

15. Baryshev P.B., Bogachev V.V., Gashnikova N.M. Genetic characterization of an isolate of HIV type 1 AG recombinant form circulating in Siberia, Russia. *Arch. Virol.* 2012; 157 (12): 2335–41.
16. Gashnikova N.M., Safronov P.F., Nikonorova Yu.V., Unagaeva N.V., Lapteva T.A. Properties CRF02\_AG isolates of HIV-1 circulating in the Novosibirsk Region. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2011; 3: 38–43. (in Russian)
17. Kurbanov F., Kondo M., Tanaka Y., Zhalaliev M., Giasova G., Shima T. et al. Human immunodeficiency virus in Uzbekistan: epidemiological and genetic analyses. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 2003; 19 (9): 731–8.
18. Carr J.K., Nadai Y., Eyzaguirre L., Saad M.D., Khakimov M.M., Yakubov S.K. et al. Outbreak of a West African recombinant of HIV-1 in Tashkent, Uzbekistan. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* 2005; 39 (5): 570–5.
19. Palm A.A., Esbjornsson J., Mansson F., Kvist A., Isberg P.E., Biague A. et al. Faster progression to AIDS and AIDS-related death among seroincident individuals infected with recombinant HIV-1 A3/CRF02\_AG compared with sub-subtype A3. *J. Infect. Dis.* 2014; 209 (5): 721–8.

Поступила 31.08.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015  
УДК 616.921.5-036.22-078-084

**Мукашева Е.А.<sup>1</sup>, Колобухина Л.В.<sup>1</sup>, Меркулова Л.В.<sup>1</sup>, Кистенева Л.Б.<sup>1</sup>, Заплатников А.Л.<sup>2</sup>, Смолоногина Т.А.<sup>3</sup>, Дешева Ю.А.<sup>3</sup>, Михайлова Е.В.<sup>4</sup>, Романовская А.В.<sup>4</sup>, Дубовицкая Н.А.<sup>4</sup>, Бурцева Е.И.<sup>1</sup>**

## **Серодиагностика в надзоре за циркуляцией вирусов гриппа в период пандемии, вызванной А(Н1N1)рdm09**

<sup>1</sup>Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва; <sup>2</sup>ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последиplomного образования» Минздрава России, 123995, г. Москва; <sup>3</sup>ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 197376, г. Санкт-Петербург; <sup>4</sup>ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, 410012, г. Саратов

**В статье представлены результаты оценки особенностей выработки факторов гуморального иммунитета в ответ на инфицирование пандемическим вирусом гриппа А (Н1N1)рdm09 лиц с различным эпидемиологическим анамнезом. Подтверждена высокая способность вирусов гриппа к распространению в коллективах закрытого типа, а также передача материнских антител новорожденным детям, в том числе к пандемическому штамму вируса гриппа А(Н1N1)рdm09. Исследование показало, что иммунный ответ к поверхностным антигенам вируса гриппа – гемагглютнину и нейраминидазе – в ходе естественного инфицирования пандемическими штаммами вируса гриппа А(Н1N1)рdm09 более чем в половине случаев формируется одновременно.**

**Ключевые слова:** вирус гриппа; антитела к гемагглютнину и нейраминидазе; А(Н1N1)рdm09.

**Для цитирования:** Вопросы вирусологии. 2015; 60 (6): 19–24.

**Mukasheva E.A.<sup>1</sup>, Kolobukhina L.V.<sup>1</sup>, Merkulova L.V.<sup>1</sup>, Kisteneva L.B.<sup>1</sup>, Zaplatnikov A.L.<sup>2</sup>, Smolonogina T.A.<sup>3</sup>, Desheva Yu.A.<sup>3</sup>, Mikhaylova E.V.<sup>4</sup>, Romanovskaya A.V.<sup>4</sup>, Dubovitskaya N.A.<sup>4</sup>, Burtseva E.I.<sup>1</sup>**

## **Serodiagnosis in the surveillance of the influenza virus circulation during the development of the pandemic caused by the A (H1N1)pdm09**

<sup>1</sup>"The D.I. Ivanovsky Institute of Virology" Federal State Budgetary Institution "Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 123098, Moscow, Russia; <sup>2</sup>Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Ministry of Health of the Russian Federation, 123995, Moscow, Russia; <sup>3</sup>Institute of Experimental Medicine, 197376, St. Petersburg, Russia; <sup>4</sup>V.I. Razumovsky Saratov State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, 410012, Saratov, Russia

**The goal of this work was to present the data of the study of the peculiarities of the generation factors of humoral immunity in the response to the infection with the pandemic influenza A (H1N1) pdm09 in patients with different epidemiological anamnesis. High ability of the influenza viruses to spread over closed communities and the transfer of the maternal antibodies to babies, including a pandemic strain of the influenza virus A (H1N1) pdm09, was confirmed. The results of this study showed that the immune response to the surface antigens of the influenza virus (hemagglutinin and neuraminidase) was formed during the natural infection with the pandemic strains of the influenza A (H1N1) pdm09 in more than a half of the cases simultaneously.**

**Key words:** influenza virus; antibodies to hemagglutinin and neuraminidase; A (H1N1)pdm09.

Received 29.05.14

**For correspondence:** Evgeniya Mukasheva, researcher; e-mail: mukasheva\_evgeniya@mail.ru  
**Citation:** Voprosy virusologii. 2015; 60(6): 19–24. (In Russ.)

