

Петрова П.А., Коновалова Н.И., Даниленко Д.М., Васильева А.Д., Еропкин М.Ю.

ПРОБЛЕМЫ ВЫДЕЛЕНИЯ, ИДЕНТИФИКАЦИИ И АНТИГЕННОГО АНАЛИЗА СОВРЕМЕННЫХ ВИРУСОВ ГРИППА А(Н3N2)

ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России, 197376, г. Санкт-Петербург

Вирусы гриппа человека подтипа А(Н3N2) отличаются высокой скоростью эволюции и регулярно вызывают эпидемии по всему миру. Их способность адаптироваться к ускользанию от иммунного ответа хозяина и изменять свою рецепторную специфичность очень высока. За последние 20 лет эти вирусы потеряли способность связываться с эритроцитами кур и индеек и практически перестали выделяться на куриных эмбрионах – основном источнике наращивания и получения противогриппозных вакцин. Выделение вирусов в культуре клеток MDCK привело к отбору штаммов, которые утрачивают один из потенциальных сайтов гликозилирования. Многие штаммы А(Н3N2) приобрели мутации в нейраминидазе, которые искажают результаты антигенного анализа в реакции торможения гемагглютинации – краеугольном методе при анализе соответствия циркулирующих в популяции людей вирусных изолятов штаммам, входящим в состав противогриппозных вакцин. В этой связи характеристика антигенных свойств вирусов гриппа А(Н3N2) традиционными методами становится малоинформативной, а отбор вакцинных штаммов данного подтипа – ошибочным, что и отражается в несоответствии вакцинных и циркулирующих вирусов А(Н3N2) в последние годы (2013–2014, 2014–2015, 2015–2016). Поиск, разработка и внедрение новых алгоритмов выделения и антигенного анализа вирусов гриппа А(Н3N2) представляются крайне актуальными.

Ключевые слова: обзор; вирусы гриппа А(Н3N2); реакция торможения гемагглютинации; реакция микронейтрализации; антигенные свойства.

Для цитирования: Петрова П.А., Коновалова Н.И., Даниленко Д.М., Васильева А.Д., Еропкин М.Ю. Проблемы выделения, идентификации и антигенного анализа современных вирусов гриппа А(Н3N2). *Вопросы вирусологии*. 2018; 63(4): 160-164. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-4-160-164>

Petrova P.A., Konovalova N.I., Danilenko D.M., Vasilieva A.D., Erokin M.Yu.

PROBLEMS OF ISOLATION, IDENTIFICATION AND ANTIGENIC CHARACTERIZATION OF RECENT HUMAN A(H3N2) INFLUENZA VIRUSES

Federal State Research Institute of Influenza, St. Petersburg, 197376, Russian Federation

Human A (H3N2) influenza viruses are distinguished by a high rate of evolution and regularly cause epidemics around the world. Their ability to adapt and to escape from the host's immune response and to change their receptor specificity is very high. Over the past 20 years, these viruses have lost the ability to agglutinate red blood cells of chickens and turkeys and have practically ceased to propagate in chicken embryos – the main source of influenza vaccines. Isolation of viruses in the MDCK cell culture led to the selection of strains that lose one of the potential glycosylation sites.

Many of the A (H3N2) strains have acquired mutations in neuraminidase, which distort the results of antigenic analysis in the hemagglutination inhibition test – the cornerstone method for the analysis of the match between viral isolates circulating in human population to strains selected for the influenza vaccines. In this regard, the characteristics of the antigenic properties of influenza A (H3N2) viruses by traditional methods become poorly informative, and the selection of vaccine strains of this subtype is erroneous, which is reflected in the discrepancy between vaccine and circulating A (H3N2) viruses in recent years (2013-2014, 2014 -2015, 2015-2016). The search, development and implementation of new algorithms for the isolation and antigen analysis of influenza A (H3N2) viruses are extremely urgent.

