

Э.В. Силуянова, С.В. Альховский, Е.С. Шевченко, В.Т. Иванова, Т.А. Оскерко, Л.В. Колобухина,  
Л.Н. Меркулова, Р.В. Вартамян, Е.И. Бурцева

## Эволюционная изменчивость вируса гриппа А(Н3N2) в период 2007–2012 гг.

ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России 123098, Москва

Результаты молекулярно-генетических исследований вирусов гриппа способствуют пониманию их эволюционной изменчивости, а также определяют выбор вакцинных штаммов. В статье представлена полная последовательность гемагглютинина (HA), нейраминидазы (NA) и М-белка 34 штаммов вируса гриппа А(Н3N2), циркулировавших на территории РФ с 2007 по 2012 г. Штаммы были выделены в НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского (Москва) и сотрудничающих с ним городах России. Данные филогенетического анализа выявили различия штаммов, которые произошли в анализируемый период: эволюция шла последовательно от А/Брисбен/10/2007 к А/Перт/16/2009, а затем к А/Виктория/208/2009. HA штаммов вируса гриппа А(Н3N2) последних двух эпидемических сезонов имел отличия от штаммов предыдущих сезонов в антигенных сайтах А, В, D и в меньшей степени в сайтах С и Е. В гене NA мутаций, отвечающих за устойчивость к озельтамивиру (E119V, R292K, N294S) и занамивиру (Q136K), не обнаружено. В гене M2 все изоляты несли мутацию S31N, отвечающую за устойчивость к ремантадину.

Ключевые слова: вирус гриппа А(Н3N2); ген гемагглютинина, ген нейраминидазы, ген белка М, эволюционные динамики вируса гриппа

### Evolution of Influenza A(H3N2) virus from 2007 to 2012

E. V. Siluyanov, S. V. Alkhovskiy, E. S. Shevchenko, V. T. Ivanova, T. A. Oskerko, L. V. Kolobukhina,  
L. N. Merkulova, R. V. Vartanyan, E. I. Burtseva

D.I. Ivanovsky Institute of Virology, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

The results of the genetic studies of influenza viruses make it possible to understand their evolution and recommendations for vaccine strains content. In this work, the data of complete sequence of the HA, NA, and M2-protein for 34 strains of influenza A(H3N2) virus circulating in Russia during 2007-2012 are presented. The influenza strains were isolated in Ivanovsky Institute of Virology, Moscow, and some collaborating Russian centers. The results of the phylogenetic analysis showed the differences among strains, which were observed during the analyzed period; the evolution had direction from A/Brisbane/10/2007 to A/Perth/16/2009 and A/Victoria/208/2009. Hemagglutinin of the influenza A(H3N2) virus strains had differences between strains of last two seasons and strains circulating before, in the antigenic sites A, B, D, and, to a lesser extent, C, and E. In the neuraminidase gene the mutations responsible for the resistance to oseltamivir (E119V, R292K, N294S) and zanamivir (Q136K) were not found. All isolates carry the S31N mutation in the M2 gene responsible for resistance to amantadine.

Key words: Influenza virus A(H3N2); gene hemagglutinin, gene neuraminidase; gene protein M; evolutionary dynamics of Influenza virus.

В отличие от вирусов гриппа типа В и С вирусы гриппа типа А способны инфицировать широкий круг хозяев, а также более подвержены эволюционной изменчивости, что является причиной ежегодных эпидемий (антигенный дрейф) и крайне редко пандемий (антигенный шифт) [6]. Причина тому – наличие 16 вариантов гемагглютинина (HA) и 9 вариантов нейраминидазы (NA), определяющих разделение вируса гриппа А на подтипы. Сочетание HA и NA на поверхности вириона теоретически предполагает 144 подтипа, однако на сегодняшний день известны 103, и только три из них – А(Н1N1), А(Н2N2) и А(Н3N2) – способны инфицировать человека; именно эти штаммы были причиной пандемий XX-го века – «испанки», «азиатского» и «гонконгского» гриппа соответственно [13, 14].

Появившись в 1968 г., вирус гриппа А(Н3N2) стал доминирующим в этиологии большинства эпидемий; исключение составил сезон 2009–2010 гг., когда в популяцию циркулирующих штаммов внедрился новый пандемический вирус гриппа свиней А(Н1N1)pdm09 [1, 3, 5]. Интересным оказался и факт вытеснения из активной циркуляции пандемическим штаммом сезонного вируса А(Н1N1), с сохранением в последующие два сезона цир-

куляции штаммов вируса гриппа В и А(Н3N2) с доминированием последнего в эпидемии 2011–2012 гг. [1, 9].