Результаты эпидемиологических исследований с использованием современных методов серодиагностики гриппа имеют неоспоримое значение при ретроспективной диагностике, оценке группы риска инфицирования и заболевания, степени их восприимчивости, а также

скорости вовлечения в инфекционный процесс, что позволяет предупредить социально-экономический ущерб благодаря научно обоснованному применению эффективных средств профилактики и лечения [1].

В июне 2009 г. ВОЗ объявила о первой за последние

*Для корреспонденции:* Мукашева Евгения Андреевна, науч. сотр. лаб. этиологии и эпидемиологии гриппа; e-mail: mukasheva\_evgeniya@mail.ru

4 десятилетия пандемии гриппа вследствие быстрого глобального распространения нового вируса A(H1N1)pdm09 [2]. Первые штаммы, реассортанты вирусов гриппа свиней американской и евроазиатской линий, были детектированы среди людей в апреле 2009 г. в Северной Америке вопреки всем прогнозам относительно формирования нового пандемического варианта в популяции птиц стран Юго-Восточной Азии с участием высокопатогенного штамма А (H5N1) [3, 4].

Два поверхностных белка – гемагглютинин (НА) и нейраминидаза (НА) вируса гриппа A(H1N1)pdm09 – имели значительные отличия антигенных свойств от циркулировавших ранее сезонных штаммов вируса гриппа А(H1N1) [2, 5]. Характер гуморального иммунного ответа у людей, инфицированных пандемическим вирусом гриппа А (H1N1)pdm09, зависимость от возраста, состояние беременности и степень перекрестного взаимодействия с сезонными штаммами в значительной степени были не изучены [2].

Цель настоящей работы заключалась в выявлении особенностей выработки факторов гуморального иммунитета в ответ на инфицирование пандемическим вирусом гриппа А (H1N1)pdm09 среди лиц с различным эпидемиологическим анамнезом.

### Материалы и методы

**Сыворотки крови.** В исследование были включены парные сыворотки крови от 203 пациентов, госпитализированных с симптомами острой респираторной вирусной инфекции (ОРВИ) в ИКБ № 1 Москвы (2009–2011), в том числе беременные женщины, у которых заболевание гриппом и ОРВИ протекает в тяжелой форме [6]; одинарные сыворотки крови от 287 детей школьного возраста, проживающих в условиях интернатного типа в Москве (2009); одинарные сыворотки 83 рожениц и 20 новорожденных детей в возрасте 1 дня (2010), собранные сотрудниками ГМУ им. В.И. Разумовского (Саратов, март–апрель 2010 г.).

**Детекцию специфической РНК вируса гриппа А(H1N1)pdm09** проводили с использованием полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени в носоглоточных смывах от госпитализированных пациентов с применением коммерческих тест-систем “АмплиСенс® РИБО-преп», «АмплиСенс® РЕБЕРТА-Л», “АмплиСенс® Influenza virus A/B-FL”, “АмплиСенс® Influenza virus A/H1-swine-FL» («ИнтерЛабСервис», Москва).

**Уровни специфических антител к НА (анти-НА)** определяли в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) согласно описанному ранее методу [7]. Для удаления неспецифических ингибиторов исследуемые сыворотки обрабатывали ферментом нейраминидазой холерного вибриона («Denka Seiken Co., Ltd.», Япония) с последующим прогреванием при 56°C в течение 30 мин. Включены антигены референс-штаммов вирусов гриппа, рекомендованные экспертами ВОЗ в эпидемические сезоны 2009–2011 гг.: A/Brisbane/59/07 (H1N1), A/California/07/2009 (H1N1)pdm09, A/Brisbane/10/07 (H3N2), A/Perth/16/09 (H3N2), B/Brisbane/60/2008 (линия В/Виктория-подобных), B/Florida/4/2006 (линия В/Ямагата-подобных). В реакции использовали 0,75% взвесь эритроцитов человека группы крови 0 (I).

**Определение уровней специфических антител к НА (анти-НА)** пандемического вируса гриппа A(H1N1)pdm09 проводили в твердофазной реакции ингибирования нейраминидазной активности (твердофазная РИНА) по протоколу, описанному ранее, с последующей модификацией [8, 9]. Для выявления анти-НА использовали диагностический реассортантный штамм, подготовленный на основе вируса гриппа лошади А/лошадь/

Прага/1/56 (H7N7) – RN1/09–swine A(H7N1), содержащий НА от штамма A/California/07/2009 (H1N1)pdm09. Титр антинейраминидазных антител рассчитывали как величину, обратную разведению образца, дающего 50% ингибирование активности НА.

**Статистическую обработку полученных результатов** проводили с помощью пакета Statistica (версия 6.0). Для представления полученных данных, не подчиняющихся нормальному распределению, использовали показатели описательной статистики, такие как медиана (*Me*) и квартили (*Q1*; *Q3*). Для сравнения двух независимых выборок, которые не подчинялись закону нормального распределения, применяли критерий Манна–Уитни. В случае связанных выборок сравнение проводили с помощью критерия знаковых рангов Уилкоксона. Для тех же целей в случае номинальных данных (доля лиц с определенным серологическим показателем) применяли двусторонний вариант точного критерия Фишера или критерий Мак-Нимара. При проведении множественных попарных сравнений на одном массиве данных учитывали поправку Бонферрони для критического уровня значимости.

