

ISSN 0507-4088 (Print)
ISSN 2411-2097 (Online)



Д.И.ИВАНОВСКИЙ

ВОПРОСЫ ВИРУСОЛОГИИ

PROBLEMS OF VIROLOGY

5

Том 60 • 2015



издательство
"МЕДИЦИНА"

www.medlit.ru

Volume 60 • Issue 5 • 2015

**РОССИЙСКАЯ
АКАДЕМИЯ
НАУК**

Журнал "Вопросы вирусологии" представлен в следующих международных информационно-справочных изданиях: Abstract Journals, AIDS & Cancer Research, Biocontrol News and Information, Biological Sciences, Chemical Abstracts, EBSCOhost Biological Abstracts, EBSCOhost Wildlife & Ecology Studies Worldwide, Elsevier BV Scopus, Elsevier BV EMBASE, Index Medicus, Excerpta Medica, Index Veterinarius, MEDLINE, National Library of Medicine PubMed, Parasitology Database, Poultry Abstracts, Review of Medical and Veterinary Entomology, Thomson Reuters Biological Abstracts, Thomson Reuters BIOSIS Previews, Thomson Reuters Science Citation Index Expanded, Thomson Reuters Web of Science, Tropical Diseases Bulletin, Veterinary Science Database, Virology and AIDS Abstracts

ЛР № 010215 от 29.04.97

Почтовый адрес:
115088, Москва,

ул. Новоостاپовская, д. 5, стр. 14,
ОАО «Издательство "Медицина"»

Адрес редакции: 109029, Москва,
ул. Скотопрогонная, дом 29/1,
подъезд 15

Зав. редакцией **Т. М. Курушина**
Тел. +7-495-678-63-95

E-mail: vopr.virusol@idm.msk.ru
www.medlit.ru

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ

Тел./факс +7-495-678-64-84

E-mail: info@idm.msk.ru
www.medlit.ru

Ответственность за
достоверность информации,
содержащейся
в рекламных материалах,
несут рекламодатели.

Редактор **Е.П. Мороз**

Художественный редактор
А. В. Минаичев

Технический редактор
Т. В. Нечаева

Корректор **В. С. Смирнова**

Переводчик **С. К. Чаморовский**

Верстка **Е. М. Архипова**

Сдано в набор 20.06.2015.

Подписано в печать 05.08.2015.

Формат 60 × 88%.

Печать офсетная.

Печ. л. 6,00.

Усл. печ. л. 5,88.

Уч.-изд. л. 6,36.

Заказ 438.

Отпечатано в типографии ООО

"Подольская Периодика",

142110, г. Подольск, ул. Кирова, 15

ISSN 0507-4088. *Вопр. вирусологии*. 2015.

Т. 60. №5 1-48

Все права защищены. Ни одна часть этого издания не может быть занесена в память компьютера либо воспроизведена любым способом без предварительного письменного разрешения издателя.

Свидетельство о регистрации № 1170
от 11 декабря 1990 г.



МОСКВА
«ИЗДАТЕЛЬСТВО
«МЕДИЦИНА»»

ВОПРОСЫ ВИРУСОЛОГИИ

PROBLEMS OF VIROLOGY

ДВУХМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Основан в 1956 г.

5

Том 60 • 2015

Редакционная коллегия

Главный редактор: ЛЬВОВ Д.К. (д.м.н., проф., акад. РАН)

Зам. главного редактора: **Дерябин П.Г. (д.м.н., проф.)**

Ответственный секретарь: **Гребенникова Т.В. (д.б.н., проф.)**

Научный редактор: **Забережный А.Д. (д.б.н., проф.)**

Члены редколлегии:

Баринский И.Ф. (д.м.н., проф.)

Белюсова Р.В. (д.в.н., проф.)

Галегов Г.А. (д.б.н., проф.)

Гендон Ю.З. (д.м.н., проф.)

Гулюкин М.И. (д.в.н., проф., акад. РАН)

Гурцевич В.Э. (д.м.н., проф.)

Ершов Ф.И. (д.м.н., проф., акад. РАН)

Зверев В.В. (д.б.н., проф., акад. РАН)

Зуев В.А. (д.м.н., проф.)

Иванова О.Е. (д.м.н., доцент)

Карганова Г.Г. (д.б.н., доцент)

Киселев Ф.Л. (д.б.н., проф., член-корр. РАН)

Клименко С.М. (д.м.н., проф., акад. РАН)

Лашкевич В.А. (д.м.н., проф., акад. РАН)

Онищенко Г.Г. (д.м.н., проф., акад. РАН)

Урываев Л.В. (д.м.н., проф., член-корр. РАН)

Щелканов М.Ю. (д.б.н.)

Юминова Н.В. (д.м.н., доцент)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Акимкин В.Г. (д.м.н., проф., чл.-кор. РАН; Москва, Россия)

Алипер Т.И. (д.б.н., проф.; Москва, Россия)

Ананьев В.Ю. (к.м.н., рук. ФБУЗ "ЦГЭ в Приморском крае"; Владивосток, Россия)

Антонов В.А. (д.м.н., проф.; Волгоград, Россия)

Баранов А.А. (д.м.н., проф., акад. РАН; Москва, Россия)

Борисевич С.В. (д.м.н., проф.; Сергиев Посад, Россия)

Брико Н.И. (д.м.н., проф., акад. РАН; Москва, Россия)

Бутаев Т.М. (д.м.н., рук. Упр. Роспотребнадзора по Республике Сев. Осетия-Алания; Владикавказ, Россия)

Гарбуз Ю.А. (рук. ФБУЗ "ЦГЭ в Хабаровском крае"; Хабаровск, Россия)

Глинских Н.П. (д.м.н., проф.; Екатеринбург, Россия)

Григорьев С.Н. (рук. ФБУЗ "ЦГЭ в Магаданской обл."; Магадан, Россия)

Дроздов С.Г. (д.м.н., проф., акад. РАН; Москва, Россия)

Заседателев А.С. (д.ф.-м.н., проф.; Москва, Россия)

Злобин В.И. (д.м.н., проф., акад. РАН; Иркутск, Россия)

Иванов А.И. (рук. ФКУЗ "Хабаровская ПЧС"; Хабаровск, Россия)

Киселёв О.И. (д.м.н., проф., акад. РАН; СПб, Россия)

Кутырев В.В. (д.м.н., проф., акад. РАН; Саратов, Россия)

Лебедев Г.Б. (зам. рук. ФБУЗ "ЦГЭ в Чукотском АО"; Анадырь, Россия)

Леонова Г.Н. (д.м.н., проф.; Владивосток, Россия)

Лисицин Е.А. (к.м.н., рук. Упр. Роспотребнадзора по Владимирской обл.; Владимир, Россия)

Локтев В.Б. (д.б.н., проф.; Новосибирск, Россия)

Мальшев Н.А. (д.м.н., проф.; Москва, Россия)

Михайлов М.И. (д.м.н., проф., чл.-кор. РАН; Москва, Россия)

Мукомолов С.А. (д.м.н., проф.; СПб, Россия)

Нетесов С.В. (д.б.н., проф., чл.-кор. РАН; Новосибирск, Россия)

Никифоров В.В. (д.м.н., проф.; Москва, Россия)

Огарков П.И. (д.м.н., проф.; СПб, Россия)

Покровский В.И. (д.м.н., проф., акад. РАН; Москва, Россия)

Резник В.И. (к.м.н.; Хабаровск, Россия)

Романенко В.В. (д.м.н., зам. рук. ФБУЗ "ЦГЭ в Свердловской обл."; Екатеринбург, Россия)

Сергеев А.Н. (д.м.н., проф.; Новосибирск, Россия)

Степанова Т.Ф. (д.м.н., проф.; Тюмень, Россия)

Тутельян А.В. (д.м.н.; Москва, Россия)

Чучалин А.Г. (д.м.н., проф., акад. РАН; Москва, Россия)

Шестопапов А.М. (д.б.н., проф.; Новосибирск, Россия)

Янович В.А. (к.м.н., рук. Упр. Роспотребнадзора по Еврейской АО; Биробиджан, Россия)

Яшкуллов К.Б. (к.м.н., рук. Упр. Роспотребнадзора по Республике Каалмыкия; Элиста, Россия)

ИНОСТРАННЫЕ ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА

Виноград Н.А. (д.м.н., проф.; Львов, Республика Украина)

Владыко А.С. (д.м.н., проф.; Минск, Республика Беларусь)

Горбунов В.А. (к.м.н.; Минск, Республика Беларусь)

Грибкова Н.В. (к.м.н.; Минск, Республика Беларусь)

Петкевич А.С. (к.м.н.; Минск, Республика Беларусь)

Титов А.П. (д.м.н., проф., чл.-кор. НАН Беларуси, акад. РАН; Минск, Республика Беларусь)

Becker J. (PhD, MD, Prof.; Jerusalem, Israel)

Berencsi G. (PhD, MD, Prof.; Budapest, Hungary)

Ciampor F. (PhD, MD, DrSc; Bratislava, Slovak Republic)

Compans R.W. (PhD, Prof; Atlanta, USA)

De Paiva T.M. (PhD; San Paulo, Brazil)

Galabov A.S. (Prof., acad. of the Bulgarian Academy of Sciences; Sofia, Bulgaria)

Golovljova I. (PhD; Tallinn, Estonia)

Goujgoulova G. (PhD; Sofia, Bulgaria)

Hoenen T. (PhD; Hamilton, USA)

Kawaoka Y. (PhD, Prof.; Tokyo, Japan)

Klenk H.-D. (PhD, Prof.; Marburg, Germany)

Kuhn J.H. (MD, PhD, PhD, M.Sc.; Frederick, USA)

Mackenzie J. (PhD, Prof.; Brisbane, Australia)

Maneekarn N. (PhD, D.V.M., Prof.; Chiang Mai, Thailand)

Matrosovich M.N. (PhD; Marburg, Germany)

Nymadawa P. (PhD, MD, DSc, Prof.; Ulan Bator, Mongolia)

Oxford J. (DSc; London, UK)

Petrenkienė V. (Assoc. Prof.; Kaunas, Lithuania)

Roggenhoff M. (MD, Essen, Germany)

Sakoda Y. (PhD, Assoc. Prof.; Sapporo, Japan)

Suarez D.L. (D.V.M., PhD, A.C.V.M.; Athens, USA)

Tashiro M. (PhD, MD; Tokyo, Japan)

Turan K. (PhD, Assoc. Prof.; Istanbul, Turkey)

Vaheri A. (PhD, MD, Prof.; Helsinki, Finland)

Vainionpää R. (Docent; Turku, Finland)

Webster R. (PhD, DSc, Memphis, USA)

Webby R. (PhD, Memphis, USA)

Yuelong Shu (PhD, Beijing, P.R. China)

Zeichardt H. (PhD, DSc, Prof.; Berlin, Germany)

RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES
VOPROSY VIROLOGII
(PROBLEMS OF VIROLOGY)

Scientific Theoretical Journal Issued once in two months. Published since 1956

Volume 60 • 5 • 2015

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief: LVOV D.K., MD, PhD, DSc, Professor, Academician of RAS

Assistant editors in chief: **Deryabin P.G.**, MD, PhD, DSc, Professor

Executive secretary: **Grebennikova T.V.**, Doctor of Biological Sciences, Professor

Scientific editor: **Zaberezhnyy A.D.**, Doctor of Biological Sciences, Professor

Members of editorial board:

Barinskiy I.F. – MD, PhD, DSc, Prof.; **Belousova R.V.** – Doctor of Veterinary Sciences, Prof.; **Galegov G.A.** – Doctor of Biological Sciences, Prof.; **Gendon Yu.Z.** – MD, PhD, DSc, Prof.; **Gulyukin M.I.** – Doctor of Veterinary Sciences, Prof., Academician of RAS; **Gurtsevich V.E.** – MD, PhD, DSc, Prof.; **Ershov F.I.** – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS; **Zverev V.V.** – Doctor of Biological Sciences, Prof.; **Zuev V.A.** – MD, PhD, DSc, Prof.; **Ivanova O.E.** – MD, PhD, DSc, docent; **Karganova G.G.** – Doctor of Biological Sciences, docent; **Kiselev F.L.** – Doctor of Biological Sciences, Prof., corresponding member RAS; **Klimenko S.M.** – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS; **Lashkevich V.A.** – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS; **Onishchenco G.G.** – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS; **Uryvaev L.B.** – MD, PhD, DSc, Prof., corresponding member of RAS; **Shchelkanov M.Yu.** – Sc.D.; **Yuminova N.V.** – MD, PhD, DSc, docent

Editorial council

Akimkin V.G. – MD, PhD, DSc, Prof., corr. member of RAS (Moscow)

Aliper T.I. – Sc.D., Prof. (Moscow)

Anan'ev V.Yu. – MD, PhD (Vladivostok)

Antonov V.A. – MD, PhD, DSc, Prof. (Volgograd)

Baranov A.A. – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS (Moscow)

Borisevich S.V. – MD, PhD, DSc, Prof. (Sergiev Posad)

Briko N.I. – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS (Moscow)

Butaev T.M. – MD, PhD, DSc (Vladikavkaz)

Garbuz Yu.A. – MD (Khabarovsk)

Glinkikh N.P. – MD, PhD, DSc, Prof. (Ekaterinburg)

Grigor'ev S.N. – MD (Magadan)

Drozdov S.G. – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS (Moscow)

Zasedatelev A.S. – Doctor of physical, Prof. (Moscow)

Zlobin V.I. – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS (Irkutsk)

Ivanov L.I. – MD (Khabarovsk)

Kiselev O.I. – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS (Saint-Petersburg)

Kutyrev V.V. – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS (Saratov)

Lebedev G.B. – MD (Anadyr')

Leonova G.N. – MD, PhD, DSc, Prof. (Vladivostok)

Lisitsin E.A. – MD, PhD (Vladimir)

Loktev V.B. – Sc.D., Prof. (Novosibirsk)

Malyshev N.A. – MD, PhD, DSc, Prof. (Moscow)

Mikhaylov M.I. – MD, PhD, DSc, Prof., corr. member of RAS (Moscow)

Mukomolov S.L. – MD, PhD, DSc, Prof. (Saint-Petersburg)

Netesov S.V. – Sc.D., Prof., corr. member of RAS (Novosibirsk)

Nikiforov V.V. – MD, PhD, DSc, Prof. (Moscow)

Ogarkov P.I. – MD, PhD, DSc, Prof. (Saint-Petersburg)

Pokrovskiy V.I. – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS (Moscow)

Reznik V.I. – MD, PhD (Khabarovsk)

Romanenko V.V. – MD, PhD, DSc (Ekaterinburg)

Sergeev A.N. – MD, PhD, DSc, Prof. (Novosibirsk)

Stepanova T.F. – MD, PhD, DSc, Prof. (Tyumen')

Tutel'yan A.V. – MD, PhD, DSc (Moscow)

Chuchalin A.G. – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS (Moscow)

Shestopalov A.M. – Sc.D., Prof. (Novosibirsk)

Yanovich V.A. – MD, PhD (Birobidzhan)

Yashkulov K.B. – MD, PhD (Elista)

Advisory Board

Vinograd N.A. – MD, PhD, DSc, Prof. (Lvov, Ukraina)

Vladyko A.S. – MD, PhD, DSc, Prof. (Minsk, Republic of Belarus)

Gorbunov V.A. – MD, PhD (Minsk, Republic of Belarus)

Gribkova N.V. – MD, PhD (Minsk, Republic of Belarus)

Petkevich A.S. – MD, PhD (Minsk, Republic of Belarus)

Titov L.P. – MD, PhD, DSc, Prof., Academician of RAS (Minsk, Republic of Belarus)

Becker J. – PhD, DM, Prof. (Jerusalem, Israel)

Berenci G. – PhD, MD, Prof. (Budapest, Hungary)

Ciampor F. – PhD, MD, Dr.Sc. (Bratislava, Slovak Republic)

Compans R.W. – PhD, Prof. (Atlanta, USA)

De Paiva T.M. – PhD (San Paulo, Brazil)

Galabov A.S. – Prof., acad. of the Bulgarian Academy of Sciences (Sofia, Bulgaria)

Golovljova I. – PhD (Tallinn, Estonia)

Goujgoulova G. – PhD (Sofia, Bulgaria)

Hoenen T. – PhD (Hamilton, USA)

Kawaoka Y. – PhD, Prof. (Tokyo, Japan)

