

## ОБЗОРЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 615.371:578.832.1:636.6

Костина Л.В.<sup>1</sup>, Забережный А.Д.<sup>1,2</sup>, Гребенникова Т.В.<sup>1</sup>, Антипова Н.В.<sup>3</sup>, Алипер Т.И.<sup>1,2</sup>, Непоклонов Е.А.<sup>4</sup>

### ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ГРИППА ПТИЦ В ПТИЦЕВОДСТВЕ

<sup>1</sup>ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва;

<sup>2</sup>Всероссийский НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко» ФАНО России, 109428, г. Москва;

<sup>3</sup>Медицинский институт Российского университета дружбы народов, 117198, г. Москва;

<sup>4</sup>Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор), 107139, г. Москва

В обзоре представлены актуальные данные о видах используемых и разрабатываемых вакцин против гриппа птиц. Рассмотрены инактивированные цельновирионные вакцины, живые векторные вакцины, а также экспериментальные вакцины, полученные с использованием современных генно-инженерных методов (субъединичные вакцины, вакцины на основе вирусоподобных частиц, ДНК-вакцины). Отмечена эффективность использования технологии обратной генетики вирусов гриппа для усовершенствования процесса получения прототипных вирусных штаммов для инактивированных и живых аттенуированных вакцин.

Ключевые слова: *грипп птиц; вакцины; обратная генетика вируса гриппа.*

**Для цитирования:** Костина Л.В., Забережный А.Д., Гребенникова Т.В., Антипова Н.В., Алипер Т.И., Непоклонов Е.А. Вакцины против гриппа птиц в птицеводстве. *Вопросы вирусологии.* 2017; 62 (2): 53-60.

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-2-53-60>

**Kostina L.V.<sup>1</sup>, Zaberezhnyy A.D.<sup>1,2</sup>, Grebennikova T.V.<sup>1</sup>, Antipova N.V.<sup>3</sup>, Aliper T.I.<sup>1,2</sup>, Nepoklonov E.A.<sup>4</sup>**

### VACCINES AGAINST AVIAN INFLUENZA IN POULTRY

<sup>1</sup>Federal Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, 123098, Russian Federation;

<sup>2</sup>Y.R. Kovalenko All-Russian Scientific Research Institute of Experimental Veterinary, Moscow, 109428, Russian Federation;

<sup>3</sup>Institute for Medicine, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, 117198, Russian Federation;

<sup>4</sup>Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance (Rosselkhozнадзор), Moscow, 107139, Russian Federation

The review presents the latest data about the types of vaccines against avian influenza that are used in current medical practice or are under development. Inactivated whole virion vaccines, live vector vaccines, as well as experimental vaccines developed using genetic engineering techniques (e.g. subunit vaccines, VLP vaccines, DNA vaccines) were considered. The efficiency of influenza reverse genetic technology for the development of prototype vaccine strains was noted.

Key words: *avian influenza; vaccines; reverse genetics of influenza virus.*

**For citation:** Kostina L.V., Zaberezhnyy A.D., Grebennikova T.V., Antipova N.V., Aliper T.I., Nepoklonov E.A. Vaccines against avian influenza in poultry. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal).* 2017; 62(2): 53-60. (In Russ.)

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-2-53-60>

**For correspondence:** Lyudmila V. Kostina, PhD in biology, Senior research scientist, Applied virology and biotechnology laboratory, Federal Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, 123098, Russian Federation. E-mail: [lvkostina@mail.ru](mailto:lvkostina@mail.ru)

#### Information about authors:

Grebennikova T.V., <http://orcid.org/0000-0002-6141-9361>

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 28 September 2016

Accepted 11 October 2016

Грипп птиц является экономически значимым вирусным заболеванием с широким спектром проявлений от асимптоматической инфекции до острого заболевания со смертностью среди кур до 100%.

Вирусы гриппа относятся к семейству Orthomyxoviridae и делятся на 3 рода: *Influenzavirus A*, *Influenzavirus B* и *Influenzavirus C*. Геном вируса гриппа представлен сегментированной одноцепочечной (-)РНК. Восемь

**Для корреспонденции:** Костина Людмила Владимировна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. прикладной вирусологии и биотехнологии ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва. E-mail: [lvkostina@mail.ru](mailto:lvkostina@mail.ru)

РНК-сегментов генома вирусов гриппа А и В кодируют вирусные белки PB1, PB2, PA, HA, NP, NA, M и NS.

Грипп птиц вызывает вирус гриппа А, который подразделяется на подтипы на основании антигенных различий двух типов поверхностных гликопротеинов: гемагглютинина (HA) и нейраминидазы (NA). На сегодняшний день идентифицировано 18 подтипов HA и 11 подтипов NA. Из них вирусы гриппа А с подтипом HA1–HA16 и NA1–NA9 были выделены от водоплавающих птиц [1].

Стратегия борьбы с высокопатогенным гриппом птиц (ВПГП) традиционно включает мероприятия по недопущению распространения инфекции и в случае возникновения вспышки полную депопуляцию больных и подозрительных по заболеванию птиц (стратегия «stamping-out»), выполнение строгих ветеринарно-санитарных мер по уничтожению вируса во внешней среде и предотвращению распространения его на соседние территории [2].

С момента открытия в 1955 г. этиологического агента заболевания в мире произошло более 30 эпизоотий ВПГП. Наиболее крупной из них является панзоотия ВПГП H5N1, возникновение которой изменило ситуацию с использованием вакцинации для борьбы с заболеванием. Вспышка ВПГП H5N1 началась в Китае в 1996 г. и распространилась в течение 2003 г. за его пределы в Азию, а затем в 2006 г. в Европу и Африку. К 2007 г. 64 страны были неблагополучны по ВПГП H5N1, а количество погибшей от данного заболевания домашней и дикой птицы превысило 250 млн [3]. Тактика тотальной депопуляции при возникших множественных вспышках в ряде стран Юго-Восточной Азии в 2003–2004 гг. оказалась недостаточно эффективной для борьбы с эпизоотией. Вакцинацию против ВПГП H5N1 проводили сначала в Гонконге (2002), затем в Индонезии (2003), Китае (2004), Индии (2006), Пакистане (2006), Вьетнаме (2005), России (2005) и Египте (2006) [4].

В настоящее время в большинстве неблагополучных по гриппу птиц стран вакцинация против данного заболевания запрещена или не проводится. Вакцины применяются преимущественно в некоторых развивающихся странах и странах с переходной экономикой, но в меньшей степени в развитых странах [5].

За период 2004–2010 гг. самое большое количество доз вакцин против ВПГП H5N1 в птицеводстве использовали 4 страны, принявшие программу вакцинации: Китай (91%), Индонезия (2,3%), Вьетнам (1,4%) и Египет (4,7%). Менее 1% от общего количества доз вакцин против ВПГП H5N1 время от времени использовали ряд других стран: Кот-д'Ивуар, Франция, Казахстан, Монголия, Пакистан, Нидерланды, Судан и Россия. Вакцины против ВПГП с подтипом HA H7 использовались в Пакистане (1995), КНДР (2005) и Мексике (2012) [5].