Развитие и внедрение молекулярно-генетических методов изучения структуры и свойств белков вирусов гриппа в последние годы способствуют более полному пониманию механизмов их эволюционной изменчивости и позволяет в определенной степени предупредить возможный ущерб, а также оценить эффективность вакцинопрофилактики и лечения с помощью этиотропных препаратов [2].

Настоящая статья посвящена результатам изучения свойств штаммов вируса гриппа А(Н3N2), циркулировавших в России в эпидемические сезоны 2007–2009 гг. и период развития пандемии «свиного» гриппа, охватившей сезоны 2009–2012 гг.

### Материалы и методы

Изоляцию эпидемических штаммов вируса гриппа А(Н3N2) проводили заражением носоглоточными смывами, взятыми от пациентов с гриппозной инфекцией, монослоя клеток культуры ткани MDCK по методу Н. Davies с соавт. [8]. Штаммы были выделены в Центре экологии и эпидемиологии гриппа (ЦЭЭГ) ФГБУ НИИ

вирусологии им. Д.И. Ивановского Минздрава России, а также переданы из ФГУЗ Центров гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора ряда городов РФ. Рекультивирование эталонных штаммов проводили в полости развивающихся куриных эмбрионов по ранее описанной методике [10].

Антигенные свойства выделенных изолятов изучали в реакции торможения гемагглютинации, согласно рекомендациям ВОЗ, с использованием эталонных штаммов вируса гриппа А(Н3N2) и специфических сывороток против них, полученных в ЦЭЭГ при иммунизации крыс: А/Wisconsin/67/05, А/Brisbane/10/07 и А/Perth/16/2009. Эталоны получены из справочных центров ВОЗ по гриппу.

Вирусную РНК выделяли из штаммов вируса гриппа А(Н3N2) с помощью набора Zymo Research Viral RNA Kit, согласно инструкции производителя.

Детекцию РНК вируса гриппа А(Н3N2) проводили с помощью тест-системы «АмплиСенс® Influenza virus А-тип-FL» по инструкции.

Обратную транскрипцию проводили в объеме 20 мкл: 4 мкл 5х буфер (Promega, США), 0,5 мкл dNTPs, 1 мкл праймера 5'Uni (AGCRAAAGCAGG), 4 мкл H<sub>2</sub>O, 0,5 мкл обратной транскриптазы (MMLV) и 10 мкл вирусной РНК. Реакцию проводили 30 мин при 42°C.

Аmplification проводили на приборе BIO-RAD C 1000 Thermo Cycler с режимом 94°C – 30 с, денатурация 94°C – 10 с, отжиг праймеров 55°C – 10 с и элонгация при 72°C – 40 с; 35 циклов. ПЦР проводили в объеме 25 мкл: 12,5 мкл GoMM (Go Master Mix), 9 мкл H<sub>2</sub>O, по 1 мкл 10 нмоль специфических праймеров: R1024 (5'-AGAAACA-AGGTAGTTTTTACTCCA-3') для М-белка, R800 (5'-CGTCTCCCG-TTTTTACTATGTCCA3'), R738 (5'-TAATGCACTCAAATGCAAAT-GTT-3'), R1205 (5'-TTGGTTG-ATTGCTGCTTGAGTGCT-3') для HA, R1296 (5'-TTTTCTTCCCSTAATCAACTCCAC-3'), R823 (5'-GCTGAGCACTTCCCTGACAAT-3'), R1423 (5'-TTGCGAA-AGCTTATATAGGCAT-3') для NA и прямых праймеров F541 (5'-AATCAGRCATGAGAACAGRATGGT-3') для М-белка, F(-24) (5'-AAGCAGGG-GAGAAATTCTATTAACC-3'), F565 (5'-RYTGAACG-TGACTATGCCAAA-3'), F1031 (5'-AGGGATGCGRA-ATGTACCAGAGAA-3'), F667 (5'-CCCAGGAGTC-AAGAATGCGTTG-3'), 5NTR (5'-AGCAAAGCAG-GAGTAAAGATGA-3'), F846 (5'-TCCTCGATAT-CC-TGGTGTGTCAGATG-3') и 2,5 кДНК. Электрофорез ставили в 1% агарозном геле с 100 бп ДНК-маркером (лаборатория Медиген).

