. Вирусы А(Н1N1)pdm09 содержали замену Н275Y в поверхностном гликопротеиде NA, которая, как известно, отвечает за устойчивость к этому препарату. В клинических исследованиях были выявлены 468 (77%) случаев резистентности, при этом 133 (28%) устойчивых штамма изолированы от иммунокомпромированных пациентов. Среди пациентов с неотягощенным иммунным статусом (335 человек, 72%) 211 (63%) случаев устойчивости к озельтамивиру связаны с терапевтическим и профилактическим использованием препарата, а 124 (37%) резистентных штамма обнаружены у пациентов, которые ранее не принимали специфические противовирусные препараты (к этой группе можно также отнести случаи возможной передачи устойчивых штаммов от человека к человеку).

Таким образом, представляется чрезвычайно актуальным выявление и изучение резистентных к озельтамивиру вирусов гриппа, изолированных от пациен-

тов, госпитализированных в лечебные учреждения во время пандемии 2009—2010 гг. и в постпандемический период 2010—2011 гг. в России.

Материалы и методы

За период 2009—2011 гг. изучено 152 пандемических штамма вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 и 22 штамма вируса гриппа В, изолированных из клинических образцов (смывы, ткани трахеи, бронхов, легких) от пациентов, госпитализированных в инфекционные стационары страны, включая изоляты вирусов гриппа, поступившие из официальных базовых вирусологических лабораторий Центра экологии и эпидемиологии гриппа (Владивосток, Чебоксары, Ярославль, Великий Новгород, Липецк, Владимир, Оренбург). В клиническое исследование 2009—2010 гг. было включено 75 носоглоточных смывов от 15 пациентов, поступивших в ИКБ № 1 Москвы с диагнозом «грипп» и прошедших 5-дневные курсы лечения озельтамивиром (Tamiflu™).

Типирование клинических образцов проводили посредством ПЦР с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени с помощью коммерческих тест-систем "Influenza virus A/B-FL", "Influenza virus A/H1-swine-FL" ("АмплиСенс", Россия). Для изоляции вирусов гриппа из клинического материала использовали монослой клеток культуры ткани MDCK или куриных эмбрионов (КЭ). Антигенную структуру изолятов определяли с помощью РТГА.

Противовирусную активность ингибиторов NA изучали методом клеточного ИФА на 96-луночных панелях при заражении монослоя клеток культуры ткани MDCK штаммами вирусов гриппа А и В в присутствии различных концентраций соединений по методике, описанной ранее [10]. Субстанции озельтамивира карбоксилата и занамивира были любезно предоставлены компаниями "F. Hoffmann—La Roche Ltd.", Швейцария, и ЗАО "ГлаксоСмитКляйнТрейдинг", Англия. Для индикации маркера резистентности к озельтамивиру His275Tyr в белке N1 вирусов гриппа А(Н1N1)pdm09 использовали модифицированный ОТ-ПЦР-РВ-метод "примыкающих проб" (kissing probes), разработанный сотрудниками ЗАО "НПФ ДНК-Технология". Частичное секвенирование генов NA вирусов гриппа А(Н1N1)pdm09 и В с целью индикации известных маркерных мутаций, ответственных за резистентность к ингибиторам NA (в белке N1 — 275Y, I223T, N294S, Q136K, I223T, E119V; в белке NA вируса гриппа В — R152K, D198N [12, 22], выполнено совместно с сотрудниками лаборатории молекулярной генетики НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского, ЗАО "НПФ ДНК-Технология" и CDC&P, Атланта.