В России в соответствии с «Правилами по борьбе с гриппом птиц», утвержденными приказом Минсельхоза РФ от 06.07.06 № 195, среди мероприятий по ликвидации гриппа птиц принята вынужденная (в некоторых случаях профилактическая) вакцинация. Основаниями для проведения обязательной вакцинации являются тенденция к дальнейшему распространению инфекции; защита ценной племенной продукции; защита редких и ценных птиц; создание защитной зоны вокруг промышленных птицеводческих организаций, в которой вся содержащаяся выгульным способом птица подвергается вакцинации; возникновение стационарно неблагополучных пунктов по маршрутам миграции диких перелетных птиц [2].

Несмотря на относительно ограниченное (географи-

чески) использование вакцин для борьбы с ВПГП среди домашней птицы, в научных публикациях постоянно появляются сообщения о новых подходах и платформах в разработке вакцин против гриппа птиц. Целью настоящего обзора является представление актуальной информации о вакцинации птиц против гриппа с освещением таких аспектов, как виды используемых и разрабатываемых вакцин, стратегии вакцинации.

Основными стратегиями вакцинации против гриппа птиц являются рутинная вакцинация в неблагополучных регионах; эмерджентная (вынужденная) вакцинация в случае возникновения вспышки; превентивная (профилактическая) вакцинация при высоком риске заноса ВПГП в поголовье [6].

Идеальная вакцина против гриппа должна защищать птицу от заболевания, стимулируя протективный иммунный ответ, а также предотвращать ее инфицирование [4]. Однако существующие на данный момент коммерческие гриппозные вакцины не способны предотвратить инфицирование и обеспечить стерильный иммунитет. Тем не менее лабораторные и полевые исследования показали, что использование вакцин против гриппа у птиц может помочь достичь ряда целей: защитить птицу от проявления клинических признаков и смерти; снизить выделение полевого вируса в окружающую среду в случае инфицирования вакцинированной птицы; предотвратить горизонтальную передачу (контактным путем) полевого вируса; увеличить порог вирусной инфекции; повысить устойчивость птицы к вирусам гриппа птиц. Все вышеперечисленное определяется термином «защита» в случае применения вакцин против гриппа у птиц [6, 7].

Эффективность гриппозных вакцин зависит от антигенных характеристик вакцинного штамма, технологии изготовления, используемого адьюванта, количества антигена в составе вакцины, способа введения вакцины, возраста и вида птицы, а также кратности вакцинации и длительности поствакцинального иммунитета [4].

Антигенное соответствие между HA вакцинного и полевого вирусов гриппа является одним из основных факторов эффективности гриппозных вакцин. Выбор вирусного штамма, который будет включен в состав вакцин для птиц, должен осуществляться на основе сравнительного анализа циркулирующих полевых штаммов со штаммами, входящими в состав лицензированных вакцин. Чем выше идентичность генов HA у вакцинного и полевого штаммов, тем более эффективно вакцинация снижает размножение вируса гриппа в респираторном тракте и выделение его в окружающую среду в случае заражения. Использование вакцин с низкой степенью гомологии по отношению к циркулирующему вирусу может привести к клиническому заболеванию и усилить экскрецию вируса во внешнюю среду у вакцинированного поголовья при заражении [4].

Вакцины против гриппа птиц А могут быть подразделены на 4 основные категории [4, 8]:

- инактивированные цельновирионные вакцины;
- вакцины на основе белка HA (либо потенциально других белков вируса гриппа), полученного в системе экспрессии *in vivo* (живые векторные вакцины);
- вакцины на основе белка HA (либо потенциально других белков вируса гриппа), полученного в системе экспрессии *in vitro*;
- вакцины на основе нуклеиновых кислот (преимущественно ДНК-вакцины).

Все они имеют свои достоинства и недостатки.

В птицеводстве на данный момент используется 2 основных типа вакцин против гриппа птиц (инактивированные цельновирионные и живые векторные вакцины), протективная эффективность которых основана на продукции нейтрализующих антител к определенному подтипу НА вируса гриппа птиц.

### Инактивированные цельновирионные вакцины

Большинство противогриппозных вакцин, применяемых в птицеводстве, являются инактивированными, изготовленными с использованием вирусов гриппа птиц с подтипами НА H5, H7 и H9 [9, 10].

Более 30 лет данный вид вакцин был единственным и производился на основе низкопатогенных вариантов вируса гриппа, изолированных во время вспышек среди поголовья домашней птицы либо от диких/одомашненных птиц. Инактивированные вакцины бывают гомологичными и гетерологичными в зависимости от используемого вирусного штамма. Гомологичный вид вакцины готовится из эпизоотических изолятов или стандартных штаммов, у которых подтипы НА и NA совпадают с циркулирующим полевым вирусом. Гетерологичный вид вакцины готовится на основе вируса со схожим с диким вирусом подтипом НА, но отличающимся подтипом NA. Использование гетерологичных инактивированных вакцин делает возможным применение подхода DIVA (Differentiation of Infected from Vaccinated Animals), при использовании которого можно дифференцировать вакцинированную и зараженную птицу [11].

Инактивированные вакцины производятся с использованием куриных эмбрионов, инфицированная аллантоисная жидкость от которых инактивируется физическими или химическими методами. Для инактивации используется формалин, β-пропиолактон, этиленамин. В отличие от субъединичных вакцин, используемых для профилактики гриппа у людей, вакцины для птицеводства, как правило, не очищаются и не концентрируются. Инактивированная аллантоисная жидкость в дальнейшем эмульгируется с адьювантом [12].

Инактивированные цельновирионные вакцины лицензированы для парентерального введения (подкожного или внутримышечного) и особенно подходят для защиты взрослых кур, индеек и других птиц в эмерджентной ситуации, в частности при проведении круговой вакцинации в очаге инфекции. Применять вакцины такого типа у цыплят наиболее эффективно в возрасте 2–3 нед [13].

Основным недостатком инактивированных вакцин является то, что у вакцинированной птицы образуются антитела не только к протективным эпитопам белков НА и NA, но и к внутренним белкам М1 и NP. Как следствие, используя традиционные иммунологические методы анализа, невозможно отличить вакцинированную птицу от инфицированной [14].

