

Ленева И.А.¹, Леонова Е.И.¹, Махмудова Н.Р.¹, Фалынская И.Н.¹, Федякина И.Т.², Зверев В.В.¹,
Михайлова Н.А.¹

Разработка экспериментальной модели сочетанной вирусно-бактериальной пневмонии

¹ФГБУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», 105064, г. Москва; ²Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва

В данном исследовании нами разработана экспериментальная модель сочетанной вирусно-бактериальной пневмонии, вызванной последовательным заражением мышей интраназально вирусом гриппа А/Калифорния/04/09 и интраназально *S. aureus* 1986. Показано, что комбинированное последовательное заражение приводит к увеличению смертности мышей, потере массы тела, а также к сокращению средней продолжительности жизни по сравнению с группами мышей, инфицированных отдельно вирусом гриппа или *S. aureus* 1986 соответствующим путем такими же дозами. Данные о клинических признаках заболевания были подтверждены вирусологическими и микробиологическими характеристиками инфекции. Титр вируса в легких и количество колониеобразующих единиц в высеве из легких при последовательном заражении мышей вирусом гриппа А/Калифорния/04/09 (H1N1) и *S. aureus* 1986 значительно выше, чем при аналогичном отдельном заражении вирусом гриппа и *S. aureus* 1986. Кроме того, последующее после вирусного бактериальное заражение приводило к увеличению сроков элиминации вируса и бактерий из легких. Эти результаты свидетельствуют об усилении роста *S. aureus* 1986 и повышении факторов патогенности стафилококка в условиях его ассоциации с вирусом гриппа.

Ключевые слова: грипп; вирус гриппа; вторичные пневмонии после гриппозной инфекции; *S. aureus*.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60 (5): 27–31.

Leneva I.A.¹, Leonova E.I.¹, Makhmudova N.R.¹, Falynskova I.N.¹, Fedyakina I.T.², Zverev V.V.¹,
Mikhailova N.A.¹

Experimental model of secondary bacterial pneumonia after influenza

¹I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; ²D.I. Ivanovsky Institute of Virology «Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya», Moscow, Russia

In this work, we developed and characterized a mouse model of the secondary bacterial pneumonia after influenza. Specifically, the *S. aureus* 1986 given intranasally to the mice infected intranasally with the A/California/04/2009 (H1N1 pdm) virus resulted in greater mortality, weight loss, and reduction of mean life time as compared with infection with either pathogen alone. These data were confirmed by the virological and microbiological studies. Both viral and bacterial lung titers were enhanced during coinfections compared with single infections. In addition, preceding influenza infection resulted in a decreased clearance of the virus and *S. aureus* in lungs of mice. These findings indicate that the influenza virus exacerbates the *S. aureus* pneumonia and its pathogen factors in mice.

Key words: influenza; influenza virus; secondary bacterial pneumonia after influenza; *S. aureus*.

Received 22.05.14

For correspondence: Irina Falynskova, research fellow; e-mail: falynskova@mail.ru

Citation: Voprosy virusologii. 2015; 60(5): 27–31. (In Russ.)

Введение

Грипп является инфекционным заболеванием, наносящим вред здоровью людей и приводящим к огромным экономическим потерям. Смертность от гриппа в период эпидемий в разных возрастных группах колеблется от десятков до сотен случаев, в период пандемии этот показатель может достигать 1000 случаев на 100 тыс. населения [1–3], а ежегодные коэффициенты пораженности оценивают на уровне 5–10% среди взрослого населения и 20–30% среди детей [1]. Большая часть смертельных исходов гриппа обусловлена вторичными бактериальными осложнениями, среди которых ведущую роль занимают пневмонии. Из 429,2 млн случаев пневмонии, регистрируемых ежегодно, 200 млн – после перенесенных ОРВИ и гриппа, из них 3–4 млн заканчиваются смертью (7% от общей смертности). К группе особого риска относятся дети младше 5 лет, у которых 43–67% случаев пневмоний