Результаты и обсуждение

Клиническое применение ингибиторов NA вирусов гриппа, созданных для контроля распространения гриппозной инфекции, в период прошедшей пандемии значительно возросло. В связи с широким распространением устойчивых к озельтамивиру эпидемических штаммов вируса гриппа А(Н1N1) 2007—2009 гг. возникла необходимость в мониторинге распространения резистентных штаммов А(Н1N1)pdm09, несмотря на то что устойчивые варианты пандемических вирусов гриппа появлялись в редких слу-

чаях. В России пандемия 2009—2010 гг. развивалась следующим образом: в течение мая—августа регистрировали в основном завозные случаи пандемического гриппа, а с сентября наступил период активного распространения вируса с вовлечением всех возрастных групп и регистрируемой заболеваемостью, превышающей эпидемиологические пороги, с максимальными показателями в период с 45-й по 48-ю неделю года [2]. Типирование большинства пандемических штаммов вируса гриппа A(H1N1)pdm09 со специфическими иммунными сыворотками выявило их антигенное родство с эталонным штаммом A/California/07/09 (H1N1)pdm09. Последующие подъемы показателей заболеваемости ОРВИ в зимне-весенний период 2010 г. были связаны с активизацией вирусов гриппа В. В период 2009—2011 гг. штаммы вируса гриппа В были подобны референс-штамму В/Брисбен/60/08 — линия В/Виктория/02/87 (8% штаммов 2010—2011 гг. принадлежали к другой эволюционной линии В/Флорида/04/06 — В/Ямагата/16/88-подобные).

Одним из основных свойств прямого противовирусного действия препарата является его способность или способность его метаболитов подавлять репродукцию вируса в культурах клеток, которая численно выражается в значениях IC_{50} [1]. Метод клеточного ИФА был апробирован для оценки чувствительности вирусов гриппа A(H1N1)pdm09 (21 штамм) и В (11 штаммов) 2009—2010 гг. сезона к ингибиторам NA. Значения IC_{50} озельтамивира карбоксилата для пандемических штаммов A(H1N1)pdm09 составили 0,5—5,2 мкМ, причем для одного штамма, резистентного к озельтамивиру, данный показатель был равен 0,5 мкМ, что сравнимо с показателями IC_{50} для чувствительных вариантов. Значения IC_{50} для штаммов вируса гриппа В составили 1,6 мкМ. Была выявлена сравнительно более высокая чувствительность ($IC_{50} \leq 0,3$ мкМ) штаммов пандемического вируса гриппа A(H1N1)pdm09 к занамивиру. В то же время IC_{50} этого препарата для штаммов вируса гриппа В были несколько выше и составили 2,6—8,6 мкМ. В клетках культуры ткани MDCK популяция вирусов гриппа гетерогенна по чувствительности к ингибиторам NA, что зависит от различной эффективности связывания вируса с сиаловыми рецепторами на поверхности клеток [9]. В настоящее время не существует ни одной надежной клеточной системы, с помощью которой можно было бы с высокой достоверностью определить резистентные к ингибиторам NA вирусы гриппа. Таким образом, данные, полученные методом ИФА, относительны; учет таких результатов без подтверждения молекулярно-генетическими методами может привести к ложной оценке противовирусной активности конкретного препарата.

Обратной стороной высокой специфичности этиотропного химиопрепарата является развитие к нему резистентности, обусловленной мутациями в белке вируса гриппа, который служит мишенью для действия этого лекарственного средства [1]. Мутации в белке NA, отвечающие за резистентность вирусов гриппа к антинейраминидазным препаратам, локализованы в области 119—294 аминокислот [11]. В исследовании, проведенном в период пандемии, 49 штаммов пандемического вируса гриппа A(H1N1)pdm09, включая 2 штамма, выделенных из секционного материала от пациентов с отягощенным эпиданамнезом (Оренбург), с

мутациями D222E и D222G в субъединице N1, оказались чувствительными к озельтамивиру. Все изученные в этом сезоне штаммы вируса гриппа В оказались также чувствительными к обоим ингибиторам NA — озельтамивиру и занамивиру, и ни в одном образце не была обнаружена маркерная мутация, ответственная за резистентность к этим препаратам. В то же время группой исследователей в США был охарактеризован кластер штаммов вируса гриппа В, обладающих пониженной чувствительностью к озельтамивиру и перамивиру, но не к занамивиру [18, 22]. Образцы от 45 (22%) пациентов из 13 стран, перенесших грипп В, содержали I221V-мутацию в активном сайте NA. Среди пациентов, проходивших в прошлом противовирусное лечение, ни один не принимал озельтамивир, что доказывает наличие в природе естественно циркулирующих штаммов с мутацией I221V в популяции вируса гриппа В. Филогенетический анализ показал, что такие вирусы принадлежат к Викторианской линии и формируют кластер как несущие замену I221V.