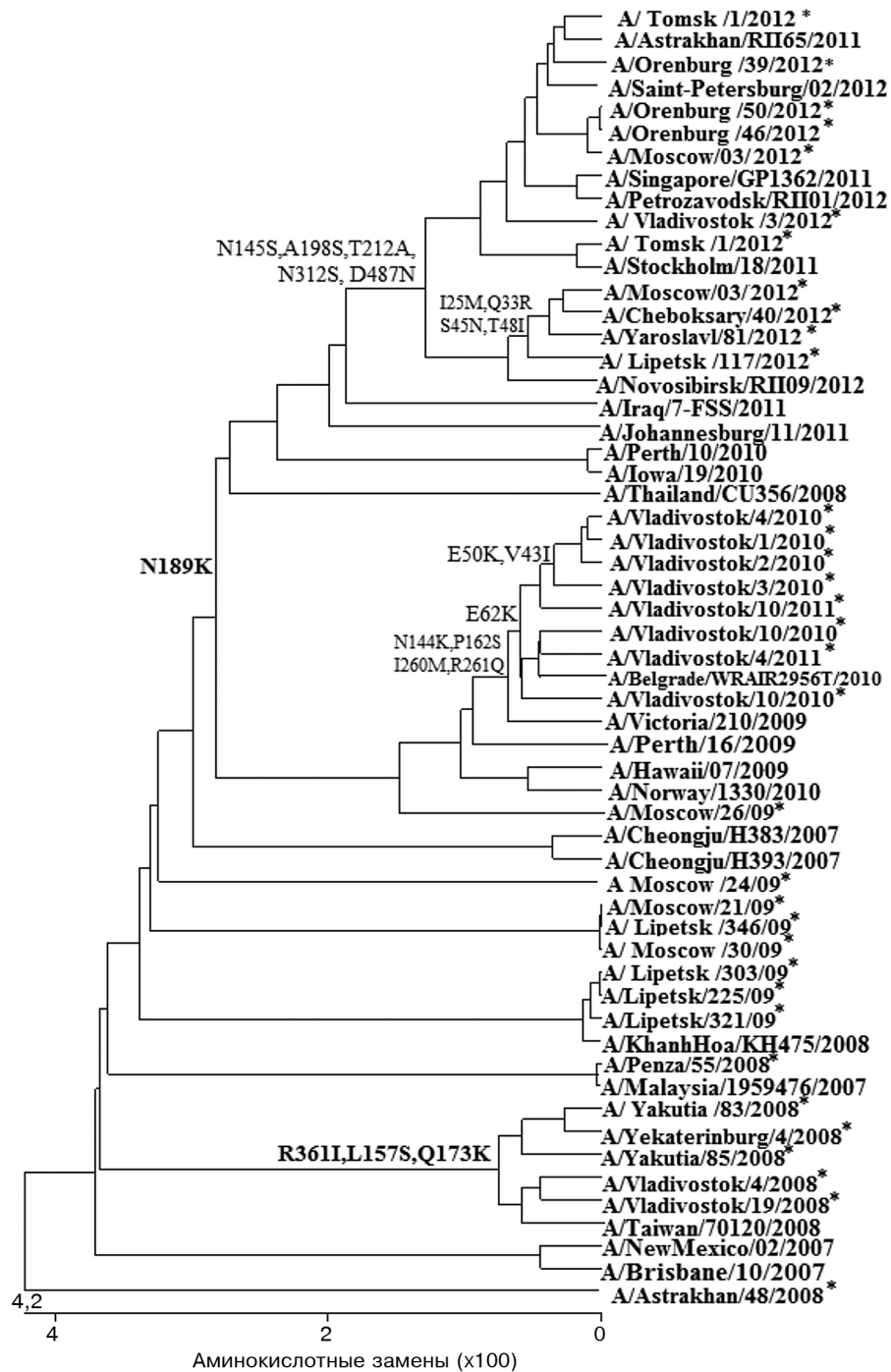


Рис. 1. Филогенетическое сравнение генов гемагглютинаина вируса гриппа А(Н3N2). Здесь и на рис. 2: \* – исследуемые штаммы.

Положительные по результатам электрофореза пробы очищали набором DNA gel extraction Clean Up (АxyGen).

Секвенирование фрагментов проводили с использованием реагентов BigDye Terminator V 3.1 Cycle Sequencing RR-100 и автоматического анализатора АВТ 3130(США) методом Сенгера, согласно рекомендациям производителя. Для анализа нуклеотидных и соответствующих им аминокислотных последовательностей использовали пакет прикладных программ Lasergene (DNASTAR Inc., США). Построение филогенетических дендрограмм осуществляли на основе алгоритма «ближайшего соседа» в рамках 2-параметрической модели М. Кимуры с последующим 1000-кратным ресэмплингом (MegAlign) [4].