Keywords: review; influenza A(H3N2) viruses; hemagglutination inhibition test; microneutralization; antigenic properties.

For citation: Petrova P.A., Konovalova N.I., Danilenko D.M., Vasilieva A.D., Erokin M.Yu. Problems of isolation, identification and antigenic characterization of recent human A(H3N2) influenza viruses. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2018; 63(4): 160-164. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-4-160-164>

For correspondence: Polina A. Petrova, junior researcher, Laboratory of evolutionary variability of influenza viruses, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, 197376, Russian Federation. E-mail: polina.petrova@influenza.spb.ru

Information about authors:

Petrova P.A., <http://orcid.org/0000-0001-8527-7946>; Konovalova N.I., <http://orcid.org/0000-0002-7213-9306>;

Danilenko D.M., <http://orcid.org/0000-0001-6174-0836>; Vasilieva A.D., <http://orcid.org/0000-0001-6818-5548>;

Erokin M.Yu., <http://orcid.org/0000-0002-3306-847X>

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

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

Received 29 November 2017

Accepted 12 December 2017

Для корреспонденции: Петрова Полина Александровна, младший научный сотрудник лаборатории эволюционной изменчивости вирусов гриппа ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России, 197376, г. Санкт-Петербург. E-mail: polina.petrova@influenza.spb.ru

В 1967 г. в Ленинграде был создан Всесоюзный научно-исследовательский институт гриппа. Всего год спустя в мире разразилась третья в XX веке пандемия гриппа, вызванная вирусом гриппа подтипа А(Н3N2). По традиции место возникновения пандемического штамма стало нарицательным в названии пандемии и штаммов нового подтипа, ранее не циркулировавших в человеческой популяции, которые до сих пор называют гонконгским гриппом [1].

Вирусы гриппа А(Н3N2) обладают самой высокой скоростью изменчивости среди всех подтипов вируса гриппа А, циркулирующих в популяции людей [2]. С момента их появления в циркуляции в 1968 г. в структуре гемагглютинина (НА) и нейраминдазы (НА) этих штаммов произошли множественные генетические и антигенные изменения, которые существенно отличают современные вирусы от циркулировавших ранее [3]. Вирусы гриппа А(Н3N2) остаются одним из основных этиологических факторов гриппозных эпидемий как в России, так и в мире. За последние 8 лет они отсутствовали в циркуляции в нашей стране только в первую волну пандемии 2009–2010 гг., а в прошлом эпидемическом сезоне 2015–2016 гг. их доля была крайне незначительна (рис. 1).

Вакцинация признана наилучшей защитной мерой в борьбе с гриппом. Высокая изменчивость вируса диктует необходимость своевременного обновления штаммового состава противогриппозных вакцин. Рекомендации по кандидатным вакцинным штаммам для включения в состав вакцин для Северного и Южного полушарий раз в полгода дает Всемирная организация здравоохранения. Для принятия правильного решения комиссия по вакцинным штаммам оценивает антигенные и генетические свойства штаммов, которые циркулировали по всему миру. Основным эталонным методом оценки антигенного соответствия циркулирующих вирусов штаммам, включенным в состав вакцин, остаётся реакция торможения гемагглютинации (РТГА). Однако использование этого простого и доступного метода для современных вирусов гриппа А(Н3N2) становится всё более затруднительным. Для понимания причин рассмотрим основные проблемы, возникающие при выделении и идентификации вирусов гриппа данного подтипа, связанные с изменением их рецепторной специфичности.