зарегистрированы после перенесенных ОРВИ [4, 5]. Показано, что распространенность пневмоний значительно увеличивается после эпидемий гриппа, достоверное повышение смертности в результате пневмоний фиксировали во время пандемий 1918, 1957, 1968 и 2009 гг. [4–6]. Так, гистологическое и микробиологическое исследование образцов, полученных от аутопсии людей, умерших во время пандемии «испанки» 1918 г., показало, что большинство смертельных случаев было обусловлено вторичными пневмониями [6]. Среди этиологических агентов вторичных пневмоний наиболее значимыми являются *Streptococcus pneumoniae* и *Staphylococcus aureus*. События последних лет свидетельствует об увеличении смертности в результате вторичной бактериальной пневмонии, вызванной *S. aureus*, развивающейся после гриппозной инфекции, в частности среди детей [7]. Последняя пандемия гриппа, вызванная вирусом H1N1 2009,

также показала особую важность понимания взаимодействия между *S. aureus* и вирусом гриппа. Анализ клинических данных подтвердил, что на долю бактериальных пневмоний приходилось 30% осложнений после перенесенного пандемического гриппа, при этом наиболее частым регистрируемым патогеном был *S. aureus* [6–8].

Если моделирование пневмонии у мышей инфицированием их вирусом гриппа А с последующим заражением *S. pneumoniae* проведено в ведущих лабораториях мира и опубликовано в статьях [1, 9–11], то о пневмонии, вызванной инфицированием вирусом гриппа А с последующим заражением *S. aureus*, количество экспериментальных данных ограничено [4, 12, 13].

Цель настоящей работы – разработка экспериментальной модели вторичной бактериальной пневмонии, вызываемой *S. aureus* после гриппозной инфекции, и изучение на ней патогенеза инфекции и механизма развития осложнения.

Материалы и методы

Вирусные и бактериальные штаммы, их получение

Для моделирования гриппозной инфекции был использован штамм вируса гриппа А/Калифорния/04/2009 (пндм H1N1 2009), полученный из ВОЗ. Вирус адаптировали к мышам путем 5 последовательных пассажей через легкие. Для этого животных первый раз заражали интраназально аллантоисным вирусом, после появления признаков болезни мышам забивали и в стерильных условиях получали гомогенат легочной ткани, который в последующем использовали для интраназального заражения. Гомогенатом легких 5-го пассажа заражали 10-дневные куриные эмбрионы. Аллантоисный вирус после титрования на мышах использовали для дальнейшего инфицирования животных.

Культуру штамма *S. aureus* 1986 из коллекции лаборатории протективных антигенов НИИВС им. И. И. Мечникова хранили в лиофилизированном состоянии. Для получения живой культуры ампулу в стерильных условиях вскрывали и добавляли 1 мл питательного бульона (ГРМ-бульон) (ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск). Суспензию переносили в пробирку объемом 2 мл и инкубировали 4 ч при 37 °С. Затем осуществляли посев на скошенный питательный агар (ГРМ-агар) (ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск). Пробирки с культурой инкубировали в течение 18 ч при 37 °С, по стандарту мутности определяли содержание бактерий в 1 мл объема и в этот же день использовали для заражения животных.

Моделирование сочетанной вирусно-бактериальной пневмонии

Мышей (BALB/C, самки массой 12–16 г) инфицировали интраназально под легким наркозом вирусом гриппа А/Калифорния/04/2009 (пндм H1N1 2009) (от 1 до 5 ЛД₅₀ в 0,05 мл). В предварительном опыте проводили титрование аллантоисного вируса на таких же мышах, которых затем использовали в основном опыте для определения летальных доз (ЛД). Далее в различные сроки (от 4 до 8 дней после вирусного заражения) мышам инфицировали повторно различными дозами *S. aureus* (внутрибрюшинно в объеме 0,5 мл или интраназально в объеме 0,05 мл). За животными наблюдали на протяжении эксперимента, в первые 5 дней после инфицирования мышам взвешивали ежедневно, далее – через день. Тяжесть инфекции у животных оценивали по трем критериям клинического течения болезни: смертность от инфекции, продолжительность жизни и изменение массы тела. Уменьшение или увеличение массы тела рассчитывали отдельно для каждой мыши и выражали в процентах, при этом за 100% принимали массу живот-

ного перед инфицированием. Для мышам одной группы определяли среднее значение процента потери или увеличения массы тела.