**Антигенный и молекулярно-генетический анализ штаммов вируса гриппа А(Н3N2) (2007–2012 гг.)**

Сезон	Штамм	Титр с эталонной сывороткой в РТГА до *	Аминокислотные замены в белках штаммов вируса гриппа А(Н3N2)	
			НА	NA
** 2007-08	А/Якутия /83/2008	1	Q57H, V182I, R361I	D151G, D339N
	А/Якутия /85/2008	1	Q57H, V182I, R361I	D339N
	А/Астрахань /48/2008	1	R361I	н/в
	А/Владивосток/4/2008	1	T361, N290K	D151G
	А/Пенза/55/2008	1	R361I	
	А/Владивосток/19/2008	1	R361T	I30V, T32V, L35Q, N147D
	А/Екатеринбург/4/2008	1	Q57H, V182I, R361I	D339N
** 2008-09	А/Якутия /83/2008	1	Q57H, V182I, R361I	D151G, D339N
	А/Москва/24/09	1/4	н/в	н/в
	А/Липецк/321/09	1/4	T10M	н/в
	А/Москва /26/09	1	н/в	T19A, P386H
	А/Москва/21/09	1/8	н/в	I30V
	А/Липецк/303/09	1/16	T10M	P154S, H336N, D339N
	А/Москва/30/09	1/2	н/в	н/в
	А/Липецк/225/09	1/4	T10M	T32I, P154S, H336N, D339N
	А/Липецк/346/09	1/4	н/в	P386H
	*** 2010-11	А/Владивосток/2/2010	1	V43I, E50K
А/ Владивосток/3/2010		1	V43I, E50K	D127N, I307M, R430S
А/Владивосток/4/2010		1	V43I, E50K, D375N	D127N, I307M
А/Владивосток/10/2010		1/4	S114T	D127N, I307M
А/Владивосток/11/2010		1/8	N122S	D127N, I307M
А/Владивосток/1/2010		1	н/в	D127N, I307M
А/Владивосток/10/2011		1/8	н/в	D127N, I307M
*** 2011-12	А/Владивосток /4/2011	1/4	н/в	D127N, I307M
	А/Москва/02/12	1	н/в	R428G
	А/Москва/03/12	1	S114A	R428G, T434N
	А/Оренбург/50/2012	1/4	S114A	н/в
	А/Оренбург/46/2012	1/4	S114A	н/в
	А/Оренбург/39/2012	1/4	S114A	н/в
	А/Липецк/117/2012	1	I25M, Q33R, S45N, T48I, N278K	н/в
	А/Чебоксары/40/2012	1/4	I25M, Q33R, S45N, T48I, N278K	T434N
	А/Владивосток/3/2012	1/4	N278K	T434N
	А/Ярославль/81/2012	н/д	I25M, Q33R, S45N, T48I, N278K	T434N
А/Томск/1/2012	1/4	н/в	н/в	

Примечание. \* – титр взаимодействия штамма с эталонной сывороткой в РТГА до ... титра; \*\* – титр взаимодействия штамма с сывороткой к эталону А/Brisbane/10/2007 по сравнению с гомологичным; \*\*\* – титр взаимодействия штамма с сывороткой к эталону А/Perth/16/2009 по сравнению с гомологичным. Н/д – не диагностировали. Н/в – не выявили.

**Результаты и обсуждение**

По данным ЦЭЭГ, в анализируемый период доминирующая роль штаммов вируса гриппа А(Н3N2) как этиологического фактора эпидемических подъемов была отмечена в 2 из 5 сезонов – 2008–2009 гг. (51%) и

2011–2012 гг. (68%). В эпидемическом сезоне 2007–2008 гг. долевое участие штаммов гриппа этого подтипа составляло 14%; в 2009–2010 гг. штаммы не детектировали; в 2010–2011 гг. были изолированы только от спорадических случаев заболевания (5%).

В рассматриваемый период антигенные свойства большинства циркулировавших штаммов вируса гриппа А(Н3N2) имели близкое родство с эталонными вирусами, рекомендованными в качестве вакцинных в соответствующие сезоны – А/Brisbane/10/2007 (2007–2009 гг.) и А/Perth/16/2009 (2010–2012 гг.). При этом популяция штаммов, выделенных в 2008–2009 гг., была гетерогенной по антигенным свойствам, так как часть из них имела большее сродство к последнему из эталонов (по данным ЦЭЭГ, их количество составило 40%), что и определило начало дрейфовой изменчивости этого вируса и замену вакцинного штамма.