Klenk H.-D. – PhD, Prof. (Marburg, Germany)

Kuhn J.H. – MD, PhD, PhD, MSc (Frederick, USA)

Mackenzie J. – PhD, Prof. (Brisbane, Australia)

Maneekarn N. – PhD, D.V.M., Prof. (Chiang Mai, Thailand)

Matrosovich M.N. – PhD (Marburg, Germany)

Nymadawa P. – PhD, MD, DSc., Prof. (Ulan Bator, Mongolia)

Oxford J. – DSc (London, UK)

Petrenkiene V. – Assoc. Prof. (Kaunas, Lithuania)

Roggendorf M. – MD (Essen, Germany)

Sakoda Y. – PhD, Assoc. Prof. (Sapporo, Japan)

Suarez D.L. – D.V.M., PhD, A.C.V.M. (Athens, USA)

Tashiro M. – PhD, MD (Tokyo, Japan)

Turan K. – PhD, Assoc. Prof. (Istanbul, Turkey)

Vaheri A. – PhD, MD, Prof. (Helsinki, Finland)

Vainionpää R. – Docent (Turku, Finland)

Webster R. – PhD, DSc. (Memphis, USA)

Webby R. – PhD (Memphis, USA)

Yuelong Shu – PhD (Beijing, P.R. China)

Zeichardt H. – PhD, DSc, Prof. (Berlin, Germany)



СОДЕРЖАНИЕ

ОБЗОРЫ

Калинина О.В. Вирус гепатита С: механизмы изменчивости, классификация, эволюция. 5

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Львов Д.К., Бурцева Е.И., Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Феодоритова Е.Л., Трушакова С.В., Кириллова Е.С., Беляев А.Л., Меркулова Л.Н., Вартанян Р.В., Кистенева Л.Б., Иванова В.Т., Оскерко Т.А., Силуянова Э.В., Мукашева Е.А., Краснослободцев К.Г., Гарина Е.О., Альховский С.В., Прилипов А.Г., Федякина И.Т., Богданова В.С., Прошина Е.С., Самохвалов Е.И., Аристова В.А., Кириллов И.М., Малышев Н.А.** Развитие эпидемии гриппа на отдельных территориях России и в странах Северного полушария в сезоне 2013–2014 гг. 11
- Сычев Д.А., Байкова О.Ю., Иванов А.П., Еремеева Т.П., Иванова О.Е.** Гуморальный иммунитет к вирусу полиомиелита у трудовых мигрантов в Российской Федерации. 16
- Алимбарова Л.М., Лазаренко А.А., Баринский И.Ф., Дижва В.И.** Изучение противовирусной активности НРМ-7.0 – экстракта мицелия высшего гриба *Fusarium sambucinum* на модели экспериментальной герпесвирусной инфекции. 21
- Ленева И.А., Леонова Е.И., Махмудова Н.Р., Фалынскова И.Н., Федякина И.Т., Зверев В.В., Михайлова Н.А.** Разработка экспериментальной модели сочетанной вирусно-бактериальной пневмонии. 27
- Гулюкин М.И., Козырева Н.Г., Иванова Л.А., Степанова Т.В., Клименко А.И., Коваленко А.В., Дробин Ю.Д., Василенко В.Н.** Межвидовая передача вируса лейкоза крупного рогатого скота в эксперименте. 32
- Эспер С.А., Гребенникова Т.В., Исагулянц М.Г., Кюрегян К.К., Прилипов А.Г., Ходорович А.М.** Исследование внутрибольничной и внутрилабораторной контаминации вирусами гепатита А и С. 37
- Чичерина Г.С., Морозова О.В., Панов В.В., Романенко В.Н., Бахвалов С.А., Бахвалова В.Н.** Особенности инфекции вирусом клещевого энцефалита *Ixodes persulcatus* Schulze и *Ixodes pavlovskyi* Pomerantsev в период роста численности и трансформации видовой структуры сообщества иксодид. 42

РЕЦЕНЗИИ

Кононов А.В., Галегов Г.А., Дерябин П.Г. – Рецензия на: В.В. Покровский, А.В. Кравченко, О.Г. Юрин, В.В. Воронин, Т.Н. Ермак, В.В. Беляева, Н.Н. Ладная, В.И. Шахгильдян, Л.Ю. Афонина, С.Н. Потехаев, Ю.А.Фомин, В.Н. Зимина, О.П. Фролова, Г.А. Шипулин, Е.В. Богославская. ВИЧ-инфекция и СПИД: национальное руководство. 47

ЮБИЛЕЙ

О.И.Киселев (к 70-летию со дня рождения). 48

CONTENTS

REVIEW

Kalinina O. V. Hepatitis C virus: variability mechanisms, classification, evolution. 5

ORIGINAL RESEARCH

- Lvov D. K., Burtseva E. I., Shchelkanov M. Yu., Kolobukhina L. V., Feodoritova E. L., Trushakova S. V., Kirillova E. S., Beljaev A. L., Merkulova L. N., Vartanian R. V., Kisteneva L. B., Ivanova V. T., Oskerko T. A., Silujanova E. V., Mukasheva E. A., Krasnoslobodtsev K. G., Garina E. O., Alkhovsky S. V., Prilipov A. G., Fedyakina I. T., Bogdanova V. S., Proshina E. S., Samohvalov E. I., Aristova V. A., Kirillov I. M., Malishev N. A.** Influenza epidemic development in some regions of Russia and in countries of the North hemisphere during 2013–2014. 11
- Sychev D. A., Baykova O. Yu., Ivanov A. P., Eremeeva T. P., Ivanova O. E.** The study of the humoral immunity to the virus of poliomyelitis among migrant workers in the Russian Federation. 16
- Alimbarova L. M., Lazarenko A. A., Barinsky I. F., Dizha V. I.** A Study of the antiviral activity of the HPM-7.0, extract of mycelium of the higher fungi *Fusarium sambucinum*, on the model experimental herpes viral infection. 21
- Leneva I. A., Leonova E. I., Makhmudova N. R., Falynskova I. N., Fedyakina I. T., Zverev V. V., Mikhailova N. A.** Experimental model of secondary bacterial pneumonia after influenza. 27
- Gulyukin M. I., Kozyreva N. G., Ivanova L. A., Stepanova T. V., Klimenko A. I., Kovalenko A. V., Drobina Y. D., Vasilenko V. N.** Experimental interspecies transmission of the bovine leukaemia virus. 32
- Esper S. A., Grebennikova T. V., Isagulians M. G., Kyuregyan K. K., Prilipov A. G., Hodorovich A. M.** Detection of the intrahospital and laboratory contamination with the hepatitis A and C viruses. 37
- Chicherina G. S., Morozova O. V., Panov V. V., Romanenko V. N., Bakhvalov S. A., Bakhvalova V. N.** Features of the tick-borne encephalitis virus infection of *Ixodes persulcatus* Schulze и *Ixodes pavlovskyi* Pomerantsev 1946 during period of growth and transformation of species structure of the ixodids community. 42

BOOK REVIEW

Кононов А. В., Галегов Г. А., Дерябин П. Г. HIV infection and AIDS: National Manual by V. V. Pokrovskii, A. V. Kravchenko, O. G. Yurin, V. V. Voronin, T. N. Ermak, V. V. Belyaeva, N. N. Ladnaya, V. I. Shakhgild'yan, L. Yu. Afonina, S. N. Potekhaev, Yu. A. Fomin, V. N. Zimina, O. P. Frolova, G. A. Shipulin, E. V. Bogoslavskaya. 47

ANNIVERSARY

O. I. Kiselev (to 70th anniversary) 48

Журнал "Вопросы вирусологии" входит в Перечень ведущих научных журналов и изданий ВАК, в которых должны быть опубликованы значимые результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук

ОБЗОРЫ

© КАЛИНИНА О.В., 2015
УДК 578.891:578.2/8

Калинина О.В.

Вирус гепатита С: механизмы изменчивости, классификация, ЭВОЛЮЦИЯ

ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора, 197101, г. Санкт-Петербург

Вирус гепатита С (ВГС) является одним из наиболее динамично эволюционирующих патогенов вирусной природы. В последнее десятилетие обширные молекулярно-эпидемиологические исследования выявили огромное разнообразие вариантов ВГС. В настоящем обзоре рассмотрены механизмы изменчивости ВГС, описана современная классификация, представлены обобщенные данные о географической распространенности и эволюции различных вариантов этого вируса, включая природные рекомбинантные формы.

Ключевые слова: механизмы изменчивости вируса гепатита С; генотипы; рекомбинантные формы; эволюция.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60 (5): 5–10.

Kalinina O.V.

Hepatitis C virus: variability mechanisms, classification, evolution

St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia

Hepatitis C virus (HCV) is one of the most dynamically evolving viral pathogens. In the last decade extensive molecular epidemiological studies demonstrated great HCV diversity. This review describes the HCV variability mechanisms and the current HCV classification, presents data on the geographical spread of different HCV subtypes and its evolution, including natural recombinant forms.

Key words: hepatitis C virus diversity; HCV recombinant forms; evolution.

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (Project No. 14-15-00546).

Received 28.04.14

For correspondence: Olga Kalinina, MD, PhD, ScD; e-mail: olgakalinina@mail.ru
Citation: Voprosy virusologii. 2015; 60(5): 5–10. (In Russ.)

Введение

Вирус гепатита С (ВГС) был открыт в 1989 г. и отнесен к семейству Flaviviridae, род *Hepacivirus* [1]. Его геном представлен (+)-цепью РНК длиной около 9600 нуклеотидов, которая кодирует полипротеин, расщепляющийся вирусными и клеточными протеазами на 10 белков: core, E1, E2, p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B.

Сегодня в мире более 150 млн человек инфицированы ВГС, и ежегодно более 350 тыс. человек умирают от болезни печени, ассоциированных с вирусным гепатитом С (ГС) (Инф. бюлл. № 164, ВОЗ, 2012). Высокая генетическая вариабельность ВГС обеспечивает “ускользание” вируса от факторов иммунной защиты организма человека, что способствует значительной частоте хронизации заболевания (до 70%). В связи с отсутствием эффективных профилактических мероприятий основным направлением борьбы с данным заболеванием является предотвращение распространения возбудителя, для чего крайне необходимо понимание механизмов изменчивости, лежащих в основе эволюции ВГС.

Мутационный механизм изменчивости ВГС

ВГС характеризуется значительной генетической вариабельностью. Средняя частота мутаций на геном на сайт в течение года составляет $1,92 \cdot 10^{-3}$ нуклеотидных замен [2–4]. При этом частота мутаций неравномерно распределена как по всему геному, так и внутри отдельных генов.

Скорость мутаций в генах core, NS3 и NS5 сопоставима со средней скоростью мутаций на протяжении всего генома. Некодирующие 5'- и часть 3'-области, которые содержат ключевые элементы репликации РНК и трансляции полипротеина, являются наиболее консервативными участками. Максимальной частотой мутаций характеризуется структурный ген E2 вследствие наличия гипервариабельных участков (HVR), наиболее подверженных селективному давлению со стороны иммунной системы и участвующих в формировании пула генетически близкородственных вариантов одного и того же изолята “предшественника”, получивших название квазивидов [5]. Высокая скорость мутаций и динамичная эволюция пула квазивидов являются необходимыми факторами, позволяющими ВГС эффективно накапливать адаптивные мутации, способствующие выживанию вируса под селективным давлением окружающей среды и формированию резистентности к противовирусным препаратам.

Рекомбинационный механизм изменчивости ВГС

Долгое время полагали, что либо РНК-рекомбинация не свойственна ВГС, либо образующиеся природные рекомбинанты подвержены негативной селекции или не являются «жизнеспособными». Также предполагали, что другими факторами, обеспечивающими низкую частоту природной рекомбинации ВГС, могли быть неспецифическая клеточная резистентность к суперинфекции или

Таблица 1

Межгенотипные природные рекомбинантные варианты ВГС

Страна идентификации, год	"Родительские" генотипы/субтипы	Расположение сайта рекомбинации*	Номенклатурное название
Россия, 2002	RF1_2k/1b	NS2 (3175/3176 н.о.)	RF2k/1b
Вьетнам, 2006	RF2_2i/6p	NS2/NS3 соединение (3405–3464 н.о.)	RF2i/6p
Филиппины, 2006	RF3_2b/1b	NS2/NS3 соединение (3399/3400 н.о.)	RF2b/1b_1
Франция, 2007	2/5	NS2/NS3 соединение	RF2/5
Тайвань, 2010	RF_2b/6w	NS2/NS3 соединение (3429 н.о.)	RF2b/6w
США, 2011	2b/1a	NS/NS3 соединение (3405–3416 н.о.)	RF2b/1a
Япония, 2011	RF3_2b/1b	NS3 (3443/3444 н.о.)	RF2b/1b_2
Япония, 2012	RF3_2b/1b	NS2 (3300–3303 н.о.)	RF2b/1b_3
Япония, 2012	RF3_2b/1b	NS2 (3300–3303 н.о.)	RF2b/1b_4

Примечание. * – расположение сайта указано в авторской интерпретации.

иммунитет, обусловленный первичным инфицированием [3, 4].

В 2002 г. был идентифицирован первый природный рекомбинантный вариант ВГС, названный RF1_2k/1b, который образовался в результате гомологичной рекомбинации геномов 1b и 2k по механизму непроцессивной смены матрицы на стадии синтеза (-)-цепи РНК [6, 7]. Анализ мозаичности его полноразмерного генома выявил единственный сайт рекомбинации внутри неструктурной NS2 области: 5'UTR-NS2-область до рекомбинационного сайта принадлежала к субтипу 2k, а от сайта рекомбинации до 3'UTR-конца – к наиболее агрессивному субтипу 1b. Точка рекомбинации была картирована в кодоне 949 (Val/Ile) между 3175/3176 нуклеотидными основаниями (н.о.) (согласно нумерации генома изолята рj6CF).

После доказательства явления рекомбинации в эволюции ВГС во всем мире возобновились исследования, посвященные поиску природных рекомбинантных вариантов ВГС. В результате было идентифицировано еще несколько межгенотипных рекомбинантов (табл. 1) [8–14]. Анализ мозаичности их полноразмерного генома выявил, как и в случае варианта RF1_2k/1b, единственный сайт рекомбинации, расположение которого варьировало в пределах NS2– и NS2/NS3–областей (см. табл. 1).

Примечательно, что характерной особенностью всех известных природных межгенотипных рекомбинантов является принадлежность их 5'UTR-области до рекомбинационного сайта к генотипу 2, что, возможно, обеспечивает им селективное преимущество, связанное с повышением эффективности IRES-трансляции, которая, как было показано, зависит от генотипа вируса [15]. В экспериментах *in vitro* эффективность трансляции 5'UTR-области генома субтипа 2b была более высокой по сравнению с субтипами 1a, 1b, 3a, 4a, 5a и 6a и превышала таковую субтипа 6a в 3 раза, при этом эффективность IRES-трансляции остальных субтипов различалась незначительно [15].

Помимо межгенотипных обнаружены внутригенотипные рекомбинанты, образованные только субтипами генотипа 1. При ретроспективном анализе нуклеотидных последовательностей выявлены единичные изоляты ре-

комбинантов 1a/1c и 1a/1b [16]; при моделировании смешанной инфекции у шимпанзе были идентифицированы рекомбинантные варианты 1a/1b [17].

Современная классификация ВГС

Классификация ВГС пересмотрена в 2005 г. Согласно шести основным ветвям филогенетического дерева, основанного на анализе полноразмерных геномов, все изоляты ВГС сгруппированы в 6 генетических групп, названных генотипами от 1 до 6, которые, как и ранее, состоят из субтипов [18]. Минимальное значение дивергенции между субтипами в пределах генотипа снижено до 15% (вместо 20%), а минимальное значение бутстрепинга – до 70% (вместо 90%). Ранее описанные варианты ВГС как генотипы 7, 8, 9, 10 и 11 переименованы в субтипы в соответствии с их принадлежностью к основным ветвям филогенетического дерева. Отличительными особенностями классификации 2005 г. стало введение новой номенклатурной единицы – рекомбинантной формы, а также критериев включения нового геноварианта в иерархическую структуру – необходимо идентифицировать как минимум три изолята ВГС нового геноварианта, выделенных от эпидемиологически несвязанных пациентов, и охарактеризовать полноразмерный геном одного из изолятов. Согласно этим критериям, в 2005 г. только рекомбинант RF1_2k/1b был зарегистрирован как рекомбинантная форма RF 01_1b/2k [18].

