

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие при проведении данной работы коммерческих ассоциаций, способных вызвать потенциальные конфликты интересов. В период 2005–2008 гг. исследование выполнялось при частичной финансовой поддержке грантом МНТЦ № 2935р.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тикунов А.Ю., Жираковская Е.В., Юн Т.Э., Боднев С.В., Нетесов С.В., Тикунова Н.В. Молекулярно-генетическая характеристика астровирусов, циркулирующих в Новосибирске. Вопросы вирусологии. 2010; 55 (6): 19–23.
2. Chu D.K., Chin A.W., Smith G.J., Chan K.H., Guan Y., Peiris J.S., Poon L.L. Detection of novel astroviruses in urban brown rats and previously known astroviruses in humans. J. Gen. Virol. 2010; 91 (Pt 10): 2457–62.
3. Finkbeiner S.R., Allred A.F., Tarr P.I., Klein E.J., Kirkwood C.D., Wang D. Metagenomic analysis of human diarrhea: viral detection and discovery. PLoS Pathog. 2008;4 (2): e1000011.
4. Finkbeiner S.R., Kirkwood C.D., Wang D. Complete genome sequence of a highly divergent astrovirus isolated from a child with acute diarrhea. Virol. J. 2008; 5: 117.
5. Finkbeiner S.R., Le B.M., Holtz L.R., Storch G.A., Wang D. Detection of newly described astrovirus MLB1 in stool samples from children. Emerg. Infect. Dis. 2009; 15 (3): 441–4.
6. Finkbeiner S.R., Li Y., Ruone S., Conrardy C., Gregoricus N., Toney D. et al. Identification of a novel astrovirus (astrovirus VA1) associated with an outbreak of acute gastroenteritis. J. Virol. 2009; 83 (20): 10836–9.
7. Finkbeiner S.R., Holtz L.R., Jiang Y., Rajendran P., Franz C.J., Zhao G. et al. Human stool contains a previously unrecognized diversity of novel astroviruses. Virol. J. 2009; 6: 161.
8. Holtz L.R., Bauer I.K., Rajendran P., Kang G., Wang D. Astrovirus MLB1 is not associated with diarrhea in a cohort of Indian children. PLoS One. 2011; 6 (12): e28647.
9. Jakab F., Meleg E., Bányai K., Meleg B., Timár L., Péterfai J., Szucs G. One-year survey of astrovirus infection in children with gastroenteritis in a large hospital in Hungary: occurrence and genetic analysis of astroviruses. J. Med. Virol. 2004; 74 (1): 71–7.
10. Kapoor A., Li L., Victoria J., Oderinde B., Mason C., Pandey P. et al. Multiple novel astrovirus species in human stool. J. Gen. Virol. 2009; 90 (Pt 12): 2965–72.
11. Lorrot M., Bon F., El Hajje M.J., Aho S., Wolfer M., Giraudon H. et al. Epidemiology and clinical features of gastroenteritis in hospitalised children: prospective survey during a 2-year period in a Parisian hospital, France. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2011; 30 (3): 361–8.
12. Mendez E., Arias C.F. Astroviruses. In: Knipe D.M., Howley P.M., eds. Fields virology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2007; 1: 981–1000.
13. Noel J.S., Lee T.W., Kurtz J.B., Glass R.I., Monroe S.S. Typing of human astroviruses from clinical isolates by enzyme immunoassay and nucleotide sequencing. J. Clin. Microbiol. 1995; 33: 797–801.
14. Rivera R., Nollens H.H., Venn-Watson S., Gulland F.M., Wellehan J.F. Jr. Characterization of phylogenetically diverse astroviruses of marine mammals. J. Gen. Virol. 2010; 91 (Pt 1): 166–73.
15. Schulz K., Wegner U., Gurtler L., Wiersbitzky S., Mentel R. Analysis of genotypes of human astrovirus isolates from hospitalized children in Northeastern Germany. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2000; 19 (7): 563–5.
16. Tamura K., Dudley J., Nei M., Kumar S. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software v.4.0. Mol. Biol. Evol. 2007; 24 (8): 1596–9.
17. Ulloa J.C., Gutierrez M.F. Genomic analysis of two ORF2 segments of new porcine astrovirus isolates and their close relationship with human astroviruses. Can. J. Microbiol. 2010; 56 (7): 569–77.
18. Walter J.E., Briggs J., Guerrero M.L., Matson D.O., Pickering LK, Ruiz-Palacios G. et al. Molecular characterization of a novel recombinant strain of human astrovirus associated with gastroenteritis in children. Arch. Virol. 2001; 146 (12): 2357–67.
19. Wolfaardt M., Kiulia N.M., Mwenda J.M., Taylor M.B. Evidence of a recombinant wild-type human astrovirus strain from a Kenyan child with gastroenteritis. J. Clin. Microbiol. 2011; 49 (2): 728–31.

