

Логина Н.В., Дерябин П.Г., Вашкова В.В.

Биологическая характеристика коллекционных штаммов вирусов группы японского энцефалита

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

Многолетнее (с 1966 г.) изучение биологических свойств флавивирусов подгруппы японского энцефалита (ЯЭ) в лаборатории генетики арбовирусов ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России позволило собрать и депонировать в Государственную коллекцию штаммы вируса ЯЭ, среди которых имеются штаммы вируса ЯЭ, изолированные из природных очагов в различных географических зонах, а также штаммы, полученные в лаборатории экспериментальным путем.

Перечислены находящиеся на сохранении коллекционные штаммы флавивирусов японского энцефалита, лихорадки Западного Нила (ЛЗН) и Усуту. Приводятся сведения о происхождении штаммов и их патогенности для экспериментальных животных.

Ключевые слова: *флавивирусы подгруппы японского энцефалита; история выделения; патогенность для белых мышей.*

Для цитирования: *Вопросы вирусологии. 2015; 60(1): 17–20.*

Loginova N.V., Deryabin P.G., Vashkova V.V.

The biological characteristic of the collection strains of viruses from the subgroup of Japanese encephalitis

D.I. Ivanovsky Institute of Virology, Ministry of Health of the Russian Federation, 123098, Moscow, Russia

Perennial (since 1966) study of the biological properties of the viruses from the flavivirus subgroups of the Japanese encephalitis (JE) made it possible to collect and deposit in the State collection of JE virus strains JE virus strains isolated from natural foci in different geographic zones, as well as the JE virus strains selected in the laboratory. The collection of the flaviviruses strains of Japanese encephalitis complex, West Nile fever (West Nile virus and Usutu), which were studied and preserved, are listed. The data are provided on the origin of strains and their pathogenicity for laboratory animals.

Key words: *flaviviruses complex of Japanese encephalitis; history of selection; pathogenicity for experimental animals.*

Citation: *Voprosy virusologii. 2015; 60(1): 17–20. (In Russ.)*

Для обеспечения биобезопасности населения в рамках программы «Новые и возвращающиеся инфекции в системе биологической безопасности государства» в настоящее время большое значение имеет изучение как вновь выделяемых штаммов вирусов, патогенных и высокопатогенных для человека, так и сохранение и изучение архивных штаммов этих вирусов. Понятие «архивный штамм вируса» означает выделенный в прошлые годы штамм вируса из различных материалов (органы животного или человека, переносчики), а также в различных географических зонах мира и депонированный в Государственную коллекцию вирусов. Изучение ряда особенностей этих штаммов, таких как биологические свойства (нейровирулентность, патогенность, инфекционная и антигенная активности), анализ молекулярно-биологических особенностей, изучение последовательности генома, делают возможным следить за их историей и эволюцией, влиянием внешних факторов на эти процессы, а также решать ряд других фундаментальных и прикладных задач.

Результаты многолетнего (с 1966 г.) изучения биологических свойств флавивирусов подгруппы японского энцефалита (ЯЭ) в лаборатории генетики арбовиру-

сов ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России позволили собрать и депонировать в Государственную коллекцию вирусов (ГКВ) большую коллекцию штаммов вируса ЯЭ, среди которых имеются как штаммы вируса ЯЭ, изолированные из природных очагов в различных географических зонах мира, так и штаммы, полученные в лаборатории экспериментальным путем. Многие вирусы из этой коллекции представляют практический интерес как кандидаты в производственные штаммы, пригодные для разработки на их основе диагностических и профилактических препаратов.

Цель настоящего сообщения – публикация каталога имеющихся и охарактеризованных по биологическим свойствам штаммов флавивирусов подгруппы ЯЭ: ЯЭ, лихорадки Западного Нила (ЛЗН) и Усуту.

В табл. 1 приведены сведения по 19 имеющимся на хранении штаммам этих вирусов. Материалом для хранения служила, как правило, 10% суспензия ткани головного мозга, взятого на высоте проявлений симптомов поражения ЦНС у инфицированных внутримозговым способом новорожденных мышей (3–4-е дни после заражения). Вирус хранится в лиофилизирован-