В 2014 г. в классификацию внесены изменения и принято решение о необходимости согласовывать название каждого нового геноварианта с Flaviviridae Study Group [19]. Изменено одно из условий включения нового генотипа и рекомбинантной формы в иерархическую структуру (достаточно идентифицировать один изолят вместо трех), название субтипов ограничено латинскими буквами от *a* до *w*, далее *xa*, *xb*...*xz*, *ya*...*yz*, *za*...*zz* (в совокупности генотип может содержать 101 субтип), максимальное значение дивергенции между изолятами в пределах субтипа установлено на уровне 13%. В результате выделено 7 генетических групп – генотипов, состоящих из 67 подтвержденных субтипов и 21 субтипа, которым пока не присвоены буквенные обозначения, согласно принятым критериям 2005 г. Для 20 субтипов, описанных ранее на основании только NS5B и/или core/E1 областей, зарезервированы буквенные обозначения. Кроме того, в классификацию включены все идентифицированные рекомбинантные формы (RF). Рекомбинантным формам с одинаковым составом генома, но различными сайтами рекомбинации присвоены числовые префиксы, например, RF2b/1b_1 (см. табл. 1) [19].

Географическое распространение и эволюция генотипов ВГС

Глобальное географическое распространение генотипов и субтипов ВГС хорошо документировано. Полагают, что возникновение большинства субтипов ВГС произошло более 300 лет назад, а генотипов – от 500 до 2000 лет назад [3, 4].

Наибольшее распространение получили генотипы 1, 2 и 3. Однако широко циркулирует лишь ограниченное число их субтипов, в частности 1a, 1b, 2a, 2b и 3a; лидирующее место в большинстве регионов мира, в том числе в России, занимает субтип 1b (табл. 2) [4, 6, 20–31]. Частота встречаемости каждого субтипа варьирует не только в разных географических зонах, но и в группах риска. В индустриально развитых странах субтипы 1b, 2a и 2b преобладают у пациентов старшего возраста, имеющих в анамнезе переливание крови, хирургические или внутривенные вмешательства; субтипы 1a и 3a ассоциированы с внутривенным употреблением наркотических средств лицами моложе 29 лет.

Таблица 2

Географическое распространение генотипов/субтипов ВГС

Континент	Страна, регион	Генотипы/субтипы ВГС
Европа	Англия	1 (45%), 3a (40%), 2 (10%), 4 (5%)
	Германия	1 (61,7%), 3a (28%), 2 (6,9%), 4 (3,2%), 5, 6
	Швеция	1a (35%), 3a (31%), 2b (17%), 1b (6%), 4a (1,7%)
	Норвегия	1b (28%), 1a (28%), 3a (28%), 2b (10%)
	Франция	1b (27%), 3a (21%), 1a (18%), 2a (9%), 4 (11%), 5a (1%), 2k
	Швейцария	1 (51%), 3 (30%), 4 (10%), 2 (9%)
	Австрия	1b (54%), 1a (15,6%), 3a (15,6%), 4, 5
	Россия	1b (50%), 3a (45%), 2a (4,4%), 2c (0,3%), 1a, 4a, 2k
	Греция	1 (47%), 3 (27%), 4 (15,2%), 2 (8,3%)
	Португалия	1 (52,2%), 3 (34%), 4 (7%), 2 (2,4%)
	Испания	1b (41,3%), 1a (24,1%), 2a/c/q (3,1%), 3 (19,6%), 4 (11,6%), 5
	Италия	1b (49,2%), 2a/2c (22,4%), 3 (7,4%), 4 (6,2%), 1 (4,2%), 5
	Словения	1b (54,4%), 1a (24,6%), 2, 3a
	Румыния	1b (92,6%), 1a (5,4%), 4a (1,2%), 3a (0,8%)
	Венгрия	1b (85,5%), 1a (6%), 3 (3,4%), 2 (0,8%), 4 (1,7%), mix
	Чехия*	1a (40,5%), 1b (35%), 3 (23,5%)
	Чехия**	1b (66%), 3 (19,7%), 1a (13,3%), 2a, 2b
	Польша	1 (57,5%), 3 (31,3%), 4 (8,4%)
	Финляндия	3a (41%), 1b (24%), 2b, 1a
	Эстония	1b (32%), 1a/b (28%), 2a, 3a
Турция	1b (87,2%), 1a (9,9%), 3 (1,4%), 2 (0,9%), 4 (0,6%)	
Азия	Саудовская Аравия	4 c, d, h, e (74%), 1b, 2b, 3a, 5a, 6a
	Израиль	1 (70%), 3 (20%), 2 (8%), 4 (3%)
	Япония	1b (63%), 2a (25%), 1a, 2b, 3a, 4a, mix (12%)
	Тайвань	1b (60,1%), 2a (15,5%), 1a, 2b, 3a
	Тайвань*	1b (14,5%), 2a (58,9%), 1a (17,3%), 2b (8,9%), 3a, 1a+2b
	Таиланд	1b (39,1%), 3a (39,1%), 1a, 3b, 6a
	Китай	1b (66,2%), 2a (13,7%), 3b, 6a
	Гонконг	1b (58,8%), 6a (27%), 1a, 2a, 2b, 3a
	Узбекистан	1b (64,2%), 3a (25%), 2a, 1a, 2b, 3b
	Индия	3a (61–80%), 2 (25%), 1 (31,2%), 3g, 3k, 1c, 4f, 4d, 6
	Пакистан	3a (81,4%), 3b (9,3%), 3k (2,3%), 1a (1,5%), 1c (1,5%), 1b (0,8%), 2a (0,8%)
	Корея	1b (47,7%), 2a (42,6%), 1a (1,3%), 2b (2,4%), 3a (1,6%), 2v, 1v, 4a, 4c, 4d
	Мьянма	6n (38,6%), 3b (29,7%), 3a (9,6%), 6m (9%), 1b (6,9%), 1a (4,1%), 2a
	Индонезия**	1b (57,8%), 2a (17,2%), 3b (10,9%), 1a, 2b
	Вьетнам**	6a (51,5%), 3a (30,9%), 1b (9,6%), 3b (1,6%), mix (5,9%)
Америка	Доминиканская Республика	1a (59%), 2a (7,1%), 1b (3,6%), 2b (2,4%), 3a (2,4%)
	Бразилия	1a (32%), 1b (31%), 3a (26%), 2a, 2b
	Перу	1 (86%), 3a (10%), 2 (2%)
	Аргентина	1 (59,1%), 2 (21,7%), 3 (17,8%), 4 (1,3%)
	Мексика	1a (54,3%), 1b (21,8%), 2b (13%), 2a (4,4%), 3a (6,5%), 4a, 5
	Венесуэла	1b (48,0%), 1a (22%), 2 (26%)
	Колумбия**	1b (82,8%), 1a (5,7%), 2a (5,7%), 2b (2,8%), 3a (2,8%)
	США	1a (58%), 1b (21%), 2b (13%), 2a, 3a, 4a
	Канада	1a (48%), 1b (19%), 3a (22%), 2a (6%), 2b, 2k, 4a
Африка	Камерун	4f (38%), 2f (38%), 1a (24%)
	Габон	4 (100%)
	Египет	4 (93%), из них 4a (63%), 1 (6%), 3 (1%)
	Конго	4 (20%), 4c (16%), 4r (16%), 4k (6%), 4h (4%), 2 (1%)
	ЮАР	5 (40%), 1 (33%), 2, 3, 4
	Марокко	1b (75, 2%), 2i (19,1%), 2a/c, 2k, 1a
Австралия	Штат Квинсленд	3a (36,8%), 1a (34,8%), 1b, 2a, 2b
	Штат Новый Южный Уэльс	1 (52%), 3 (32%), 2, 4, 6

Примечание. Жирным шрифтом выделены преобладающие генотипы/субтипы ВГС; в скобках указан процент встречаемости; * – исследование проведено среди употребляющих ВНС, ** – среди доноров крови.

Генотипы 4, 5, 6 характеризуются более локальным распространением и являются эндемичными в Африке и Юго-Восточной Азии, кроме субтипа 4а, который присутствует во многих регионах мира, но выявляется в большинстве из них, как правило, эпизодически, тогда как в Египте его доля составляет более 63% (см. табл. 2) [3, 4, 20–22, 32–34]. Молекулярно-эволюционный анализ, основанный на теории нейтральной эволюции, показал, что субтип 4а в Египте претерпел экспоненциальный рост в 1940–1980 гг. в период широкого использования внутривенных инъекций препаратов сурьмы для лечения шистосомозов [32]. По этой же причине в 20-е годы XX века данный субтип получил распространение в Японии [33].

Обширные молекулярно-эпидемиологические исследования, проведенные в странах Африки и Азии, выявили огромное разнообразие субтипов ВГС генотипов не только 4 и 6, но и 1, 2, 3: на территории Южной Азии – генотипа 3 [20, 22, 34], в Юго-Восточной Азии – генотипа 6 [35, 36], во многих странах Центральной Африки – генотипов 1 и 4 [4, 22, 37], тогда как в странах Западной Африки и Камеруне – генотипа 2 [38, 39]. Такое многообразие вариантов ВГС на ограниченных территориях и в замкнутых коллективах объясняется длительной циркуляцией ВГС в этих зонах, рассматривающихся сейчас как потенциальный пул «будущих» эпидемических вариантов ВГС, которые в прошлом в силу социальных, исторических и экономических причин не распространялись за пределы отдельных регионов Африки и Азии.

Использование теории коалесценции в совокупности с байесовским методом позволило установить время дивергенции различных вариантов ВГС и возможные пути их распространения. Так, время дивергенции вариантов ВГС генотипа 2 в Западной Африке и Камеруне приходилось на 1380–1680 и 1470–1760 гг. соответственно [39]. На протяжении нескольких веков генотип 2 эволюционировал независимо от принадлежности к этим двум регионам. В странах Западной Африки его широкое распространение произошло между 1700–1900 гг. и было обусловлено национальными традициями, характерными только для этой части Африканского континента, в частности «братанием на крови» между воинами различных племен, тогда как в Камеруне это произошло в начале XX века и было связано с началом широкой вакцинации [39].

В индустриально развитые страны варианты ВГС, широко циркулирующие сейчас в этих регионах в группах риска, были занесены в начале XX века из стран Африки (генотипы 1 и 2) и Азии (генотип 3) [14, 20, 39, 40]. В Англии экспоненциальный рост популяции ВГС субтипа 1а начался в период с 1924 по 1953 г., когда произошло внедрение этого субтипа в когорту людей, начавших употреблять опиаты внутривенно [41]. В большинстве стран Европы популяция вируса субтипа 3а претерпела эпидемический рост в первые десятилетия XX века. Предположительно субтип 3а начал распространяться в результате различных инвазивных медицинских вмешательств в период Первой мировой войны, а также в связи с началом употребления солдатами наркотических средств внутривенно. Далее его распространение приобрело экспоненциальный характер среди лиц, употреблявших внутривенные наркотические средства (ВНС). При изучении развития эпидемии, вызванной ВГС субтипа 1b в Греции, Турции и на Кипре, оказалось, что распространение этого субтипа началось с Греции в начале XX века, затем перешло на соседние страны Кипр и Турцию. При этом в течение более полувека (1940–1999) в Турции экспоненциальный рост популяции ВГС субтипа 1b происходил исключительно за счет распространения изоля-

тов, циркулировавших только внутри страны, которые в настоящее время формируют на филогенетическом древе четкую монофилитическую группу, отличную от изолятов, циркулирующих в соседних странах Средиземноморья [29].

Изучение предшественников изолятов ВГС генотипа 5, циркулирующих на территории Европы, показало, что во Францию они были занесены в 40-е годы прошлого столетия [42], тогда как в бельгийской провинции Западная Фландрия их распространение началось более 150 лет назад в середине XIX века, когда бельгийской колонией была Демократическая Республика Конго [43].

В последнее десятилетие во многих регионах отмечают изменение паттернов генотипов современной структуры популяции ВГС, что в значительной степени обусловлено активной миграцией населения, а также «вбросом» новых вариантов ВГС в среду лиц, употребляющих ВНС. В Канаде обнаружены субтипы 2d, 2e, 2j, 2m, 2r африканского происхождения [44]. В странах Южной Америки, например в Венесуэле, выявление субтипа 2j связывают с миграцией представителей этнических групп из стран Африки [45]. В свою очередь в Южной Африке, где ранее циркулировал в основном генотип 5, значительно возросла доля генотипов 1 (19%) и 4 (19%) и стали регистрироваться не типичные для этого региона субтипы 4k, 4q, 4r [46]. В странах Западной Европы возросла доля 4 генотипа: в Греции она превысила 15% [47], в Дании значительно увеличилась среди употребляющих ВНС [48], тогда как в Польше – среди доноров крови [30]. В Италии стали встречаться субтипы 4с, 4d [49], на Кипре идентифицирован новый субтип 4v [31].

В России, как и в европейских странах, возрастает доля генотипа 2, а в некоторых районах – генотипа 4. Во всех регионах России по-прежнему отмечается доминирование субтипа 1b в основной популяции, а также у пациентов отделений гемодиализа и гемотрансфузии, тогда как субтипа 3а – у лиц, употребляющих ВНС, с разной частотой обнаруживаются субтипы 1а, 2а, 2b и 2с [23–27]. Несмотря на то, что Россия имеет общие границы со многими азиатскими странами, в целом структура субтипов ВГС, циркулирующих на ее территории, подобна таковой в странах Европы.

Географическое распространение рекомбинантных вариантов ВГС

Широкое распространение получил только рекомбинант RF2k/1b, изоляты которого идентифицированы у пациентов всех возрастных категорий различных групп населения в 5 регионах России (Санкт-Петербург, Москва, Московская и Тамбовская области, Сибирь), а также в Эстонии, Белоруссии, Узбекистане, Азербайджане, Швеции, Ирландии, Голландии, Франции, на Кипре и в Канаде [6, 7, 24, 25, 28, 31, 50–58].

Учитывая, что в Швеции, Ирландии, Голландии, Франции и на Кипре изоляты RF2k/1b обнаружены только у эмигрантов из Грузии или России (единичные случаи), можно заключить, что рекомбинация произошла на территории Советского Союза. Использование теории коалесценции в совокупности с байесовским методом при изучении изолятов RF_2k/1b, выделенных в Голландии, позволило ограничить время рекомбинационного события между 1923–1956 гг. [56]. Этот период включает создание в 1926 г. первого в мире Научно-практического института переливания крови в Москве, начало широкого использования гемотрансфузий на всей территории Советской Республики, Великую Отечественную войну. Дальнейший период истории обусловил распространение рекомбинанта RF2k/1b в пределах Советского Союза. Перестрой-

ка, активная эмиграция, свободное перемещение жителей бывшего СССР за пределы стран проживания, а также масштабное использование наркотических средств открыли новую эру в распространении этого рекомбинанта по всему миру. Идентификация в Канаде изолята, отнесенного к рекомбинанту RF2k/1b согласно организации генома и расположению сайта рекомбинации, но наиболее дивергентного по сравнению с остальными изолятами данного варианта ВГС, и наличие кластера, сформированного изолятами, выделенными только на территории Российской Федерации, свидетельствует в пользу того, что некоторое время назад произошло "территориальная" дивергенция изолятов RF2k/1b [57, 58].

Другие межгенотипные природные рекомбинанты представлены пока только единичными изолятами, но при этом выявлены в разных странах мира и на различных континентах: во Вьетнаме, Франции, на Тайване, в США, на Филиппинах (см. табл. 1). Особое внимание вызывают межгенотипные рекомбинанты 2b/1b, все четыре изолята которых имеют отдельные префиксы в классификации, хотя, по-видимому, образование рекомбинантов RF2b/1b_3 и RF2b/1b_4 произошло в результате одного и того же рекомбинационного события, исходя из организации генома и расположения сайта рекомбинации [14].