Изменения рецепторной специфичности современных вирусов гриппа А(Н3N2)

Согласно результатам изучения генома вирусов гриппа человека, большинство типов НА и NA произошли от вирусов гриппа птичьего и свиного происхождения. Межвидовая трансмиссия вирусов сопровождалась изменениями специфичности связывания НА с клеточными рецепторами, а также изменениями в функциональной активности НА, необходимой для отпочковывания вирионов от клетки хозяина. НА вируса гриппа в процессе инфицирования клеток-мишеней связывается с клеточными рецепторами, в состав которых входят сиаловые кислоты. Данные рецепторы представлены двумя видами, которые отличаются друг от друга расположением гликозидной связи между сиаловой кислотой и терминальной галактозой: $\alpha 2,3$ (SA $\alpha 2,3$ Gal) и $\alpha 2,6$ (SA $\alpha 2,6$ Gal) [4]. В серии экспериментов в 80-е годы прошлого века J. Paulson [5] и другие исследователи

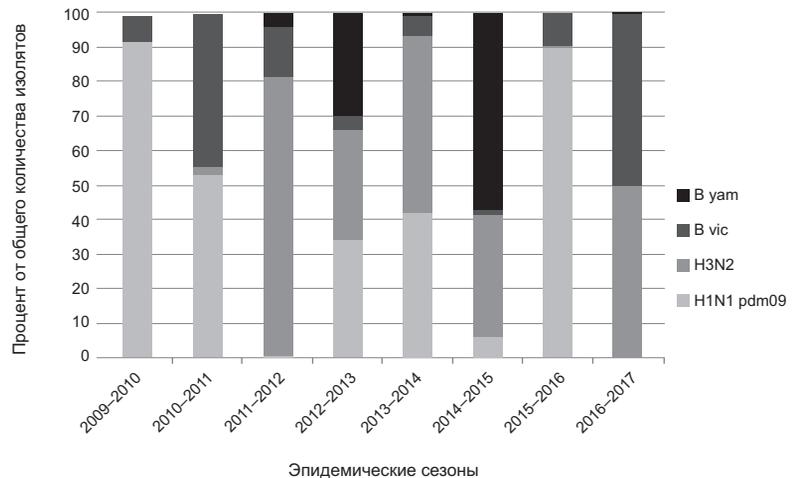


Рис. 1. Процентное соотношение выделенных вирусов гриппа по подтипам возбудителя, проанализированных за 8-летний период (2009–2017) в НИИ гриппа.

установили, что вирусы гриппа птиц и лошадей преимущественно связываются сиаловыми кислотами, характеризующимися $\alpha 2,3$ -гликозидной связью с галактозой (SA $\alpha 2,3$ Gal), вирусы гриппа человека – с SA $\alpha 2,6$ Gal-рецепторами [6]. В своих экспериментальных работах J. Paulson показал, что достаточно всего одной аминокислотной замены, чтобы специфичность связывания рецепторами типа $\alpha 2,6$ поменялась на $\alpha 2,3$, и наоборот. Впоследствии было установлено, что эпителий респираторного тракта свиней имеет оба типа этих рецепторов, и это увеличивает вероятность одновременного заражения и репликации вирусами разных подтипов, в результате чего может произойти генетическая реассортация между ними.

Рецепторной специфичности вирусов гриппа посвящено большое количество работ и обзоров [5, 7, 8, 9]. Для практической работы в рамках надзора за циркулирующими вирусами гриппа важно следующее: сиаловые кислоты являются очень распространёнными на поверхности многих (если не большинства) животных клеток, однако тип и распространённость на клеточной поверхности индивидуальны для различных клеток у разных организмов [4, 9]. Это позволяет использовать культуры клеток животных для выделения вирусов гриппа, а также применять эритроциты разных видов животных и птиц в реакции гемагглютинации (РГА) для определения титра вируса и РТГА для определения антигенных свойств вирусов гриппа. Эти простые «классические» вирусологические методы широко используются в системе надзора за циркулирующими вирусами гриппа человека во всем мире по рекомендации ВОЗ [10]. Однако изменение рецепторной специфичности современных вирусов гриппа А(Н3N2) кардинально влияет на возможности исследователей использовать их в своей работе.