Защитный уровень антител в крови в РТГА определяли как значение титра антител 1:40 и более, для РИНА такие значения титра антител неизвестны.

За диагностически значимую динамику титров специфических антител для РТГА и твердофазной РИНА был принят 4-кратный и больший прирост титров между первой и второй сыворотками крови, взятыми от одного пациента.

### Результаты и обсуждение

В настоящее исследование были включены разные группы наблюдения в зависимости от их эпидемиологического анамнеза.

В 1-ю группу вошли 203 пациента, в том числе 75 беременных женщин на разных сроках гестации, госпитализированных с диагнозом «ОРВИ/грипп» в период эпидемических подъемов заболеваемости ОРВИ в 2009 – 2011 гг., этиологически связанных с появлением и активным распространением пандемического штамма вируса гриппа A(H1N1)pdm09 [3, 4]. Определенный интерес представляло оценить динамику специфических антител к вирусам гриппа в условиях его активной циркуляции среди таких пациентов, учитывая относительно короткий срок их пребывания в условиях стационара; интервалы между заборами парных проб крови составляли 7–10 дней, в некоторых случаях – от 3 до 15 дней.

Группа была разделена на пациентов с подтвержденной методом ОТ-ПЦР в реальном времени инфекцией A(H1N1)pdm09 (48 пациентов в 2009 г., 50 пациентов в 2011 г. и 57 беременных в 2011 г.), а также пациентов с ОРВИ (68 пациентов в 2011 г., в том числе 18 беременных), у которых не было детектировано специфической РНК вируса гриппа A(H1N1)pdm09 методом ОТ-ПЦР в носоглоточных смывах. Результаты титрования парных сывороток этих пациентов в РТГА со спектром циркулировавших штаммов представлены в табл. 1.

Прежде всего необходимо обратить внимание на то, что титры антител к A(H1N1)pdm09 ( $Me (Q1; Q3) = 2,32 (2,32; 3,32) \log_2$ ) в сыворотках, взятых в первые дни заболевания, в этой группе были статистически значимо ниже титров к циркулировавшим ранее сезонным штаммам вируса гриппа А: A(H1N1) –  $Me (Q1; Q3) = 4,32 (3,32; 6,32) \log_2$ , ( $p < 0,0001$ ) и A(H3N2) –  $Me (Q1; Q3) = 3,32 (2,32; 4,32) \log_2$ , ( $p < 0,001$ ). Более выраженные различия показателей были получены в отношении штаммов вируса гриппа В обеих эволюционных линий. Выявленные различия свидетельствуют о разной активности вирусов гриппа в предыдущие эпидемические сезоны и

Показатели анти-НА у пациентов, госпитализированных в ИКБ № 1 в период 2009–2011 гг.

Сравниваемые показатели	Штаммы вирусов гриппа	Группы наблюдения							
		пациенты ИКБ № 1 (эпидсезоны 2009–2010 и 2010–2011 гг.)		пациенты ИКБ № 1 (эпидсезон 2010–2011 гг.)		Беременные женщины (пациенты ИКБ № 1, эпидсезон 2010–2011 гг.)			
		ПЦР-положительные на A(H1N1)pdm09 (n = 98)		ПЦР-отрицательные на A(H1N1)pdm09 (n = 30)		ПЦР-положительные на A(H1N1)pdm09 (n = 57)		ПЦР-отрицательные на A(H1N1)pdm09 (n = 18)	
		первая сыворотка	вторая сыворотка	первая сыворотка	вторая сыворотка	первая сыворотка	вторая сыворотка	первая сыворотка	вторая сыворотка
Титры анти-НА к штаммам вирусов гриппа А и В, Me (Q1; Q3) log <sub>2</sub>	A(H1N1)pdm09	2,32*, ** (2,32; 3,32)	3,32* (2,32; 5,32)	3,32*, * (2,32; 5,32)	4,32 (2,32; 5,32)	3,32*, ##, ### (2,32; 3,32)	3,32### (3,32; 4,32)	3,32**, #, ^^ (2,32; 4,32)	3,32^^ (3,32; 4,32)
	A(H1N1)	4,32* (3,32; 6,32)	5,32* (4,32; 6,32)	4,32 (3,32; 6,32)	5,32 (3,32; 6,32)	4,32*, ## (2,32; 5,32)	4,32## (3,32; 5,32)	4,82## (3,32; 6,32)	4,32 (3,32; 7,32)
	A(H3N2)	3,32** (2,32; 4,32)	3,32 (2,32; 4,32)	3,32 (2,32; 4,32)	3,32 (2,32; 4,32)	3,32**, ^ (3,32; 3,32)	3,32^ (3,32; 4,32)	3,32 (3,32; 4,32)	3,82 (3,32; 4,32)
	В/Виктория-подобный	4,32*, *** (3,32; 6,32)	5,32*** (4,32; 7,32)	5,32** (4,32; 6,32)	5,32 (4,32; 7,32)	4,32* (4,32; 5,32)	5,32 (4,32; 6,32)	4,82** (4,32; 6,32)	4,82 (4,32; 5,32)
	В/Ямагата-подобный	6,32*, * (5,32; 8,32)	7,32* (5,32; 8,32)	6,32** (5,32; 8,32)	6,32 (5,32; 8,32)	5,32* (4,32; 6,32)	5,32 (4,32; 6,32)	6,32** (4,32; 7,32)	5,32 (4,32; 6,32)
Процент защитных титров антител к вирусам гриппа (≥ 1:40)	A(H1N1)pdm09	9,2**	31,6**	26,7	33,3	1,8	10,5	5,6	11,1
	A(H1N1)	36,7**	61,2**	46,7	63,3	29,8^^	45,6^^	50	44,4
	A(H3N2)	13,3	18,4	16,7	20	5,3	10,5	22,2	22,2
	В/Виктория-подобный	48,0	56,1	66,7	66,7	47,4	56,1	50	50
	В/Ямагата-подобный	77,6	82,7	76,7	76,7	64,9	59,6	72,2	66,7