Статья подготовлена при поддержке гранта 14-15-00546 Российского Научного Фонда.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1–22, 24, 28–50, 52, 53, 56, 58 см. REFERENCES)

23. Львов Д.К., Самохвалов Е.И., Мпширо С., Тсуда Ф., Селиванов Н.А., Окамото Х. и др. Закономерности распространения вируса гепатита С и его генотипов в России и странах СНГ. *Вопросы вирусологии*. 1997; 4: 157–61.
25. Гаврилова И.В., Кочнева Г.В., Сиволобова Г.Ф., Гражданцева А.А., Баяндин Р.Б., Нетесов С.В. Распространенность, генотипическое разнообразие и факторы риска гепатита С среди больных с хроническими вирусными гепатитами в Новосибирской области. *Инфекционные болезни*. 2007; 5 (3): 9–15.
26. Ковалев С.Ю., Малиушенко О.И., Глинских Н.П. Генетические варианты вирус гепатита С, циркулирующие в Уральском регионе. *Вопросы вирусологии*. 2003; 48 (5): 11–4.
27. Кузин С.Н., Самохвалов Е.И., Заботина Е.Е., Кудрявцева Е.Н., Крель П.Е., Корабельникова М.И. и др. Структура генотипов вируса гепатита у пациентов с хроническим гепатитом С. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2011; 3: 33–8.
51. Чуб Е.В., Кочнева Г.В., Гранитов В.М., Нетесов С.В. Рекомбинанты вируса гепатита С типа 2k/1b у населения Алтайского края. *Инфекционные болезни*. 2007; 5 (4): 5–11.
54. Кюрегян К.К. *Молекулярно-биологические основы контроля вирусных гепатитов*: Дисс. ... докт. биол. наук. М.; 2012.
55. Самохвалов Е.И., Николаева Л.И., Альховский С.В., Хлопова И.Н., Макашова В.В., Петрова Е.В. и др. Частота встречаемости отдельных субтипов вируса гепатита С в Московском регионе. *Вопросы вирусологии*. 2013; 58 (1): 36–40.
57. Калинин О.В. Организация генома и география природного межгенотипного рекомбинанта вируса гепатита С RF1_2k/1b. *Инфекция и иммунитет*. 2012; 2 (4): 677–86.

REFERENCES

1. Choo Q.L., Kuo G., Weiner A.J., Overby L.R., Bradley D.W., Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*. 1989; 244 (4902): 359–62.
2. Ogata N., Alter H.J., Miller R.H., Purcell R.H. Nucleotide sequence and mutation rate of the H strain of hepatitis C virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1991; 88 (8): 3392–6.
3. Smith D.B., Pathirana S., Davidson F., Lawlor E., Power J., Yap P.L. et al. The origin of hepatitis C virus genotypes. *J. Gen. Virol.* 1997; 78 (2): 321–8.
4. Simmonds P. Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus—15 years on. *J. Gen. Virol.* 2004; 85 (11): 3173–88.
5. Farci P., Shimoda A., Coiana A., Diaz G., Peddis G., Melpolder J.C.

- et al. The outcome of acute hepatitis C predicted by the evolution of the viral quasispecies. *Science*. 2000; 288 (5464): 339–44.
6. Kalinina O., Nordor H., Mukomolov S., Magnius L.O. A natural intergenotypic recombinant of hepatitis C virus identified in St. Petersburg. *J. Virol.* 2002; 76 (8): 4034–43.
7. Kalinina O., Nordor H., Magnius L.O. Full-Length Open Reading Frame of a Recombinant hepatitis C Virus Strain from St. Petersburg: Proposed mechanism for its formation. *J. Gen. Virol.* 2004; 85 (7): 1853–7.
8. Bhattacharya D., Accola M.A., Ansari I.H., Striker R., Rehrauer W.M. Naturally occurring genotype 2b/1a hepatitis C virus in the United States. *J. Virol.* 2011; 8: 458.
9. Lee Y.M., Lin H.J., Chen Y.J., Lee C.M., Wang S.F., Chang K.Y. et al. Molecular epidemiology of HCV genotypes among injection drug users in Taiwan: Full-length sequences of two new subtype 6w strains and a recombinant form_2b/6w. *J. Med. Virol.* 2009; 82 (1): 57–68.
10. Legrand-Abravanel F., Claudinon J., Nicot F., Dubois M., Chapuy-Regaud S., Sandres-Saune K. et al. New natural intergenotypic (2/5) recombinant of hepatitis C virus. *J. Virol.* 2007; 81 (8): 4357–62.
11. Noppornpanth S., Lien T.X., Poovorawan Y., Smits S.L., Osterhaus A.D., Haagmans B.L. et al. Identification of a Naturally Occurring Recombinant Genotype 2/6 Hepatitis C Virus. *J. Virol.* 2006; 80 (15): 7569–77.
12. Kageyama S., Agdamag D.M., Alesna E.T., Leano P.S., Heredia A.M., Abellanosa-Tac-An I.P. et al. A natural inter-genotypic (2b/1b) recombinant of hepatitis C virus in the Philippines. *J. Med. Virol.* 2006; 78 (11): 1423–8.
13. Yokoyama K., Takahashi M., Nishizawa T., Nagashima S., Jirintai S., Yotsumoto S. et al. Identification and characterization of a natural inter-genotypic (2b/1b) recombinant hepatitis C virus in Japan. *Arch. Virol.* 2011; 156: 1591–601.
14. Hoshino H., Hino K., Miyakawa H., Takahashi K. Inter-genotypic recombinant hepatitis C virus strains in Japan noted by discrepancies between immunoassay and sequencing. *J. Med. Virol.* 2012; 1024: 1018–24.
15. Collier A.J., Tang S., Elliott R.M. Translation efficiencies of the 5' untranslated region from representatives of the six major genotypes of hepatitis C virus using a novel bicistronic reporter assay system. *J. Gen. Virol.* 1998; 79 (10): 2359–66.
16. Colina R., Casane D., Vasquez S., Garcia-Aguirre L., Chunga A., Romero H. et al. Evidence of intratypic recombination in natural populations of hepatitis C virus. *J. Gen. Virol.* 2004; 85 (1): 31–7.
17. Gao F., Nainan O.V., Khudyakov Y., Li J., Hong Y., Gonzales A. et al. Recombinant hepatitis C virus in experimentally infected chimpanzees. *J. Gen. Virol.* 2007; 88 (1): 143–47.
18. Simmonds P., Bukh J., Combet C., Deléage G., Enomoto N., Feinstone S. et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*. 2005; 42 (4): 962–73.
19. Smith D.B., Bukh J., Kuiken C., Muerhoff A.S., Rice C.M., Stapleton J.T. et al. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment WEB resource. *Hepatology*. 2014; 59 (1): 318–27.
20. Pybus O.G., Charleston M.A., Gupta S., Rambaut A., Holmes E.C., Harvey P.H. The epidemic behavior of the hepatitis C virus. *Science*. 2001; 292 (5525): 2323–5.
21. Cornberg M., Razavi H., Alberti A., Bernasconi E., Buti M., Cooper C. et al. A systematic review of hepatitis C virus epidemiology in Europe, Canada and Israel. *Liver Int.* 2011; 31 (Suppl. 2): 30–60.
22. Sievert W., Altraif I., Razavi H.A., Abdo A., Ahmed E.A., Alomair A. et al. A systematic review of hepatitis C virus epidemiology in Asia, Australia and Egypt. *Liver Int.* 2011; 31 (Suppl. 2): 61–80.
23. L'vov D.K., Samokhvalov E.I., Mishiro S., Tsuda F., Selivanov N.A., Okamoto H. et al. Regularities in the spread of hepatitis C virus and its genotypes in Russian and countries within the former USSR. *Voprosy virusologii*. 1997; 4: 157–61. (in Russian)
24. Shustov A.V., Kochneva G.V., Sivolobova G.F., Grazhdantseva A.A., Gavrilova I.V., Akinfeeva L.A. et al. Molecular epidemiology of the hepatitis C virus in Western Siberia. *J. Med. Virol.* 2005; 77 (3): 382–9.
25. Gavrilova I.V., Kochneva G.V., Sivolobova G.F., Grazhdantseva A.A., Bayandin R., Netesov S.V. Prevalence, genotypic diversity and risk factors for hepatitis C among patients with chronic viral hepatitis in the Novosibirsk region. *Infektsionnye bolezni*. 2007; 5 (3): 9–15. (in Russian)
26. Kovalev S.Iu., Maliushenko O.I., Gliniskikh N.P. Genetic variations of hepatitis C virus circulating in the Ural region. *Voprosy virusologii*. 2003; 48 (5): 11–4. (in Russian)
27. Kuzin S.N., Samokhvalov E.I., Zabolina E.E., Kudriavtseva E.N.,

- Krel' P.E., Korabel'nikova M.I. et al. Hepatitis virus genotype structure in patients with chronic hepatitis C. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2011; 3: 33–8. (in Russian)
28. Tallo T., Norder H., Tefanova V., Krispin T., Schmidt J., Ilmoja M. et al. Genetic characterization of hepatitis C virus strains in Estonia: fluctuations in the predominating subtype with time. *J. Med. Virol.* 2007; 79 (4): 374–82.
 29. Ciccozzi M., Ciccaglione A.R., Presti A.Lo, Yalcinkaya T., Taskan Z.P., Equestre M. et al. Reconstruction of the evolutionary dynamics of the hepatitis C virus 1b epidemic in Turkey. *Infect. Genet. Evol.* 2011; 11 (5): 863–8.
 30. Chlabicz S., Flisiak R., Kowalczyk O., Grzeszczuk A., Pytel-Krolczuk B., Prokopowicz D. et al. Changing HCV genotypes distribution in Poland—relation to source and time of infection. *J. Clin. Virol.* 2008; 42 (2): 156–9.
 31. Demetriou V.L., van de Vijver D.A., Cyprus HCV Network, Kostrikis L.G., Chimonides S., Evgeniou A. et al. Molecular epidemiology of hepatitis C infection in Cyprus: evidence of polyphyletic infection. *J. Med. Virol.* 2009; 81 (2): 238–48.
 32. Tanaka Y., Agha S., Saudy N., Kurbanov F., Orito E., Kato T. et al. Exponential spread of hepatitis C virus genotype 4a in Egypt. *J. Mol. Evol.* 2004; 58 (2): 191–5.
 33. Mizokami M., Tanaka Y. Tracing the evolution of hepatitis C virus in the United States, Japan, and Egypt by using the molecular clock. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2005; 3 (10): 82–5.
 34. Chaudhuri S., Das S., Chowdhury A., Santra A., Bhattacharya S.K., Naik T.N. Molecular epidemiology of HCV infection among acute and chronic liver disease patients in Kolkata, India. *J. Clin. Virol.* 2005; 32 (1): 38–46.
 35. Pybus O.G., Barnes E., Taggart R., Lemey P., Markov P.V., Rasachak B. et al. Genetic history of hepatitis C virus in East Asia. *J. Virol.* 2009; 83 (2): 1071–82.
 36. Lu L., Murphy D., Li C., Liu S., Xia X., Pham P.H. et al. Complete genomes of three subtype 6t isolates and analysis of many novel hepatitis C virus variants within genotype 6. *J. Gen. Virol.* 2008; 89 (2): 444–52.
 37. Bracho M.A., Carrillo-Cruz F.Y., Ortega E., Moya A., González-Candelas F. A new subtype of hepatitis C virus genotype 1: complete genome and phylogenetic relationships of an Equatorial Guinea isolate. *J. Gen. Virol.* 2006; 87 (6): 1697–702.
 38. Jeannel D., Fretz C., Traore Y., Kohdjo N., Bigot A., Pê Gamy E. et al. Evidence for high genetic diversity and long-term endemicity of hepatitis C virus genotypes 1 and 2 in West Africa. *J. Med. Virol.* 1998; 55 (2): 92–7.
 39. Pouillot R., Lachenal G., Pybus O.G., Rousset D., Njoum R. Variable epidemic histories of hepatitis C virus genotype 2 infection in West Africa and Cameroon. *Infect. Genet. Evol.* 2008; 8 (5): 676–81.
 40. Pybus O.G., Markov P.V., Wu A., Tatem A.J. Investigating the endemic transmission of the hepatitis C virus. *Int. J. Parasitol.* 2007; 37 (8): 839–49.
 41. Pybus O.G., Cochrane A., Holmes E.C., Simmonds P. The hepatitis C virus epidemic among injecting drug users. *Infect. Genet. Evol.* 2005; 5 (2): 131–9.
 42. Henquell C., Guglielmini J., Verbeeck J., Mahul A., Thibault V., Lebray P. et al. Evolutionary history of hepatitis C virus genotype 5a in France. a multicenter ANRS study. *Infect. Genet. Evol.* 2011; 11 (2): 496–503.
 43. Verbeeck J., Maes P., Lemey P., Pybus O.G., Wollants E., Song E. et al. Investigating the origin and spread of hepatitis C virus genotype 5a. *J. Virol.* 2006; 80 (9): 4220–6.
 44. Li C., Cao H., Lu L., Murphy D. Full-length sequences of 11 hepatitis C virus genotype 2 isolates representing five subtypes and six unclassified lineages with unique geographical distributions and genetic variation patterns. *J. Gen. Virol.* 2012; 93 (6): 1173–84.
 45. Sulbarán M.Z., Di Lello F.A., Sulbarán Y., Cosson C., Loureiro C.L., Rangel H.R. et al. Genetic history of hepatitis C virus in Venezuela: high diversity and long time of evolution of HCV genotype 2. *PLoS One.* 2010; 5 (12): e14315.
 46. Gededzha M.P., Selabe S.G., Kyaw T., Rakgole J.N., Blackard J.T., Mphahlele M.J. Introduction of new subtypes and variants of hepatitis C virus genotype 4 in South Africa. *J. Med. Virol.* 2012; 84 (4): 601–7.
 47. Katsoulidou A., Sypsa V., Tassopoulos N.C., Boletis J., Karafoulidou A., Ketikoglou I. et al. Molecular epidemiology of hepatitis C virus (HCV) in Greece: temporal trends in HCV genotype-specific incidence and molecular characterization of genotype 4 isolates. *J. Viral. Hepat.* 2006; 13 (1): 19–27.
 48. Eriksen M.B., Jorgensen L.B., Krarup H., Laursen A.L., Christensen P.B., Moller A. et al. Molecular and epidemiological profiles of hepatitis C virus genotype 4 in Denmark. *J. Med. Virol.* 2010; 82 (11): 1869–77.
 49. Ciccozzi M., Equestre M., Costantino A., Marascio N., Quirino A., Lo Presti A. et al. Hepatitis C virus genotype 4d in Southern Italy: Reconstruction of its origin and spread by a phylodynamic analysis. *J. Med. Virol.* 2012; 84 (10): 1613–9.
 50. Moreau I., Hegarty S., Levis J., Sheehy P., Crosbie O., Kenny-Walsh E. et al. Serendipitous identification of natural intergenotypic recombinants of hepatitis C in Ireland. *Virol. J.* 2006; 3: 95.
 51. Chub E. V., Kochneva G.V., Granitov V.M., Netesov S. Recombinant hepatitis C virus type 2k/1b in the Altai Krai. *Infektsionnye bolezni.* 2007; 5 (4): 5–11. (in Russian)
 52. Kurbanov F., Tanaka Y., Chub E., Maruyama I., Azlarova A., Kamitsukasa H. et al. Molecular epidemiology and interferon susceptibility of the natural recombinant hepatitis C virus strain RF1_2k/1b. *J. Infect. Dis.* 2008; 198 (10): 1448–56.
 53. Morel V., Descamps V., François C., Fournier C., Brochot E., Capron D. et al. Emergence of a genomic variant of the recombinant 2k/1b strain during a mixed hepatitis C infection: a case report. *J. Clin. Virol.* 2010; 47 (4): 382–6.
 54. Kyuregyan K.K. *Molecular-biological Bases of the Control of Viral Hepatitis*: Diss. Moscow; 2012. (in Russian)
 55. Samokhvalov E.I., Nikolaeva L.I., Al'khovskiy S.V., Khloпова V.V., Petrova E.V., Sapronov G.V. et al. Frequency of detection of different hepatitis C virus subtypes in the Moscow region. *Voprosy virusologii.* 2013; 58 (1): 36–40. (in Russian)
 56. Raghwanji J., Thomas X.V., Koekkoek S.M., Schinkel J., Molenkamp R., van de Laar T. et al. Origin and evolution of the unique hepatitis C virus circulating recombinant form 2k/1b. *J. Virol.* 2012; 86 (4): 2212–20.
 57. Kalinina O. V. Genome organization and geographical distribution of the natural intergenotyping recombinant of hepatitis C virus RF1_2k/1b. *Infektsiya i immunitet.* 2012; 2 (4): 677–86. (in Russian)
 58. Newman R.M., Kuntzen T., Weiner B., Beral A., Charlebois P., Kuiken C. et al. Whole Genome Pyrosequencing of Rare Hepatitis C Virus Genotypes Enhances Subtype Classification and Identification of Naturally Occurring Drug Resistance Variants. *J. Infect. Dis.* 2013; 208 (1): 17–31.