Целью клинического наблюдения 2009—2010 гг. было изучение риска формирования устойчивых к озельтамивиру пандемических штаммов A(H1N1)pdm09 на фоне проводимого курса лечения. У пациентов в возрасте от 16 до 33 лет с мая по ноябрь 2009 г. в течение 5 дней брали носоглоточные смывы для изоляции вирусов гриппа. Лечение озельтамивиром начинали в первые 24—36 ч от начала заболевания. Удалось изолировать вирусы гриппа у 11 (73,0%) из 15 человек, причем у 10 пациентов — в 1-й день лечения и у 1 пациента — только на 5-й день. В клинических образцах от этого пациента на 3-й и 4-й дни лечения были обнаружены чувствительные к озельтамивиру варианты вируса гриппа A(H1N1)pdm09, а на 5-й день в носоглоточном смыве была идентифицирована смесь как чувствительного, так и резистентного к озельтамивиру варианта. Результаты секвенирования гена NA вируса гриппа A/IV-Moscow/17/10 (H1N1)sw1, изолированного из данного смыва, показали наличие мутации H275Y в этом белке, что указывало на формирование устойчивого к озельтамивиру варианта. Вирусы в динамике лечения (в 1-й и 2-й дни) удалось изолировать только у 2 пациентов. Штаммы вируса гриппа A(H1N1)pdm09, выделенные из остальных клинических образцов, были чувствительны к озельтамивиру. Молекулярно-эпидемиологические данные многих исследований подтверждают, что H275Y-мутация часто бывает вызвана селективным отбором под воздействием специфического лечения, так как последовательные вирусосодержащие образцы, взятые от одного и того же пациента, имели идентичные сиквенсы генов NA и NA [26]. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости оптимизации противовирусной терапии, особенно у пациентов с ослабленным иммунитетом. Актуальная на тот период времени информация ВОЗ указывала на то, что в ноябре-декабре 2009 г. в Шотландии и Австралии от пациентов с нарушениями иммунного статуса были изолированы устойчивые к озельтамивиру штаммы вируса гриппа A(H1N1)pdm09 [20, 23]. В Нидерландах от 5-летнего ребенка с иммунодефицитом был изолирован пандемический штамм вируса гриппа A(H1N1)pdm09 с мутацией I223R в NA, вызвавшей снижение чувствительности ко всем существующим ингибиторам NA вирусов гриппа [22, 25].

Также сообщалось о штаммах A(H1N1)pdm09, выявленных в 10 и 30% случаев инфицирования в Сингапуре и Австралии соответственно, с мутацией S247N в белке NA, которая привела к снижению чувствительности вирусов к озельтамивиру и занамивиру, но не к перамивиру [22].

В сезоне 2010—2011 гг. эпидемические подъемы заболеваемости этиологически были связаны с доминированием штаммов пандемического вируса гриппа A(H1N1)pdm09 в Европе и A(H3N2) и B — в странах Северного полушария. В России в городах европейской части циркулировали штаммы вируса гриппа A(H1N1)pdm09, на Урале (Оренбург) доминировали штаммы вируса гриппа B, в Сибири (Томск) отмечена практически равнозначная активность штаммов A(H1N1)pdm09 и B, на Дальнем Востоке (Владивосток и Биробиджан) доминировали сезонные штаммы вирусов гриппа B и A(H3N2) с последующей активизацией штаммов пандемического вируса гриппа A(H1N1)pdm09.