Перечень и история выделения коллекционных штаммов флавивирусов подгруппы ЯЭ

№ п/п	Вирус	Штамм	Материал выделения	Год выделения	Место выделения	Кем выделен	Количество пассажей перед сохранением	Условное обозначение
1	ЯЭ	Джагар 01 (JaGAR01)	Пул комаров <i>C. tritaeniar</i>	1959	Япония префектура Гунма	Kitaoka	30–35	Джагар 01
2	ЯЭ	ДВК-4	Мозг человека	1943	СССР, Уссурийский край	Е.Н. Левкович	Неизвестно	ДВК-4
3	ЯЭ	Sasazaki (Сасазакки)	То же	1966	Япония	Oya	40–45	Sas
4	ЯЭ	Mizushima (Мицushima)	То же	1966	"	Kitaoka	Неизвестно	m-pk
5	ЯЭ	Мукаи m-pk	Пул комаров, дальнейшая аттенуация	1964	"	Yokishigi, Kanda, Inoue	2	m-pk
6	ЯЭ	Peking 1 (Пекин 1)	Мозг человека	1949	Китай	Фан Дзе Мин	40–45	P-1
7*	ЯЭ	Nakajama (Накаяма)	То же	1935	Япония	Mitamura, Kitaoka	Не менее 85	Нак
8*	ЯЭ	Японский 47	" "	1945	Манчжурия	А.И. Дробышевская	Не менее 75	Я-47
9*	ЯЭ	28	" "	1956	Китай	Гу Фан Джоу	30–35	28
10*	ЯЭ	29	" "	1956	"	Гу Фан Джоу	30–35	29
11	ЯЭ	К 33	Получен экспериментально	1979	СССР	Н.В. Логинова	Более 30	К 33
12	ЯЭ	К 40	То же	1979	СССР	Н.В. Логинова	Более 30	К 40
13	ЯЭ	К 43	" "	1979	СССР	Н.В. Логинова	Более 30	К 43
14	ЯЭ	К 3	" "	1984	СССР	П.Г. Дерябин, Н.В. Логинова	25–30	К 3
15	ЛЗН	Egypt 101 (Египет 101)	Сыворотка крови больного человека	1956	Египет	Melnick и соавт.	12	Eg 101
16	ЛЗН	Ig 2266	Пул комаров	1955	Индия	Donawate и соавт.	3	Ig 2266
17	ЛЗН	B956	Сыворотка крови больного человека	1937	Африка, Уганда	Smithburn и соавт.	Около 30	B956
18	ЛЗН	П-1640	Смесь органов трех поплзней	1968	СССР, Азербайджан	С.Я. Гайдамович и соавт.	3	П-1640
19	Усуту	AR-1776	Пул комаров	1959	Южная Африка	McIntosh и соавт.	7	Усуту

Примечание. * – штаммы хранятся в ГКВ ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России.

ном виде в ампулах при низкотемпературном режиме (-40°C, -70°C) хранения. Периодически проводятся проверки сохранения исходных свойств коллекционных штаммов.

Среди штаммов вируса ЯЭ в коллекции находятся пять экспериментально полученных авторских вариантов этого вируса. Это мутант *m-pk* вируса Мукаи из Японии, а также отечественные клонированные штаммы вируса ЯЭ – К33, К40, К43 и К3.

В 1964 г. японский исследователь Y. Inou сообщил о выделении мутантного варианта штамма Мукаи, *m-pk*, который был получен после серийных пассажей родительского штамма в культурах клеток кожи эмбрионов белых мышей [1]. Далее культивирование вируса проводили в первичных культурах почки свиней, что позволило получать значительные объемы культуральной жидкости, содержащей мутант вируса ЯЭ – *m-pk*. Также первично полученный в клетках кожи эмбрионов мыши материал культивировали в перевиваемых клетках почки эмбриона свиньи – *PS* (штамм *m-PS*). Авторы доказали, что аттенуированный вариант вируса Мукаи, *m-pk*, является высокоиммуногенным штаммом, а после однократной подкожной инъекции поросётам штамм *m-pk* вызывал значительное нарастание гематоглобинин-

ингибирующих и вируснейтрализующих антител (АТ). Это позволило авторам успешно использовать этот штамм для иммунизации свиней в очагах ЯЭ на территории Японии.

Штамм *m-pk* был передан для изучения в Ленинград (ныне Санкт-Петербург) профессору А.А. Смородинцеву. Штамм прошел дополнительное клонирование методом конечных разведений, один из клонов получил название *m-pk/L*. Он прошел всестороннее экспериментальное изучение и после положительных характеристик был использован для иммунизации 528 волонтеров, при этом после двукратного введения вакцины у 80–90% из них определили нарастание титра вируснейтрализующих АТ, причем продолжительность индуцированного иммунитета длилась по крайней мере 1 год [1–3].

Также штамм *m-pk* был передан автором проф. В.В. Погодиной в Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов РАМН для изучения [4]. В нашу коллекцию штамм *m-pk* поступил от В.В. Погодиной.