Поступила 28.04.14

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.921.5-036.2 (470+571)

Львов Д.К.¹, Бурцева Е.И.¹, Щелканов М.Ю.¹, Колобухина Л.В.¹, Феодоритова Е.Л.¹, Трушакова С.В.¹, Кириллова Е.С.¹, Беляев А.Л.¹, Меркулова Л.Н.¹, Вартянян Р.В.¹, Кистенева Л.Б.¹, Иванова В.Т.¹, Оскерко Т.А.¹, Силуянова Э.В.¹, Мукашева Е.А.¹, Краснослободцев К.Г.¹, Гарина Е.О.¹, Альховский С.В.¹, Прилипов А.Г.¹, Федякина И.Т.¹, Богданова В.С.¹, Прошина Е.С.¹, Самохвалов Е.И.¹, Аристова В.А.¹, Кириллов И.М.¹, Малышев Н.А.²

Развитие эпидемии гриппа на отдельных территориях России и в странах Северного полушария в сезоне 2013–2014 гг.

¹Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва; ²ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница № 1» Департамента здравоохранения г. Москвы, 125367, г. Москва

Представлены особенности циркуляции вирусов гриппа в период с октября 2013 г. по июнь 2014 г. в 10 городах России, опорных базах Центра экологии и эпидемиологии гриппа Института вирусологии им. Д. И. Ивановского ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. Подъем заболеваемости, этиологически связанный с вирусами гриппа, регистрировали в феврале–марте 2013 г. Максимальные показатели заболеваемости были отмечены в период с 9-й недели с последующим снижением до пороговых уровней к 13-й неделе 2014 г. Наиболее вовлеченными в эпидемию были дети в возрасте 0–2 и 3–6 лет, в то же время частота госпитализации была наиболее высокой в группе 15–64 года (66%). Этиологию эпидемических подъемов заболеваемости определяли штаммы вирусов гриппа А (H1N1)pdm09 и А (H3N2), активность которых различалась на разных территориях России. Результаты изучения антигенных и молекулярно-генетических свойств штаммов показали близкое родство большинства из них с вакцинными вирусами. При этом была отмечена гетерогенность популяции циркулирующих штаммов и их дрейфовые варианты. Штаммы были чувствительны к озельтамивиру и занамивиру, сохранили резистентность к ремантадину. Долевое участие возбудителей ОРВИ негриппозной этиологии было сравнимо с аналогичными данными предыдущих эпидемических сезонов.

Ключевые слова: Центр экологии и эпидемиологии гриппа; эпидемический сезон 2013–2014 гг.; штаммы вирусов гриппа; антигенные свойства; молекулярно-генетические свойства; чувствительность к этиотропным препаратам.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60 (5): 11–16.

Lvov D.K.¹, Burtseva E.I.¹, Shchelkanov M.Yu.¹, Kolobukhina L.V.¹, Feodoritova E.L.¹, Trushakova S.V.¹, Kirillova E.S.¹, Beljaev A.L.¹, Merkulova L.N.¹, Vartanian R.V.¹, Kisteneva L.B.¹, Ivanova V.T.¹, Oskerko T.A.¹, Silujanova E.V.¹, Mukasheva E.A.¹, Krasnoslobodtsev K.G.¹, Garina E.O.¹, Alkhovsky S.V.¹, Prilipov A.G.¹, Fedyakina I.T.¹, Bogdanova V.S.¹, Proshina E.S.¹, Samohvalov E.I.¹, Aristova V.A.¹, Kirillov I.M.¹, Malishev N.A.²

Influenza epidemic development in some regions of Russia and in countries of the North hemisphere during 2013-2014

¹D.I. Ivanovsky Institute of Virology FSBI «Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya», Moscow, Russia; ²Clinical Hospital for Infectious Diseases No. 1, Department of Health of Moscow, Moscow, Russia

The results of study of the specific features of influenza virus circulation in 2013-2014 in 10 cities of Russia were presented. The results were obtained in basic laboratories of the Center for Ecology and Epidemiology of Influenza, D.I. Ivanovsky Institute of Virology, FSBI «N.F. Gamaleya FRCM» Ministry of Health of the Russian Federation. The increasing rate of the ARD morbidity was detected during week 9 with further decrease in the morbidity rate till threshold levels reached during week 13. Children 0-2 years old and 3-6 years old were the most involved age group, while the highest rate of hospitalization was found in the age group of 15-64 years old (66%). The influenza A(H1N1)pdm09 and A(H3N2) viruses were the cause of the epidemic, but their activity differed over regions of Russia. The results of study of the antigenic and genetic properties of influenza strains showed for the most of them a close relation to the vaccine strains. Certain heterogeneity of circulating strains and their drift variants was found as well. All the tested strains were sensitive to the oseltamivir and zanamivir, while preserving resistance to the rimantadine. The ratio of the ARD viruses was comparable with the last epidemic seasons.

Key words: IEFC, epidemic season 2013-2014; strains of influenza viruses; antigenic properties; genetic properties; susceptibility to antivirals.

Received 15.05.15

For correspondence: Elena Burtseva, MD, PhD, DSc; e-mail: elena-burtseva@yandex.ru

Citation: Voprosy virusologii. 2015; 60(5): 11–16. (In Russ.)

Таблица 1

Средняя заболеваемость по 10 городам РФ, опорным базам ЦЭЭГ Института вирусологии им. Д.И. Ивановского в период с 40-й недели 2013 г. по 26-ю неделю 2014 г.

Город	Возрастные группы, годы				
	все население	0–2	3–6	7–14	≥ 15
Великий Новгород	82,6	581,0	528,0	274,0	28,8
Липецк	66,8	446,9	396,4	160,1	32,7
Владимир	60,5	430,8	420,4	166,3	21,4
Ярославль	37,7	175,7	194,5	85,4	18,8
Пенза	11,0	7,3	15,0	5,1	11,3
Чебоксары	80,4	531,2	488,8	195,8	27,0
Оренбург	55,9	387,6	354,4	139,0	19,4
Томск	55,4	506,1	348,9	103,4	17,1
Владивосток	24,8	286,8	297,5	116,3	10,0
Биробиджан	58,1	524,7	352,8	112,4	12,9
Среднее	53,3	387,8	339,7	135,8	19,9
Разброс значения	11,0–82,6	7,3–581,0	15,0–528,0	5,1–274,0	10,0–32,7

В рамках осуществления эпидемиологического надзора за циркуляцией вирусов гриппа в Российской Федерации Центр экологии и эпидемиологии гриппа (ЦЭЭГ) Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» (ФНИЦЭМ) Минздрава России в сотрудничестве с 10 сотрудничающими с ним опорными базами, представленными территориальными управлениями и ФБУЗ «Центры гигиены и эпидемиологии» в европейской части, на Урале, Сибири и Дальнем Востоке, провел анализ биологических и молекулярно-генетических свойств вирусов гриппа А и В, вызвавших подъемы заболеваемости в сезоне 2013–2014 гг. [1]. В статье представлены особенности развития эпидемий на отдельных территориях РФ и в странах Северного полушария, а также современная ситуация по случаям инфицирования людей вирусами гриппа птиц и свиней.

Материалы и методы

Сбор данных о заболеваемости и лабораторной диагностике гриппа и ОРВИ. Еженедельно (с 40-й недели 2013 г. по 26-ю неделю 2014 г.) в ЦЭЭГ поступала информация о заболеваемости гриппом и ОРВИ, госпитализации и случаях с летальным исходом, этиологически связанных с вирусом гриппа, в различных возрастных группах населения, а также результаты диагностики гриппа и ОРВИ, полученные с использованием метода иммунофлюоресцирующих антител (МИФ), полимеразной цепной реакции (ПЦР), изоляции вирусов гриппа, и данные серологических исследований из 10 официальных опорных баз ЦЭЭГ. Кроме того, клинический материал (нососкопические смывы, секционный материал, гемагглютинирующие изоляты) поступал для подтверждения результатов ПЦР-диагностики и изоляции штаммов вирусов гриппа из медицинских учреждений Москвы и Московской области, а также других территорий РФ.

Отбор пациентов и взятие материала. В исследование были включены пациенты, госпитализированные в Инфекционную клиническую больницу № 1 г. Москвы, а также амбулаторные и госпитализированные пациенты с опорных баз ЦЭЭГ. При подозрении на гриппозную инфекцию у заболевших проводили забор нососкопических смывов не позднее чем через 3–4 дня от начала болезни. В случае летального исхода в ЦЭЭГ поступал секционный материал (ткани бронхов, трахеи, легких, селезенки) как из опорных баз ЦЭЭГ, так и из лечебных учреждений Москвы.

Изоляцию вирусов гриппа проводили из клинического материала на клетках культуры ткани MDCK и куриных эмбрионах (КЭ) по общепринятым методикам [2].

Типирование изолятов выполняли в реакции торможения гемагглютинирующей активности (РТГА) по общепринятой методике с диагностическими сыворотками против эталонных вирусов для 2013–2014 гг.: А/Калифорния/7/2009 (H1N1)pdm09, А/Виктория/361/11 (H3N2), В/Массачусетс/02/2012 (линия В/Ямагата-подобных) и В/Брисбен/60/08 (линия В/Виктория-подобных) [2, 3].

Выявление РНК вирусов гриппа А (H1N1)pdm09, А (H3N2) и В проводили с помощью тест-систем АмплиСенс «Influenza viruses A/B», АмплиСенс «Influenza virus A/H1-swine-FL», АмплиСенс Influenza virus A-тип-FL («ИнтерЛабСервис», Москва) согласно рекомендациям производителя.

Секвенирование генома осуществляли по методике, описанной ранее [4].

Оценку чувствительности штаммов к противовирусным препаратам проводили с помощью молекулярно-генетических методов, также описанных ранее [5].

Оценку специфичности гемагглютинина (HA) вируса гриппа по отношению к рецепторингибирующим сиалогликополимерам выполняли по ранее описанной методике [6].

Результаты и обсуждение

Превышения эпидемических порогов в 10 городах РФ в среднем (66,3 на 10 тыс. населения) регистрировали с 6-й (69,3) по 13-ю неделю (66,3) 2014 г.; максимальные показатели были отмечены на 9-й неделе 2014 г. (87,9), что было значительно ниже и позднее по сравнению с предыдущим сезоном 2012–2013 гг. (105,8 на 6-й неделе 2013 г.). Наиболее вовлеченными в эпидемию были дети 0–2 лет (387,8), в то же время вовлеченность взрослого населения была значительно ниже – 19,9 (табл. 1).

В ЦЭЭГ из 10 городов поступила информация о 1129 поставленных клинических диагнозах «грипп», 838 (74,2%) из которых с последующей госпитализацией пациентов. Частота госпитализаций в возрастных группах в среднем распределилась следующим образом: 0–2 года – 12,0%, 3–6 лет – 13,0%, 7–14 лет – 8,0%, 15 лет и старше – 66,0%. Более половины случаев среди госпитализированных было зарегистрировано во Владивостоке (52,0%), где лица в возрасте 15 лет и старше составили 79,0%. В то же время в одном из городов европейской части РФ, Липецке, из общего числа госпитализированных (305) лица 15 лет и старше составили 47,0%, дети 0–2 лет – 22,7%, 3–6 лет – 19,0%.

Первые случаи гриппа были детектированы в октябре 2013 г. (2 случая гриппа В в Чебоксарах) с последующим ростом в феврале – марте 2014 г. Максимальное число положительных проб на грипп регистрировали на 10–11-й неделе 2014 г. (25,8 и 25,5% соответственно). Последней случаи гриппа зарегистрировали в июне 2014 г.

С января 2014 г. в ЦЭЭГ поступила информация и секционный материал от 18 пациентов, умерших после перенесенных тяжелых острых респираторных заболеваний. Молекулярно-генетическими методами подтвержден грипп А (H1N1)pdm09 у 13 пациентов (Москва – 2, Липецк – 1, Владимир – 1, Томск – 1 и Вла-

Диагностика гриппа и ОРВИ в ЦЭЭГ и 10 опорных базах, сотрудничающих с ЦЭЭГ, в период с октября 2013 г. по июнь 2014 г.

ОРВИ	Методы диагностики гриппа и ОРВИ (число положительных результатов/%)				
	ОТ-ПЦР	МИФ	изоляция штаммов	серологические методы	любой из методов
Число обследованных	9886	3465	1688	68	11 944
Грипп А, подтип не установлен	4/0,04	21/0,6	0	0	25/0,2
Грипп А (H1N1)pdm09	549/5,6		258/15,3	1/1,5	549/4,6
Грипп А (H3N2)	750/7,6	97/2,8	241/14,3	5/7,4	776/6,5
Грипп В	294/3,0	9/0,3	69/4,1	1/1,5	300/2,5
Грипп в целом	1597/16,1	127/3,7	568/33,6	7/10,3	1650/13,8
Парагрипп	281/2,8	703/20,3	н.и.	1/1,5	н.и.
Аденовирусы	183/1,8	254/7,4	н.и.	1/1,5	н.и.
РС-вирус	238/2,4	214/6,2	н.и.	2/2,9	н.и.
Риновирусная инфекция	503/5,0				
Другие ОРВИ	289/2,9*		н.и.	н.и.	н.и.
ОРВИ в целом	1494/15,3	1171/33,7	н.и.	11/16,2	н.и.

Примечание. * – другие ОРВИ, в том числе 107 случаев метапневмовирусной инфекции, 52 – бокавирусной инфекции, 59 – коронавирусной инфекции, 64 – микоплазмы пневмонии, 4 – цитомегаловирусной и 1 случай хламидийной инфекции; н.и. – не исследовали.

дивосток – 8). Средний возраст погибших составил 51 год (34–67), 70,0% – женщины, среднее число дней до госпитализации с момента появления клинических признаков заболевания – 4,6 (от 1 до 7), среднее число дней до летального исхода – 13,5 (от 5 до 25).

В целом в ЦЭЭГ и на 10 сотрудничающих с ним опорных базах проведены исследования клинического материала для диагностики гриппа и ОРВИ, объем которых составил в общем 11 944, в том числе ПЦР – 9886 образцов, МИФ – 3465 образцов, серологические исследования – 68 парных сывороток и изоляция штаммов на культуре клеток МДСК и КЭ – 1688 образцов (носоглоточных смывов, бронхоальвеолярного лаважа, аутопсийного материала) (табл. 2).

Частота положительных на грипп проб составила в целом 13,8%. Активность вируса гриппа В была крайне низкой (2,5%) по сравнению с вирусами гриппа А, долевое участие которых составило 11,3%.

В структуре детектированных случаев ОРВИ негриппозной этиологии по данным МИФ парагрипп выявлен в 20,3%, аденовирусы – в 7,4% и респираторно-синцитиальный вирус (РС-вирус) – в 6,2%; по данным ПЦР в 5,0% случаев была детектирована риновирусная инфекция. Как и в предыдущие сезоны, обнаружены различия в частоте диагностики гриппа и ОРВИ с применением МИФ и ПЦР, что несколько усложняет анализ.

Как и в предыдущие 3 сезона (2010–2012 гг.), в этиологию эпидемий на большинстве территорий были вовлечены 3 вируса гриппа: А (H1N1)pdm09, А (H3N2) и В (табл. 3). Однако их долевое участие в эпидемическом процессе было различным. Вирус гриппа А (H1N1)pdm09 доминировал в городах Сибири и Дальнего Востока, А (H3N2) – в городах европейской части РФ; социркуляцию вирусов гриппа А (H1N1)pdm09 и А (H3N2), реги-

стрировали на Урале; грипп В детектировали во всех городах (исключение составил Биробиджан).

Результаты антигенной характеристики 387 штаммов, выделенных с декабря 2013 г., определили родство 107 штаммов А (H1N1)pdm09 (Владивосток, Томск, Владимир и ЦЭЭГ, Москва) с А/Калифорния/7/2009 (H1N1)pdm09, 221 штамма вируса гриппа А (H3N2) – с А/Техас/50/2012 (ЦЭЭГ, Москва; Липецк, Владимир, Великий Новгород, Ярославль, Томск, Н. Новгород) и 59 штаммов гриппа В (ЦЭЭГ, Москва; Томск, Владивосток), 54 из которых были близки эталону В/Массачусетс/02/2012 (вакцинный), 5 – штамму В/Брисбен/60/08.