Проблемы выделения вирусов гриппа А(Н3N2)

Производство большинства противогриппозных вакцин основано на культивировании вирусов гриппа в развивающихся куриных эмбрионах (РКЭ). В этой связи выделение антигенно актуальных штаммов в этой модельной системе по-прежнему является важной практической задачей лабораторного надзора за гриппом. В результате длительной циркуляции вирусов А(Н3N2) в человеческой популяции в начале 90-х годов прошлого

века во всем мире стала наблюдаться фенотипическая реверсия, связанная с утратой способности агглютинировать куриные эритроциты и репродуцироваться в РКЭ [6]. Последующая лабораторная адаптация вирусов А(Н3N2) к росту в РКЭ приводила к мутациям в позициях V226I, L194I, S193R, расположенных в рецепторсвязывающем сайте НА [11, 12]. Самая неприятная особенность лабораторной адаптации штаммов к росту на РКЭ заключалась в том, что возникающие при адаптации мутации располагались в непосредственной близости от рецепторсвязывающего сайта, а также тех областей НА, к которым образуются вируснейтрализующие антитела. Такие аминокислотные замены влияли как на рецепторсвязывающие свойства штаммов, так и на их антигенные свойства. Известны экспериментальные работы, которые показывают, что авидность связывания вирусного НА с рецепторами может быть основной движущей силой для антигенного дрейфа [13]. Последствия таких изменений нетрудно проследить. Так, в сезоне 2012–2013 г. вакцинные штаммы на основе вируса А/Виктория/361/11 содержали аминокислотные замены, расположенные в рецепторсвязывающем и антигенных сайтах в позициях 156, 190, 219. Впоследствии был опубликован ряд работ, подтверждающих низкую эффективность вакцины в Канаде, США, Европе [14–16].

В настоящее время выделение вирусов гриппа А(Н3N2) в РКЭ по-прежнему ограничено. Сотрудничающие Центры ВОЗ предлагают несколько альтернативных методик для повышения вероятности выделения штаммов А(Н3N2) на куриных РКЭ, однако даже такие усовершенствованные методы, как свидетельствует наш опыт, не позволяют добиться значительного успеха.

Долгое время вирусы гриппа А(Н3N2) эффективно выделялись на культуре клеток MDCK. Эта линия признана наиболее чувствительной для выделения вирусов гриппа и рекомендована ВОЗ для изоляции вирусов гриппа человека. В 2002 г. у ряда штаммов А(Н3N2) были выявлены аминокислотные замены в молекуле НА, которые привели к ослаблению связывания НА с аналогами рецепторов, распознаваемых вирусами гриппа человека. По сравнению со структурой НА вирусов А(Н3N2) 1968 г., несущих 222W и 225G в НА1, большинство вирусов 2004 г. содержали 222R и 225D в НА1, а вирусы 2005 г. приобрели замену 225N [17]. Рентгеноструктурные исследования позволили установить, что в результате этих мутаций 220-я петля НА изменила свою конформацию и сместилась на 1,5 Å от первоначальной позиции в НА вирусов 1968 г., что отчасти вызвало изменение связывания с клеточными рецепторами [18]. Прогрессирующие изменения аффинности к клеточным рецепторам повлекли за собой изменения способности циркулирующих вирусов репродуцироваться в клеточной культуре MDCK.

Известно, что клетки линии MDCK несут на своей поверхности сиаловые рецепторы обоих типов ($\alpha 2,3$ и $\alpha 2,6$) и поэтому являются универсальной культурой для выделения разнообразных вирусов гриппа. Однако распределение типов этих рецепторов неравномерно: рецепторов типа $\alpha 2,6$ значительно меньше, чем $\alpha 2,3$. Изменение рецепторной специфичности вирусов А(Н3N2), в результате которого они утратили способность связываться с $\alpha 2,3$ на поверхности клеток-мишеней (в частности, MDCK), привело к тому, что современные штаммы А(Н3N2) слабо выделяются на данной клеточной линии или имеют очень низкие гемагглютинирующие титры.