Поступила 21.06.12

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 615.371:578.832.11.036.8

С.А. Донина, Г.Д. Петухова, Д.А. Кореньков, Е.П. Григорьева, С.А. Кузнецова, И.В. Лосев, Л.Г. Руденко, А.Н. Найхин

Локальный и гуморальный иммунный ответ у больных гриппом и у лиц, привитых против сезонных и пандемических вирусов гриппа

НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург

Локальный (местный, мукозальный) иммунитет является важнейшим фактором защиты людей от гриппа. В настоящей статье приведены данные о формировании локального и гуморального иммунного ответа у переболевших гриппом А(Н3N2) людей и у лиц, иммунизированных в 2000–2009 гг. разными сезонными живыми гриппозными вакцинами (ЖГВ): ЖГВ А(Н1N1)pdm2009 и ЖГВ А(Н5N2). Гриппозная инфекция индуцировала большее количество конверсий локальных IgA- и IgG1-антител, чем прививка сезонной ЖГВ. У 56% лиц в возрасте 18–21 года отмечены высокие ($\geq 1:64$) титры IgA-антител к вирусу А(Н1N1) pdm2009 до его эпидемического распространения. У 19% лиц этого возраста обнаружены предвакцинальные IgA-антитела к вирусу А(Н5N2) в тех же титрах. Двукратная прививка ЖГВ А(Н1N1)pdm2009 и А(Н5N2) вызывала конверсии IgA-антител соответственно у 54 и 27% добровольцев. Обе вакцины повышали avidность локальных IgA-антител. Число конверсий IgA-антител в ответ на прививку сезонными ЖГВ зависело от их предвакцинальных исходных титров. В целом результаты свидетельствуют о том, что успешность индукции иммунитета на любые ЖГВ зависит от состояния у вакцинированных локальной иммунологической памяти в виде наличия перекрестно реагирующих антителосекретирующих В-клеток.

Ключевые слова: противогриппозный иммунитет, иммунный ответ на вирусы гриппа А, локальный иммунный ответ

Контактная информация:

Донина Светлана Александровна, канд. мед. наук; e-mail: sveta.donina@gmail.com

Local Antibody Immune Responses in Influenza Patients and Persons Vaccinated with Seasonal, Pre-pandemic, and Pandemic Live Attenuated Influenza Vaccines

S. A. Donina, G. D. Petukhova, D. A. Korenkov, E. P. Grigorieva, S. A. Kuznetsova, I. V. Losev, L. G. Rudenko, A. N. Naykhin

Institute for Experimental Medicine, Northwestern Branch, Russian Academy of Medical Sciences, St. Petersburg, Russia

Mucosal immunity is one of the most important factors of human anti-influenza defense. The data about local immune responses in influenza A (H3N2) patients and in persons vaccinated within 2000-2009 with different seasonal LAIVs, A (H1N1)pdm2009 LAIV, and A (H5N2) LAIV are discussed.

The influenza infection resulted in the larger quantities of local IgA and IgG conversions than seasonal LAIV vaccination. 56% of young (18-21 y.o.) persons had high titers ($\geq 1:64$) of IgA to A (H1N1)pdm2009 virus before its circulation. 19% of persons had anti A (H5N2) IgA before vaccination. Two-fold vaccination with A (H1N1)pdm2009 and A (H5N2) LAIVs resulted in local antibody conversions in 54% and 27% of volunteers, respectively. Both these vaccines increased local IgA avidity. The number of antibody conversions after vaccination with seasonal LAIVs was in inverse dependence on their titers before vaccination.

These results make it possible to conclude that the intensity of local antibody immune response to any LAIV depends on the state of local immunological memory, particularly on the presence of the crossreactive antibody-secreting B cells.

Key words: anti-influenza immunity, influenza A viruses, local immune responses

Локальный (местный, мукозальный) иммунитет является важнейшим звеном иммунной защиты населения от острых вирусных инфекций. На сегодняшний день этот вид иммунитета у людей в наибольшей степени изучен в отношении гриппозной инфекции и противогриппозной иммунизации. Разработана и широко апробирована отечественная иммуноферментная тест-система для количественного выявления локальных антител в секретах верхних дыхательных путей (СВДП) и слюне [7, 8]. Определены защитные титры IgA-антител в этих субстратах [7]. Охарактеризована взаимосвязь между локальным и системным гуморальным иммунным ответом [17]. Изучена способность живых гриппозных вакцин (ЖГВ) индуцировать локальный иммунный ответ в сравнении с инактивированными (ИГВ) вакцинами, вводимыми парентерально, интраназально и перорально [8]. Показаны возрастные различия в формировании поствакцинального локального иммунного ответа на ЖГВ [1, 2, 9]. Созданы количественные методики определения avidности локальных антител к вирусам гриппа А и В [3]. На основе этой методики проведено исследование данного показателя у вакцинированных лиц [18]. Кроме того, разработана экспериментальная модель, дающая возможность изучать клеточный локальный противогриппозный иммунитет в назоассоциированной лимфоидной ткани грызунов [10, 12].