Детальное типирование штаммов вируса гриппа А (H1N1)pdm09 показало, что подавляющее большинство из них имели близкое родство с эталонным вирусом А/Калифорния/7/2009 и только 9,3% и отличались на 1/8–1/16 гомологичного титра. Популяция штаммов вируса гриппа А (H3N2) на 77% была близка эталонному вирусу А/Техас/50/2012, при этом 4 (2,0%) штамма отличались на 1/16 и менее гомологичного титра. Популяция

Таблица 3

Суммарная диагностика гриппа (МИФ, ПЦР и изоляция штаммов) в ЦЭЭГ и 10 городах РФ в период с 40-й недели 2013 г. по 26-ю неделю 2014 г.

ФБУЗ "ЦГиЭ" республики, края, области, города	Число проб	Число диагностированных случаев гриппа				
		А	А (H1N1)pdm09	А (H3N2)	А в целом	В
ЦЭЭГ, Москва	2110	1	48	277	326	87
Великий Новгород	886			112	112	2
Липецк	685		2	88	90	10
Владимир	743	16	3	71	90	1
Ярославль	1201		8	94	102	54
Пенза	770		4	2	6	10
Чебоксары	501		2	34	36	19
Оренбург	850		30	34	64	8
Томск	1096	1	53	31	85	20
Владивосток	2551		368	26	394	89
Биробиджан	551	7	31	7	45	
Всего (%)	11 944 (100)	25 (0,2)	549 (4,6)	776 (6,5)	1350 (11,3)	300 (2,5)

Примечание. ЦГЭ – Центры гигиены и эпидемиологии.

вируса гриппа В была представлена штаммами обеих эволюционных линий, при этом штаммы, подобные В/Массачусетс/2/2012 (линия В/Ямагата-подобных), в большинстве случаев отличались от референс-штамма на 1/8 и менее гомологичного титра (33 штамм, или 60%). В популяции штаммов, подобных В/Брисбен/60/08 (линия В/Виктория-подобных), такие варианты также встречались (2 штамма из 5).

Методом частичного секвенирования проведен анализ генетических маркеров резистентности 55 штаммов вируса гриппа А (H1N1)pdm09 и 9 штаммов вируса гриппа А (H3N2). Все из изученных штаммов вируса гриппа А сохранили чувствительность к озельтамивиру и резистентность к адамантанам. В аутопсийном материале от пациента с летальной пневмонией (Владивосток) молекулярно-генетическими методами была определена мутация в гене нейраминидазы (NA) (H275Y), ответственная за резистентность к озельтамивиру (вирус выделить не удалось). Известно, что пациент, проходя курс химиотерапии по поводу онкологического заболевания, был инфицирован А (H1N1)pdm09, в связи с чем ему была назначена терапия озельтамивиром по общепринятой схеме.

Методом частичного секвенирования аутопсийного материала от 11 пациентов с летальной пневмонией, этиологически связанной с вирусом А (H1N1)pdm09, выявлены 5 (45%) случаев с мутациями в позициях 222/223 NA в аутопсийном материале (D222 (N, G, Y)) и в 3 из 5 штаммов, выделенных от этих пациентов (D222 (N, G) и Q22R). В то же время исследования 53 носоглоточных смывов и 45 штаммов вируса гриппа А (H1N1)pdm09 от пациентов с благоприятными исходами гриппозной инфекции не выявили ни одного случая с такими мутациями. Эти данные подтверждают полученные ранее результаты, свидетельствующие об изменении рецепторной специфичности вируса А (H1N1)pdm09 к $\alpha 2,3$ -сиалозидам, определяемой увеличением значения его коэффициента $W_{3/6}$ [6].

Результаты молекулярно-генетического анализа NA и NA 10 штаммов вируса гриппа А (H3N2) и 11 штаммов вируса гриппа В определили их принадлежность к генетическим группам, а также выявили характерные для этих групп и оригинальные замены аминокислот.

Штаммы вируса гриппа А (H3N2) различались по принадлежности к генетическим кластерам – А/Виктория/208 (клайд 3С.3) и А/Техас/50/2012 (клайд 3С.1). Для первого из них были характерны замены аминокислот в антигенном сайте А (R142G, T128A), связанные с потерей потенциального сайта гликозилирования; 3 штамма несли замену L157S в антигенном сайте В, у одного из них в антигенном сайте Е выявлена мутация (N122D), также связанная с потерей сайта гликозилирования. Филогенетический анализ, проведенный в отношении последовательностей NA штаммов вируса гриппа А (H3N2), показал, что А/Москва/133/2014, А/Москва/20/2014 и А/Москва/107/2014 относились к отдельной группе, которая несла аминокислотные замены Y155F, D251V и E315G. Вторая группа несла замены E221D и V444I. Штамм А/Москва/20/2014 отличался заменой в положении 133 (S133R), которая приводит к потере потенциального сайта гликозилирования; штаммы А/Москва/127/2014 и А/Москва/143/2014 несли мутации I392T и T267K соответственно. Все изучаемые последовательности NA российских штаммов несли замены D93G и L81P, а также N402D и были связаны с потерей потенциального сайта гликозилирования.

Филогенетический анализ последовательностей NA вируса гриппа В показал, что штаммы линии В/Ямагата-подобных принадлежали к кластеру 3 (В/Висконсин-подобным). Изученные последовательности NA несли

аминокислотные замены, характерные для эталона (N116K, K298E, E312K, K88R). Кроме того, у всех штаммов были обнаружены замены (N202S и D196N) в спирали 190, связанные с приобретением потенциального сайта гликозилирования, и замена S229G – в рецептор-связывающем кармане. Штаммы В/Москва/11/2014 и В/Москва/9/2014 отличались заменой L172Q. Штаммы линии В/Виктория-подобных филогенетически были близки эталону В/Брисбен/60/2008 и несли замены R279K, K209N и в спирали 190 A202V. Филогенетический анализ последовательностей NA также показал, что штаммы линии В/Ямагата-подобных были близкородственны эталону В/Висконсин/01/2010 и несли характерные замены E320K, N340D, K343E, S198N, A68T и T125K, а также 2 аминокислотные замены A465T и D463N, связанные с приобретением потенциального сайта гликозилирования. У штаммов линии В/Виктория-подобных нашли замены S295R, E358K, N340D, D329N, I240V и I замена N220K была обнаружена в активном сайте NA.

Развитие эпидемий в других странах мира имело свои особенности как по времени активизации вирусов гриппа, так и их долевого участию. При этом в последние годы прослеживается устойчивая тенденция «близости» характера эпидемий в городах европейской части РФ и стран Европейского региона, в то же время, городов Дальнего Востока и стран Северной Америки, Японии и Китая [7].

В странах Европейского региона эпидемия гриппа началась в те же сроки, что и в РФ, и характеризовалась низкими показателями вовлеченности всех возрастных групп. Начало эпидемических подъемов этиологически было связано с вирусом гриппа А (H1N1)pdm09 с последующей активизацией и доминированием с середины марта вируса гриппа А (H3N2); долевого участия вируса гриппа В было относительно низким (11,0%). Среди госпитализированных 37% составляли лица 40–64 лет и 37% – 64 лет и старше. 99,0% случаев были этиологически связаны с вирусом гриппа А, 74,0% из которых – с А (H1N1)pdm09. В 16 странах летальность от всех случаев была относительно сравнима и в среднем на 81,0% этиологически связана с А (H1N1)pdm09 [8].

В странах Северной Азии показатели заболеваемости были сравнимыми с показателями в предыдущем сезоне (Китай) или более высокими по числу тяжелых форм инфекции с последующим развитием пневмонии (до 20% среди госпитализированных в Монголии). В большинстве стран доминировал вирус гриппа А (H1N1)pdm09.

В США активность вируса гриппа А (H1N1)pdm09 начали регистрировать с конца декабря 2013 г., она достигла максимальных уровней в более ранние сроки – в феврале 2014 г. На фоне снижения активности, а также низкого долевого участия вируса гриппа А (H3N2) в марте был отмечен рост активности вируса гриппа В. При этом показатели заболеваемости были несколько ниже, чем в предыдущие сезоны; среди госпитализированных пациентов 60% приходилось на лиц 18–64 лет. Летальность от гриппа и пневмоний к концу января 2014 г. составила 8,8% (пороговое значение 7,3%). 100 летальных исходов от гриппозной инфекции у детей зарегистрированы в период сезонного подъема: 81 случай был этиологически связан с гриппом А, 7 случаев – с гриппом В, 2 случая – с сочетанной инфекцией гриппа А и В, в 2 случаях тип вируса гриппа не был установлен [9, 10].

В Мексике по ряду показателей отмечали увеличение числа тяжелых форм гриппозной инфекции. 90% случаев с летальными исходами этиологически были связаны с вирусом гриппа А (H1N1)pdm09. Пик обращений населения по поводу гриппа и ОРВИ был отмечен в конце января 2014 г. и составил 3,8%.

В Канаде показатели заболеваемости и смертности были незначительно выше по сравнению с эпидемиями

предыдущих лет и этиологически связаны с вирусами гриппа А (H3N2) и В. Наиболее вовлеченными в эпидпроцесс были лица в возрасте 20–64 лет, в то время как к концу сезона с активизацией вируса гриппа В более высокие показатели отмечали в возрастных группах 5–19 и 65 лет и старше.

По антигенным свойствам около 99,0% циркулировавших в странах Северного полушария штаммов вирусов гриппа А (H1N1)pdm09 и А (H3N2) имели близкое родство с эталонами. Популяция циркулировавших штаммов вируса гриппа В была представлена вирусами обеих эволюционных линий, при этом подавляющее большинство из них были близкородственны вакцинному В/Массачусетс/02/2012. Однако в некоторых странах штаммы, близкородственные В/Брисбен/60/2008 (входил в состав только четырехвалентных вакцин) имели достаточно высокую активность, которая достигала 30%.

В 15 странах Европейского региона был проведен генетический анализ 1147 вирусов гриппа: 554 штамма вируса А (H3N2) принадлежали к генетической подгруппе 3С, представленной А/Техас/50/2012 в ветви А/Перт/16/2009, 521 штамм вируса А (H1N1)pdm09 принадлежал к генетической группе 6, представленной А/Санкт-Петербург/27/2011. Из 72 штаммов вируса гриппа типа В 10 принадлежали к ветви 1А линии В/Виктория, представленной В/Брисбен/60/2008, 23 штамма линии В/Ямагата – к ветви 2, представленной В/Массачусетс/02/2012, и 39 штаммов – к ветви 3, представленной В/Висконсин/1/2010.

Менее 1% из более чем 10 тыс. изученных эпидемических штаммов вирусов гриппа, циркулировавших в странах Северного полушария, проявили пониженную чувствительность к препаратам с антинейраминидазной активностью (озельтамивиру и занамивиру) и в то же время были резистентными к препаратам адамантанового ряда (ремантадину и амантадину). Ограниченную передачу штаммов, резистентных к озельтамивиру, регистрировали в США, штатах Луизиана и Миссисипи (5 штаммов из 768 тестируемых) и в Японии среди проживающих в учреждениях интернатного типа между ноябрем и декабрем 2013 г.: специфическая мутация H275Y была выявлена в 6 (8%) из 76 тестируемых штаммов. Однако в период развития эпидемии распространение резистентных к озельтамивиру штаммов зарегистрировано не было.

Учитывая особенности циркуляции штаммов вирусов гриппа, эксперты по гриппу ВОЗ рекомендовали для стран Северного полушария на сезон 2014–2015 гг. включать в состав гриппозных вакцин А/Калифорния/7/2009 (H1N1)pdm09, А/Техас/50/2012 (H3N2) и В/Массачусетс/2/2012 (линия В/Ямагата-подобных). В состав четырехвалентных вакцин рекомендовано включать В/Брисбен/60/2008 (линия В/Виктория-подобных) [9]. Эти же вирусы были рекомендованы в сезоне 2013–2014 гг. для стран Северного полушария и сезона гриппа 2014 г. в Южном полушарии [11].

В эпидемическом сезоне 2013–2014 гг. продолжали детектировать случаи инфицирования людей вирусами гриппа птиц А (H7N9), А (H5N1), а также новым коронавирусом (MERS-CoV).

По данным ВОЗ, с февраля 2013 г. к 4 июля 2014 г. зарегистрировано 436 случаев инфицирования людей вирусом гриппа птиц А (H7N9), 66 из которых закончились летально. Большинство пациентов имели контакты с живой птицей и были детектированы в Китае [12]. К концу июня 2014 г. с 2003 г. в 15 странах мира зарегистрировано 667 случаев инфицирования людей высокопатогенным вирусом гриппа птиц А (H5N1), в 393 случаях с летальным исходом [13]. В 2014 г. случаи инфекции были детектированы в Канаде (1), Вьетнаме

(2), Камбодже (1), Индонезии (1) и Египте (1). К 27 июля 2014 выявлено 836 случаев инфицирования людей новым коронавирусом MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus), 288 из них с летальным исходом [14]. На Среднем Востоке эти случаи были зарегистрированы в Иордании, Ливане, Кувейте, Омане, Катаре, Саудовской Аравии и Объединенных Арабских Эмиратах; в странах Европы регистрировали отдельные, в основном завозные случаи во Франции, Германии, Италии, Греции, Великобритании и Нидерландах, в странах Северной Африки в Тунисе, а также в США.

Таким образом, в отличие от предыдущего сезона начало подъемов заболеваемости ОРВИ, этиологически связанных с вирусами гриппа, как в России, так и в странах Европейского региона регистрировали в поздние сроки – в феврале–апреле 2014 г.; страны Северной Америки прошли пиковые значения в январе–феврале 2014 г. Как и в предыдущие годы, страны различались по долевого участию вирусов гриппа А (H1N1)pdm09 и А (H3N2) в эпидпроцессе, при этом регистрировали крайне низкую активность вируса гриппа В. Необходимо отметить сохранение патогенных свойств штаммов вируса гриппа А (H1N1)pdm09 в развитии тяжелых форм инфекции, нередко с летальным исходом. Случаи, информация о которых поступила в ЦЭЭГ, были в подавляющем большинстве этиологически связаны с А (H1N1)pdm09 и зарегистрированы на Дальнем Востоке, где и была отмечена его высокая активность.

Детальное типирование и данные секвенирования определили соответствие большинства выделенных штаммов вакцинным вирусам, рекомендованным экспертами ВОЗ для сезона 2013–2014 гг. Популяция эпидемических штаммов вирусов гриппа А и В была чувствительна к озельтамивиру и занамивиру, в то же время штаммы вирусов гриппа А (H3N2) и А (H1N1)pdm09 сохранили резистентность к ремантадину. Долевое участие возбудителей ОРВИ негриппозной этиологии по данным МИФ было следующим: вирусы парагриппа – 13,4%, аденовирусы – 5,4%, РС-вирусная инфекция – 7,5%, что было сравнимо с предыдущими эпидемическими сезонами.

Авторы благодарны сотрудникам региональных управлений Роспотребнадзора и ФБУЗ «Центры гигиены и эпидемиологии», сотрудничающих с ЦЭЭГ: Новгородской, Ярославской, Владимирской, Тамской, Липецкой, Пензенской, Оренбургской областей, Чувашской Республики, Еврейской Автономной Республики, Приморского края за активное участие в проведении мониторинга циркуляции вирусов гриппа в сезоне 2013–2014 гг. и предоставление клинических образцов, штаммов и изолятов.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 3, 7–14 см. REFERENCES)

1. Приказ Роспотребнадзора № 373 от 31.03.2005 г. «О совершенствовании системы эпидемиологического надзора и контроля за гриппом и острыми респираторными вирусными инфекциями». М.; 2005.
2. Методические рекомендации (утверждены ФС по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 18 апреля 2006 г. N.0100/4430-06-34). Выделение вирусов гриппа в клеточных культурах и куриных эмбрионах и их идентификация. М.; 2006.
3. Львов Д.К., Яшкулов К.Б., Прилипов А.Г., Бурцева Е.И., Шляпникова О.В., Поглазов А.Б. и др. Обнаружение аминокислотных замен аспарагиновой кислоты на глицин и аспарагин в рецепторсвязывающем сайте гемагглютинина в вариантах пандемического вируса гриппа А/Н1Н1 от больных с летальным исходом и со среднетяжелой формой заболевания. *Вопросы вирусологии*. 2010; 55 (3): 15–8.
4. Хабриев Р.У., ред. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*. М.: Медицина; 2005.

5. Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Бовин Н.В., Малышев Н.А., Чучалин А.Г., Колобухина Л.В. и др. Корреляция между рецепторной специфичностью штаммов пандемического вируса гриппа А (H1N1)pdm09, изолированных в 2009–2011 гг., структурой рецептор-связывающего сайта и вероятностью развития летальной первичной вирусной пневмонии. *Вопросы вирусологии*. 2012; 57 (1): 14–20.

REFERENCES

1. Order of Rospotrebnadzor № 373 from 31.03.2005 "About improvement of system of epidemiological surveillance and control for influenza and acute respiratory virus diseases". Moscow; 2005. (in Russian)
2. Methodical recommendations (confirmed by Federal Agency of surveillance in sphere of defense of consumers rights and prosperity of people from 18 April 2006 N.0100/4430-06-34). Isolation of influenza viruses in cell lines and embryonated eggs and their identification. Moscow; 2006. (in Russian)
3. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2013–2014 northern hemisphere influenza season. Geneva: World Health Organization; 2013. Available at: http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/2013_14_north/en/index.html
4. L'vov D.K., Yashkulov K.B., Prilipov A.G., Burtseva E.I., Shlyapnikova O.V., Poglazov A.B. et al. Detection of amino acid substitutions of asparaginic acid for glycine and asparagine at the receptor-binding site of hemagglutinin in the variants of pandemic influenza A/H1N1 virus from patients with lethal outcome and moderate form of the disease. *Voprosy virusologii*. 2010; 55 (3): 15–8. (in Russian)
5. Khabriev R.U., ed. *Guidance for Experimental (before clinical) Study of New Pharmacological Means [Rukovodstvo po*

- eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv*). Moscow: Meditsina; 2005. (in Russian)
6. L'vov D.K., Shchelkanov M.Yu., Bovin N.V., Malyshev N.A., Chuchalin A.G., Kolobukhina L.V. et al. Correlation between the receptor specificities of pandemic influenza A (H1N1)pdm09 virus strains isolated in 2009–2011 and the structure of the receptor-binding site and the probabilities of fatal primary virus pneumonia. *Voprosy virusologii*. 2012; 57 (1): 14–20. (in Russian)
 7. Review of the 2013–2014 winter influenza season, northern hemisphere. *Wkly. Epidemiol. Rec*. 2014; 89 (23): 245–56.
 8. Europe weekly influenza updates. Available at: <http://www.flunews-europe.org>.
 9. FluView, CDC. A Weekly Influenza Surveillance Report Prepared by the Influenza Division 2013–2014 Influenza Season. Week 20 (17 May 2014).
 10. Influenza-associated pediatric mortality. Available at: <http://gis.cdc.gov/GRASP/Fluview/PedFluDeath.html>.
 11. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2013–14 northern hemisphere influenza season. Available at: http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/2013_14_north/en/index.html
 12. Human infection with avian influenza A (H7N9) virus – update. Available at: http://www.who.int/csr/don/2014_09_04_avian_influenza/en/.
 13. Influenza at the human-animal interface. Available at: http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/Influenza_Summary_IRA_HA_interface_27June14.pdf?ua=1.
 14. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) – update. Available at: http://www.who.int/csr/don/2014_07_23_mers/en/.

Поступила 15.05.15

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.98:578.835.151-078.338.05.14

Сычев Д.А.¹, Байкова О.Ю.¹, Иванов А.П.², Еремеева Т.П.¹, Иванова О.Е.¹

Гуморальный иммунитет к вирусу полиомиелита у трудовых мигрантов в Российской Федерации

¹ФГБУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова», 142782, г. Москва; ²ФГУП «Предприятие по производству бактерийных и вирусных препаратов Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова», 142782, г. Москва

На заключительном этапе ликвидации полиомиелита особое значение имеют группы лиц, которые потенциально могут быть источником реинтродукции дикого полиовируса в сообщество. Поэтому целью исследования была оценка риска поддержания циркуляции дикого полиовируса среди трудовых мигрантов из Таджикистана на основании определения уровня гуморального иммунитета к этому вирусу. Исследовали 470 сывороток крови, собранных от здоровых мигрантов в Москве и Московской области во время вспышки полиомиелита в Таджикистане в 2010 г. Средний возраст доноров – 16,7±0,8 года. Дети от 0,5 до 14 лет (5,6±0,9) составили 18,9%, взрослые до 28 лет (20,9±0,3) – 49,8%, лица, возраст которых был неизвестен, – 31,3%. Сведения о вакцинации против полиомиелита имели только 78,7% детей. Уровень нейтрализующих антител к вакцинным полиовирусам I, II и III серотипов и дикому полиовирусу I типа определяли в реакции микронейтрализации на культуре клеток Нер-2. Уровень IgM и IgG к дикому полиовирусу определяли методом иммуноферментного анализа. Количество детей, не имеющих антител к полиовирусу I, II, III типов и ко всем трем серотипам (8, 10, 29, 2% соответственно), превышало количество таких детей – жителей России. Количество мигрантов-взрослых, у которых отсутствовали антитела к полиовирусу I, II, III типов и к трем серотипам (35, 27, 66, 15% соответственно), значительно выше количества лиц той же возрастной группы из России. Сравнение уровней нейтрализующих антител к вакцинному и дикому полиовирусу I типа и соотношение уровней IgM и IgG указывает на недавний контакт с диким полиовирусом I типа. Неоптимальный (< 90%) уровень коллективного иммунитета к полиовирусу может способствовать поддержанию его циркуляции в исследованной группе. В отношении нее необходима продуманная программа вакцинальных мероприятий.

Ключевые слова: полиомиелит; полиовирус; гуморальный иммунитет; мигранты.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60 (5): 16–21.

Sychev D. A.¹, Baykova O. Yu.¹, Ivanov A. P.², Eremeeva T. P.¹, Ivanova O. E.^{1,2}

The study of the humoral immunity to the virus of poliomyelitis among migrant workers in the Russian Federation

¹ M.P. Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalites, Moscow, Russia; ² Federal State Unitary Enterprise for Manufacture of Bacterial and Viral Preparations, M.P. Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalites, Moscow, Russia

Для корреспонденции: Иванова Ольга Евгеньевна, д-р мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. вирусологии полиомиелита и других энтеровирусных инфекций, зам. директора; e-mail: poliom@aha.ru

At the final stage of the polio eradication, the group of people who could potentially be a source of reintroduction of the wild poliovirus (PV) in the community has a particular importance. Therefore, the goal of the study was to assess risk assessment of maintenance of circulation of the wild PV among migrant workers from Tajikistan based on determining the level of the humoral immunity to PV. We tested 470 serum samples collected from the healthy migrants from Tajikistan in Moscow and Moscow region during the polio outbreak in Tajikistan in 2010. The average age of the donors was 16.7 ± 0.8 years. Children from 0.5 to 14 years (5.6 ± 0.9 years) amounted up to 18.9%; adults under 28 years (20.9 ± 0.3 years), to 49.8%; the group of persons whose age was unknown, 31.3%. Information about previous vaccination against polio was available for 78.7% of children. The level of the neutralizing antibodies (ntAB) to the vaccine PV serotypes 1, 2, and 3 and wild PV type 1 was defined in the microneutralization test in Hep-2 cells. The level of IgM and IgG antibodies to the wild PV was determined in ELISA. The relative amount of children without ntAB to PV type 1, 2, 3, and all three serotypes (8%, 10%, 29%, and 2%, respectively) exceeded the relative amount of such children among the citizens of Russia. The relative amount of the migrant adults without antibodies to PV type 1, 2, 3 and to all three serotypes (35%, 27%, 66%, and 15%, respectively) was significantly higher than the relative amount of persons in the same age group from Russia. Comparison of the antibody levels to vaccine and wild PV type 1 and the ratio of IgM and IgG levels indicated a recent contact with the wild PV type 1. Suboptimal (< 90%) level of the herd immunity to PV could promote the maintenance of PV circulation in the studied group. An elaborate program of vaccinal measures should be developed and implemented with respect to this group.

Key words: humoral immunity; poliomyelitis; poliovirus; migrants.

This work was supported by the Federal Budget (Global initiative for elimination of polio, Direction of Russian Government No. 1771-r, October 14, 2010).

Received 30.05.14

For correspondence: Olga Ivanova, MD, PhD, DSc; e-mail: poliom@aha.ru

Citation: *Voprosy virusologii*. 2015; 60(5): 16–21. (In Russ.)

В 1988 г. Всемирная ассамблея здравоохранения приняла решение о глобальной ликвидации полиомиелита [1]. В России последняя крупная вспышка полиомиелита произошла в 1995 г. [2], в 1996 г. была принята Национальная программа ликвидации полиомиелита (приказ МЗ РФ № 336/142, 1996). В 2002 г. Россия, как и весь Европейский регион ВОЗ, была сертифицирована как «страна, свободная от полиомиелита» [3]. Однако существование в мире эндемичных стран – Афганистана, Нигерии, Пакистана (<http://www.who.int/media-centre/factsheets/fs114/en/>) – делает возможным занос дикого вируса полиомиелита в неэндемичные страны. В 2010 г. произошла крупнейшая вспышка полиомиелита в Таджикистане, вызванная диким полиовирусом I типа, генетически родственным штаммам из Индии [4, 5]. Анализ причин возникновения вспышки показал, что главной из них был низкий уровень коллективного иммунитета к полиомиелиту, что было подтверждено исследованиями сывороток больных и условно здоровых лиц разных возрастов – жителей Таджикистана [5, 6]. Дикий полиовирус был завезен на территорию России, где регистрировали случаи заболевания полиомиелитом как у детей, так и у взрослых – граждан России и мигрантов из Таджикистана и Узбекистана [5, 7, 8]. Дикий полиовирус выделяли также от здоровых детей и взрослых, которые либо находились в контакте с больными полиомиелитом, либо не имели установленных контактов [9].

На заключительном этапе ликвидации полиомиелита группы лиц, в которых может поддерживаться «молчаливая» циркуляция диких полиовирусов и которые потенциально могут быть источником реинтродукции дикого или вакцинородственного полиовируса в общество, имеют особое значение [10, 11]. В РФ дети из семей мигрантов, прибывшие из неблагополучных по полиомиелиту стран или территорий, включены в группу лиц (группа риска), подлежащих обследованию, предусмотренному Национальной программой ликвидации полиомиелита в РФ. Оно включает вирусологическое исследование образцов стула. При отсутствии документов, подтверждающих вакцинацию против полиомиелита, эти дети подлежат иммунизации. Взрослые трудовые мигранты такими исследованиями не охвачены. Поэтому цель настоящей работы состояла в оценке риска поддержания циркуляции дикого или

вакцинородственного полиовируса в группе трудовых мигрантов на основании определения уровня гуморального иммунитета к полиовирусам.

Материалы и методы

Исследовали 470 сывороток крови, собранных от здоровых мигрантов из Таджикистана в мае–июне 2010 г. в Москве и более чем в 10 городах Московской области в соответствии с распоряжением Роспотребнадзора. Возраст доноров колебался от полугодия до 28 лет, средний возраст – $16,7 \pm 0,8$ года. Дети в возрасте до 14 лет составили 18,9% (89), взрослые – 49,8% (234), группа лиц, возраст которых был неизвестен (далее «неизвестные») – 147 (31,3%) человек. Среди доноров было 314 (66,8%) лиц мужского пола и 72 (15,3%) – женского. Пол 84 доноров был неизвестен.

Средний возраст обследованных детей составил $5,6 \pm 0,9$ года. Сведения о вакцинации против полиомиелита имели 70 человек (средний возраст $5,2 \pm 1$ года); не имели сведений 19 человек (средний возраст $6,7 \pm 1,9$ года). Вакцинальный статус группы «неизвестных» и взрослых (средний возраст $20,9 \pm 0,3$ года) был неизвестен.

С помощью реакции микронеutralизации на культуре клеток Hep-2 (Cincinnati) определяли уровень вируснейтрализующих антител к вакцинным полиовирусам I, II и III серотипов и дикому вирусу полиомиелита I типа [12]. В качестве эталонных штаммов использовали вакцинные штаммы Сзбина, полученные из Национального института биологических стандартов и контроля (Великобритания). Для определения уровня антител к дикому вирусу полиомиелита I типа использовали штамм RUS-35671, выделенный в мае 2010 г. в России от ребенка, больного полиомиелитом (№ GenBank KS880503).

Исследуемые сыворотки крови титровали начиная с разведения 1:8 до 1:1024. Разведение 1:8 принимали как наименьшее, свидетельствующее о наличии антител к полиовирусу. В качестве положительного контроля использовали референс-сыворотку с заранее известным титром вируснейтрализующих антител. Учет реакции проводили на 6-е сутки. Титр антител рассчитывали по формуле Кербера [12].

Уровень IgM и IgG к полиовирусу определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА). ИФА

выполняли согласно ранее описанной методике [13, 14]: иммунопанели сенсibilизировали аффинно-очищенными антителами IgY (20 мкг/мл) из яичных желтков куриц, иммунизированных диким полиовирусом I типа (Mahoney). В качестве стандартного антигена использовали культуральную жидкость клеток Vero, инфицированных диким полиовирусом I типа (Mahoney, титр 8,0 lg ТЦД₅₀/мл), в качестве контрольного антигена – культуральную жидкость неинфицированных клеток Vero. Исследуемые сыворотки титровали начиная с разведения 1:400 параллельно в опытных и контрольных лунках иммунопанели. Использовали пероксидазные конъюгаты против IgM и IgG человека, в качестве ферментного субстрата – ТМВ. Оптическую плотность измеряли при 450 нм. Результат (титр сыворотки) считали положительным, если оптическая плотность лунок со стандартным антигеном превышала оптическую плотность лунок с контрольным антигеном в 2,1 раза [13, 14].

Результаты и обсуждение

Результаты определения гуморального иммунитета к вакцинным штаммам Сэбина представлены на рисунке. Число лиц, не имеющих вируснейтрализующих антител ни к одному из трех серотипов полиовируса, составило 57 (12,1%). Антитела к полиовирусу I типа не обнаружены у 131 (27,9%) человека, II типа – у 114 (24,3%), III типа – у 270 (57,4%).

В группе детей с известным вакцинальным статусом число лиц, не имеющих вируснейтрализующих антител ни к одному из трех серотипов полиовируса, составило 2 (2,86%). Антитела к полиовирусу I типа не обнаружены у 6 (8,57%) человек, II типа – у 7 (10%), III типа – у 18 (25,7%). Средний титр вируснейтрализующих антител к полиовирусу I типа составил 1:454±121, II типа – 1:344±110, III типа – 1:126±71.