Примечание. \* –  $p < 0,0001$ ; \*\* –  $p < 0,001$ ; \*\*\* –  $p = 0,009$ ; # –  $p = 0,008$ ; ## –  $p = 0,004$ ; ### –  $p = 0,0001$ ; ^ –  $p = 0,003$ ; ^^ –  $p = 0,02$ ; ^^ –  $p = 0,01$ .

подтверждают новизну пандемического вируса гриппа A(H1N1)pdm09.

Следует также отметить выявленные различия в динамике показателей титров антител к спектру исследованных вирусов гриппа. В группе ПЦР-положительных на A(H1N1)pdm09 статистически значимые различия между показателями титров антител в парных пробах получены в отношении A(H1N1)pdm09 и A(H1N1), а также вирусов гриппа В обеих линий. В группе беременных женщин приросты к штаммам вирусов гриппа А достоверны, но менее выражены по величине, что, возможно, связано с некоторой “задержкой” в стимулировании выработки специфических антител при беременности. Положительная динамика показателей титров антител к штамму вируса гриппа A(H1N1)pdm09 отмечена в группе беременных женщин, ПЦР-отрицательных на A(H1N1)pdm09. Можно предположить, что в эту группу также могли войти инфицированные A(H1N1)pdm09 женщины, однако при позднем заборе материала (носоглоточных смывов) результат был отрицательным.

Полученные данные коррелируют с динамикой процента лиц, приобретших после перенесенной инфекции титры специфических антител на защитном уровне. При этом необходимо отметить, что показатели были невысокими в группах с подтвержденной инфекцией A(H1N1)pdm09, что можно объяснить короткими промежутками между заборами проб крови. На это указывают и данные, полученные в отношении сезонных штаммов вирусов гриппа A(H3N2) и В, у которых положительной динамики обнаружено не было.

Все вышесказанное подтверждается показателями динамики специфических антител в ответ на инфекцию. Доля лиц с сероконверсией антител к A(H1N1)pdm09 была невысокой: 28,6% в группе с подтвержденной инфекцией A(H1N1)pdm09 (за исключением беременных

женщин) и 16,7% в группе пациентов, инфицированных другими ОРВИ. В группе беременных женщин показатели составили 14 и 11,1% соответственно. Также были выявлены сероконверсии к сезонному штамму A(H1N1), показатели в группах составили 22,4, 16,7, 14,0 и 11,1% соответственно. Это свидетельствует о том, что инфицирование пандемическим гриппом A(H1N1)pdm09 стимулировало выработку антител не только к пандемическому штамму A(H1N1)pdm09 вируса гриппа, но и к сезонному штамму вируса гриппа A(H1N1).

Подобные исследования парных сывороток крови лиц с подтвержденной методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени инфекцией пандемическим вирусом гриппа A(H1N1)pdm09 описаны в ряде научных статей. Результаты серологических исследований, представленных в этих статьях, различались и не всегда были подтверждены результатами, описанными в данной статье. Такие отличия могут быть связаны с различной активностью вирусов гриппа в разных странах и на отдельных территориях, а также с уровнем восприимчивости и инфицирования разных групп населения.

Процент лиц с титрами специфических антител к пандемическому вирусу гриппа A(H1N1)pdm09 на защитном уровне и лиц с сероконверсией по результатам исследований, проведенных в Австралии, был выше по сравнению с результатами нашего исследования [10]. Анти-НА на защитном уровне к A(H1N1)pdm09 регистрировали в 35% сывороток, взятых в начале заболевания, и в 87% сывороток, взятых через 2 нед [10]. Защитный уровень антител к сезонному вирусу гриппа A(H1N1) регистрировали в 53% сывороток, взятых в начале заболевания, и в 76% сывороток, взятых через 2 нед. Процент сероконверсии к пандемическому вирусу гриппа A(H1N1)pdm09 равен 61, к сезонному вирусу гриппа A(H1N1) – 16 [10].

Таблица 2

Показатели анти-НА у беременных женщин и новорожденных детей в марте–апреле 2010 г.