В качестве контрольных групп использовали животных, инфицированных отдельно соответствующими дозами вируса или *S. aureus*.

Получение легких мышам

В различные дни после инфицирования в каждой группе забивали по 3 мыши, в стерильных условиях извлекали легкие. После трехкратной промывки в растворе 0,01M фосфатно-солевого буфера (ФСБ) легкие гомогенизировали и ресуспендировали в 1 мл холодного стерильного раствора ФСБ. Суспензию осветляли от клеточного дебриса центрифугированием при 2000 г в течение 10 мин, 0,1 мл супернатанта отбирали для определения бактериальной плотности, а оставшийся супернатант использовали для определения инфекционного титра вируса в культуре клеток MDCK.

Определение титра вируса в легких мышам

Для определения инфекционного титра вируса клетки MDCK рассаживали в 96-луночных планшетах фирмы “Costar” со средней плотностью 30 000–35 000 клеток на лунку и выращивали в минимальной среде Игла (MEM) в присутствии 5% фетальной сыворотки телят, 10 мМ глутамина и антибиотиков (пенициллин 100 МЕ/мл и стрептомицин 100 мкг/мл) до полного монослоя. Перед заражением вирусом клетки 2 раза промывали средой MEM без сыворотки. Готовили 10-кратные разведения каждой пробы вируса из легких (цельный до 10⁻⁸) на среде с добавлением ТРСК-трипсина (2 мкг/мл). Полученными разведениями заражали монослой 4 лунок 96-луночного планшета. После инкубации при 37 °С в атмосфере 5% CO₂ в течение 72 ч клетки промывали трижды ФСБ и фиксировали 10% раствором формальдегида при 18–23 °С в течение 5 мин. После удаления раствора формальдегида в каждую лунку планшета вносили по 100 мкл 1% раствора кристаллического фиолетового и выдерживали при 18–23 °С в течение 5 мин. После промывания водой и высушивания планшета в лунки добавляли по 0,1 мл 96% спирта, инкубировали при покачивании при комнатной температуре в течение 20 мин, а затем измеряли оптическую плотность при длине волны 570 нм. Лунки считали положительными, если оптическая плотность в них была меньше оптической плотности в клеточном контроле на 20%. Инфекционный титр вируса определяли по 4 повторностям каждой пробы по методу Рида и Менча и выражали в log₁₀ ТЦИД₅₀/0,1 мл. Затем рассчитывали среднее значение титра для трех одинаковых проб.

Определение плотности бактерий в легких мышам

Для определения плотности бактерий полученные образцы гомогенизированных легких высеивали на чашки Петри с питательной средой № 10 (для идентификации *S. aureus*) (ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск) и инкубировали в течение 18 ч при 37 °С, а затем считали образовавшиеся колонии.

Результаты и обсуждение

Влияние доз заражения вирусом гриппа и S. aureus на заболеваемость мышам при внутрибрюшинном и интраназальном бактериальном инфицировании

На первом этапе был осуществлен подбор дозы вируса гриппа, которая при заражении вызывала заболевание у мышам, но не приводила к смертельным исходам. Для дальнейших исследований была выбрана доза 0,5 МЛД₅₀ вируса А/Калифорния/04/2009 (пндм H1N1 2009). Введение живой культуры штамма *S. aureus* 1986 проводили на 7-й день после вирусного заражения двумя путями – интраназально или внутрибрюшинно. В серии экспериментов было проведено сравнение клинических при-