Подавляющее большинство перечисленных выше данных о формировании локального иммунитета было получено на материалах обследования людей до 2000 г. С тех пор эпидемиологическая обстановка по гриппу, а также штаммовый состав сезонных ЖГВ изменились. Появились новые пандемические и потенциально пандемические вакцины. В настоящей статье приведены сведения о формировании в 2000–2009 гг. локального и гуморального иммунного ответа у людей, перенесших грипп А, а также у лиц, привитых разными сезонными, пандемической А/Калифорния/07/2009 – А(Н1N1)pdm2009 и потенциально пандемической А(Н5N2) ЖГВ.

Материалы и методы

Вакцины. Для иммунизации использовали отечественные тривалентные ЖГВ (НПО «Микроген», Россия). В состав сезонных ЖГВ (препарат «Ультравак») входили следующие вакцинные штаммы: А/17/

Пекин/95/25 (Н1N1), А/17/Новая Каледония/99/145 (Н1N1), А/17/Соломоновы острова/06/09 (Н1N1), А/17/Брисбен/07/28 (Н1N1), А/17/Сидней/97/76 (Н3N2), А/17/Панама/99/242 (Н3N2), А/17/Вайоминг/03/8 (Н3N2), А/17/Калифорния/04/6 (Н3N2), А/17/Брисбен/07/1 (Н3N2), В/60/Санкт-Петербург/95/20, В/60/Гонконг/01/22, В/60/Джилин/03/1, В/60/Флорида/04/181, В/60/Брисбен/08/83. Также были использованы моновалентные ЖГВ того же производителя: «Инфлювир» – пандемическая вакцина А/17/Калифорния/2009/38 (Н1N1) и «Ультрагивак» – А/17/утка/Потсдам/86/92 (Н5N2). ЖГВ вводили интраназально по 0,5 мл (0,25 мл в каждую ноздрю), однократно (сезонные ЖГВ) и двукратно (моновакцины).

Контингенты. Для проведения исследований были отобраны здоровые волонтеры в возрасте старше 18 лет, принимавшие участие в испытаниях ЖГВ в 2000–2009 гг. В течение 5 дней после вакцинации за всеми лицами проводились клинические наблюдения, которые включали измерение температуры тела, пульса и артериального давления, аускультацию сердца и легких, осмотр носоглотки. Побочные клинические реакции на вакцинацию не выявлены. Образцы сывороток крови и СВДП брали у каждого вакцинированного до и через 21 день после иммунизации. Все испытания вакцин проводились с разрешения комиссии по гриппозным вакцинам и диагностическим штаммам при Минздраве России с обязательной подписью относительно информированного согласия участников.

Больные гриппом А(Н3N2) лица (18 человек) в возрасте 18–21 года являлись членами наблюдавшегося воинского коллектива. Они перенесли во время вспышки в 2007–2008 гг. неосложненный клинически выраженный и серологически подтвержденный грипп А(Н3N2). Парные образцы сывороток крови и СВДП хранились при -70°C .

Лабораторные исследования. Титры сывороточных антител определяли в реакции торможения гемагглютинации (РТГА), которую выполняли по общепринятой методике с использованием 4 АЕ антигенов и 1% взвеси эритроцитов человека группы крови 0(I) [6].

Локальные IgA-антитела и иммуноглобулины разных классов и подклассов в сыворотках крови и СВДП определяли по ранее описанной методике иммуноферментного анализа (ИФА) [8]. На полистироловые микроплатели («Медполимер», Россия) сорбировали 16 АЕ/мл

Системный и локальный гуморальный иммунный ответ у лиц, больных гриппом А(Н3N2) и привитых сезонной ЖГВ

Группа	Образцы	Количество (%) конверсий антител в ИФА к вирусу гриппа А(Н3N2)						
		IgA	IgM	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgE
Больные гриппом А(Н3N2) (n = 18)	СВДП	13 (72,2)	0	4 (22,2)	0	0	0	0
	Сыворотка крови	9 (50,0)	0	8 (44,4)	2 (11,1)	1 (5,5)	5 (27,7)	0
Привитые сезонной ЖГВ (n = 18)	СВДП	8 (44,4)	0	1 (5,5)	0	0	0	0
	Сыворотка крови	4 (22,2)	2 (11,1)	5 (27,7)	2 (11,1)	1 (5,5)	2 (11,1)	0

используемых антигенов вирусов гриппа. Исследуемые образцы СВДП титровали с разведения 1:8 до 1:512. Конъюгатом служили моноклональные антитела против IgA, IgM, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 и IgE человека, меченные пероксидазой хрена (ООО "Полигност", Россия).