Все 102 пандемических штамма вируса A(H1N1)pdm09, изолированных на территории России в период 2010—2011 гг., из которых 24 (23,5%) — от пациентов, проходивших курс лечения озельтамивиром, и 9 (9%) — из секционного материала (2 штамма с мутацией D222G в белке NA), были чувствительными к озельтамивиру. В исследование было также включено 15 носоглоточных смывов от пациентов, инфицированных вирусом A(H1N1)pdm09 и проходивших лечение озельтамивиром. При тестировании с помощью метода ОТ-ПЦР-РВ мутация H275Y, отвечающая за резистентность к препарату, не была обнаружена. Ситуация во всем мире значительно отличалась: в Японии был выявлен 61 резистентный к озельтамивиру штамм A(H1N1)pdm09 (45 человек принимали препарат для лечения и 10 — для профилактики гриппа), в Великобритании — 45 резистентных штаммов, изолированных от иммунокомпромированных пациентов и от пациентов, принимавших озельтамивир ранее, и 11 устойчивых к озельтамивиру вирусов A(H1N1)pdm09 с H275Y-мутацией были изолированы от пациентов в Южной Корее [3, 17, 21]. Также в Южной Корее в NA вируса гриппа A(H1N1)pdm09, изолированного от пациента с миелодисплазией, принимавшего озельтамивир и перамивир, была обнаружена I117M-мутация, которая может быть связана с пониженной чувствительностью к озельтамивиру [26]. По мировым данным, большинство резистентных к озельтамивиру пандемических вирусов гриппа A(H1N1)pdm09 было изолировано от пациентов с компромиссным состоянием иммунной системы [16]. При этом случаи передачи и распространения от человека к человеку устойчивых штаммов установлены не были.

В серии экспериментов, проведенных американскими учеными, у пациента, от которого изначально изолировали резистентные к озельтамивиру штаммы A(H1N1)pdm09, вирусная популяция сменилась популяцией вируса гриппа дикого типа [16]. Ранее было высказано предположение о существовании двух сопутствующих H275Y-мутации замен в белке NA сезонных штаммов A(H1N1) — V234M и R222Q, поддерживающих вирусную жизнеспособность и обеспечивающих стабильную работу NA. При дальнейшем изучении штаммов вирусов гриппа от пациентов, в организме которых возможна смена вирусной

популяции, можно получить новые данные о пермиссивных мутациях в поверхностных белках вирусов гриппа. В другом исследовании была изучена трансмиссивность пары устойчивого и чувствительного к озельтамивиру штаммов вируса гриппа A(H1N1)pdm09 на модели хорька [5]. Полное секвенирование геномов этой пары вирусов показало различие только в 275-м положении белка NA. Чувствительный и устойчивый к озельтамивиру штаммы вызывали одинаковое течение заболевания у хорьков без видимого ослабления клинических признаков. Отмечена неэффективная передача воздушно-капельным путем устойчивого к озельтамивиру вируса гриппа A(H1N1)pdm2009, однако сохранилась эффективная передача этого штамма посредством прямого контакта. Чувствительный к озельтамивиру штамм A(H1N1)pdm09 эффективно передавался обоими путями. Сравнение вирусной жизнеспособности при совместном заражении хорька чувствительным и устойчивым к озельтамивиру штаммами A(H1N1)pdm09 показало меньшую способность к росту резистентного штамма. NA резистентного к озельтамивиру вируса также проявила сниженную каталитическую активность, сродство к связыванию с субстратом *in vitro* и задержку первоначального роста в культурах клеток MDCK и MDCK-SIAT1. Этими данными можно частично объяснить низкоэффективную передачу этого вируса воздушно-капельным путем. Тот факт, что устойчивый к озельтамивиру вирус A(H1N1)pdm09 сохранил эффективную передачу посредством прямого контакта, подчеркивает необходимость постоянного мониторинга лекарственной устойчивости и характеристики возможных эволюционных изменений вирусных поверхностных белков.

В настоящем исследовании не было обнаружено ни одного резистентного к занамивиру штамма из всех изученных вирусов гриппа A(H1N1)pdm09 и B. Первый случай изоляции резистентного к этому препарату штамма вируса гриппа B с мутацией R152K в NA от ребенка с нарушениями иммунного статуса был описан в 1998 г. [8]. В 2007—2008 гг. в Мьянме были обнаружены вирусы гриппа A(H3N2) (< 1,5% изученных случаев) с мутациями Q136K и S31N в белках NA и M2 соответственно, которые обладали пониженной чувствительностью как к занамивиру, так и к ремантадину, но сохраняли чувствительность к озельтамивиру [4]. По последним данным ВОЗ, озельтамивир рекомендуется для лечения больных с тяжелой или прогрессирующей формой гриппозной инфекции, занамивир — для лечения больных, подверженных высокому риску развития тяжелой формы заболевания [22]. Занамивир остается альтернативным средством для лечения пациентов с серьезным течением инфекционного заболевания, вызванного вирусами гриппа, устойчивыми к озельтамивиру [6].