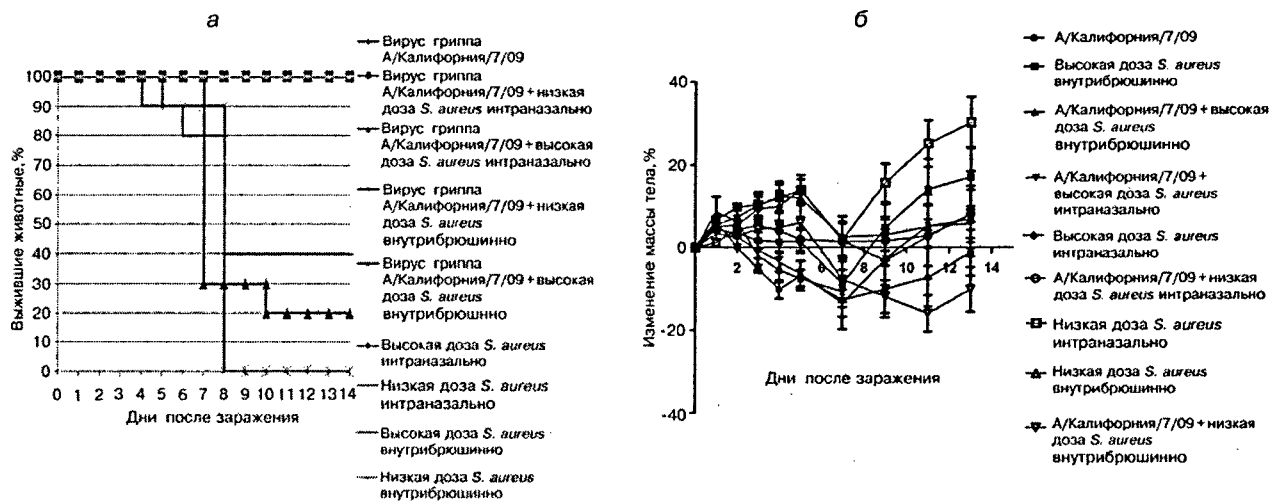


Рис. 1. Влияние различных доз и способов заражения *S. aureus* на выживаемость (а) и изменение массы тела (б) мышей.

наков болезни у нескольких групп инфицированных мышей: 1) вирусом в дозе $0,5 \text{ ЛД}_{50}$; 2) низкой дозой *S. aureus* при заражении внутрибрюшинно ($2 \cdot 10^7$ КОЕ/мл); 3) высокой дозой *S. aureus* при заражении внутрибрюшинно ($2 \cdot 10^9$ КОЕ/мл); 4) низкой дозой *S. aureus* при заражении интраназально ($2 \cdot 10^9$ КОЕ/мл); 5) высокой дозой *S. aureus* при заражении интраназально ($2 \cdot 10^{10}$ КОЕ/мл); 6) сочетанием вируса и низкой дозы *S. aureus* при заражении интраназально; 7) сочетанием вируса и низкой дозы *S. aureus* при заражении внутрибрюшинно; 8) сочетанием вируса и высокой дозы *S. aureus* при заражении интраназально; 9) сочетанием вируса и высокой дозы *S. aureus* при заражении внутрибрюшинно.

Несмотря на признаки болезни, а также незначительную потерю массы тела, в группах мышей, зараженных вирусом, низкой дозой *S. aureus* внутрибрюшинно или интраназально, высокой дозой *S. aureus* интраназально, а также вирусом с последующим заражением низкими дозами *S. aureus* интраназально или внутрибрюшинно, все животные остались живы в течение всего периода наблюдения (рис. 1, а).

Достоверную гибель наблюдали в группах, получивших высокую дозу *S. aureus* внутрибрюшинно, а также высокую дозу *S. aureus* интраназально или внутрибрюшинно после заражения вирусом. Гибель всех животных, наибольшая потеря массы тела и наименьшая продолжительность жизни наблюдались в группах, зараженных вирусом с последующим заражением высокой дозой *S. aureus* внутрибрюшинно. В группе, зараженной вирусом и высокой дозой *S. aureus* интраназально, погибли 80% животных, при этом средняя продолжительность

их жизни была выше, а потеря массы тела ниже (см. рис. 1, а, б).