Достоверным приростом титров антител в РТГА и ИФА считали их увеличение в 4 раза и более во 2-м образце по отношению к 1-му. За титр локальных IgA-антител в ИФА принимали последнее разведение секретов, оптическая плотность которых в 2 раза и более превышала оптическую плотность контроля, включающего все ингредиенты реакции, кроме исследуемых секретов.

Методика определения avidности локальных IgA-антител в СВДП подробно изложена в нашей статье [3].

В РТГА и ИФА использовали антигены, аналогичные составу вакцин.

Статистический анализ результатов проводили с использованием критериев Вилкоксона и *t*-теста. Достоверными считали результаты при $p < 0,05$.

Результаты

В табл. 1 приведены сравнительные данные о системном и локальном гуморальном иммунном ответе (конверсии разных изотипов иммуноглобулинов) у взрослых людей, переболевших гриппом А(Н3N2), и у лиц, привитых в 2007 г. сезонной тривалентной ЖГВ.

По сравнению с вакцинацией гриппозная инфекция индуцировала большее число конверсий как сывороточных (IgG1 – соответственно 44 и 27%, IgA – соответственно 50 и 22%; $p < 0,05$), так и локальных (IgA – соответственно 72 и 44%, IgG1 – соответственно 22 и 5%; $p < 0,05$) антител. У тех и других локальный иммунный ответ ограничивался приростами IgA-антител и в гораздо меньшей степени – IgG1-антител (соответственно 72 и 22%; $p < 0,05$ и $p < 0,01$), тогда как системный иммунный ответ сопровождался увеличением уровня антител всех изотипов, за исключением IgE.

Табл. 2 содержит сведения об обнаружении у невакцинированных молодых людей локальных IgA-антител к трем вирусам гриппа А: циркулировавшему штамму А(Н1N1), вирусу А(Н1N1)pdm2009 и птичьему вирусу А(Н5N2).

Обращает на себя внимание то обстоятельство, что IgA-антитела к пандемическому вирусу А(Н1N1)pdm2009 в высоких титрах ($\geq 1:64$) выявлялись у значительного числа лиц (56%) еще до начала его эпидемического распространения в России. Аналогичный, но менее выраженный феномен

наблюдался и в отношении IgA-антител к птичьему вирусу А(Н5N2) – 19% лиц с высокими титрами IgA-антител ($p < 0,01$). Тот же показатель, касающийся IgA-антител к допандемическому активно циркулировавшему вирусу А(Н1N1), был самым высоким – 89% ($p < 0,05$ и $p < 0,01$).

В табл. 3 представлены объединенные данные о частоте конверсий локальных IgA-антител к вакцинным вирусам гриппа А(Н1N1), А(Н3N2) и В у лиц в возрасте 18–55 лет, прививавшихся в 2000–2009 гг. разными сезонными ЖГВ.

Общее число конверсий этих антител было невелико – от 20 до 26%. Однако если рассматривать данный показатель иммуногенности в зависимости от исходного титра IgA-антител перед вакцинацией, то среди лиц с низкими титрами $\leq 1:8$ он был значительно выше (42–45%; $p < 0,05$), а у лиц с высокими исходными титрами $\geq 1:64$ – существенно ниже (2–7%; $p < 0,01$).

Следует особо отметить хорошо выраженные различия в доле (в %) лиц с высокими исходными титрами IgA-антител $\geq 1:64$ внутри двух групп вакцинированных: у которых присутствовала поствакцинальная конверсия IgA-антител (2–9%), и у привитых, у которых поствакцинальный титр не изменился, т. е. конверсия IgA-антител на прививку отсутствовала (27–33%; $p < 0,05$).

Сведения в табл. 4 дают представление о количестве конверсий локальных IgA-антител у лиц того же возраста, прививавшихся двукратно моновалентными ЖГВ А(Н1N1)pdm2009 и А(Н5N2).

После второй прививки доля лиц с конверсиями IgA-антител к вирусам А(Н1N1)pdm2009 составила 54%, а к птичьему вирусу А(Н5N2) – в 2 раза меньше, т. е. 27% ($p < 0,05$). В обоих случаях вторая вакцинация увеличивала эти показатели иммуногенности. При этом число конверсий сывороточных антител к первому и второму вирусам было значительно ниже по сравнению с приростами локальных антител (соответственно 21 и 13%; $p < 0,05$).

Табл. 5 содержит данные об изменении avidности локальных IgA-антител у лиц в возрасте 18–21 года,

Таблица 2

Обнаружение локальных IgA-антител к трем вирусам гриппа А у непривитых людей в возрасте 18–21 года

Вирусы	Число лиц	Титры антител в СВДП			Средние геометрические титры антител
		$\leq 1:16$	1:32	$\geq 1:64$	
А/Брисбен/2007 (Н1N1)*	47	1 (2,1%)	4 (8,5%)	42 (89,4%)	131,8
А(Н1N1)pdm 2009**	59	15 (25,4%)	11 (18,6%)	33 (55,9%)	90,4
А/утка/Потсдам/1986(Н5N2)***	74	52 (70,3%)	8 (10,8%)	14 (18,9%)	11,3

Примечание. * – СВДП отобраны в октябре 2008 г.; ** – СВДП отобраны в октябре 2009 г., т. е. до развития эпидемии в России; здесь и в табл. 3–5: А(Н1N1)pdm 2009 – современное обозначение штаммов типа А/ Калифорния/2009 (Н1N1); *** – СВДП отобраны в 2006–2007 гг.