Частичным решением этой проблемы стало использование генно-модифицированной линии MDCK-Siat1, полученной в результате трансфекции человеческой 2,6-сиалтрансферазы [19]. Клетки данной линии экспрессируют в 2 раза больше $\alpha 2,6$ -сиаловых рецепторов и в 2 раза меньше $\alpha 2,3$ -сиаловых рецепторов, чем клетки обычной культуры MDCK. Автор линии MDCK-Siat1 отмечает, что клеточная линия MDCK-Siat1 является такой клеточной культурой, которая сможет наиболее эффективно смоделировать пропорциональное содержание рецепторов, у которых гликозидная связь между сиаловой кислотой и галактозой присутствует либо в $\alpha 2,3$ -, либо в $\alpha 2,6$ -положении, находящихся на поверхности эпителия дыхательных путей человека.

Применение линии MDCK-Siat1 существенно улучшило возможности выделения вирусов гриппа А(Н3N2). Некоторые исследователи отмечают, что использование MDCK-Siat1 позволяет избежать ряда адаптационных замен в НА и NA вирусов, которые часто возникают при выделении и последующем пассировании на культуре клеток MDCK [20, 21], однако этот вывод далеко не однозначен [22]. При этом ведение генно-модифицированной клеточной линии MDCK-Siat1 требует постоянного добавления селективного антибиотика генетицина (G-418), что существенно удорожает стоимость работ по выделению вирусов.

Проблемы антигенного анализа вирусов гриппа А(Н3N2)

Влияет ли клеточная система выделения MDCK/MDCK-Siat1 на антигенные характеристики выделяемых вирусов? В некоторых случаях выделение, особенно последующее пассирование, современных вирусов А(Н3N2) в культуре клеток MDCK приводит к селекции вирусов с мутациями в НА и NA. Так, современные штаммы клэйда 3С.2а обладают потенциальным сайтом гликозилирования в позициях 158–160 НА1, расположенным в антигенном сайте В. Этот сайт гликозилирования является уникальной чертой вирусов данного клэйда и не обнаруживается ни у одного другого клэйда современных вирусов А(Н3N2). Гликозилирование поверхностных белков вируса гриппа играет важную роль в ускользании вируса от иммунного ответа хозяина и может влиять на антигенные свойства вируса. Стоит также отметить, что некоторые авторы рассматривают позиции 158 и 159 в НА1 вирусов гриппа А(Н3N2) среди наиболее важных 7 аминокислотных позиций НА, изменения в которых определяют основные антигенные кластеры вирусов данного подтипа [3].

Секвенирование НА вирусов гриппа из первичного материала (мазков) от больных показало, что 99% вирусов клэйда 3С.2а содержат в последовательности 158–160 сайт гликозилирования NYT. Выделение вирусов на культуре клеток MDCK или MDCK-Siat1 привело к тому, что у 28% выделенных штаммов этот сайт гликозилирования был утрачен или наблюдался полиморфизм по составу аминокислот [22]. Авторы данного исследования также отмечают, что имела место четкая корреляция: все штаммы, сохранившие потенциальный сайт гликозилирования, после выделения на культуре клеток были не способны агглютинировать эритроциты морской свинки, в то время как штаммы, утратившие данный сайт, обладали такой способностью.

Примечательно, что в другом исследовании результаты, полученные при выделении вирусов гриппа клэйда



Рис. 2. Зависимость гемагглютинирующего титра вирус А(Н3N2) от присутствия 20 нМ озельтамивира карбоксилата. Использованы эритроциты человека группы крови 0.

3С.2а, несколько отличались. Штаммы, выделенные из первичного материала от больных (когда наличие потенциального сайта гликозилирования было подтверждено до выделения), сохраняли его во всех случаях при использовании культуры MDCK-Siat1, а при использовании линии MDCK полиморфизм или утрата сайта наблюдалась почти в половине случаев [17]. Все выделенные штаммы другого современного клэйда 3С.3а не приобретали адапционных замен в НА независимо от того, на какой культуре они были изолированы. Отметим, однако, что выборка этого параллельного исследования была весьма незначительной.