Анализ динамики изменения массы тела показал, что отдельные животные, зараженные *S. aureus* интраназально или низкой дозой внутрибрюшинно, теряли массу, средняя масса тела животных в этих группах не менялась или даже увеличивалась. При высокой дозе, используемой для внутрибрюшинного заражения, половина мышей теряла массу и погибла, а выжившие, несмотря на потерю массы в первые дни наблюдения, восстановили ее к концу эксперимента. У мышей, зараженных только вирусом гриппа, масса тела снижалась до 7-го дня, а затем животные начинали ее набирать и к 14-му дню возвращались к уровню до эксперимента. Дополнительное инфицирование низкой дозой *S. aureus* интраназально практически не отражалось на значении массы тела животных. Максимальное снижение средней массы тела отмечено в группах, зараженных вирусом гриппа и *S. aureus* внутрибрюшинно в обеих дозах. Также значительное снижение массы наблюдали после введения высокой дозы *S. aureus* интраназально в сочетании с вирусной инфекцией (см. рис. 1, б).

Определение титра вируса в легких животных показало, что при заражении вирусом А/Калифорния/7/2009 отдельно он составлял $2,8 \pm 0,4 \text{ lg}$, при комбинированном заражении титр был значительно выше (табл. 1). Несмотря на то, что при вирусном заражении с последующим внутрибрюшинным заражением *S. aureus* клинические признаки заболевания были выражены сильнее, чем при последующем интраназальном заражении *S. aureus*, титр вируса в легких был ниже при внутрибрюшинном

Таблица 1

Влияние комбинированного заражения на продолжительность жизни, титр вируса и плотность бактерий в легких животных*

Схема заражения	Продолжительность жизни после бактериального заражения, дни	Титр вируса в легких, lg TЦИД_{50}	Плотность бактерий в легких, lg КОЕ/мл
А/Калифорния/04/09	>15	$2,8 \pm 0,4$	—
<i>S. aureus</i> внутрибрюшинно	2,0	—	$0,52 \pm 0,07$
<i>S. aureus</i> интраназально	>15	—	$0,72 \pm 0,12$
А/Калифорния/04/09 + <i>S. aureus</i> внутрибрюшинно	1,4	$5,2 \pm 0,2$	$2,03 \pm 0,05$
А/Калифорния/04/09 + <i>S. aureus</i> интраназально	2,3	$5,2 \pm 0,2$	$3,5 \pm 0,5$

Примечание. * — в опытах использовали следующие дозы заражения: вирус гриппа А/Калифорния/04/09 — $0,5 \text{ ЛД}_{50}$, *S. aureus* внутрибрюшинно — $2 \cdot 10^9$ КОЕ/мл, *S. aureus* интраназально — $2 \cdot 10^{10}$ КОЕ/мл.

Влияние сроков бактериального заражения на продолжительность жизни, титр вируса и плотность бактерий в легких животных

Дни взятия легких после вирусного и бактериального заражения	Титр вируса в легких, lg ТЦИД ₅₀ /мл	Плотность бактерий в легких, lg КОЕ/мл
5-й день после А/Калифорния/04/09, 1-й день после <i>S. aureus</i>	6,7±1	4±1
6-й день после А/Калифорния/04/09, 2-й день после <i>S. aureus</i>	8,7±0,3	3,5±0,5
7-й день после А/Калифорния/04/09, 1-й день после <i>S. aureus</i>	7,3±0,3	4±0,5
8-й день после А/Калифорния/04/09, 1-й день после <i>S. aureus</i>	7,0±0,5	3,0±0

(5,2±02 lg) заражении, чем при аналогичном интраназальном (6,2±02 lg).

Сходные данные были получены при определении плотности бактерий в высевах из легких, когда при комбинированном заражении значение КОЕ в 100–1000 раз превышало величину при отдельном интраназальном и внутрибрюшинном заражении *S. aureus*.