Авторские штаммы вируса ЯЭ – К33, К40, К43 – получены при целенаправленных исследованиях по получению измененных стабильных вариантов вируса ЯЭ.

Штамм К33 вируса ЯЭ выделен методом клонирования из мелкой бляшки (0,1 мм в диаметре) разнораз-

Таблица 2

Структура различных вариантов лекарственной устойчивости ВИЧ-1 к АРВ препаратам (в %) в 2010–2012 гг.

Вирус	Штамм	Патогенность для нелинейных белых мышей		
		ic*	sc*	ip*
ЯЭ	Джагар 01	6,8	5,05	4,85
ЯЭ	ДВК-4	8,12	3,18	6,12
ЯЭ	Сазаки	8,92	5,16	6,86
ЯЭ	Мицushima	3,36	1,16	2,31
ЯЭ	Мукаи m-pk	4,32	0	1,15
ЯЭ	Пекин 1	9,00	5,60	6,32
ЯЭ	Накаяма	6,15	3,06	3,93
ЯЭ	Я-47	8,36	3,90	4,17
ЯЭ	28	7,20	2,70	3,15
ЯЭ	29	6,80	4,2	4,32
ЯЭ	К33	8,25	1,5	3,0
ЯЭ	К40	6,18	1,78	3,92
ЯЭ	К43	3,5	0	1,4
ЯЭ	К3	6,7	0	2,32
ЛЗН	Египет 101	7,06	3,16	4,18
ЛЗН	Ig2266	6,07	2,18	3,56
ЛЗН	B956	6,55	3,18	5,18
ЛЗН	П-1640	5,25	3,8	4,32
Усуту	AR-1776	5,11	0	1,22

Примечание. * – внутримозговой, подкожный и внутрибрюшинный способы заражения в Ig LD₅₀/мл.

мерных бляшек, образующихся под агаром в культурах клеток куриного эмбриона при заражении клеток популяцией штамма Накаяма. Выделенный клон прошел семь последовательных пассажей в первичных культурах эмбриона мыши при 37°C с целью закрепления исходных характеристик. После 30 пассажей в мозге белых мышей он стабильно сохраняет свойства слабопатогенного при подкожном введении штамма (табл. 2), однако обладает слабой антигенной и иммуногенной активностью.

Штамм К40 вируса ЯЭ является клонированным вариантом штамма Пекин-1. Популяция штамма Пекин-1 формирует в культурах клеток куриного эмбриона под агаром бляшки разного размера от 3 мм (крупные в 70% популяции) до 1,2 мм (мелкие до 30%). К40 выделен из крупной бляшки (3 мм). Далее прошел два пассажа в клетках культуральной линии PS, после чего пассировался в головном мозге белых мышей. Клон сохраняет стабильно исходную высокую церебральную и периферическую активность (см. табл. 2), однороден по признаку размера бляшек (сохраняет крупнобляшковую характеристику), отличается высокой антигенной и иммуногенной способностью.

Штамм К43 выделен из мелкой бляшки (1,3 мм в диаметре) штамма Пекин-1, который предварительно прошел 85 последовательных пассажей в первичной культуре клеток эмбриона овцы (линия П-1-85ПЭО). После выделения прошел шесть дополнительных пассажей в клетках ВНК-21 при 37°C. Далее пассируется через головной мозг белых мышей. Стабильно сохраняет свойства аттенуированного штамма – слабая церебральная и периферическая активность, наряду с этим он является антигенно- и иммуногенно-активным вариантом вируса ЯЭ [4, 5].

Штамм К3 вируса ЯЭ получен из хронически инфицированной линии культур клеток головного мозга мышечных сосунков, предварительно зараженной К33 вируса ЯЭ (ГМС-1-К33). [6]. Доказано, что при данных условиях формируется персистентная инфекция клеток с фазами стадийного развития (дегенерация и репопуляция), связанными с высокой цитопролиферативной способностью хронически инфицированных вирусом ЯЭ клеток. Наряду с этими явлениями персистирующий вирус также подвергался изменениям по разным показателям активности. На 108-м пассаже линии ГМС-1-К33 (422-е сутки наблюдения) после 3-кратного клонирования из крупной бляшки (2,5 мм) выделен клон 3 (К3) вируса ЯЭ. Он отличался сниженной нейровирулентностью для белых беспородных мышей, а также уникальной способностью вызывать выраженную цитодеструкцию первичных фибробластов 9-дневных куриных эмбрионов и размножаться в этих культурах клеток в необычайно высоких для вируса ЯЭ титрах (9–10 lg БОЕ/мл.) [7]. Биологические свойства К3 оказались оптимальными для разработки на его основе культуральной инактивированной вакцины против ЯЭ [8]. Штамм К3 (так же, как ранее, К33, К40 и К43 вируса ЯЭ) депонирован в ГКВ. Получен российский патент за № 1 751 203 на изобретение «Штамм Virus japonici encephalitis для приготовления диагностических и профилактических препаратов» [9].