В исследования по изучению молекулярно-генетических свойств выделенных штаммов были отобраны представители 5 сезонов, подобных или отличных по антигенным свойствам по отношению к эталонным вирусам, а также выделенные на разных территориях РФ; в целом количество изученных штаммов составило 34, среди которых 7 штаммов были изолированы в сезоне 2007–2008 гг., 8 – в 2008–2009 гг., 8 – в 2010–2011 гг. и 11 – в 2011–2012 гг. (см. таблицу).

Результаты молекулярно-генетических исследований трех белков (НА, NA и М) изученных вирусов гриппа А(Н3N2) показали, что в период с 2007 по 2012 г. в строении НА и NA происходили ежегодные изменения, и аминокислотные замены регистрировали в 4 сайтах связывания АТ молекулы НА (А, В, D, E) и NA. При этом для всех из них была характерна мутация S31N в М-белке, определившая резистентность к препаратам адамантанового ряда.

Обнаруженные специфические мутации в молекуле НА штаммов А(Н3N2) имели временные и географические особенности: штаммы 2007–2008 гг. содержали общую для всех замену Q173K. Часть штаммов несли мутацию L157S (сайт В). Все штаммы 2010–2011 гг. (выделены только в г. Владивостоке) несли общие для всех замены I260M, P162S и R261Q. Интересно отметить, что такие же замены встречались у вирусов, циркулировавших в 2010–2011 гг. преимущественно в восточных странах, в частности Японии и Китае [11]. Также зафиксированы мутации E62K (сайт E), N189K (сайт В) и N144K (сайт А). Штаммы 2011–2012 гг. несли мутации A198S (сайт B2), N189K (сайт В), I202T (сайте D) I212T, N145S, V223I, D487N, при этом часть штаммов также имела замену, N144D (сайт А), другие штаммы – N278K (сайт С).