Совокупность полученных данных указывает на то, что комбинированное последовательное заражение приводит к повышению смертности мышей, потере массы тела и сокращению средней продолжительности жизни по сравнению с группами мышей, инфицированных отдельно вирусом гриппа или *S. aureus* 1986 соответствующим путем (см. табл. 1). Титр вируса в легких и КОЕ в высевах из легких при последовательном заражении мышей вирусом гриппа А/Калифорния/04/09 (H1N1) и *S. aureus* 1986 значительно выше, чем при аналогичном

отдельном заражении вирусом гриппа и *S. aureus* 1986. При этом анализ клинических признаков заболевания с вирусологическими и микробиологическими характеристиками инфекции показал, что пневмония более выражена при интраназальном, чем при внутрибрюшинном заражении *S. aureus* 1986.

Сроки заражения

Получив данные о том, что заражение вирусом гриппа за 7 дней до заражения *S. aureus* усиливает вирусную и бактериальную инфекцию, провели эксперименты по установлению оптимального времени между заражениями двумя возбудителями, обеспечивающего этот эффект. Для этого мышам заражали интраназально культурой *S. aureus* на 4, 5, 6 и 7-й дни после заражения вирусом гриппа А/Калифорния/04/09 (H1N1). Полученные данные свидетельствуют о том (рис. 2), что смертность животных статистически не различалась

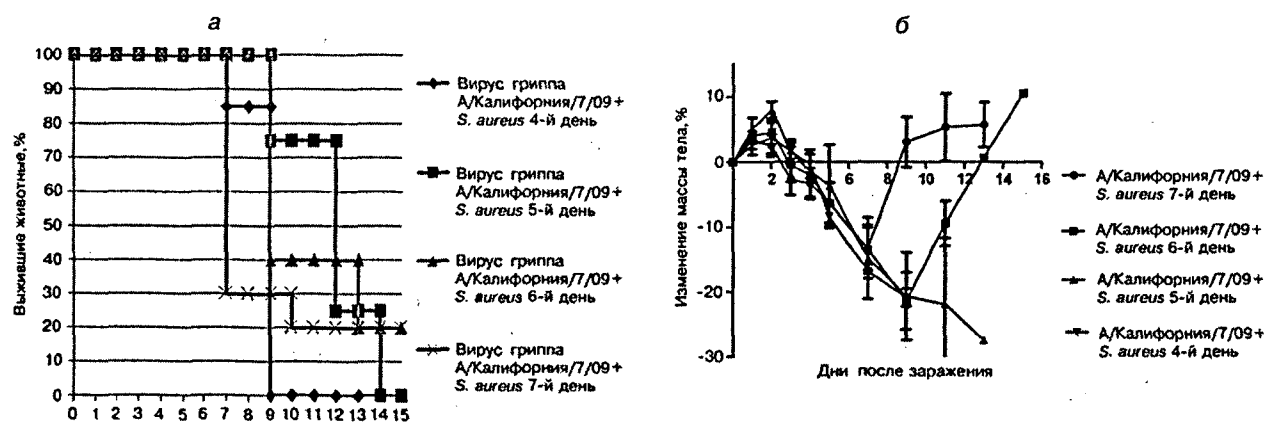


Рис. 2. Влияние сроков заражения на выживаемость (а) и изменение массы тела (б) мышей.