Помимо трех эталонных штаммов вируса ЛЗН в коллекции сохраняется штамм П-1640 (см. табл. 1), выделенный группой отечественных ученых во главе с проф. С.Я. Гайдамович из органов трех поползней в Азербайджане в 1969 г. [10]. Авторы определили его как штамм, принадлежащий к африканско-средиземноморскому генотипу, к которому относятся штаммы Египет 101 и B956 вируса ЛЗН в отличие от индийского генотипа штамма Ig2266. Патогенность штамма П-1640 не отличалась от эталонных штаммов обоих генотипов вируса (см. табл. 2).

Штамм AR-1776 вируса Усуту изучен в связи с антигенной близостью с вирусами ЯЭ и ЛЗН (см. табл. 1). При определении патогенности этого вируса оказалось, что он является естественно аттенуированным вариантом: штамм не патогенен для мышей при подкожном, внутримышечном и внутрибрюшинном заражении (см. табл. 2).

В отношении вируса Усуту показано [11], что его циркуляция в странах Европы (Италия, Австрия, Швейцария, Германия, Венгрия) с 1966 г. (а может быть, и ранее) связывалась с падежом диких птиц разных видов. Полагают, что причины таких вспышек заболевания птиц вызваны изменениями климатических условий. Длительные периоды влажной и жаркой погоды способствуют эффективности трансмиссии вируса чувствительным хозяевам, встречающимся с возбудителем впервые.

Таким образом, депонированные в ГКВ штаммы флавивирусов подгруппы ЯЭ, изолированных из природных источников или полученных экспериментальным путем, представляют собой уникальную отечественную коллекцию для изучения истории и эволюции вирусов подгруппы ЯЭ, а также для разработки и совершенствования диагностических и профилактических препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Inoue Y.K. An attenuated mutant of Japanese encephalitis virus. *Bull. World Health Organization*. 1964; 30: 181–5.
2. Inoue Y.K. An attenuated Japanese encephalitis vaccine. *Progr. Med. Virol.* 1975; 19: 247–56.