Индукция сезонными тривалентными ЖГВ локальных IgA-антител у лиц в возрасте 18–55 лет*

Вакци- ный вирус гриппа	Число исследованных индивидуальных парных образцов СВДП	Общее число конверсий антител	Количество конверсий антител в зависимости от их исходного титра перед прививкой среди всех прививавшихся				Количество лиц с высокими исходными титрами антител $\geq 1:64$ перед прививкой среди двух групп	
			$\leq 1:8$	1:16	1:32	$\geq 1:64$	лица с наличием конверсий антител после прививки	лица с отсутствием конверсий антител после прививки
A(H1N1)	388	102 (26,3%)	158**	68	33	129	102**	225
			70 (44,5%)	20 (29,4%)	10 (30,3%)	2 (1,6%)	2(2,0%)	75(33,3%)
A(H3N2)	226	44 (19,5%)	71	45	47	63	44	137
			30 (42,2%)	8(17,8%)	5 (10,6%)	1 (1,6%)	1 (2,2%)	37 (27,0%)
B	312	76 (24,4%)	119	61	37	95	76	170
			52 (43,7%)	11 (18,0%)	6 (16,2%)	7 (7,3%)	7 (9,2%)	50 (29,4%)

Примечание. * – объединенные данные о вакцинации в 2000–2009 гг.; ** – числитель – число лиц с обозначенными титрами антител, знаменатель – из них доля с конверсиями антител.

привитых ЖГВ A(H1N1)pdm2009, A(H5N2) и сезонными тривалентными ЖГВ (суммарные показатели в 2000–2009 гг.).

У 15–50% вакцинированных было зафиксировано достоверное поствакцинальное увеличение индексов avidности IgA-антител, тогда как в группе получивших препарат плацебо такое увеличение обнаружено только у 2 человек из 168 (0,8%; $p < 0,05$; $< 0,01$ и $p < 0,001$). Таким образом, вакцинация всеми ЖГВ, в том числе A(H1N1)pdm2009 и A(H5N2), повышала avidность локальных IgA-антител.

Обсуждение

Нами показано, что у людей гриппозная инфекция превосходила вакцинацию ЖГВ в индукции локального гуморального иммунного ответа (см. табл. 1). Аналогичные результаты получены и при воспроиз-

ведении у мышей гриппозной инфекции и их иммунизации экспериментальным аналогом вакцинного штамма для ЖГВ [13]. Эти результаты совершенно логичны, поскольку инфекция является эталоном качества иммунного ответа, на который должна равняться вакцинология. По-видимому, в этом плане локальный иммунитет не является исключением. Кроме того, необходимо отметить, что ИГВ индуцирует этот тип иммунного ответа крайне слабо и в данном качестве значительно уступает ЖГВ [1, 8, 9].

Если сравнивать широту спектра иммунных ответов по изотипам вирусспецифических иммуноглобулинов (см. табл. 1), то и при инфекции и при вакцинации системный иммунный ответ включал конверсии всех изученных классов и подклассов антител, кроме IgE, а локальный иммунный ответ – только IgA-антител (соответственно 72 и 44%) и в значительно меньшей

Таблица 4

Индукция моновалентными ЖГВ A(H1N1)pdm2009 и A(H5N2) локальных и сывороточных антител у добровольцев в возрасте 18–20 лет

Препарат	Группа	Количество (%) конверсий антител			
		локальные IgA-антитела по данным ИФА		сывороточные антитела по данным РТГА	
		первая вакцинация	вторая вакцинация	первая вакцинация	вторая вакцинация
A(H1N1)pdm2009	Привитые ЖГВ ($n = 24$)	6 (25,0)	13 (54,2)	2 (8,3)	5 (20,8%)
	Получившие плацебо ($n = 5$)	0	0	0	0
A/утка/Потсдам/ 1986 (H5N2)	Привитые ЖГВ ($n = 15$)	2 (13,3)	4 (26,7)	1 (6,7)	2 (13,3%)
	Получившие плацебо ($n = 7$)	0	0	0	0

Таблица 5

Авидность локальных IgA-антител у лиц в возрасте 18–21 года, привитых тремя типами ЖГВ