Изначально при возникновении эпизоотии ВППП H5N1 инактивированные вакцины, используемые в Азии, Африке и Европе, готовили с использованием 4 “классических” низкопатогенных вакцинных штаммов: A/chicken/Hidalgo (Mexico)/1994 H5N2 (Mex/94), A/turkey/England/N28/1973 H5N3 (England/73), A/turkey/Wisconsin/68 (H5N9) и A/chicken/Italy/22A/1998 (H5N9). Позднее для получения инактивированных вакцин стали использовать еще 2 высокопатогенных штамма: A/chicken/Legok (Indonesia)/2003 (H5N1) (clade 2.1.1) и A/duck/Novosibirsk/02/2005 (H5N1) (clade 2.2) [8, 15].

Стремительное развитие технологий обратной генетики вируса гриппа революционно изменило возможности создания прототипных вирусных штаммов для инактивированных и живых аттенуированных вакцин. В 1999 г. двумя независимыми группами ученых впервые были получены рекомбинантные вирусы гриппа [16, 17]. Суть метода состояла в том, что отдельные молекулы кДНК, кодирующие 8 сегментов РНК вируса гриппа А, были клонированы в плазмиду между промотором и терминатором клеточной РНК-полимеразы I. Полученные 8 плазмид затем трансфицировали в клетки эукариот, в ядре которых транскрибировалась вирусная РНК (вРНК). При этом белки полимеразного комплекса (РА, РВ1, РВ2) и белок NP, необходимые для сборки рибонуклеопротеинового комплекса и начала жизненного цикла вируса, были получены из экспрессионных плазмид, которые также трансфицировали в клетки. В 2000 г. E. Hoffmann и соавт. [18] модифицировали метод, предложив так называемую систему РНК-полимеразы I/II. Основой является плазида рhW2000, имеющая в своем составе промотор и терминатор клеточной РНК-полимеразы I; промотор полимеразы II цитомегаловируса человека и сайт полиаденилирования бычьего гормона роста. Таким образом, синтез вРНК и вирусной матричной РНК (мРНК) происходит с одной матрицы кДНК.

Метод обратной генетики, примененный для вируса гриппа, позволяет создавать инактивированные вакцины с любым необходимым подтипом НА или NA. При этом существует возможность получения новых вакцинных штаммов с требуемыми антигенными характеристиками, со сниженной вирулентностью и повышенной пролиферативной активностью.

Для аттенуации вируса метод обратной генетики является более эффективным и универсальным по сравнению с традиционным способом, при котором для снижения вирулентности необходимо провести множество пассажей вируса гриппа на куриных эмбрионах. Аттенуация может быть проведена путем либо введения мутаций во внутренние гены вируса, либо удаления факторов вирулентности высокопатогенных штаммов вируса гриппа. Так, мутации в двух генах, кодирующих полимеразные белки РВ1 и РВ2 вируса гриппа птиц A/guinea fowl/Hong Kong/WF10199 (H9N2), приводят к утрате патогенности вируса для кур [19]. При делеции неструктурного белка NS1 либо при внесении мутаций в белок М2, необходимый для формирования ионного канала, также происходит аттенуация вируса гриппа А [20, 21]. Изменение последовательности аминокислот в сайте нарезания НА или полное удаление этого сайта у ВПВГ при помощи направленного мутагенеза приводит к приобретению им характеристик низкопатогенных вирусов [22].

В ветеринарии с помощью метода обратной генетики были разработаны вакцины против вируса гриппа для использования у лошадей [23], свиней [24] и птиц [22, 25, 26]. Такие вакцины относятся к традиционным, но полученным альтернативным методом.

В 2006 г. в Китае был создан рекомбинантный вирус Re-1, в котором ген НА H5 и ген NA N1 были получены от штамма вируса гриппа птиц A/goose/Guangdong/1996 (clade 0), а остальные 7 генов – от A/PuertoRico/8/1934 (PR8) [27]. Из перечисленных 7 производственных штаммов вируса гриппа в качестве вакцинных в период 2002–2008 гг. наиболее широко использовались 2 штамма (Mex/94 и Re-1). Штамм Re-1 производился в Китае для внутреннего использования, а также для экспорта в Гон-

конг, Египет и Индонезию. Позднее он был замещен более эффективными реассортантными штаммами Re-5 (с генами HA и NA от вируса гриппа A/duck/Anhui/1/2006, clade 2.3.4) и Re-6 (с генами HA и NA от вируса гриппа A/duck/Guangdong/S1322/2010, 2.3.2 clade). Для направленного использования в НИИ в Харбине (Китай) методом обратной генетики были получены еще 2 вакцинных штамма: Re-4 (гены HA и NA были получены от изолята A/chicken/Shanxi/2/2006 (clade 7), который использовался только в двух провинциях Китая (Шаньси и Нинся) в 2006–2007 гг.; Re-Egy (гены HA и NA были получены от египетского изолята A/chicken/Egypt/18-H/2008 (clade 2.2.1), который использовался только в Египте в 2011 г. [28].

В России на данный момент в птицеводстве применяются инактивированные гомологичные гриппозные вакцины. Тем не менее с помощью метода обратной генетики вируса гриппа также создаются прототипные вакцинные штаммы-кандидаты. Так, в лаборатории прикладной вирусологии и биотехнологии ФГБУ “ФНИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи” был создан прототипный штамм гесPR8-H5N1, имеющий ген HA от высокопатогенного вируса гриппа птиц A/Курган/05/2005 (H5N1), выделенного на территории России, а остальные гены – от высокопродуктивного штамма A/Puerto Rico/8/34 (H1N1). Установлено, что новый штамм гесPR8-H5N1 не вызывает болезнь у птицы, имеет требуемую антигенную специфичность и накапливается с высокой эффективностью при культивировании. Кроме того, опытная инактивированная эмульгированная вакцина, изготовленная в лаборатории на основе штамма гесPR8-H5N1, защищала 1,5-месячных цыплят при проведении контрольного заражения высокопатогенным вирусом A/Курган/05/2005 (H5N1) [25].

В 2014 г. получен мутантный вариант HA вируса A/chicken/Kurgan/5/05 (H5N1) с заменой 58Lys→Ile в малой HA2-субъединице, порог pH-активации которого снижен, а стабильность увеличена как в кислой среде, так и при повышенной температуре. Показано, что вирусоны, содержащие мутантный HA, устойчивы к расщеплению трипсином. Повышенная стабильность вирионов мутантного HA коррелирует с увеличением его продукции как антигена в вакцинном препарате. Предложена гипотеза, в соответствии с которой низкая конформационная стабильность HA высокопатогенных штаммов вируса гриппа птиц определяет низкий выход иммунокомпетентного HA в вакцинных препаратах этих вирусов и, возможно, их низкую иммуногенность [29].

#### **Вакцины на основе белка HA (либо потенциально других белков вируса гриппа), полученного в системе экспрессии *in vivo***

Преимуществом вакцин, полученных в системе экспрессии *in vivo*, являются стимуляция как гуморального, так и клеточного иммунного ответа при парентеральном использовании, а также небольшие производственные затраты при получении протективного антигена.