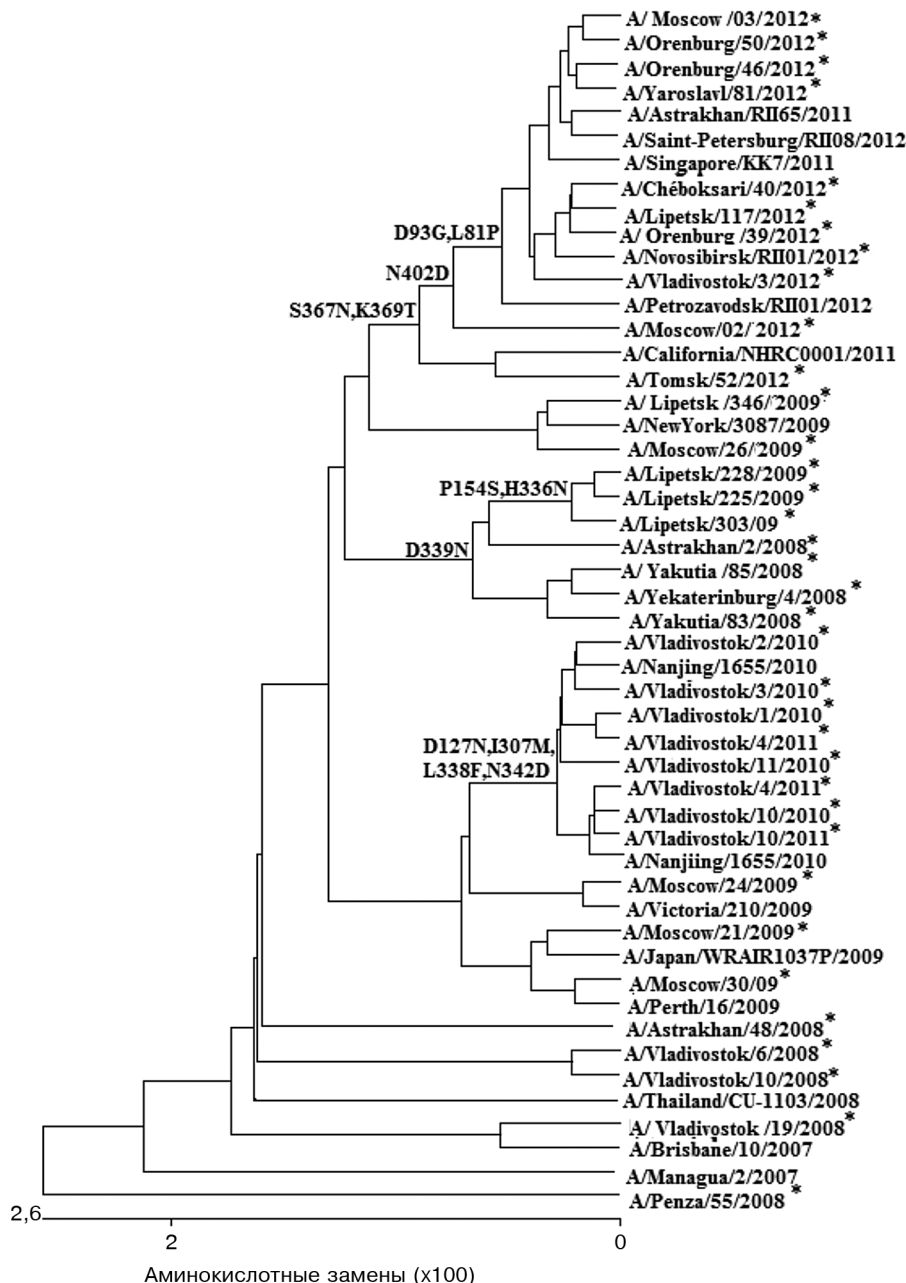


Рис. 2. Филогенетическое сравнение генов нейраминидазы вируса гриппа А(Н3N2).

В последовательности NA штаммов сезона 2007–2008 гг. обнаружили аминокислотные замены V215I; 2010–2011 гг. – L338F, N342D, N402D; 2011–2012 гг. – L81P, D93G, S367N, K369T, N402D.

Следует отметить, что в последовательностях NA всех исследуемых вирусов гриппа А (Н3N2) 2007–2012 гг. мутаций, отвечающих за устойчивость к озельтамивиру (E119V, R292K и N294S) и занамивиру (Q136K), не выявили.

Полученные результаты позволили отнести штаммы к кладам и генетическим группам: в сезоне 2007–2008 гг. штаммы имели замены в HA и NA, характерные для клада A/Brisbane/10/2007 [7]; штаммы эпидемического сезона 2010–2011 гг., циркулировавшие на востоке страны, относились к кладу A/Perth/16/200, генетической группе A/Victoria/210/2009; сезона 2011–2012 гг. – к кладу A/Victoria/208, при этом штаммы, имевшие замены N145S, N144D, V223I, D487N относятся к генетической группе 3A – A/Stockholm/18/2011; другие штаммы с характерными заменами N145S, T48I, S45N, 278K, N189K

и A198S относятся к генетической группе 3C (A/Hong Kong/3969/2011). Все эти замены характерны для клада A/Victoria/208/09 и встречались у большинства вирусов, циркулирующих во всём мире [12].

На рис. 1 и 2 представлены дендрогаммы, построенные на основе сравнения аминокислотных последовательностей HA и NA. Результаты исследований показали, что все изученные штаммы вируса гриппа А(Н3N2) имели высокую гомологию как с другими российскими штаммами (данные ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России), так и со штаммами, циркулировавшими в разных странах мира. У штаммов 2011–2012 гг., изученных в ЦЭЭГ, отметили значимые замены в последовательностях HA и NA, связанные с возникновением или потерей сайта гликозилирования (в HA – S45N и N144D, в NA – S367N/K369T и N402D соответственно).

Кроме того, при анализе антигенных и молекулярно-генетических свойств штаммов установили, что наличие или отсутствие тех или иных мутаций не влияло на родство к эталонным вирусам в пределах одного клада и генетической группы, в то же время при замене эталонных штаммов всегда определяли мутации, характерные для другого клада и генетической группы.

Таким образом, в период 2007–2012 гг. эволюция вирусов гриппа А(Н3N2), выделенных и изученных в ЦЭЭГ, шла в направлении A/Brisbane/10/2007(2007–2008)-A/Perth/16/2009(2009–2010)-A/Victoria/208/2009(2011–2012), при этом штаммы принадлежали к разным кладам и генетическим группам, что коррелирует с результатами, полученными другими исследователями как в нашей стране, так и за рубежом [11, 12]. Вместе с тем,

несмотря на высокий уровень гомологии российский изолятов, среди них есть вирусы, несущие специфические замены в последовательности HA (T10M, Q57H, S114A, V182I) NA (P154S, T434N), которые не встречаются у вирусов, циркулирующих в других странах мира.