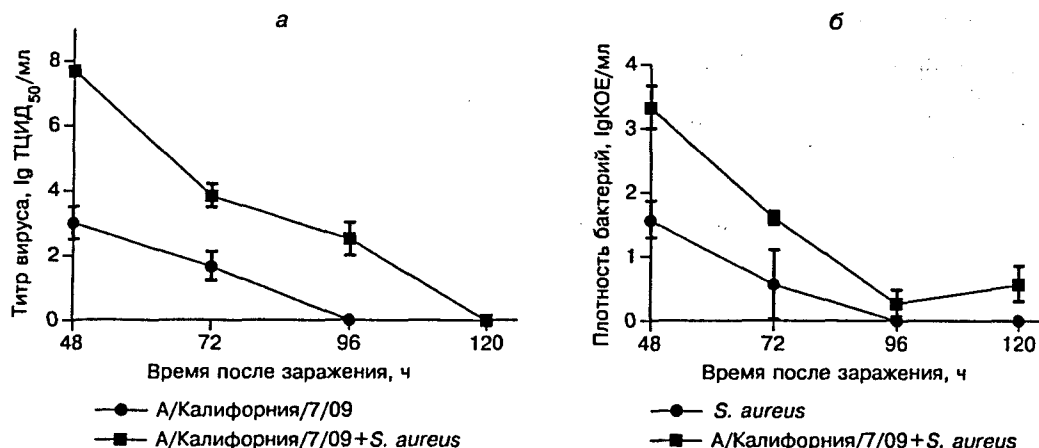


Рис. 3. Время очищения легких от вирусной (а) и бактериальной (б) инфекции.

при всех сроках между заражениями, однако в группах животных, инфицированных *S. aureus* на 4-й и 5-й день после вирусного заражения, регистрировали максимальную смертность животных (см. рис. 2, а). Снижение массы тела мышей также было наибольшим при заражении *S. aureus* на 4-й и 5-й день. У всех выживших животных прослеживалось снижение массы тела на протяжении эксперимента. У мышей, зараженных *S. aureus* на 6-й и 7-й день после вирусного инфицирования, сначала наблюдалось снижение массы тела, а затем начиная с 7-го и 9-го дня соответственно происходило его восстановление (см. рис. 2, б).

Результаты этих экспериментов коррелировали с данными вирусологических и микробиологических наблюдений, полученными при изучении легких мышей, взятых на следующий день после заражения *S. aureus*, т. е. на 5, 6, 7 и 8-й дни после вирусного и бактериального заражений соответственно (табл. 2). Титр вируса и плотность бактерий в легких различались незначительно при всех сроках наблюдения, но во всех случаях эти значения оказались выше, чем у животных, подвергшихся только вирусному или бактериальному заражению в те же сроки.

Время очищения легких от вирусной и бактериальной инфекции

В следующей серии экспериментов изучена кинетика очищения легких животных от вируса гриппа и *S. aureus* при комбинированном заражении в сравнении с введением инфекционного агента в отдельности. Мышей заражали интраназально $0,5 \text{ МЛД}_{50}$ вируса А/Калифорния/04/2009 (пндм H1N1 2009), затем на 4-й день после вирусного заражения вводили *S. aureus* интраназально в дозе $2 \cdot 10^{10} \text{ КОЕ/мл}$. Оценка титра вируса в легких мышей на 5-й и 9-й дни после бактериального и вирусного заражения соответственно показала, что в эти сроки происходило полное очищение легких от вируса и бактерий (рис. 3). Последовавшее после вирусного бактериальное заражение приводило к увеличению сроков элиминации вируса и *S. aureus* из легких. Полное очищение легких при инфицировании каждым патогеном происходило на 8-й день после вирусного заражения, в то время как при комбинированном заражении в эти сроки вирус и *S. aureus* в легких еще выявляли. Во всех остальных случаях титр вируса и плотность бактерий при комбинированном заражении оказались значительно выше, чем при заражении каждым агентом в отдельности.

Таким образом, нами разработана экспериментальная модель сочетанной вирусно-бактериальной пневмонии. Совокупность полученных данных позволяет выявить ряд различий в течении и исходе пневмоний, вызванных как отдельно вирусом гриппа или *S. aureus*, так и их сочетанием. Наиболее важным является увеличение смертности мышей в результате сочетанной инфекции по сравнению с инфекцией, вызванной каждым из патогенов в отдельности в одинаковые сроки и в одних и тех же дозах. Увеличение смертности мышей ассоциировалось с повышением титра вируса и плотности бактерий в легких по сравнению с группами мышей, инфицированных только вирусом гриппа или *S. aureus* 1986. Кроме того, последующее после вирусного бактериальное заражение приводило к увеличению сроков элиминации вируса и бактерий из легких. Эти результаты свидетельствуют об усилении роста *S. aureus* 1986 и повышении факторов патогенности стафилококка в условиях его ас-