Показатель	Штамм вируса гриппа	Группы наблюдения	
		беременные (n = 83)	новорожденные (n = 20)
Анти-НА к штаммам вирусов гриппа А и В, Me (Q1; Q3) log <sub>2</sub>	A(H1N1)pdm09	4,32 (2,32; 5,32)	3,82 (2,32; 5,82)
	A(H1N1)	4,32* (2,32; 5,32)	6,32* (4,82; 6,32)
	A(H3N2)	2,32 (2,32; 3,32)	2,82 (2,32; 3,82)
	В/Виктория-подобный	4,32** (2,32; 5,32)	5,32** (3,82; 6,32)
	В/Ямагата-подобный	5,32*** (3,32; 6,32)	6,32*** (5,32; 7,32)
% защитных титров антител к вирусам гриппа (≥ 1:40)	A(H1N1)pdm09	30,0	30,0
	A(H1N1)	46,0 <sup>#</sup>	75,0 <sup>#</sup>
	A(H3N2)	5,0	5,0
	В/Виктория-подобный	34,0	55,0
	В/Ямагата-подобный	54,0 <sup>#</sup>	85,0 <sup>#</sup>

Примечание. \* –  $p = 0,006$ ; \*\* –  $p = 0,013$ ; \*\*\* –  $p = 0,001$ ; <sup>#</sup> –  $p = 0,025$ ; <sup>#</sup> –  $p = 0,012$ .

Результаты исследований парных сывороток крови людей, проведенные в Сингапуре, сравнимы с нашими данными [2]. В сыворотках крови, взятых в начале заболевания от лиц с подтвержденной методом ОТ-ПЦР в реальном времени инфекцией A(H1N1)pdm09, не были обнаружены антитела на защитном уровне к пандемическому штамму вируса гриппа A(H1N1)pdm09, но выявлены в 79% образцов в сыворотках, взятых через 2 нед. Защитный уровень антител к A(H1N1) в начале заболевания обнаружен в 42% сывороток крови инфицированных людей, в последующие дни болезни – в 60% сывороток. Процент сероконверсии к A(H1N1)pdm09 равен 82, к A(H1N1) – 20 [2].

Процент лиц с титрами специфических антител к вирусу гриппа A(H3N2) на защитном уровне и лиц с сероконверсией по результатам обоих исследований, был выше по сравнению с данными настоящей работы. Защитный уровень антител регистрировали в 18–42% сывороток, взятых в начале заболевания, и в 33–64% сывороток, взятых через 2 нед; процент сероконверсии составил 11–18 [2, 10].

Результаты исследований сывороток крови беременных женщин также отличались от данных, полученных нами. Антитела на защитном уровне к пандемическому вирусу гриппа A(H1N1)pdm09 регистрировали в 35% сывороток, взятых в начале заболевания, и в 50% сывороток, взятых через 2 нед; к сезонному вирусу гриппа A(H1N1) – в 53 и 76% сывороток соответственно; к A(H3N2) – в 57 и 64% сывороток. Процент сероконверсии к пандемическому вирусу гриппа A(H1N1)pdm09 равен 28,5, к сезонному вирусу гриппа A(H1N1) – 7, к A(H3N2) – 14 [10].

Одна из целей настоящей работы заключалась в проведении скринингового исследования уровня специфических антител к пандемическому вирусу гриппа A(H1N1)pdm09 в сыворотках женщин с родоразрешением в марте – апреле 2010 г. и их новорожденных детей (2-я и 3-я группы наблюдения), т. е. сразу после первой волны пандемии, которая была закончена

к концу декабря 2009 г. Результаты представлены в табл. 2.

Результаты коррелируют с показателями, полученными в отношении госпитализированных пациентов с инфекцией A(H1N1)pdm09; кроме того (что представляет наибольший интерес), серологические показатели для двух антигенов, A(H1N1)pdm09 и A(H3N2), у новорожденных детей практически полностью соответствуют показателям у рожениц, а показатели для остальных антигенов не меньше, чем показатели у рожениц. Некоторые различия, вероятно, связаны с тем, что не представилось возможным объединить рожениц и детей попарно мать – ребенок. Эти данные подтверждают передачу специфических антител к вирусам гриппа, в том числе к пандемическому вирусу гриппа A(H1N1)pdm09, от матерей новорожденным детям, что имеет существенное значение в вопросах специфической профилактики новорожденных путем вакцинации беременных. Передача специфических антител новорожденным после вакцинации противогриппозными вакцинами беременных женщин в II и III триместрах была подтверждена в работах М.П. Костинова и соавт. [11].

Определенный интерес представлял и скрининг сывороток крови детей школьного возраста, проживающих в условиях интернатного типа (4-я группа наблюдения). С этой целью были исследованы 287 сывороток, взятых в мае 2010 г., т. е. в период, когда завершилась активная циркуляция этого вируса в РФ. Учитывая его новизну и отсутствие специфических антител, в том числе у детей, к началу его распространения, можно считать, что полученные результаты свидетельствовали об активной его передаче в данном коллективе: титры антител составил Me (Q1; Q3) = 6,32 (5,32; 7,32) log<sub>2</sub>, защитные титры регистрировали у 78% детей, что значительно больше по сравнению с госпитализированными пациентами. Полученные результаты указывают на высокую вовлеченность в эпидпроцесс детей школьного возраста, проживающих в условиях интернатного типа, в случае заноса вируса гриппа в коллектив.

Данные изучения динамики антител ко второму поверхностному гликопротеину анти-НА в научной литературе более ограничены, хотя и вызывают не меньший интерес у исследователей. Работы с использованием препаратов очищенной НА при экспериментальной инфекции лабораторных животных и птиц известны с 60-х годов прошлого века; рядом авторов показана роль антинейраминидазных антител в снижении восприимчивости и развитии гриппозной инфекции у людей, в том числе перекрестная защита [12–15]. На важность исследований, направленных на изучение анти-НА с применением новых подходов, в последние годы неоднократно указывали эксперты ВОЗ.