##### *Живые вирусные векторные вакцины*

В сравнении с инактивированными вакцинами живые векторные гриппозные вакцины способны индуцировать более сбалансированный Th1- и Th2-иммунный ответ и, как правило, имеют в своем составе, кроме гена HA, антиген другого вируса и обеспечивают защиту сразу от двух вирусных заболеваний. Протективные антигены вируса гриппа могут синтезироваться *in vivo* в составе бактериальных и вирусных векторов [1].

Вирусные векторы представляют собой рекомбинант-

ные вирусы, в геном которых встроены целевой ген с набором регуляторных элементов. Имеются сообщения о разработке векторных вакцин против ВППП H5N1 с использованием таких вирусных векторов, как вирус оспы кур (rFPV), герпесвирус индеек (rHVT), вирус болезни Ньюкасла (rNDV), вирус инфекционного ларинготрахеита (rILT), вирус лейкоза птиц (rALV) и др. В качестве бактериальных векторов для создания гриппозных вакцин могут использоваться аттенуированные штаммы таких бактерий, как *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Shigella flexneri* и прочие [1, 4, 30, 31].

На данный момент только 2 живые векторные вакцины против гриппа птиц лицензированы для применения в птицеводстве. Это вакцины на основе рекомбинантного вируса оспы птиц (rFPV-AIV-H5) и на основе вируса болезни Ньюкасла (rNDV-AIV-H5) [11].

Преимуществами этих двух векторных систем являются:

- индукция обширного иммунитета, включая гуморальный, клеточный и местный (при использовании вектора rNDV) иммунитет;

- отсутствие синтеза белков NP и M вируса гриппа позволяет использовать тест-системы на основе иммуноферментного анализа для обнаружения антител к белку NP и, следовательно, дифференцировать вакцинированных птиц от зараженных;

- развитие иммунного ответа в короткие сроки, кроме того, поскольку рекомбинантный вирус реплицируется в органах и тканях птицы, он обеспечивает лучшее развитие иммунного ответа при меньших по сравнению с инактивированными вакцинами дозах антигена;

- бивалентность вакцин [30, 31].

*Вакцина на основе рекомбинантного вируса оспы птиц (rFPV)*

Одна из первых векторных вакцин против гриппа птиц была разработана в 1988 г. на основе вирусного вектора rFPV [32]. Имеется множество экспериментальных данных об эффективности ее применения у кур. Была продемонстрирована возможность использования вакцин данного типа против вирусов гриппа птиц с подтипом HA H5 [33–38] и H7 [34, 39] при разных путях введения [40] и разных схемах иммунизации [35, 41].

Векторная вакцина rFPV-AIV-H5 может применяться у однодневных цыплят в инкубаториях. Вакцинация в инкубаториях имеет много преимуществ по сравнению с вакцинацией на птицефабриках, а именно:

- более высокий уровень биобезопасности;
- возможность использования автоматических и полуавтоматических (*in ovo*, подкожно или аэрозольно) методов введения вакцины;

- количество инкубаториев меньше, чем количество птицефабрик, что позволяет улучшить контроль за проведением вакцинации на отдельно взятой территории;

- птица вакцинирована и защищена от гриппа в более раннем возрасте, чем птица в птицеводческих хозяйствах [13, 30].

Показана эффективность использования вакцины rFPV-AIV-H5 при первичной вакцинации однодневных цыплят с последующей вакцинацией инактивированной гриппозной вакциной через 10–21 день (“prime-boost”-вакцинация) [41].

Установлено, что векторная гриппозная вакцина на основе rFPV обеспечивает защиту довольно быстро (1 нед), а продолжительность иммунного ответа при

этом составляет 20 и 40 нед после вакцинации с rFPV-H5 и rFPV-H5N1 соответственно [42, 43].

Тем не менее использование векторной вакцины на основе rFPV-H5 имеет ряд недостатков [1]:

- предшествующий активный иммунитет у птицы, вызванный инфицированием вирусом оспы птиц или вакцинацией традиционной вакциной против данного заболевания, а также наличие материнских антител значительно снижают эффективность вакцины rFPV-AIV-H5;

- требуются большие трудозатраты при использовании вакцины в птицеводческих хозяйствах из-за необходимости ее индивидуального введения каждой птице подкожно или в подкрыльцовую вену;

- векторная вакцина rFPV-AIV-H5 лицензирована для применения только у кур;

- нет преимущества использования такой вакцины у бройлеров, поскольку в их вакцинации против оспы кур нет необходимости.

Две живые векторные вакцины на основе rFPV, лицензированные для применения в Азии, имеют в своем составе следующие гены вируса гриппа: ген H5 вируса гриппа A/turkey/Ireland/83; гены H5 и N1 вируса гриппа A/goose/Guangdong/96. В обоих случаях ген HA высокопатогенного вируса с помощью направленного мутагенеза был изменен на характерный для низкопатогенного вируса гриппа [8]. Еще одна вакцина на основе вектора rFPV со встроенным геном HA H5 вируса гриппа A/bar-headed goose/Qinghai/3/2005 (H5N1) была лицензирована для использования в Китае и Мексике [44].

*Вакцина на основе рекомбинантного вируса болезни Ньюкасла (rNDV)*

Первоначальные попытки использовать NDV в качестве вектора для создания противогриппозных вакцин не были успешны [30]. D.E. Swayne и соавт. [45] на основе сильно аттенуированного штамма NDV B1 сконструировали рекомбинантный вирус rNDV-AIV-H7, экспрессирующий ген HA H7 вируса гриппа A/chicken/NY/13142-5/94 (H7N2). Было показано, что вакцина на основе полученного штамма rNDV-AIV-H7 обеспечивала неполную защиту привитой птицы (40%) при контрольном заражении высокопатогенными вирусами болезни Ньюкасла и гриппа птиц. При этом у птицы после однократной вакцинации наблюдался лишь слабый гуморальный ответ против HA H7 [1, 45]. Недавние исследования, выполненные на модели вируса гриппа с подтипом HA H5, дали более обнадеживающие результаты, которые в итоге позволили получить 2 коммерческие вакцины, лицензированные для использования в Китае и Мексике. При этом рекомбинантные rNDV-AIV-H5-вакцины, сконструированные на основе штамма LaSota или его производных (clone 30), обеспечивали полную защиту привитой птицы от контрольного заражения как вирусом NDV, так и гомологичными/гетерологичными вирусами гриппа подтипа H5N1 [46–48].

Широкое географическое распространение нового вируса H7N9, который унес уже сотни человеческих жизней, привлекло внимание к векторным вакцинам. Q. Liu и соавт. [49] получили новый кандидатный вакцинный штамм NDV-H7, в котором ген эктодомена HA H7 вируса A/Anhui/1/2013 (H7N9) вставлен между генами P и M вакцинного штамма NDV LaSota. Проведенные исследования показывают, что векторная вакцина на основе полученного штамма NDV-H7 полностью защищает кур от контрольного заражения вирусом H7N9 независимо от путей иммунизации.