ЖГВ	Число привитых	Группа	Количество (%) лиц с достоверным увеличением индексов avidности IgA-антител	
A(H1N1)pdm2009	49*	Лица с конверсиями антител на вакцину ($n = 26$)	4 (15,4)	
		Получившие плацебо ($n = 10$)	0	
A/утка/Потсдам/1986 (H5N2)	15	Лица с конверсиями антител на вакцину ($n = 4$)	2 (50,0)	
		Получившие плацебо ($n = 12$)	0	
Сезонные тривалентные вакцины	A(H1N1)	321	Лица с конверсиями антител на вакцину ($n = 52$)	17 (32,7)
		Получившие плацебо ($n = 73$)	0	
	B	321	Лица с конверсиями антител на вакцину ($n = 48$)	23 (47,9)
		Получившие плацебо ($n = 73$)	2 (2,6)	

степени – IgG1 (соответственно 22 и 5%; $p < 0,05$). Полученные результаты свидетельствуют о том, что в иммунологических исследованиях в ИФА локального иммунитета при естественной (возможно, и экспериментальной) инфекции следует включать конъюгаты не только IgA-, но и IgG1-антител.

Нами обнаружены у молодых людей высокие титры локальных IgA-антител к вирусу A(H1N1)pdm2009 до его эпидемического распространения в России и такие же титры антител к птичьему вирусу A(H5N2), с которыми эти люди не встречались вообще (см. табл. 2). Доля таких лиц в отношении антител к первому вирусу оказалась значительной (56%), а ко второму – в 3 раза меньше (19%; $p < 0,05$). Примечательно, что у этих же лиц были выявлены примерно в той же пропорции перекрестно реагирующие CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетки иммунологической памяти, специфичные к данным штаммам [14, 16]. Все это свидетельствует, на наш взгляд, о трех важных фактах. Во-первых, у взрослых людей существует не только гетеротипический Т-клеточный иммунитет к разным штаммовым разновидностям и подтипам вируса гриппа А [11], но и аналогичный локальный иммунитет в виде перекрестно реагирующих локальных IgA-антител, у которых, как известно, спектр взаимодействия с антигенами вирусов гриппа А гораздо шире, чем у сывороточных антител. Во-вторых, эпидемическая циркуляция вируса A(H1N1)pdm2009 началась в условиях, когда часть населения могла быть защищена от этого возбудителя благодаря наличию гетеротипического Т-клеточного и гетеротипического локального иммунитета к предшествующим антигенным вариантам вируса A(H1N1). Именно в силу этих обстоятельств заболеваемость населения в период пандемического распространения вируса гриппа A(H1N1)pdm2009 во всех странах носила и носит умеренный характер [4, 15, 19]. В-третьих, в случае полноценного "прорыва" птичьих вирусов гриппа А в человеческую популяцию она, как это утверждается, не будет "абсолютно неиммунной" [5], поскольку у части населения имеются перекрестно реагирующие локальные IgA-антитела и вирусспецифические Т-клетки памяти, которые будут предотвращать такую информацию и/или снижать ее тяжесть. Разумеется, это вовсе не исключает необходимость иметь резервные вакцины против всех потенциально пандемических вирусов гриппа А.

Нами установлено существование четко выраженной обратной зависимости между предвакцинальным уровнем локальных IgA-антител к вирусам гриппа А и В и частотой их поствакцинальных конверсий: самая высокая частота наблюдалась среди лиц с исходными титрами антител $\leq 1:8$ и очень низкая – среди лиц с высокими титрами $\geq 1:64$ (см. табл. 3). Это свидетельствует, что анализ поствакцинальной индукции ЖГВ локального иммунитета должен осуществляться по тому же принципу, которого придерживаются при оценке этого препарата по частоте конверсий сывороточных антител, т. е. доля (%) таких конверсий должна рассчитываться только среди лиц с низкими исходными титрами.

Данные табл. 3 указывают на то, что уровень локального предвакцинального иммунитета влияет на частоту индукции ЖГВ локальных IgA-антител после прививки, поскольку среди лиц с фиксированными приростами этих антител доля с высокими исходными титрами составила всего 2–9%, а среди привитых, у которых отсутствовали конверсии антител, – значительно больше

(27–33%; $p < 0,05$). Конечно, у последних на иммунологическую "неотвечаемость" могли влиять и другие факторы (особенности генотипа, некачественная прививка, отсутствие должной приживляемости вируса в верхних дыхательных путях и т. д.).

Нами обнаружено (см. табл. 4), что у молодых людей частота конверсий локальных IgA-антител на вакцину A(H1N1)pdm2009 была намного выше аналогичного показателя для вакцины A(H5N2) – соответственно 54 и 27% ($p < 0,05$). Это хорошо согласуется с результатами выявления у невакцинированных лиц того же возраста локальных IgA-антител к этим двум вирусам (см. табл. 2). То же самое наблюдали у них и в отношении частоты поствакцинального достоверного увеличения вирусспецифических CD4⁺ и CD8⁺-Т-клеток памяти [14, 16]. Все это отражает состояние у обследованных лиц иммунологической памяти к вирусам A(H1N1)pdm2009 и A(H5N2). К первому из них иммунологическая память, естественно, более выражена, поскольку взрослые люди в течение жизни уже инфицировались (возможно, неоднократно) вирусами данного подтипа и/или вакцинировались сезонными вакцинами, включавшими тот или иной дрейфовый вариант вируса A(H1N1). В то же время значительно более низкий уровень у лиц того же возраста перекрестно реагирующих локальных антител и Т-клеток памяти к птичьему вирусу A(H5N2) объясняется тем, что для вакцинируемых это был первичный контакт.