3. Piyenko V., Panov A.G., Prozorova I.N. et al. Biologic and immunogenic properties of Japanese B encephalitis. *Am. J. Epidemiol.* 1972; 95: 148–56.
4. Погодина В.В., Чумаков М.П., Киселева Л.А., Левина и др. Характеристика аттенуированного m-мутанта вируса ЯЭ в аспекте генетической стабильности, однородности и культуральных особенностей. В кн.: *Арбовирусы, передаваемые комарами*. М.; 1969: 174–84.
5. Логинова Н.В. Характеристика вариантов вируса японского энцефалита по ряду генетических признаков. В кн.: *Материалы XV научной сессии Института полиомиелита и вирусных энцефалитов*. М.; 1968; вып. 3: 230–1.
6. Логинова Н.В. *Биология flavivirusов подгруппы японского энцефалита*: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. М.: 1985.
7. Дерябин П.Г., Логинова Н.В. Высокопродуктивный аттенуированный вариант вируса японского энцефалита. *Вопросы вирусологии*. 1995; 6: 265–8.
8. Логинова Н.В., Дерябин П.Г., Тихомиров Е.Е., Карпова Е.Ф. Инактивированная культуральная вакцина для профилактики японского энцефалита (экспериментально лабораторная схема производства и контроля). *Вопросы вирусологии*. 2007; 3: 26–9.
9. Дерябин П.Г., Логинова Н.В. *Патент № 1751203 на изобретение: Штамм Virus japonici encephalitis для приготовления диагностических и профилактических препаратов. Патент 1751203 РФ*. Зарегистрировано в Гос. Реестре изобретений 28 июля 1993.
10. Гайдамович С.Я., Никифоров Л.П., Громашевский В.Л. и др. Выделение арбовирусов из групп А и В в Азербайджане. В кн.: *Материалы XV научной сессии Института полиомиелита и вирусных энцефалитов*. М.; 1968; вып. 3: 185–6.
11. Weissenbröck H., Bakonyi T., Rossi G., Mani P., Nowotny N. Usutu virus, Italy, 1996. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19 (2): 274–7.
2. Inoue Y.K. An attenuated Japanese encephalitis Vaccine. *Progr. Med. Virol.* 1975; 19: 247–56.
3. Piyenko V., Panov A.G., Prozorova I.N. et al. Biologic and immunogenic properties of Japanese B encephalitis. *Am. J. Epidemiol.* 1972; 95: 148–56.
4. Pogodina V.V., Chumakov M.P., Kiseleva L.A. et al. The characteristic of an attenuated m-mutant of virus JE in aspect of genetic stability, uniformity and cultural features. *Arbovirusy, peredavaemye komarami*. Moscow; 1969: 174–84. (in Russian)
5. Loginova N.V. The characteristic of strains of a virus of Japanese encephalitis on a number of genetic signs. *Proc. XV scientific session of Institute of poliomyelitis and virus encephalitis*. Moscow; 1968: 230–1. (in Russian)
6. Loginova N.V. Biology flavivirus subgroups of Japanese encephalitis. Dr. med. Sci. Diss. Moscow; 1985. (in Russian)
7. Deryabin P.G., Loginova N.V. Highly productive attenuated variant of Japanese encephalitis virus. *Voprosy virusologii*. 1995; 6: 265–8. (in Russian)
8. Loginova N.V., Deryabin P.G., Tihomirov E.E., Karpova E.F. Tissue culture inactivated vaccine for the prevention of Japanese encephalitis: experimental and laboratory process and control layout. *Voprosy virusologii*. 2007; 3: 26–9. (in Russian)
9. Patent N. 1751203 for the invention: «Virus japonici encephalitis strain for preparation of diagnostic and preventive preparations. The Patent holder of the D.I. Ivanovsky Institute of Virology of the Russian Academy of Medical Science. Country: Russian Federation. Authors: Deryabin P.G., Loginova N.V. It is registered in State. register of inventions on July 28, 1993, is valid from July 28.
10. Gaydamovich S.Ya., Nikiforov L.P., Gromashevskiy V.L. et al. Allocation of arboviruses from groups A and B in Azerbaydzhan. *Proc. XV scientific session of Institute of poliomyelitis and virus encephalitis*. Moscow; 1968: 185–6. (in Russian)
11. Weissenbröck H., Bakonyi T., Rossi G., Mani P., Nowotny N. Usutu virus, Italy, 1996. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19 (2): 274–7.

REFERENCES

1. Inoue Y.K. An attenuated mutant of Japanese encephalitis virus. *Bull. World Health Organization*. 1964; 30: 181–5.

Поступила 23.05.13

Received 2305.13

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.98:578.828.61-092:612.017.1.064]-085.015.8

Колomeец А.Н.^{1,2}, Довгополюк Е.С.², Сергеева И.В.², Ястребов В.К.¹, Тюменцев А.Т.²

Показатели лекарственной устойчивости вируса иммунодефицита человека к антиретровирусным препаратам у ВИЧ-инфицированных лиц в Сибирском федеральном округе в 2010–2012 гг.

¹ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, 644080, Омск;

²Сибирский федеральный окружной центр по профилактике и борьбе со СПИД, 644080, Омск

Исследовали распространенность мутаций лекарственной устойчивости к основным трем классам антиретровирусных (АРВ) препаратов у пациентов, получающих АРВ-терапию. Среди основных мутаций лекарственной устойчивости за весь период наблюдения отмечена высокая частота мутаций M184V, K101E, K103N, Y181C и G190S, влияющих на развитие устойчивости ВИЧ-1 к нуклеозидным и нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы (НИОТ и ННИОТ). Освещены проблемы практического применения результатов исследования лекарственной устойчивости ВИЧ-1 в регионах Сибирского федерального округа (СФО).

Ключевые слова: ВИЧ-1; лекарственная устойчивость; генотипирование; секвенирование.

Для цитирования: *Вопросы вирусологии*. 2015; 60 (1): 20–23.

Kolomeets A.N.^{1,2}, Dovgopolyuk E.S.², Sergeeva I.V.², Yastrebov V.K.¹, Tyumentsev A.T.²

Indicators of the human immunodeficiency virus drug resistance to antiretroviral drugs in HIV-infected individuals in the Siberian federal district in 2010-2012

¹Omsk Research Institute of Natural Focal Infections, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 644080, Omsk, Russia; ²Siberian Federal District Center for AIDS Prevention, 644080, Omsk, Russia

Для корреспонденции: Колomeец Анна Николаевна, канд. мед. наук; e-mail: arbitasfoc2@gmail.com
Correspondence to: Anna Kolomeets, MD, PhD; e-mail: arbitasfoc2@gmail.com