Преимуществом вакцин на основе rNDV является возможность их массового использования (аэрозольно, добавлением в питьевую воду) с применением уже существующих технологий вакцинации против NDV. Кроме того, векторную вакцину rNDV-AIV-H5 можно использовать как у кур, так и у индеек [4]. Необходима оптимизация схемы вакцинации в соответствии с уровнем материнских антител, которые снижают эффективность вакцинации [1].

### Вакцины на основе белка HA, полученные в системе экспрессии *in vitro*

Для производства экспериментальных вакцин в разные годы был осуществлен синтез рекомбинантного белка HA с использованием культур клеток растений и животных, дрожжей, бактерий (*E. coli*) и вирусов (вируса осповакцины, некоторых нереплицирующихся аденовирусов, вируса Венесуэльского энцефаломиелиита лошадей, ретровируса, бакуловируса). Данные высокотехнологичные вакцины предназначены для индивидуального применения, несмотря на их эффективность, они не внедрены в практику из экономических соображений [1, 4].

*Вакцины на основе вирусоподобных частиц*

Одним из альтернативных способов создания противогриппозных вакцин является получение вакцин на основе гриппозных вирусоподобных частиц (ВПЧ), которые могут продуцироваться в различных экспрессионных системах (клетках насекомых, млекопитающих и растений).

ВПЧ вируса гриппа представляют собой оригинальную структуру, подобную вирусным частицам, содержащую липидную оболочку и связанные с мембраной поверхностные гликопротеины (HA, NA) в нативной конформации. В отличие от вируса дикого типа ВПЧ не содержат вирусную нуклеиновую кислоту и поэтому являются неинфекционными [50].

Данный тип вакцин стимулирует развитие гуморального и клеточного иммунного ответа. Тем не менее ВПЧ-вакцины в отличие от живых аттенуированных вакцин менее эффективно индуцируют пролиферацию цитотоксических CD8 Т-лимфоцитов и хелперных CD4 Т-лимфоцитов, так как ВПЧ не реплицируются. Для улучшения иммуногенности и протективной эффективности гриппозных ВПЧ B.Z. Wang и соавт. [51] использовали флагеллин в качестве молекулярного адьюванта для улучшения клеточного и гуморального иммунного ответа [51].

В последние несколько лет разработано некоторое количество кандидатных гриппозных вакцин на основе ВПЧ для применения в ветеринарии, включая ВПЧ для вирусов гриппа птиц подтипов H5N3, H9N2 и ВППП H5N1. При этом все они были получены с использованием бакуловирусной системы экспрессии в клетках насекомых и эмульгированы с масляным адьювантом [50].

Одна из последних работ в этой области посвящена разработке вакцин на основе химерных ВПЧ. Получена бивалентная вакцина на основе ВПЧ, состоящих из белков HA и M1 высокопатогенного вируса гриппа H5N1 и химерного белка F/HA, в котором эктодомен белка сливной (F) NDV слит с трансмембранными и цитоплазматическими доменами (TM/CT) белка HA ВППП. Полученная химерная вакцина защищает цыплят от контрольного заражения, способствуя образованию высоких титров антител к вирусам H5N1 и NDV [52].

Сокращение временных затрат для производства ВПЧ-вакцин (в пределах 1 мес), отсутствие необходимости использования куриных эмбрионов и работы с высокопатогенными штаммами вируса гриппа в технологическом процессе, а также возможность быстрого его масштабирования являются основными достоинствами ВПЧ-вакцин по сравнению с традиционными современными гриппозными вакцинами [53].

### Вакцины на основе нуклеиновых кислот (ДНК-вакцины)

Безопасность и эффективность ДНК-вакцин показана на многих моделях, тем не менее только некоторые из них применяются на практике. В отличие от вирусных и бактериальных векторов ДНК-векторы не являются иммуногенными. Обычно гриппозные ДНК-вакцины – это бактериальные плазмиды, содержащие в своем составе кДНК вируса гриппа под контролем промотора гена млекопитающих. Выполнено множество исследований с использованием плазмидной ДНК в качестве вектора для доставки генов вируса гриппа на мышах [54], хорьках [55], курах [56, 57], лошадях и свиньях [30]. При исследовании эффективности экспериментальных ДНК-вакцин были достигнуты различные уровни защиты от вируса гриппа в зависимости от используемого промотора, гена, встроенного в состав вектора, присутствия адьюванта, совместного использования плазмиды, экспрессирующей иммуномодулятор, метода и пути введения вакцины, а также модели контрольного заражения [58].

Экспериментальные ДНК-вакцины со встроенным геном НА вызывают у кур протективный иммунный ответ против различных высокопатогенных вирусов гриппа с подтипами НА Н5 и Н7. Такие вакцины продуцируют антиген *in situ*, стимулируя тем самым адаптивный гуморальный и клеточный иммунный ответ, сходный с формируемым при естественном заражении или вакцинации. Эксперименты на млекопитающих показали, что ДНК-вакцины, экспрессирующие гены НА, дают более эффективную защиту от различных антигенных вариантов вируса гриппа, чем инактивированные вакцины. Однако на птичьей модели (в том числе на курах) защита, вызываемая ДНК-вакцинами, оказалась менее стойкой, чем при использовании инактивированных и субъединичных вакцин, в которых ген НА экспрессируется *in vitro* и *in vivo* [58].

Для обеспечения протективного иммунного ответа у птицы необходимы большое количество плазмидной ДНК на 1 дозу вакцины и многократная вакцинация (3 и более раз). Эти факторы ограничивают использование ДНК-вакцин в птицеводстве в настоящее время [4].

### Заключение

До середины 90-х годов прошлого века гриппозные вакцины в птицеводстве использовались редко, а экспериментальных данных об их качестве и эффективности было немного. В первой декаде XXI века ситуация изменилась и производство гриппозных вакцин существенно выросло. Так, если в 2002 г. в списке Международного эпизоотического бюро было только 2 производителя противогриппозных вакцин с подтипом НА Н5 и Н7, к 2006–2007 гг. в нем насчитывалось уже 38 производителей из Китая, Франции, Германии, Италии, Мексики, Нидерландов, Пакистана и США. При этом в FAO (Продовольственная и сельскохозяйственная организация

ООН) была зарегистрирована 41 гриппозная вакцина против ВППП с подтипом НА Н5 и Н7, и этот список расширяется [4]. Стратегии вакцинации, используемые в разных странах, и подходы к применению вакцин против ВППП Н5Н1 варьируют от полного непринятия вакцин до попыток вакцинировать 100% поголовья [5]. Вакцинация против гриппа птиц позволяет защитить их от проявлений клинических признаков и смерти, а также повысить уровень общей резистентности поголовья к инфекции и уменьшить экскрецию вируса в окружающую среду. Однако при возникновении эпизоотии ВППП для ее элиминации одной вакцинации недостаточно. Необходимо соблюдать строгие меры биобезопасности [7].