Ранее показана способность сезонной ЖГВ повышать у людей авидность локальных IgA-антител [18]. То же самое отмечено у добровольцев, прививавшихся вакцинами A(H1N1)pdm2009 и A(H5N2) (см. табл. 5).

В целом представленные в настоящей статье данные позволяют сделать следующие важные, на наш взгляд, выводы.

Индукция у взрослых людей локального гуморального иммунитета с помощью ЖГВ возможна даже в отношении птичьего вируса гриппа А, с которым эти люди не встречались. Намного успешнее такая индукция развивается в ситуации, когда новый пандемический штамм относится к сероподтипу вируса гриппа А, который длительное время циркулирует среди населения.

Определяющим в стимуляции ЖГВ локального гуморального иммунитета к любым реально и потенциально пандемическим вирусам гриппа А как антропонозной, так и зоонозной природы является предсуществующая у людей иммунологическая память в виде перекрестно реагирующих Т- и В-клеток и IgA-антител, специфичных к этим возбудителям. Поэтому при угрозе глобального распространения таких штаммов необходимо осуществлять экстренный мониторинг населения на наличие данных факторов иммунитета. Мониторинг не только дает представление об иммунной защите людей, но и позволяет предсказать иммуногенность готовящихся вакцин в отношении индукции вирусспецифических клеток памяти и локальных антител.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баранцева И.Б., Найхин А.Н., Донина С.А. и др. Гуморальный и местный иммунный ответ на гриппозные вакцины у лиц пожилого и молодого возраста. Вопросы вирусологии. 2003; 2: 32–6.
2. Донина С.А., Найхин А.Н., Григорьева Е.П. и др. Местный иммунный ответ на живую холодоадаптированную реассортантную гриппозную вакцину у детей, взрослых и престарелых лиц. Вопросы вирусологии. 2003; 2: 29–31.
3. Донина С.А., Кореньков Д.А., Руденко Л.Г., Найхин А.Н. Оценка авидности локальных IgA-антител у людей, привитых живой

- гриппозной вакциной. Медицинская иммунология. 2008; 10 (4-5): 423-30.
4. Киселев О.И., Еришов Ф.И., Быков А.Т., Покровский В.И. Пандемия гриппа 2009/2010: противовирусная терапия и тактика лечения. СПб.; 2010: 98.
 5. Киселев О.И. Геном пандемического вируса гриппа А/Н1N1 – 2009. М.: Димитрийд График Групп; 2011.
 6. Методы определения показателей качества иммунобиологических препаратов для профилактики и диагностики гриппа: Методические указания 3.3.2.1758-03 от 28.09.2003, утв. Главным государственным санитарным врачом РФ. М.; 2003.
 7. Найхин А.Н., Донина С.А., Кустикова Ю.Г. и др. Моноклональная иммуноферментная тест-система для оценки секреторного иммунитета к вирусам гриппа А и В. Вопросы вирусологии. 1997; 5: 212-5.
 8. Найхин А.Н., Донина С.А., Кустикова Ю.Г. и др. Изучение в иммуноферментном анализе поствакцинального секреторного иммунитета к вирусам гриппа А и В с помощью разработанной моноклональной иммуноферментной тест-системы. Вопросы вирусологии. 1997; 6: 271-5.
 9. Найхин А.Н., Руденко Л.Г., Арден Н. и др. Иммунный ответ лиц пожилого возраста в зависимости от числа ежегодных сезонных иммунизаций живой и инактивированной гриппозными вакцинами. Вопросы вирусологии. 1998; 3: 130-4.
 10. Найхин А.Н., Баранцева И.Б. Локальный иммунный ответ к вирусам гриппа в назоассоциированной лимфоидной ткани. Медицинская иммунология. 2004; 6 (6): 487-92.
 11. Найхин А.Н. Гетеротипический иммунитет к вирусам гриппа А: эпидемиологические данные, вовлеченность разных иммунологических факторов, вакцинация. Вопросы вирусологии. 2012; 3.
 12. Петухова Г.Д., Найхин А.Н., Баранцева И.Б. и др. Локальный гуморальный и клеточный иммунный ответ мышей при гриппозной инфекции и вакцинации. Медицинская иммунология. 2006; 8 (4): 511-6.
 13. Рекстин А.Р., Найхин А.Н., Баранцева И.Б., Руденко Л.Г. В-клеточный и цитотоксический лимфоцитарный иммунный ответ на патогенные, аттенуированные и реассортантные вирусы гриппа. Вопросы вирусологии. 2002; 4: 27-32.
 14. Chirkova T., Naykhin A., Petukhova G. et al. Memory T-cell immune response in healthy young adults vaccinated with live attenuated influenza A(H5N2) vaccine. Clin. Vaccine Immunol. 2011; 18 (10): 1710-8.
 15. Maritz J., Maree L., Preiser W. Pandemic influenza A (H1N1) 2009: the experience of the first six months. Clin. Chem. Lab. Med. 2010; 48: 11-21.
 16. Naykhin A., Petukhova G., Chirkova T. et al. Virus-specific CD4+ and CD8+ memory T-cells in young volunteers after immunization with pandemic live attenuated reassortant influenza vaccines A(H5N2) and A(H1N1). In: Options for the control of influenza VII. 2010; September: 282. [http:// www.controlinfluenza.com](http://www.controlinfluenza.com).
 17. Petukhova G., Naikhin A., Chirkova T. et al. Comparative studies of local antibody and cellular immune responses to influenza and vaccination with live attenuated reassortant influenza vaccine (LAIV) utilizing a mouse nasal-associated lymphoid tissue (NALT) separation method. Vaccine. 2009; 27: 2580-7.
 18. Petukhova G., Korenkov D., Chirkova T. et al. B- and T-cell memory elicited by a seasonal live attenuated reassortant influenza vaccine: assessment of local antibody avidity and virus-specific memory T-cells using trogocytosis-based method. Influenza Other Respir. virus. 2012; 6 (2): 119-26.
 19. Writing Committee of the WHO consultation on clinical aspects of pandemic (H1N1) 2009 influenza. Clinical aspects of pandemic 2009 influenza A(H1N1) virus infection. N. Engl. J. Med. 2010; 362: 1708-19.