Эксперименты, проведенные со штаммами, у которых наблюдался полиморфизм в положениях 158—160, и с теми, у которых он отсутствовал, показали, что антигенные свойства всех протестированных вирусов были сходны со всеми использованными в экспериментах хорьковыми антисыворотками [17]. Эти данные снижают опасения о том, будет ли А(Н3N2)-компонент вакцины на основе штамма А/Гонконг/4801/2014, несущий К160 (вместо Т160), обеспечивать эффективную защиту после вакцинации в отношении циркулирующих вирусов.

Другими важными изменениями, которые наблюдаются у вирусов А(Н3N2) при выделении на культуре клеток MDCK, являются замены в положениях 148 или 151 в НА, которые непосредственно влияют на взаимодействие с клеточными рецепторами [20, 21]. Штаммы с мутацией D151 в молекуле НА в экспериментах демонстрируют способность связывания с $\alpha 2,3$ клеточными рецепторами. При наличии озельтамивира эта способность полностью блокируется, а это указывает на то, что НА вирус А(Н3N2) связывается с рецепторами типа $\alpha 2,6$ [17, 18, 21]. Однако эта способность НА взаимодействовать с сиаловыми кислотами на поверхности клеток-мишеней очень сильно искажает результаты РГА и РТГА. Если не блокировать активность НА путём добавления 20 нМ раствора озельтамивира карбоксилата, будет наблюдаться ложноположительная агглютинация эритроцитов, обусловленная взаимодействием НА с сиаловыми кислотами на поверхности эритроцитов. Очень многие вирусы гриппа А(Н3N2) клэйда 3С.2а, наиболее широко распространённого в настоящий момент, демонстрируют низкие титры гемагглютинации эритроцитов или не обладают этой способностью вовсе. Такие вирусы невозможно антигенно охарактеризовать в РТГА. При этом большинство вирусов клэйда 3С.3а сохраняют способность агглютинировать эритроциты морской свинки и человека и могут быть охарактеризованы в РТГА.

Система выделения очень сильно влияет на приобретение адапционных замен в НА вирус А(Н3N2) независимо от генетической принадлежности штаммов. После трёхкратного пассажа вирусов в клетках MDCK большинство вирусов (свыше 80%) приобретают полиморфизм в положениях 148 или 151, чего не наблюдается при пассировании в клетках MDCK-Siat1 [17].

Появление вирусов гриппа, у которых НА и выполняет функцию связывания с рецепторами на поверхности клеток, и соответственно обладает способностью агглютинировать эритроциты, вначале датировали 2005 г. [21]. Однако более детальные исследования позволили установить, что такие вирусы появились ещё в 1994 г. [20]. Более того, гемагглютинирующая активность вирусов, выделенных на MDCK в период с 1994 до 2008 г., также подавлялась добавлением озельтамивира или занамивира. В отличие от MDCK-вариантов вирусы, выделенные из тех же образцов от больных, на РКЭ сохраняли способность агглютинировать куриные эритроциты, как и вирусы, выделенные на MDCK в 1993 г. или ранее.

Данные, полученные в Национальном центре по гриппу в Санкт-Петербурге в текущем сезоне, полностью соответствуют мировым наблюдениям. Был исследован 161 штамм вирус гриппа А(Н3N2). Среди вирус гриппа, выделенных на культуре клеток MDCK, у 30,2% штаммов гемагглютинирующий титр вируса в присутствии озельтамивира был равен титру в РГА без ингибитора, у 20,5% штаммов титр снизился в 8 раз, у 16,1% — в 16 раз и у 3,7% — в 32 раза (рис. 2).

Эти данные свидетельствуют о том, что 70% выделенных штаммов обладали НА, которая была способна агглютинировать эритроциты человека.