В связи с вышесказанным определенным интерес представляла оценка иммуногенности пандемического вируса гриппа A(H1N1)pdm09 по выработке специфических антител к НА у лиц, перенесших инфекцию, этиологически связанную с A(H1N1)pdm09. Для выявления специфических анти-НА была применена твердофазная РИНА, в которой в качестве антигена использовали диагностический реассортантный штамм, подготовленный на основе вируса гриппа лошади А/лошадь/Прага/1/56 (H7N7) – RN1/09-swine A(H7N1), содержащий НА от штамма A/California/07/2009 (H1N1)pdm09 [8]. Специфичность оценки антинейраминидазных антител с применением данного реассортанта, содержащего НА пандемического вируса гриппа A(H1N1)pdm09, основана на антигенной удаленности НА H7 от НА пандемического вируса гриппа H1pdm09 [8].

Для исследования иммунного ответа к НА пандемического вируса гриппа были отобраны парные сыворотки крови пациентов ИКБ № 1 г. Москвы (в том числе бе-

Показатели анти-NA в реакции РИНА в группах наблюдения

Группа наблюдения	Число обследуемых	Сыворотки крови	Анти-NA к штамму вируса гриппа A(H1N1)pdm09, Me (Q1; Q3) log <sub>2</sub>	Совпадение приростов антител к HA и NA, %
Пациенты ИКБ № 1 (эпидсезоны 2009–2010 и 2010–2011 гг.)	26	Первая	4,3 (2,3; 6,3)*	57,7
		Вторая	6,9 (5,9; 8,2)*	
Беременные женщины (пациенты ИКБ № 1, эпидсезон 2010–2011 гг.)	9	Первая	6,4 (2,3; 7,5)**	55,6
		Вторая	8,0 (7,2; 8,7)**	
Воспитанники интерната	25	Март 2010 г.	7,2 (6,8; 8,2)	н. и.
Новорожденные дети	10	Март 2010 г.	6,5 (6,1; 7,9)	н. и.

Примечание. \* –  $p = 0,0001$  (тест Уилкоксона:  $T = 25,0$ ;  $Z = 3,82$ ); \*\* –  $p = 0,04$  (тест Уилкоксона:  $T = 5,0$ ;  $Z = 2,07$ ); н. и. – не исследовали.

ременных), одинарные сыворотки крови воспитанников интерната и новорожденных детей, в отношении которых выявлены сероконверсии (парные пробы), и сыворотки с титрами анти-NA к A(H1N1)pdm09 не менее 1:40 (одинарные) (табл. 3).

В парных пробах выявлены приросты титров анти-NA, при этом кратность приростов составила у пациентов ИКБ № 1 1,6 раза, у беременных – 1,25 раза. Различия статистически значимы. Кроме того, в сыворотках воспитанников интерната и новорожденных детей уровни анти-NA были относительно высокими и сравнимыми с показателями у перенесших инфекцию, этиологически связанную с A(H1N1)pdm09 (ранговый дисперсионный анализ Краскела–Уоллиса  $H(3, n = 70) = 4,77$ ;  $p = 0,19$ ). Одновременная положительная динамика анти-NA и анти-NA среди госпитализированных, а именно согласованность индивидуальных достоверных приростов антител к двум поверхностным антигенам пандемического вируса гриппа A(H1N1)pdm09, была выявлена более чем у половины обследованных.

Нами не найдено описанных в литературе результатов исследования иммунного ответа к нейраминидазному антигену у лиц, инфицированных пандемическим штаммом вируса гриппа A(H1N1)pdm09. Ранее данным методом было проведено исследование парных сывороток крови людей, вакцинированных трехвалентной сезонной, моновалентной пандемической вакцинами и прототипом пандемической вакцины [15]. Результаты показали, что изучаемые живые вакцины стимулировали выработку гомологичных анти-NA у 20–47% волонтеров. Кроме того, в сыворотках крови 7–15 и 16–20% непривитых лиц, обследованных в 2005–2010 гг., присутствовали перекрестно реагирующие антитела к NA пандемического штамма A(H1N1)pdm09 и вируса гриппа птиц A(H5N1) соответственно, что, возможно, могло повлиять на их восприимчивость к этим вирусам.

### Заключение

Несмотря на ретроспективность значения серологических методов в диагностике гриппозной инфекции, полученные результаты позволили не только выявить дополнительные случаи гриппа, «ускользавшие» при применении ПЦР в отношении носоглоточных смывов, но и установить некоторые особенности циркуляции штаммов в период 2009–2011 гг., этиологически связанных с появлением и активным распространением пандемического вируса гриппа A(H1N1)pdm09.

Показатели анти-NA и анти-NA к A(H1N1)pdm09 и их динамика были определены в разных группах населения, различающихся по возрасту, месту и времени забора крови, что, безусловно, подтверждает их “контакт” со штаммами пандемического вируса гриппа. В частности, положительная динамика анти-NA выявля-

на среди госпитализированных пациентов как с ПЦР-положительным, так и ПЦР-отрицательным результатом на A(H1N1)pdm09. Полученные результаты позволяют сделать вывод и о “подстегиивании” антител к сезонному штамму вируса гриппа A(H1N1) у лиц, инфицированных A(H1N1)pdm09 на фоне отсутствия его активной циркуляции в исследуемый период. Положительной динамики в отношении штаммов вирусов гриппа A(H3N2) и B в сыворотках не обнаружено.