Таким образом, после начала пандемии весной 2009 г. чувствительные к озельтамивиру вирусы гриппа A(H1N1)pdm09 в сезоне 2010—2011 гг. доминировали во многих странах [24]. Однако редкое появление резистентных к нему штаммов в популяции вирусов гриппа стало неблагоприятным фактом для органов здравоохранения многих стран, так как этот препарат наиболее часто использовали для лечения и профилактики гриппозной инфекции [24]. В сложившейся ситуации особую важность могут приобрести

исследования, посвященные комбинированному применению специфических противогриппозных препаратов с разным механизмом действия, а также поиск новых лекарственных средств, эффективных в терапии и профилактике гриппа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ленева И. А., Федякина И. Т., Еропкин М. Ю. и др. Изучение противовирусной активности отечественных противогриппозных химиопрепаратов в культуре клеток и на модели животных. Вопросы вирусологии. 2010; 3: 19—27.
2. Львов Д. К., Бурцева Е. И., Щелканов М. Ю. и др. Распространение нового пандемического вируса гриппа А(H1N1)v в России. Вопросы вирусологии. 2010; 3: 4—9.
3. Calatayud L., Lackenby A., Reynolds A. et al. Oseltamivir-resistant pandemic (H1N1) 2009 virus infection in England and Scotland, 2009—2010. Emerg. Infect. Dis. 2011; 17: 1807—1815.
4. Dapat C., Suzuki Y., Saito R. et al. Rare influenza A (H3N2) variants with reduced sensitivity to antiviral drugs. Emerg. Infect. Dis. 2010; 16: 493—496.
5. Duan S., Boltz D.A., Seiler P. et al. Oseltamivir-resistant pandemic H1N1/2009 influenza virus possesses lower transmissibility and fitness in ferrets. PLoS Pathog. 2010; 6 (7): e1001022.
6. Gaur A.H., Bagga B., Barman S. et al. Intravenous zanamivir for oseltamivir-resistant 2009 H1N1 influenza. N. Engl. J. Med. 2010; 362: 88-89.
7. Govorkova E. A., Leneva I. A., Goloubeva O. G. et al. Comparison of efficacies of RWJ-270201, zanamivir, and oseltamivir against H5N1, H9N2, and other avian influenza viruses. Antimicrob. Agents Chemother. 2001; 45: 2723—2732.
8. Gubareva L. V., Matrosovich M. N., Brenner M. K. et al. Evidence for zanamivir resistance in an immunocompromised child infected with influenza B virus. Emerg. Infect. Dis. 1998; 178: 1257—1262.
9. Gubareva L. V. Molecular mechanisms of influenza virus resistance to neuraminidase inhibitors. Virus Res. 2004; 103: 199—203.
10. Leneva I. A., Roberts N., Govorkova E. A. et al. The neuraminidase inhibitor GS4104 (oseltamivir phosphate) is efficacious against A/Hong Kong/156/97 (H5N1) and A/Hong Kong/1074/99 (H9N2) influenza viruses. Antiviral Res. 2000; 48: 101—115.
11. McKimm-Breschkin J. L. Resistance of influenza viruses to neuraminidase inhibitors — a review. Antiviral Res. 2000; 47: 1—17.
12. McKimm-Breschkin J., Trivedi T., Hampson A. et al. Neuraminidase sequence analysis and susceptibilities of influenza virus clinical isolates to zanamivir and oseltamivir. Antimicrob. Agents Chemother. 2003; 47: 2264—2272.
13. Mishin V. P., Hayden F. G., Gubareva L. V. Susceptibilities of antiviral-resistant influenza viruses to novel neuraminidase inhibitors. Antimicrob. Agents Chemother. 2005; 11: 4515—4520.
14. MMWR. Update: Drug susceptibility of swine-origin influenza A(H1N1) viruses. Morbid. Mortal. Wkly Rep. 2009; 58: 433—435. <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5816a6.htm>.
15. Moscona A. Neuraminidase Inhibitors for Influenza. N. Engl. J. Med. 2005; 353: 1363—1373.
16. Renaud C., Boudreault A. A., Kuypers J. et al. H275Y mutant pandemic (H1N1) 2009 virus in immunocompromised patients. Emerg. Infect. Dis. 2011; 17: 653—660.
17. Shin S. Y., Kang C., Gwack J. et al. Drug-resistant pandemic (H1N1) 2009, South Korea. Emerg. Infect. Dis. 2011; 17: 702—704.
18. Sleeman K., Sheu T. G., Moore Z. et al. Influenza B viruses with mutation in the neuraminidase active site, North Carolina, USA, 2010—2011. Emerg. Infect. Dis. 2011; 17: 2043—2046.
19. Sugaya N., Ohashi Y. Long-acting neuraminidase inhibitor laninamivir octanoate (CS-8958) versus oseltamivir as treatment for children with influenza virus infection. Antimicrob. Agents Chemother. 2010; 54: 2575—2582.
20. Tramontana A. R., George B., Hurt A. C. et al. Oseltamivir resistance in adult oncology and hematology patients infected with pandemic (H1N1) 2009 virus, Australia. Emerg. Infect. Dis. 2010; 16: 1068—1075.
21. Ujike M., Ejima M., Anraku A. et al. Monitoring and characterization of oseltamivir-resistant pandemic (H1N1) 2009 virus, Japan, 2009—2010. Emerg. Infect. Dis. 2011; 17: 470—479.
22. Weekly Epidemiol. Rec. 2011; 45: 497—508. <http://www.who.int/wer>.
23. WHO. CDC protocol of real-time RTPCR for swine influenza A(H1N1). // 28 April 2009. <http://www.who.int/csr/disease/swineflu/en/index.html>.
24. WHO (EuroFlu.org). Еженедельный электронный бюллетень ЕРБ ВОЗ. http://www.euroflu.org/cgi-files/bulletin_v2.cgi.-P.353.-09 апреля 2010.
25. WHO. Influenza A(H1N1) Virus Resistance to Oseltamivir: 2008 Southern Hemisphere Influenza Season. http://www.who.int/csr/disease/influenza/oseltamivir_summarysouth2008/en/index.html.-2008.
26. Yi H., Lee J. Y., Hong E. H. et al. Oseltamivir-resistant pandemic (H1N1) 2009 virus, South Korea. Emerg. Infect. Dis. 2010; 16: 1938—1942.