Заключение

Постоянные изменения вирус гриппа А(Н3N2) привели к тому, что культура MDCK, признанная «золотым стандартом» для выделения вирусов гриппа, больше не может считаться таковой. Необходим поиск такой культуры/системы выделения, которая не будет способствовать появлению и/или накоплению адапционных мутаций в поверхностных белках вируса, влияющих на их антигенные и рецепторсвязывающие свойства.

Сотрудничающий центр по гриппу в Лондоне рекомендует использовать культуру MDCK-Siat1 для выделения современных вирусов гриппа А(Н3N2) [23]. Однако эта культура не должна использоваться для работы с вирусами гриппа подтипа А(Н1N1)pdm09, так как эти вирусы приобретают замены в НА при пассировании в данной культуре клеток. Некоторые исследования показывают, что выделение вирус А(Н3N2) на линии MDCK-Siat1 ведёт к появлению замен в НА. Однако на сегодняшний день именно эта культура клеток признана наиболее оптимальной для выделения вирус гриппа человека данного подтипа.

Ещё более сложной становится проблема антигенного анализа вирус А(Н3N2). Поскольку для большинства современных вирус РТГА не может быть использована в связи с утратой гемагглютинирующей способности вирус, необходимо применять серологические методы, не основанные на агглютинации, в частности реакцию микронеutralизации. По сравнению с РТГА, микронеutralизация является намного более трудоёмким и длительным методом анализа антигенных свойств. Замещение РТГА микронеutralизацией в рамках надзора за

изменчивостью вирусов гриппа в глобальном масштабе приведёт к тому, что общее число вирусов, охарактеризованных антигенно, станет намного меньше. С другой стороны, производительность современных методов генетического анализа в последние годы резко возросла. В этой связи необходимо продолжать работу по анализу больших массивов генетических данных и связанных с ними данных антигенного анализа для того, чтобы выявить закономерности изменчивости современных вирусов гриппа человека. Возможно, в скором времени данные генетического анализа наряду с математическим моделированием направления изменчивости вирусов гриппа практически полностью заменят антигенную характеристику вирусов. Первые шаги в этом направлении уже сделаны [24, 25].

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1-10, 12-25 см. REFERENCES)

11. Ларионова Н.В. *Возбудитель гриппа: изменчивость в природе и эксперименте*: Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. СПб.; 2017.