Результаты скрининга сывороток детей школьного возраста, проживающих в условиях интернатного типа, показали, что к марту 2010 г., т. е. после первой волны пандемии 2009 г., большинство детей приобрели специфические антитела к A(H1N1)pdm09, что еще раз подтверждает высокую способность вирусов гриппа к распространению в коллективах закрытого типа.

Подтверждена передача материнских антител новорожденным детям, в том числе антител к пандемическому штамму вируса гриппа A(H1N1)pdm09.

Результаты настоящего исследования показали, что иммунный ответ к поверхностным антигенам вируса гриппа, HA и NA в результате естественного инфицирования пандемическими штаммами вируса гриппа A(H1N1)pdm09 более чем в половине случаев формируется одновременно. Некоторая автономность ответа может быть связана со сроками забора материала, в частности при выявлении анти-NA.

### ЛИТЕРАТУРА (пп. 2, 5, 9, 10 см. REFERENCES)

- Гендон Ю.З. Стратегия борьбы с гриппом с помощью вакцин. *Вакцинация*. 1999; 11 (5): 3.
- Бурцева Е.И., Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Прилипов А.Г., Альховский С.В. и др. Особенности социркуляции вирусов гриппа в постпандемический период 2010–2011 гг. по итогам деятельности Центра экологии и эпидемиологии гриппа ФГУ НИИ вирусологии им. Д.И. Иванова Минздрава-соцразвития России. *Вопросы вирусологии*. 2012; 57 (1): 20–8.
- Львов Д.К., Бурцева Е.И., Лаврищева В.В. Информация Центра экологии и эпидемиологии гриппа Института вирусологии им. Д.И. Иванова РАМН об итогах эпидемического сезона 2009–2010 гг. по гриппу и ОРВИ (с 40-й недели 2009 г. по 22-ю неделю 2010 г.) в мире и в России. *Вопросы вирусологии*. 2011; 56 (1): 44–9.
- Михайлова Е.В., Салов И.А., Романовская А.В., Левин Д.Ю., Дубовицкая Н.А., Каральский С.А. Особенности течения ОРВИ и гриппа A/H1N1/2009 у беременных. *Инфекционные болезни*. 2011; 2: 89–92.
- МУ 3.3.2.1758-03. Методические указания. Методы определения показателей качества иммунобиологических препаратов для профилактики и диагностики гриппа. М.; 2005.
- Смолоногина Т.А., Дешева Ю.А., Шалджян А.А., Груднин М.П., Руденко Л.Г. Образование антител к нейраминидазе вируса гриппа A/Калифорния/07/2009 (H1N1) после иммунизации живой гриппозной моновалентной вакциной. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2011; 6: 72–6.
- Черданцев А.П., Костинов М.П., Кусельман А.И., Ерофеева М.К., Азизова Р.Ш., Демина Е.О. Уровень антител к вирусу