Кроме классических инактивированных вакцин против гриппа птиц, которые используются в птицеводстве наиболее широко, живые векторные вакцины (rFPV-AIV-N5, rNDV-AIV-N5) также разрешены к применению в некоторых странах [9, 11]. Среди современных технологий получения вакцин против гриппа птиц, представленных в данном обзоре, метод обратной генетики занимает особое место. Спустя 16 лет после получения первого рекомбинантного вируса этот метод стал необычайно эффективным и универсальным инструментом, используемым для изучения вируса гриппа. Кроме того, с его помощью можно не только создавать вакцины против гриппа (в том числе вируса гриппа А птиц) с требуемой антигенной специфичностью, но и модифицировать их в случае изменения антигенных свойств циркулирующих полевых штаммов [59].

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### ЛИТЕРАТУРА (пп. 1, 3–9, 11–24, 26–28, 30–52, 54–59 см. REFERENCES)

- Приказ Минсельхоза РФ № 90 “Об утверждении правил по борьбе с гриппом птиц”. М.; 2006.
- Львов Д.К., Алипер Т.И., Дерябин П.Г., Забережный А.Д., Гребенникова Т.В., Сергеев В.А. и др. Вакцина против гриппа птиц инактивированная эмульгированная ФЛУ ПРОТЕКТ Н5 и способ профилактики гриппа птиц. Патент РФ № 2350350; 2009.
- Забережный А.Д., Гребенникова Т.В., Воркунова Г.К., Южиков А.Г., Костина Л.В., Норкина С.Н. и др. Получение нового штамма-реассортанта вируса гриппа А/Н5Н1 методом обратной генетики и анализ его биологических свойств. *Вопросы вирусологии*. 2014; (6): 23–7.
- Сергеева М.В., Крохин А., Матросович М., Матросович Т., Волшек М., Киселев О.И. и др. Влияние конформационной стабильности гемагглютинаина вируса гриппа на качество инактивированных вакцин Н5Н1. *Microbiology Independent Research Journal*. 2014; (1): 1–11.
- Петухова Н.В., Иванов П.А., Мигунов А.И. Вирусоподобные частицы – новая стратегия для создания противогриппозных вакцин. *Вопросы вирусологии*. 2013; (2): 10–4.

### REFERENCES

- Li C., Bu Z., Chen H. Avian influenza vaccines against H5N1 ‘bird flu’. *Trends Biotechnol.* 2014; 32 (3): 147–56.
- Order of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation № 90 “On approval of rules for combating avian influenza”. Moscow; 2006. (in Russian)
- Von Dobschuetz S., Siembieda J., Kim M., Pinto J., Newman S. Highly Pathogenic Avian Influenza. *EMPRES Transboundary Animal Diseases Bulletin*. 2011; (37): 21–9.
- Swayne D.E., Kapczynski D. Vaccines, vaccination and immunology for avian influenza viruses in poultry. In: Swayne D.E., ed. *Avian Influenza*. Ames, Iowa: Blackwell Publishers; 2008: 407–52.