Поступила 16.05.12

В ПОМОЩЬ ВИРУСОЛОГУ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

Е.С. Шевченко¹, Н.В. Бреслав¹, В.В. Лаврищева¹, Е.А. Мукашева¹, Э.В. Силуянова¹, Т.А. Оскерко¹, Л.В. Колобухина¹, Л.Н. Меркулова¹, Н.В. Дубовая³, А.Л. Заплатников², Е.И. Бурцева¹

Эффективность изоляции вирусов гриппа А и В из носоглоточных смывов, взятых в пробирки Σ -Virocult® (M40 Compliant, Sigma Virocult) и Virocult® (M40 Compliant, Virocult), в эпидемическом сезоне 2010–2011 гг.

¹ФГБУ НИИ вирусологии им. Д.И. Иванова Минздравсоцразвития России, Москва; ²Российская медицинская академия последипломного образования Минздравсоцразвития России, Москва; ³ООО «МК Рустек», Москва

В статье представлены результаты сравнительного изучения эффективности изоляции вирусов гриппа в период эпидемического подъема 2010–2011 гг., вызванного А(Н1N1)pdm09 и В, при взятии клинических образцов в пробирки с транспортной средой на основе среды Игла MEM и коммерческие пробирки – Σ -Virocult® (M40 Compliant, Sigma Virocult) и Virocult® (M40 Compliant, Virocult). Показана высокая эффективность изоляции штаммов вирусов гриппа А и В из носоглоточных смывов, взятых в пробирки Σ -Virocult® (M40 Compliant, Sigma Virocult) и Virocult® (M40 Compliant, Virocult) с транспортной средой, сравнимая с эффективностью изоляции штаммов вирусов гриппа из носоглоточных смывов, взятых в пробирки со средой Игла MEM по всем оцениваемым показателям: пассажиру при выделении и титру изолята. Подтверждена возможность длительного хранения клинического материала при комнатной температуре и 4°C без замораживания, что является безусловно значимым при отсутствии необходимого оборудования.

Ключевые слова: *вирусы гриппа А(Н1N1)pdm09 и В, транспортная среда Virocult®, эффективность изоляции, длительность и режим хранения материала*

Efficiency of the Influenza A and B Viruses Isolation from Nasopharyngeal Swabs Taken in the Test Tubes Σ -Virocult® (M40 Compliant, Sigma Virocult) and Virocult® (M40 Compliant, Virocult) in 2010-2011 Epidemic Season

E. S. Shevchenko¹, N. V. Breslav¹, V. V. Lavrisheva¹, E. A. Mukasheva¹, E. V. Siluyanova¹, T. A. Oskerko¹, L. V. Kolobukhina¹, L. N. Merkulova¹, N. V. Dubovaya³, A. L. Zaplatnikov², E. I. Burtseva¹

¹ Ivanovsky Institute of Virology, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, Moscow, Russia; ² Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, Moscow, Russia; ³ LLC MC Rustech, Moscow, Russia