REFERENCES

- Kilbourne E.D. Influenza pandemics of the 20th century. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(1): 9-18.
- Pan K., Deem M.W. Quantifying selection and diversity in viruses by entropy methods, with application to the haemagglutinin of H3N2 influenza. *J. R. Soc. Interface.* 2011; 8(64): 1644-53.
- Koel B.F., Burke D.F., Bestebroer T.M., van der Vliet S., Skepner E., Lewis N.S., et al. Substitutions near the receptor binding site determine major antigenic change during influenza virus evolution. *Science.* 2013; 342(6161): 976-9.
- Xiong X., McCauley J.W., Steinhauer D.A. Receptor binding properties of the influenza virus hemagglutinin as a determinant of host range. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2014; 385: 63-91.
- Paulson J.C. Interactions of animal viruses with cell surface. In: *The Receptors. Volume 2*. Los Angeles: Academic Press; 1985: 131-219.
- Gulati S., Smith D.F., Cummings R.D., Couch R.B., Griesemer S.B., St George K., et al. Human H3N2 influenza viruses isolated from 1968 to 2012 show varying preference for receptor substructures with no apparent consequences for disease or spread. *PLoS One.* 2013; 8(6): e66325.
- Böttcher-Friebertshäuser E., Garten W., Matrosovich M., Klenk H.D. The hemagglutinin: a determinant of pathogenicity. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2014; 385: 3-34.
- Ji Y., White Y.J., Hadden J.A., Grant O.C., Woods R.J. New insights into influenza A specificity: an evolution of paradigms. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2017; 44: 219-31.
- Connor R.J., Kawaoka Y., Webster R.G., Paulson J.C. Receptor specificity in human, avian, and equine H2 and H3 influenza virus isolates. *Virology.* 1994; 205(1): 17-23.
- Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. WHO Press; 2011.
- Larionova N.V. *Influenza virus: variability in nature and experimental settings*: Diss. St. Petersburg; 2017 (in Russian)
- Parker L., Wharton S.A., Martin S.R., Cross K., Lin Y., Liu Y., et al. Effects of egg-adaptation on receptor-binding and antigenic properties of recent influenza A (H3N2) vaccine viruses. *J. Gen. Virol.* 2016; 97(6): 1333-44.
- Hensley S.E., Das S.R., Bailey A.L., Schmidt L.M., Hickman H.D., Jayaraman A., et al. Hemagglutinin receptor binding avidity drives influenza A virus antigenic drift. *Science.* 2009; 326(5953): 734-6.
- Skowronski D.M., Janjua N.Z., De Serres G., Dickinson J.A., Winter A.L., Mahmud S.M., et al. Interim estimates of influenza vaccine effectiveness in 2012/13 from Canada's sentinel surveillance network, January 2013. *Eurosurveillance.* 2012; 18(5): 9-14.
- Flannery B., Thaker S.N., Clippard J., Monto A.S., Ohmit S.E., et al. Interim adjusted estimates of seasonal influenza vaccine effectiveness – United States. *MMWR.* 2013; 2013: 119-23.
- Valenciano M., Kissling E., Collective I. Early estimates of seasonal influenza vaccine effectiveness in Europe: results from the I-MOVE multicenter case-control study, 2012/2013. *Eurosurveillance.* 2013; 18(7): 20400.
- Lin Y., Wharton S.A., Whittaker L., Dai M., Ermetal B., Lo J., et al. The characteristics and antigenic properties of recently emerged subclade 3C.3a and 3C.2a human influenza A(H3N2) viruses passaged in MDCK cells. *Influenza Other Respir. Viruses.* 2017; 11(3): 263-74.
- Lin Y., Xiong X., Wharton S.A., Martin S.R., Coombs P.J. Evolution of the receptor binding properties of the influenza A(H3N2) hemagglutinin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012; 109(52): 21474-9.
- Matrosovich M., Matrosovich T., Carr J., Roberts N.A., Klenk H. Overexpression of the α -2,6-Sialyltransferase in MDCK Cells Increases Influenza Virus Sensitivity to Neuraminidase Inhibitors. *J. Virol.* 2003; 77(15): 8418-25.
- Mohr P.G., Deng Y.M., McKimm-Breschkin J.L. The neuraminidases of MDCK grown human influenza A(H3N2) viruses isolated since 1994 can demonstrate receptor binding. *J. Virol.* 2015; 12(1): 67-78.
- Lin Y.P., Gregory V., Collins P., Kloess J., Wharton S., Cattle N., et al. Neuraminidase receptor binding variants of human influenza A(H3N2) viruses resulting from substitution of aspartic acid 151 in the catalytic site: a role in virus attachment? *J. Virol.* 2010; 84(13): 6769-81.
- Skowronski D.M., Sabaiduc S., Chambers C., Eshaghi A., Gubbay J.B., Krajden M., et al. Mutations acquired during cell culture isolation may affect antigenic characterization of influenza A(H3N2) clade 3C.2a viruses. *Eurosurveillance.* 2016; 21(3): 30112.
- Annual report. WORLDWIDE INFLUENZA CENTRE WHO CC for Reference & Research on Influenza. THE FRANCIS CRICK INSTITUTE. Available at: https://www.crick.ac.uk/media/358671/crick_nh_vcm_report_feb_2017_v2.pdf
- Luksa M., Lässig M. A predictive fitness model for influenza. *Nature.* 2014; 507(7490):57-61.
- Neher R.A., Bedford T. Nextflu: real-time tracking of seasonal influenza virus evolution in humans. *Bioinformatics.* 2015; 31(21): 3546-8.

Поступила 29.11.17

Принята в печать 12.12.17