5. Swayne D.E., Pavade G., Hamilton K., Vallat B., Miyagishima K. Assessment of national strategies for control of high-pathogenicity avian influenza and low-pathogenicity notifiable avian influenza in poultry, with emphasis on vaccines and vaccination. *Rev. Sci. Tech.* 2011; 30 (3): 839–70.
6. Swayne D.E. Principles for vaccine protection in chickens and domestic waterfowl against avian influenza: Emphasis on Asian H5N1 high pathogenicity avian influenza. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2006; 1081: 174–81.
7. Council for Agricultural Science and Technology (CAST). *Avian Influenza Vaccination: A Commentary Focusing on H5N1 High Pathogenicity Avian Influenza. CAST Commentary QTA2007-3.* Ames, Iowa: CAST; 2007.
8. Swayne D.E. Avian influenza vaccines and therapies for poultry. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2009; 32 (4): 351–63.
9. Avian influenza vaccine producers and suppliers for poultry (June 2009). Available at: <http://www.fao.org/3/a-ai326e.pdf>
10. L'vov D.K., Aliper T.I., Deryabin P.G., Zaberezhnyy A.D., Grebennikova T.V., Sergeev V.A. et al. The vaccine against avian influenza emulsified inactivated FLU Protect H5 avian influenza, and the way of prevention. Patent RF № 2350350; 2009. (in Russian)
11. Peyre M., Fusheng G., Desvaux S., Roger F. Avian influenza vaccines: a practical review in relation to their application in the field with a focus on the Asian experience. *Epidemiol. Infect.* 2009; 137 (1): 1–21.
12. FAD PRoP/NAHEMS Guidelines: Vaccination for contagious diseases/Appendix C: Vaccination for high pathogenicity avian influenza (August 2015). Available at: <https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/animalhealth/emergency>
13. Bublot M., Pritchard N., Swayne D.E., Selleck P., Karaca K., Suarez D.L. et al. Development and use of fowlpox vectored vaccines for avian influenza. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2006; 1081: 193–201.
14. Suarez D.L., Schultz-Cherr S. Immunology of avian influenza virus: a review. *Dev. Comp. Immunol.* 2000; 24 (2–3): 269–83.
15. Swayne D.E., Kapczynski D. Strategies and challenges for eliciting immunity against avian influenza virus in birds. *Immunol. Rev.* 2008; 225: 314–31.
16. Neumann G., Watanabe T., Ito H., Watanabe S., Goto H., Gao P. et al. Generation of influenza A viruses entirely from cloned cDNAs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999; 96 (16): 9345–50.
17. Fodor E., Devenish L., Engelhardt O.G., Palese P., Brownlee G.G., Garcia-Sastre A. Rescue of influenza A virus from recombinant DNA. *J. Virol.* 1999; 73 (11): 9679–82.
18. Hoffmann E., Neumann G., Kawaoka Y., Hobom G., Webster R.G. A DNA transfection system for generation of influenza A virus from eight plasmids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000; 97 (11): 6108–13.
19. Song H., Nieto G., Perez D. A new generation of modified live-attenuated avian influenza viruses using a two-strategy combination as potential vaccine candidates. *J. Virol.* 2007; 81 (17): 9238–48.
20. Steel J., Lowen A.C., Pena L., Angel M., Solórzano A., Albrecht R. et al. Live attenuated influenza viruses containing NS1 truncations as vaccine candidates against H5N1 highly pathogenic avian influenza. *J. Virol.* 2009; 83 (4): 1742–53.
21. Watanabe T., Watanabe S., Hyun Kim J., Hatta M., Kawaoka Y. Novel Approach to the Development of Effective H5N1 Influenza A Virus Vaccines: Use of M2 Cytoplasmic Tail Mutants. *J. Virol.* 2008; 82 (5): 2486–92.
22. Uchida Y., Takemae N., Saito T. Application of reverse genetics for producing attenuated vaccine strains against highly pathogenic avian influenza viruses. *J. Vet. Med. Sci.* 2014; 76 (8): 1111–7.
23. Chambers T.M., Quinlivan M., Sturgill T., Cullinane A., Horohov D.W., Zamarin D. et al. Influenza A viruses with truncated NS1 as modified live virus vaccines: Pilot studies of safety and efficacy in horses. *Equine Vet. J.* 2009; 41 (1): 87–92.
24. Richt J.A., Lekcharoensuk P., Lager K.M., Vincent A.L., Loiacono C.M., Janke B.H. et al. Vaccination of pigs against swine influenza viruses by using an NS1-truncated modified live-virus vaccine. *J. Virol.* 2006; 80 (22): 11 009–18.
25. Zaberezhnyy A.D., Grebennikova T.V., Vorkunova G.K., Yuzhakov A.G., Kostina L.V., Norkina S.N. et al. Getting a new-reassortant strain of influenza virus A/H5N1 by reverse genetics and analysis of its biological properties. *Voprosy virusologii.* 2014; (6): 23–7. (in Russian)
26. Webster R.G., Webby R.J., Hoffmann E., Rodenberg J., Kumar M., Chu H.J. et al. The immunogenicity and efficacy against H5N1 challenge of reverse genetics-derived H5N3 influenza vaccine in ducks and chickens. *Virology.* 2006; 351 (2): 303–11.
27. Tian G., Zhang S., Li Y., Bu Z., Liu P., Zhou J. et al. Protective efficacy in chickens, geese and ducks of an H5N1-inactivated vaccine developed by reverse genetics. *Virology.* 2005; 341 (1): 153–62.
28. Chen H. Avian influenza vaccination: the experience in China. *Rev. Sci. Tech.* 2009; 28 (1): 267–74.
29. Sergeeva M.V., Krokhin A., Matrosovich M., Matrosovich T., Volshek M., Kiselev O.I. et al. Influence of conformational stability of influenza virus hemagglutinin on the quality of inactivated H5N1 vaccine. *Microbiology Independent Research Journal.* 2014; (1): 1–11. (in Russian)
30. van den Berg T., Lambrecht B., Marché S., Steensels M., Van Borm S., Bublot M. Influenza vaccines and vaccination strategies in birds. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2008; 31 (2–3): 121–65.
31. Spackman E., Swayne D.E. Vaccination of gallinaceous poultry for H5N1 highly pathogenic avian influenza: Current questions and new technology. *Virus Res.* 2013; 178 (1): 121–32.
32. Taylor J., Weinberg R., Kawaoka Y., Webster R.G., Paoletti E. Protective immunity against avian influenza induced by a fowlpox virus recombinant. *Vaccine.* 1988; 6 (6): 504–8.
33. Qiao C., Jiang Y., Tian G., Wang X., Li C., Xin X. et al. Recombinant fowlpox virus vector-based vaccine completely protects chickens from H5N1 avian influenza virus. *Antiviral Res.* 2009; 81 (3): 234–8.
34. Qiao C.L., Yu K.Z., Jiang Y.P., Jia Y.Q., Tian G.B., Liu M. et al. Protection of chickens against highly lethal H5N1 and H7N1 avian influenza viruses with a recombinant fowlpox virus co-expressing H5 haemagglutinin and N1 neuraminidase genes. *Avian Pathol.* 2003; 32 (1): 25–32.
35. Swayne D.E., Beck J.R., Kinney N. Failure of a recombinant fowl poxvirus vaccine containing an avian influenza hemagglutinin gene to provide consistent protection against influenza in chickens preimmunized with a fowl pox vaccine. *Avian Dis.* 2000; 44 (1): 132–7.
36. Swayne D.E., Garcia M., Beck J.R., Kinney N., Suarez D.L. Protection against diverse highly pathogenic H5 avian influenza viruses in chickens immunized with a recombinant fowlpox vaccine containing an H5 avian influenza hemagglutinin gene insert. *Vaccine.* 2000; 18 (11–12): 1088–95.
37. Swayne D.E., Perdue M.L., Beck J.R., Garcia M., Suarez D.L. Vaccines protect chickens against H5 highly pathogenic avian influenza in the face of genetic changes in field viruses over multiple years. *Vet. Microbiol.* 2000; 74 (1–2): 165–72.
38. Webster R.G., Taylor J., Pearson J., Rivera E., Paoletti E. Immunity to Mexican H5N2 avian influenza viruses induced by a fowlpox-H5 recombinant. *Avian Dis.* 1996; 40 (2): 461–5.
39. Boyle D.B., Selleck P., Heine H.G. Vaccinating chickens against avian influenza with fowlpox recombinants expressing the H7 haemagglutinin. *Aust. Vet. J.* 2000; 78 (1): 44–8.
40. Beard C.W., Schnitzlein W.M., Tripathy D.N. Effect of route of administration on the efficacy of a recombinant fowlpox virus against H5N2 avian influenza. *Avian Dis.* 1992; 36 (4): 1052–5.
41. Steensels M., Bublot M., Van Borm S., De Vriese J., Lambrecht B., Richard-Mazet A. et al. Prime-boost vaccination with a fowlpox vector and an inactivated avian influenza vaccine is highly immunogenic in Pekin ducks challenged with Asian H5N1 HPAI. *Vaccine.* 2009; 27 (5): 646–54.
42. Swayne D.E., Beck J.R., Mickle T.R. Efficacy of recombinant fowl poxvirus vaccine in protecting chickens against a highly pathogenic Mexican-origin H5N2 avian influenza virus. *Avian Dis.* 1997; 41 (4): 910–22.
43. Qiao C., Yu K., Jiang Y., Li C., Tian G., Wang X. et al. Development of a recombinant fowlpox virus vector-based vaccine of H5N1 subtype avian influenza. *Dev. Biol. (Basel).* 2006; 124: 127–32.
44. Lozano B., Soto E., Sarfati D., Castro F., Gay M., Antillon A. A novel engineered live viral vaccine against Newcastle disease and avian influenza subtype H5. In: Capua I., ed. *Proceedings of the FAO/OIE Conference on Vaccination: a Tool for the Control of Avian Influenza.* Verona, Italy; 2007.
45. Swayne D.E., Suarez D.L., Schultz-Cherry S., Tumpey T.M., King D.J., Nakaya T. et al. Recombinant paramyxovirus type 1-avian influenza-H7 virus as a vaccine for protection of chickens against influenza and Newcastle disease. *Avian Dis.* 2003; 47 (Suppl.3): 1047–50.