социации с вирусом гриппа. Хотя разработанная модель имеет ряд ограничений, она демонстрирует влияние инфицирования вирусом гриппа у животных на дальнейший исход бактериальной пневмонии, вызванной *S. aureus* 1986, различия между сочетанной инфекцией и инфекциями, вызванными этими же агентами в отдельности, и дает понимание повышенной заболеваемости и смертности как результата осложнений после гриппозной инфекции. Процессы взаимного влияния двух патогенов, выявленные нами на модели животных в итоге, вероятно, проявляются при развитии инфекции. Дальнейшие исследования будут направлены на более детальное изучение закономерностей формирования вирусно-бактериальной инфекции, ее патогенеза и возможностей терапии.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 2–3, 5–13 см. REFERENCES)

1. Грипп. Информационный бюллетень ВОЗ. 2014; 211. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/ru/>
4. Бухарин О. В., Паньков А. С., Усвятцов Б. Я., Скворцов В. О. Модификация свойств вируса гриппа и *Staphylococcus aureus* в условиях их ассоциации. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2011; 3 (58): 24–8.

REFERENCES

1. Influenza. *Informatsionnyy byulleten' VOZ*. 2014; 211. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/ru/> (in Russian)
2. Legand A., Briand S., Shindo N., Brooks W.A., de Jong M.D., Farrar J. et al. Addressing the public health burden of respiratory viruses: the Battle against Respiratory Viruses (BRaVe) Initiative. *Future Virology*. 2013, 8 (10): 953–68.
3. L'vov D.K., Shchelkanov M.Y., Prilipov A.G., Vlasov N.A., Fedyakina I.T., Deryabin P.G. et al. Evolution of highly pathogenic avian influenza H5N1 virus in natural ecosystems of northern Eurasia (2005–08). *Avian Dis.* 2010. 54 (1): 483–95.
4. Bukharin O.V., Pankov A.S., Usvyatsov B.Ya., Skvortsov V.O. Modification of features of influenza virus and *Staphylococcus aureus* under coinfection. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika*. 2011; 3 (58): 24–8. (in Russian)
5. Potter C.W. Chronicle of influenza pandemics. In: Nicholson K.G., Webster R.G., Hay A.J., eds. *Textbook of influenza*. London: Blackwell Scientific Publications; 1998: 3–18.
6. Morens D.M., Taubenberger J.K., Fauci A.S. Predominant role of bacterial pneumonia as a cause of death in pandemic influenza: implications for pandemic influenza preparedness. *J. Infect. Dis.* 2008; 198 (7): 962–70.
7. Murray R.J., Robinson J.O., White J.N., Hughes F., Coombs G.W., Pearson J.C. et al. Community-acquired pneumonia due to pandemic A (H1N1)2009 influenza virus and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* co-infection. *PLoS One*. 2010; 5 (1): e8705.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Bacterial coinfections in lung tissue specimens from fatal cases of 2009 pandemic influenza A (H1N1)—United States, May–August 2009. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2009; 58 (38): 1071–4.
9. McCullers J.A., Rehg J.E. Lethal synergism between influenza virus and *Streptococcus pneumoniae*: characterization of a mouse model and the role of platelet-activating factor receptor. *J. Infect. Dis* 2002; 186 (3): 341–50.
10. McCullers J.A. Insights into the interaction between influenza virus and pneumococcus. *Clin. Microbiol. Rev.* 2006; 19 (3): 571–82.
11. McCullers J.A. Effect of antiviral treatment on the outcome of secondary bacterial pneumonia after influenza. *J. Infect. Dis.* 2004; 190 (3): 519–26.
12. Iverson A.R., Boyd K.L., McAuley J.L., Plano L.R., Hart M.E., McCullers J. A. Influenza virus primes mice for pneumonia from *Staphylococcus aureus*. *J. Infect. Dis* 2011; 203 (6): 880–8.
13. Lee M.H., Arrecubieta C., Martin F.J., Prince A., Borczuk A.C., Lowy F.D. A postinfluenza model of *Staphylococcus aureus* pneumonia. *J. Infect. Dis.* 2010; 201 (4): 508–15.

Поступила 22.05.14