Отсутствие зависимости между антигенными и генетическими свойствами штаммов указывает на важность проведения молекулярно-генетического анализа для более детального изучения свойств вируса гриппа А(Н3N2) и понимания направления его эволюционной изменчивости. Кроме того, полученные результаты показали близкое родство циркулировавших штаммов с А(Н3N2) – компонентом гриппозных вакцин, а также их высокую чувствительность к препаратам с антинейраминидазной активностью (озельтамивир и занамивир) и резистентность к препаратам адамантанового ряда (ремантадин и амантадин).

Нуклеотидные последовательности штаммов были депонированы в базу GenBank (JQ988024–JQ988050).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бурцева Е.И., Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Прилипов А.Г., Альховский С.В., Львов Д.К. Анализ результатов надзора, лабораторной диагностики и выделения штаммов вирусов гриппа в базовых лабораториях ЦЭЭГ в период 2009–2011 гг. В кн.: Сборник статей и тезисов «Грипп: эпидемиология, профилактика и лечение», СПб.; 2011: 12–6.
2. Киселев О.И. Грипп и гриппоподобные инфекции. Бюллетень пленарного заседания Проблемной комиссии РАМН. СПб., 2010.
3. Киселев О.И. Геном пандемического вируса гриппа A/H1N1v-2009. М.: Димитрейд График Групп; 2011.
4. Лукашов В.В. Молекулярная эволюция и филогенетический анализ. М.: Бином; Лаборатория знаний; 2009.
5. Bhatt Samir, Holmes Edward C., Pybus Oliver G. The genomic rate of molecular adaptation of the human influenza a virus. Mol. Biol. Evol. J. 2011; 28(9): 2443–51.
6. Bouvier N. M., Palese P. The biology of influenza viruses. Vaccine J. 2008; 26: 49–53.
7. Byarugaba D. K., Ducatez M. F., Erima B., Mworosi E. A., Millard M., Kibuuka H. et al. Molecular epidemiology of influenza A/H3N2 viruses circulating in Uganda. PLoS O 2011; 6(11): e27803.
8. Davies H.W., Appleyard G., Cunnighan P., Pereira M.S. The use of continuous cell line for the isolation of influenza virus. Bull. WHO. 1978; 56: 1991–3.
9. Dapat I. C., Dapat C., Baranovich T., Suzuki Y., Kondo H., Shobugaw Y. et al. Genetic characterization of human Influenza viruses in the pandemic (2009–2010) and post-pandemic (2010–2011) periods in Japan. PLoS ONE J. 2012; 124: 15–22.
10. Harper S., Klimov A., Uyeke T., Fukuda K. Influenza. Clin. Lab. Med. J. 2002; 885: 863–82.
11. McCauley J., Daniels R., Lin Yi Pu, Zheng X., Gregory V., Whittaker L. et al. Report prepared for the WHO annual consultation on the composition of influenza vaccine for the Northern Hemisphere (14th–17th February 2011). London; 2011. vol. 70. URL: <http://www.nimr.mrc.ac.uk/who-influenza-centre/annual-and-interim-reports/>
12. McCauley J., Daniels R., Lin Yi Pu, Zheng X., Gregory V., Whittaker L. et al. Report prepared for the WHO annual consultation on the composition of influenza vaccine for the Northern Hemisphere<sup>20</sup> (20th–22nd February 2012). London; 2012. vol. 70. URL: <http://www.nimr.mrc.ac.uk/who-influenza-centre/annual-and-interim-reports/>
13. Nicholls H. Pandemic influenza: the inside story. PLoS Boil. J. 2006; 4: 0156–60.
14. Nelson M. I., Holmes E. C. The evolution of epidemic influenza. Nat. Rev. genet. 2007; 8(3): 196–205.