46. Park M.S., Steel J., García-Sastre A., Swayne D., Palese P. Engineered viral vaccine constructs with dual specificity: avian influenza and Newcastle disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006; 103 (21): 8203–8.
47. Ge J., Deng G., Wen Z., Tian G., Wang Y., Shi J. et al. Newcastle disease virus-based live attenuated vaccine completely protects chickens and mice from lethal challenge of homologous and heterologous H5N1 avian influenza viruses. *J. Virol.* 2007; 81 (1): 150–8.
48. Nayak B., Rout S.N., Kumar S., Khalil M.S., Fouda M.M., Ahmed L.E. et al. Immunization of chickens with Newcastle disease virus expressing H5 hemagglutinin protects against highly pathogenic H5N1 avian influenza viruses. 2009. Available at: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0006509>
49. Liu Q., Mena I., Ma J., Bawa B., Krammer F., Lyoo Y.S. et al. Newcastle Disease Virus-Vectored H7 and H5 Live Vaccines Protect Chickens from Challenge with H7N9 or H5N1 Avian Influenza Viruses. *J. Virol.* 2015; 89 (14): 7401–8.
50. Lee D.H., Park J.K., Song C.S. Progress and hurdles in the development of influenza virus-like particle vaccines for veterinary use. *Clin. Exp. Vaccine Res.* 2014; 3 (2): 133–9.
51. Wang B.Z., Quan F.S., Kang S.M., Bozja J., Skountzou I., Compans R.W. Incorporation of membrane-anchored flagellin into influenza virus-like particles enhances the breadth of immune responses. *J. Virol.* 2008; 82 (23): 11 813–23.
52. Noh J.Y., Park J.K., Lee D.H., Yuk S.S., Kwon J.H., Lee S.W. et al. Chimeric Bivalent Virus-Like Particle Vaccine for H5N1 HPAI and ND Confers Protection against a Lethal Challenge in Chickens and Allows a Strategy of Differentiating Infected from Vaccinated Animals (DIVA). *PLoS One*. 2016; 11 (9): e0162946.
53. Petukhova N.V., Ivanov P.A., Migunov A.I. Virus-like particles – a new strategy for creating vaccines. *Voprosy virusologii*. 2013; (2): 10–4. (in Russian)
54. Qiu M., Fang F., Chen Y., Wang H., Chen Q., Chang H. et al. Protection against avian influenza H9N2 virus challenge by immunization with hemagglutinin- or neuraminidase-expressing DNA in BALB/c mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006; 343 (4): 1124–31.
55. Ljungberg K., Kolmskog C., Wahren B., van Amerongen G., Baars M., Osterhaus A. et al. DNA vaccination of ferrets with chimeric influenza A virus hemagglutinin (H3) genes. *Vaccine*. 2002; 20 (16): 2045–52.
56. Gall-Reculé G. Le, Cherbonnel M., Pelotte N., Blanchard P., Morin Y., Jestin V. Importance of a prime-boost DNA/protein vaccination to protect chickens against low-pathogenicity H7 avian influenza infection. *Avian Dis.* 2007; 51 (Suppl. 1): 490–4.
57. Cherbonnel M., Rousset J., Jestin V. Strategies to improve protection against low-pathogenicity H7 avian influenza virus infection using DNA vaccines. *Avian Dis.* 2003; 47 (Suppl. 3): 1181–6.
58. Ullah S., Riaz N., Umar S., Shah M.A.A. DNA Vaccines against Avian Influenza: current research and future prospects. *World Poultry Sci. J.* 2013; 69 (1): 125–34.
59. Neumann G., Horimoto T., Kawaoka Y. Reverse Genetics of Influenza Viruses – Applications in Research and Vaccine Design. In: Klenk H.D., Matrosovich M.N., Stech J., eds. *Avian Influenza*. Monographs in virology. Vol. 27. Basel: Karger; 2008: 118–33.

Поступила 28.09.16

Принята в печать 11.10.16

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616-092:612.56]-036.11-06:616.155.294]-022:578.833.1

Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Пантюхов В.Б., Борисевич С.В.

## ОСТРАЯ ЛИХОРАДКА С ТРОМБОЦИТОПЕНИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ: ЗАБОЛЕВАНИЕ, ВЫЗЫВАЕМОЕ НОВЫМ ФЛЕБОВИРУСОМ

ФГБУ «48 Центральный НИИ» Министерства обороны Российской Федерации, 141306, г. Сергиев Посад-6

Острая лихорадка с тромбоцитопеническим синдромом (SFTS) – новое инфекционное вирусное заболевание, эндемичное для центральной и северо-восточных частей Китайской Народной Республики. Природным хозяином вируса SFTS, который относится к роду *Phlebovirus* семейства *Bunyaviridae*, являются клещи видов *Haemaphysalis longicornis* и *Rhipicephalus microplus*. В КНР вирус SFTS обнаружен у многих видов домашних животных, у которых заболевание протекает инapparantly. Заболевание характеризуется лихорадкой, тромбоцитопенией, лейкоцитопенией, синдромами поражения желудочно-кишечного тракта и нервной системы, проявлениями геморрагического синдрома. Летальность при SFTS составляет от 6 до 30%. Возможна передача вируса от человека к человеку вследствие контакта с кровью больного. В обзоре рассмотрены данные клинического и эпидемиологического изучения инфекции, эволюционный и молекулярно-биологический анализ возбудителя, случаи заболевания за пределами КНР, передача вируса SFTS от человека к человеку, факторы риска при заболевании, вызываемом новым флебовирусом.

Ключевые слова: острая лихорадка с тромбоцитопеническим синдромом; вирус SFTS; клиническое и эпидемиологическое изучение; клещи; домашние животные; факторы риска трансмиссии SFTS.

Для цитирования: Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Пантюхов В.Б., Борисевич С.В. Острая лихорадка с тромбоцитопеническим синдромом: заболевание, вызываемое новым флебовирусом. *Вопросы вирусологии*. 2017; 62 (2): 60–65.

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-2-60-65>

Sizikova T.E., Lebedev V.N., Pantukhov V.B., Borisevich S.V.

### SEVERE FEVER WITH THROMBOCYTOPENIA SYNDROME: THE DISEASE, CAUSED BY THE NOVEL PHLEBOVIRUS

48th Central Scientific Research Institute, Sergiev Posad, 141306, Russian Federation

Severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) is an emerging infectious disease caused by a new virus (SFTS virus) reported to be endemic to central and northeastern parts of China. SFTS virus, which is classified into the genus *Phlebovirus* (the *Bunyaviridae* family), is suspected to be a tick-borne virus owing to evidence in two species of ticks: *Haemaphysalis longicornis* and *Rhipicephalus microplus*. SFTS virus is detected among

Для корреспонденции: Борисевич Сергей Владимирович, д-р биол. наук, профессор, начальник ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, 141306, г. Сергиев Посад-6. E-mail: 48cnii@mil.ru