- гриппа у детей первых месяцев жизни, рожденных от матерей, вакцинированных во время беременности. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. 2013; 2: 86–91.
12. Бурцева Е.И., Власова Л.Н., Слепушкин А.Н., Беляев А.Л., Береговский Н.А. Нейраминидазная активность инактивированных гриппозных вакцин у лиц пожилого возраста. *Вопросы вирусологии*. 2002; 47 (5): 21–5.
  13. Найхин А.Н., Царицина И.М., Сыроедова Л.Г., Олейникова Е.В., Горев Н.Е. Антинейраминидазные антитела при естественном инфицировании гриппом А и иммунизации гриппозными вакцинами. *Вопросы вирусологии*. 1983; 2: 154–9.
  14. Найхин А.Н., Царицина И.М., Олейникова Е.В., Исмагулов А.Т., Резник В.И. Формирование и защитные функции антител к нейраминидазе вируса гриппа А. *Вопросы вирусологии*. 1985; 30 (1): 35–9.
  15. Смолоногина Т.А., Дешева Ю.А., Горева Н.Е., Руденко Л.Г. Оценка антинейраминидазных антител у волонтеров, привитых сезонной трехвалентной живой гриппозной вакциной. *Медицинский академический журнал*. 2011; 11 (3): 44–50.
1. Gendon Yu.Z. Strategy for the struggle of influenza with vaccines. *Vaktsinatsiya*. 1999; 11 (5): 3. (in Russian)
  2. Chen M.I., Barr I.G., Koh G.C., Lee V.J., Lee C.P., Shaw R. et al. Serological Response in RT-PCR Confirmed H1N1-2009 Influenza A by Hemagglutination Inhibition and Virus Neutralization Assays: An Observational Study. *PLoS One*. 2010; 5 (8): e12474.
  3. Burtseva E.I., L'vov D.K., Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Prilipov A.G., Al'khovskiy S.V. et al. The specific features of the cocirculation of influenza viruses in the 2010–2011 postpandemic period according to the results of activities of the D.I. Ivanovsky Research Institute of Virology, Ministry of Health and Social Development of Russia. *Voprosy virusologii*. 2012; 57 (1): 20–8. (in Russian)
  4. L'vov D.K., Burtseva E.I., Lavrishcheva V.V. Information of the Center for Ecology and Epidemiology of Influenza, D.I. Ivanovsky Research Institute of Virology, Russian Academy of Medical Sciences, on the results of the 2009–2010 influenza and acute respiratory viral infection epidemic season (at week 40 of 2009 to week 22 of 2010) in the world and Russia. *Voprosy virusologii*. 2011; 56 (1): 44–9. (in Russian)
  5. Garten R.J., Davis C.T., Russell C.A., Shu B., Lindstrom S., Balish A. et al. Antigenic and genetic characteristics of swine-origin 2009 A(H1N1) influenza viruses circulating in humans. *Science*. 2009; 325: 197–201.
  6. Mikhaylova E.V., Salov I.A., Romanovskaya A.V., Levin D.Yu., Dubovitskaya N.A., Karal'skiy S.A. Peculiarities of the process of ARVI and influenza A/H1N1/2009 in pregnant women. *Infektsionnye bolezni*. 2011; 2: 89–92. (in Russian)
  7. MU 3.3.2.1758-03. Methodical instructions. Methods for the determination of the criteria of the quality of immunobiological products for the prevention and diagnosis of influenza. Moscow; 2005. (in Russian)
  8. Smolnogina T.A., Desheva Yu.A., Shaldzhyan A.A., Grudin M.P., Rudenko L.G. Formation of antibodies against neuraminidase of A/California/07/2009 (H1N1) influenza virus after immunization with live monovalent influenza vaccine. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2011; 6: 72–6. (in Russian)
  9. Lambre C.R., Terzidis H., Greffard A., Webster R.G. Measurement of anti-influenza neuraminidase antibody using a peroxidase-linked lectin and microtitre plates coated with natural substrates. *J. Immunol. Methods*. 1990; 135 (1–2): 49–57.
  10. Tan S., Gordon D.L., Honda-Okubo Y., Petrovsky N., Phillips P., Huddlestone S. et al. Serological responses following influenza A H1N1 2009 infection in adults. *J. Infect*. 2011; 62 (5): 388–93.
  11. Cherdantsev A.P., Kostinov M.P., Kusel'man A.I., Erofeeva M.K., Azizova R.Sh., Demina E.O. The level of antibodies to influenza viruses in infants born by mothers vaccinated during pregnancy. *Pediatriya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo*. 2013; 2: 86–91. (in Russian)
  12. Burtseva E.I., Vlasova L.N., Slepshkin A.N., Belyaev A.L., Beregovskiy N.A. Antineuraminidase activity of inactivated influenza vaccines in elderly people. *Voprosy virusologii*. 2002; 47 (5): 21–5. (in Russian)
  13. Naykhin A.N., Tsaritsina I.M., Syroedova L.G., Oleynikova E.V., Gorev N.E. Antineuraminidase serum antibodies in natural influenza A and immunization with influenza vaccines. *Voprosy virusologii*. 1983; 2: 154–9. (in Russian)
  14. Naykhin A.N., Tsaritsina I.M., Oleynikova E.V., Ismagulov A.T., Reznik V.I. Formation and protective functions of antibodies to neuraminidase of the influenza A virus. *Voprosy virusologii*. 1985; 30 (1): 35–9. (in Russian)
  15. Smolnogina T.A., Desheva Yu.A., Goreva N.E., Rudenko L.G. The assessment of antineuraminidase antibodies of volunteers vaccinated with seasonal trivalent live influenza vaccine. *Meditsinskiy akademicheskij zhurnal*. 2011; 11 (3): 44–50. (in Russian)

Поступила 29.05.14

## REFERENCES

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015  
УДК 615.373:578.248].036.8

Оспельникова Т.П., Исаева Е.И., Колодяжная Л.В., Козулина И.С., Андреева С.А., Полосков В.В., Ершов Ф.И.

# Противовирусная активность препаратов интерферона бета 1а

ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва

Изучена противовирусная активность препаратов интерферона бета 1а Генфаксон® и Ребиф® при гриппе и герпесе. Впервые показан выраженный противовирусный эффект препаратов в отношении вирусов, вызывающих эти заболевания.

Ключевые слова: вирус; грипп; герпес; врожденный иммунитет; препарат интерферона бета.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60 (6): 24–28.

Ospelnikova T.P., Isaeva E.I., Kolodyaznaya L.V., Kozulina I.S., Andreeva S.A., Poloskov V.V., Ershov F.I.

## Antiviral activity of the interferon beta 1a

Federal State Budgetary Institution "Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 123098, Moscow, Russia  
The antiviral activity of the interferon beta 1a was studied using the example of the antiviral activity of the drugs interferon beta 1a Genfaxon® and Rebif® for the influenza and herpes. A pronounced antiviral effect of the drugs against influenza and herpes viruses was shown for the first time.

Key words: virus; influenza; herpes; innate immunity; interferon beta.

Received 13.03.14

For correspondence: Tatiana Ospelnikova, MD, PhD; e-mail: ospelnikovat@mail.ru  
Citation: Voprosy virusologii. 2015; 60(6): 24–28. (In Russ.)

Для корреспонденции: Оспельникова Татьяна Петровна, канд. мед. наук; e-mail: ospelnikovat@mail.ru