## REFERENCES

1. Burtseva E.I., Shchelkanov M.Yu, Kolobukhina L.V., Prilipov A.G., Alkhovskiy S.V., Lvov D.K. Analysis of the results of surveillance, laboratory diagnosis and isolation of strains of influenza viruses in laboratories TSEEG base in the period 2009–2011. In: Influenza: epidemiology, prevention and treatment: Saint Petersburg, 2011: 12–6 (in Russian).
2. Kiselev O.I. InFluenza and InFluenza-like infection. Saint Petersburg, 2010 (in Russian).
3. Kiselev O.I. The Pandemic influenza virus genome A/H1N1v-2009. Moscow; 2011 (in Russian).
4. Lukashov V.V. Molecular evolution and phylogenetic analysis. Moscow; 2009 (in Russian).
5. Bhatt Samir, Holmes Edward C., Pybus Oliver C. The genomic rate of molecular adaptation of the human influenza A virus. Mol. Biol. Evol. J. 2011; 2443–51.
6. Bouvier N. M., Palese P. The biology of influenza viruses. Vaccine J. 2008; 26: 49–53.
7. Byarugaba D. K., Ducatez M. F., Erima B., Mworosi E. A., Millard M., Kibuuka H. et al. Molecular epidemiology of influenza A/H3N2 viruses circulating in Uganda. PLOSO 2011; 6(11): e27803.
8. Davies H.W., Appleyard G., Cunnighan P., Pereira M.S. The use of continuous cell line for the isolation of influenza virus. Bull. WHO. 1978; 56: 1991–3.
9. Dapat I. C., Dapat C., Baranovich T., Suzuki Y., Kondo H., Shobugaw Y. et al. Genetic characterization of human influenza viruses in the pandemic (2009–2010) and post-pandemic (2010–2011) Periods in Japan. PLoS ONE J. 2012; 124: 15–22.
10. Harper S., Klimov A., Uyeke T., Fukuda K. Influenza. Clin. Lab. Med. J. 2002; 885: 863–82.
11. McCauley J., Daniels R., Lin Yi Pu, Zheng X., Gregory V., Whittaker L. et al. Report prepared for the WHO annual consultation on the composition of influenza vaccine for the Northern Hemisphere (14th–17th February 2011). London; 2011. vol. 70. URL: <http://www.nimr.mrc.ac.uk/who-influenza-centre/annual-and-interim-reports/>
12. McCauley J., Daniels R., Lin Yi Pu, Zheng X., Gregory V., Whittaker L. et al. Report prepared for the WHO annual consultation on the composition of influenza vaccine for the Northern Hemisphere<sup>20</sup> (20th–22nd February 2012). London; 2012. vol. 70. URL: <http://www.nimr.mrc.ac.uk/who-influenza-centre/annual-and-interim-reports/>
13. Nicholls H. Pandemic influenza: the inside story, PLoS Biol. J. 2006; 4: 0156–60.
14. Nelson M. I., Holmes E. C. The evolution of epidemic influenza. Nat. Rev. J(genet), 2007; 8(3): 196–205.

Поступила 24.01.13

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013  
УДК 615.371:578.832.1].07

Т.А. Смолоногина<sup>1</sup>, Ю.А. Дешева<sup>1</sup>, А.Р. Рекстин<sup>1</sup>, А.Н. Миронов<sup>2</sup>, Л.Г. Руденко<sup>1</sup>

## Оценка антинейраминидазных антител в клинических испытаниях живой гриппозной вакцины «Орвакс» подтипа А(Н5N2)

<sup>1</sup>ФГБУ «НИИ экспериментальной медицины» СЗО РАН, 197376, Санкт-Петербург; <sup>2</sup>ФГБУ Научный центр экспертизы средств медицинского применения Минздрава России, 127051, Москва

В текущем исследовании изучено формирование антинейраминидазных антител (АТ) во время первой и второй фаз клинических испытаний живой гриппозной вакцины (ЖГВ) на основе вакцинного штамма А/17/утка/Потсдам/86/92(Н5N2). Для проведения твердофазной реакции ингибирования нейраминидазной активности (РИНА) подготовлен диагностический реассортантный вирус гриппа RN2/57-human A(H7N2), содержащий нейраминидазу (NA) от холодоадаптированного донора аттенуации А/Ленинград/134/17/57 (H2N2). Показано, что двукратная прививка различными дозами моновалентной ЖГВ подтипа А(Н5N2) привела к статистически значимому увеличению титров АТ к NA вакцинного штамма, сопровождавшемуся 2-кратными сероконверсиями у 19,5–33,3% вакцинированных. Совпадение результатов двух тестов (реакция микронейтрализации и твердофазная РИНА) в отношении выявления или невыявления сероконверсий в одних и тех же парах сывороток крови у вакцинированных волонтеров составило 73,2%, при этом выявили статистическую взаимосвязь средней силы между достоверным приростом титров сывороточных нейтрализующих и антинейраминидазных АТ ( $p = 0,04$ ).

Ключевые слова: живая гриппозная вакцина; нейраминидаза; антитела.

Контактная информация:

Смолоногина Татьяна Анатольевна, канд. биол. наук; e-mail: smolonogina@mail.ru