Поступила 22.03.12

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 615.281.8.03:616.523].076.9

В.Л. Андронова¹, С.Л. Гроховский², А.Н. Сурова², Г.В. Гурский², П.Г. Дерябин¹, Д.К. Львов¹, Г.А. Галегов¹

Оценка активности производных бис-нетропсина на модели экспериментального кожного герпеса морских свинок

¹ФГБУ НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского Минздравсоцразвития России, Москва;

²ГУ РАН НИИ молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта РАН, Москва

На модели экспериментальной кожной инфекции у самцов морских свинок, вызванной вирусом простого герпеса типа 1, показано, что при применении в виде мази на основе полиэтиленгликоля димерные производные нетропсина Lys-bis Nt и 15Lys-bis Nt более эффективно подавляют вирусную инфекцию, чем ацикловир.

Ключевые слова: вирус простого герпеса тип 1, бис-нетропсин, противовирусная активность *in vivo*, мазевая лекарственная форма

Estimation of Activity of Bis-Netropsin Derivatives Based on a Model of an Experimental Cutaneous Herpes Simplex Virus Disease of Guinea Pigs

V. L. Andronova¹, S. L. Grokhovskiy², A. N. Surova², G. V. Gurskiy², P. G. Deryabin¹, D. K. Lvov¹, G. A. Galegov¹

¹ Ivanovsky Institute of Virology, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, Moscow, Russia;

² Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Контактная информация:

Андронова Валерия Львовна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр.; e-mail: andronova.vl@yandex.ru