В группе детей с неизвестным вакцинальным статусом

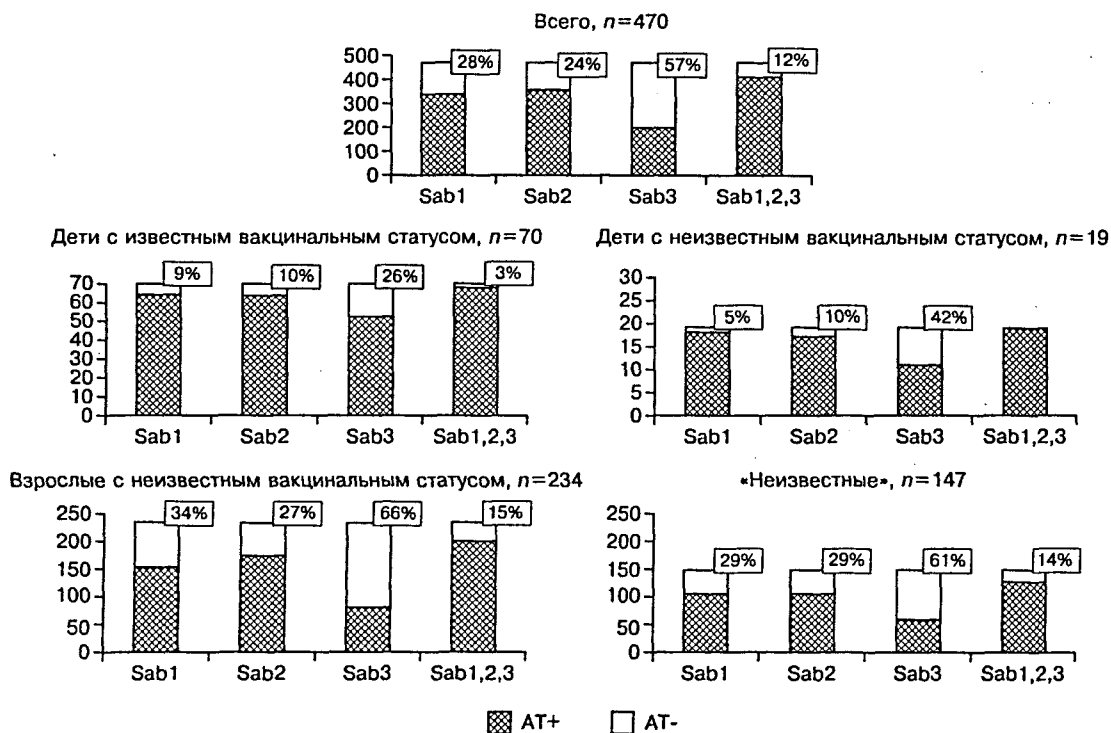
антитела к полиовирусу I типа не обнаружены у 1 (5,3%), II типа – у 2 (10,3%), III типа – у 8 (42,1%). Лица, не имеющие вируснейтрализующих антител ни к одному из трех серотипов полиовируса, не оказалось. Средний титр антител к полиовирусу I типа составил 1:58 ±23, II типа – 1:93±36, III типа – 1:50±43.

В группе взрослых с неизвестным вакцинальным статусом число лиц, не имеющих антител ни к одному из трех серотипов полиовируса, составило 35 (15%). Антитела к полиовирусу I типа не обнаружены у 81 (34,6%) человека, II типа – у 62 (26,5%), III типа – у 155 (66,2%). Средний титр вируснейтрализующих антител к полиовирусу I типа составил 1:53±20, II типа – 1:51±18, III типа – 1:25±7.

В группе “неизвестных” число лиц, не имеющих антител ни к одному из трех серотипов полиовируса, составило 20 (13,6%). Антитела к полиовирусу I типа не обнаружены у 43 (29,3%) человек, II типа – у 43 (29,3%), III типа – у 89 (60,5%). Средний титр вируснейтрализующих антител к полиовирусу I типа составил 1:154±66, II типа – 1:121±46, III типа – 1:59±32.

Для определения уровня вируснейтрализующих антител к дикому вирусу полиомиелита I типа отобрали 99 сывороток. В это количество вошли сыворотки лиц, не имеющих антител ни к одному из трех серотипов полиовируса (1-я группа, 57 сывороток, 57,6%), и сыворотки лиц, не имеющих антител только к полиовирусам II и III типов (2-я группа, 42 сыворотки, 42,4%). Из 99 человек антитела к дикому полиовирусу I типа были обнаружены у 18 (18,2%) человек (см. таблицу).

В 1-й группе антитела к дикому полиовирусу в невысоком титре имел 1 человек (сыворотка № 218). Во 2-й группе в 3 сыворотках уровень антител к вакцинному вирусу был значительно (~ в 10–20 раз) выше, чем к дикому (сыворотки № 265, 258, 468). В 3 сыворотках уровень антител к дикому вирусу был выше (~ в 3–10 раз),



Результаты определения уровня гуморального иммунитета у мигрантов.

По оси ординат – количество лиц с антителами (AT+) и без антител (AT-) к полиовирусу I, II и III типов (Sab1, Sab2, Sab3).

чем к вакцинному (сыворотки № 324, 325, 417). В сыворотках 11 доноров не обнаружили существенной разницы между уровнем антител к дикому и вакцинному полиовирусам. Чтобы определить, являются ли антитела к полиовирусу I типа результатом недавнего контакта с вирусом (вследствие вакцинации или встречи с циркулирующим диким полиовирусом), 18 сывороток крови, в которых были обнаружены антитела к дикому полиовирусу, исследовали в ИФА для определения уровня IgG и IgM (см. таблицу).

В сыворотке № 218, в которой не выявлены нейтрализующие антитела ни к одному из трех типов вакцинного штамма Сэбина, но обнаружены антитела в невысоком титре к дикому полиовирусу I типа, соотношение уровня IgM и IgG (1:100 и 1:800 соответственно) позволяет предположить возможность отдаленного (более 1,5 мес назад) контакта с полиовирусом I типа. Уровни гуморального иммунитета в сыворотке № 415 (отсутствие антител к вакцинным штаммам Сэбина II и III типов, присутствие антител к вакцинному и дикому штаммам I типа в невысоких титрах, высокий уровень содержания IgG) позволяют сделать такой же вывод. Высокий уровень нейтрализующих антител к вакцинному штамму Сэбина I типа, низкий уровень антител к дикому штамму и соотношение уровней IgM и IgG в сыворотках № 265 и 258 подтверждают факт недавней зафиксированной вакцинации детей. В отношении сыворотки № 468, несмотря на отсутствие данных о вакцинации, можно сделать вывод о недавнем контакте с вакцинным вирусом.

В сыворотках № 324 и 325 отсутствовали нейтрализующие антитела к вакцинным штаммам Сэбина II и III типов, присутствовали антитела к полиовирусу I типа – к вакцинному штамму в невысоком титре, к дикому – в высоком. Эти результаты вместе с уровнями IgM и IgG позволяют предположить недавний, в пределах 1,5 – 2 мес, контакт с вирусом полиомиелита I типа (скорее всего диким).

Выявлен значительный дефицит коллективного иммунитета к вирусу полиомиелита у мигрантов из Таджикистана – как у вакцинированных против полиомиелита детей, так и у взрослых лиц. Количество детей, не имеющих нейтрализующих антител к отдельным серотипам полиовируса и ко всем трем серотипам, в группе с известным вакцинальным статусом (9, 10, 26% детей не имели антител к полиовирусу I, II, III типов соответственно, 3% не имели антител ни к одному серотипу) значительно превышало количество детей – жителей России [15, 16]. Так, по данным Н. И. Романенковой и соавт. [9], процент лиц, серонегативных к полиовирусам I, II, III типов и ко всем трем серотипам среди детей, проживающих на одной из территорий РФ, составил 2, 1,5, 6 и 0,4 соответственно. Количество мигрантов-взрослых, у которых отсутствовали антитела к полиовирусу I, II, III типов (35, 27, 66% соответственно), значительно выше количества лиц той же возрастной группы, проживающих в России – 1,8, 0,6, 10,1% соответственно [15]. Следует учесть, что полная схема вакцинации детей против полиомиелита в Таджикистане предусматривает получение 5 доз трехвалентной оральной полиомиелитной вакцины (ОПВ) в течение первого года жизни – при рождении, в возрасте 2, 3, 4 и 12 мес (<http://who.int/vaccines and immunization>). Средний возраст детей, включенных в наше исследование, составлял 5,2 года, следовательно, многие из них должны были получить 5 доз ОПВ. В соответствии с распоряжением Роспотребнадзора (письмо № 01/6334–0–23 от 23.04.2010) дети, прибывающие из Таджикистана, должны были быть вакцинированы трехвалентной ОПВ при пересечении границы России. Большое количество детей, не имеющих антител к отдельным серотипам полиовируса, позволяет заключить, что для многих из них вакцинация против полиомиелита, проведенная при пересечении границы, была единственной. Средний возраст мигрантов-взрослых

Результаты определения вируснейтрализующих антител к дикому и вакцинному штаммам полиовируса и уровней IgG и IgM к дикому вирусу полиомиелита I типа

№ сыворотки	Дата прибытия в Россию	Дата последней вакцинации	Возраст, годы	Пол	Титр АТ к вакцинным штаммам Сэбина типов			Титр АТ к дикому ПВ I типа	Уровень антител разных классов к дикому ПВ I типа	
					I	II	III		IgM	IgG
98	–*	–	18,0	М	11	< 1:8	< 1:8	8	1:100	< 1:100
80	–	–	22,0	М	19	< 1:8	< 1:8	9	1:100	1:800
18	–	–	23,0	Ж	19	< 1:8	< 1:8	11	1:100	1:6400
56	–	–	21,0	М	22	< 1:8	< 1:8	13	1:100	1:6400
108	–	–	19,0	М	63	< 1:8	< 1:8	22	1:400	1:6400
66	–	–	23,0	М	38	< 1:8	< 1:8	32	< 1:100	1:400
88	–	–	19,0	М	63	< 1:8	< 1:8	38	1:100	1:1600
119	–	–	19,0	М	45	< 1:8	< 1:8	38	< 1:100	1:6400
236	24.09.2009	–	21,0	М	16	< 1:8	< 1:8	13	1:100	1:1600
265	06.06.2010	06.06.2010	5,0	М	596	< 1:8	< 1:8	22	1:400	1:6400
258	07.04.2010	19.04.2010	1,1	М	501	< 1:8	< 1:8	32	1:400	1:1600
325	15.05.2010	30.09.2009	2,9	Ж	45	< 1:8	< 1:8	355	1:1600	> 1:12 800
324	15.05.2010	22.06.2009	1,5	М	53	< 1:8	< 1:8	708	1:1600	> 1:6400
218	19.02.2010	–	19,0	М	< 1:8	< 1:8	< 1:8	11	1:100	1:800
393	–	–	–	М	19	< 1:8	< 1:8	11	1:100	> 1:1600
415	–	–	–	–	8	< 1:8	< 1:8	19	1:100	> 1:12 800
468	–	–	–	Ж	299	< 1:8	< 1:8	22	< 1:100	1:400
417	–	–	–	–	38	< 1:8	< 1:8	92	1:400	1:1600

Примечание. * – нет данных; АТ – антитела; ПВ – полиовирус.

составил 20,9 года (до 28 лет), следовательно, они родились в 1990–1991 гг. Учитывая состояние социально-экономической и военно-политической нестабильности, в котором находился Таджикистан [17], многие из них не получили плановых прививок и не попали в целевые группы при проведении дополнительных мероприятий по вакцинации против полиомиелита, которые проводились в Таджикистане в 1995–2000 гг. в рамках операции МЕКАКАР [18]. Однако они могли приобрести иммунитет к полиовирусу I типа во время циркуляции диких полиовирусов этого типа в период вспышек полиомиелита в 90-е годы прошлого века или быть “пассивно” иммунизированы в результате циркуляции вакцинных полиовирусов во время массовых вакцинальных мероприятий. Таким образом, наше исследование выявило наличие значительной группы взрослых мигрантов, в которой существует возможность циркуляции дикого полиовируса и возникновения заболевания. Действительно, во время вспышки полиомиелита в Таджикистане в 2010 г. 12% (53) случаев полиомиелита приходилось на группу лиц старше 15 лет [19]. Взрослые-мигранты, как и неиммунные дети, могут способствовать заносу вируса в страны, свободные от дикого полиовируса, что было подтверждено импортиацией дикого вируса полиомиелита из Таджикистана и Узбекистана в РФ в 2010 г.: вирус выделяли от мигрантов – больных и здоровых контактных лиц (детей и взрослых) [7 – 9]. О возможных контактах с диким полиовирусом говорят результаты исследования сывороток № 218 и 415.

Дети, от которых были получены сыворотки № 324 и 325, прибыли в Россию 15 мая 2010 г., после того как в Таджикистане был проведен первый раунд вакцинальных мероприятий для подавления вспышки полиомиелита – кампания иммунизации с помощью моновалентной ОПВ I типа детей в возрасте до 6 лет, которая проходила с 4 по 8 мая 2010 г. [19]. Наши результаты указывают на то, что дети скорее всего не были охвачены дополнительной иммунизацией; уровни функциональных и нефункциональных антител к полиовирусу I типа свидетельствуют о контакте детей с диким полиовирусом I типа. Это еще раз подтверждает возможность заноса дикого вируса лицами, прибывающими из эпидемически неблагополучных по полиомиелиту регионов.

В 2010 г. во время вспышки в Таджикистане первые случаи полиомиелита были зарегистрированы в феврале-марте [19], первый случай полиомиелита в РФ – в мае в Иркутске [5, 7]. При обследовании клинически здоровых детей, контактирующих с этим больным, от 4 из них был выделен дикий вирус полиомиелита I типа. Дикая вирус I типа был выделен в мае от клинически здоровой девочки, которая проживала в Санкт-Петербурге с начала 2010 г. и не выезжала в Таджикистан [9]. Эти и полученные нами данные позволяют сделать предположение о том, что дикий вирус неоднократно завозился в Россию с начала вспышки полиомиелита в Таджикистане. Высокий уровень коллективного иммунитета в РФ не позволил реализоваться этим завозам в виде значительной вспышки, однако возникло 19 случаев заболевания [5]. Учитывая, что в РФ существует достаточно большое количество (около 150 тыс. по данным Роспотребнадзора) непривитых или не полностью привитых от полиомиелита по разным причинам (отказы родителей, религиозные, социальные и прочие факторы) детей, следует заключить, что эти дети входят в группу риска.

При исследовании сывороток больных полиомиелитом и здоровых лиц, которое выполняли в контексте анализа вспышки полиомиелита в Таджикистане, были получе-

ны данные, аналогичные представленным в сообщении [5]. В исследовании, выполненном N. Khetsiriani и соавт. [6], количество серонегативных лиц (к отдельным и к трем серотипам вируса полиомиелита) оказалось ниже. Это различие может быть связано с рядом факторов, например с местом и временем отбора сывороток (до проведения мероприятий по иммунизации или после, как в вышеуказанной публикации) и прочими, которые трудно было учесть в нашем исследовании в силу специфики изучаемого контингента.

Интенсивность миграционных потоков в Россию из стран ближнего и дальнего зарубежья, в том числе из тех, где все еще циркулируют дикие вирусы полиомиелита, представляет реальную опасность завоза вируса в страну. Так, по данным Федеральной миграционной службы России, только в 2013 г. было выдано 1 273 984 разрешения на работу иностранным гражданам (<http://www.fms.gov.ru/about/statistics/details/81106/>). По различным данным, количество мигрантов в России колеблется от 4,5 до 12 млн человек, значительная часть которых находится в Москве. Вспышки полиомиелита, зарегистрированные в последние годы в странах, свободных от дикого вируса полиомиелита (в 2013 г. в мире зарегистрировано 389 случаев выявления дикого полиовируса, из них 232 в эндемичных странах (<http://www.polioeradication.org/Dataandmonitoring/Poliothisweek.aspx>), подтверждают возможность легкого трансграничного перемещения вируса. В РФ в рамках надзора за полиомиелитом и острыми вялыми параличами существует надзор за детьми из семей мигрантов, беженцев, вынужденных переселенцев, который, как показали события 2010 г., позволяет выявлять случаи завоза дикого полиовируса. Наши данные свидетельствуют о том, что продуманная программа вакцинальных мероприятий необходима и в отношении мигрантов-взрослых. Проведенное исследование касалось только проблемы полиомиелита, но полученные результаты можно экстраполировать и на другие инфекционные заболевания. Это подтверждается результатами, полученными в отношении кори. Так, количество «импортированных» в РФ случаев кори возросло от 1% в 2003–2004 гг. до 63% в 2008 г. В 2007 г. большинство «импортированных» случаев приходилось на трудовых мигрантов, прибывших из Узбекистана [20].

Исследования были выполнены при поддержке средств Федерального бюджета, выделенных на реализацию мероприятий в рамках Глобальной инициативы по искоренению полиомиелита (распоряжение Правительства РФ от 14.10.2010 № 1771-р).

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1–6, 10–14, 18–20 см. REFERENCES)

7. Онищенко Г.Г., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Лазикова Г.Ф., Демина Ю.В., Фролова Н.В. Полиомиелит в Таджикистане. Защита территории России от заноса и распространения дикого вируса полиомиелита. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2011; 2: 12–22.
8. Шишов А.С., Сайфуллин М.А., Шакарян А.К., Иванова О.Е., Сачкова И.Ю. Случай полиовирусной инфекции, вызванный «диким» штаммом у взрослого больного. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2011; 111 (10): 77–80.
9. Романенкова Н.И., Бичурин М.А., Розаева Н.Р., Погребная Т.Н. Роль эпидемиологического надзора за мигрантами в системе надзора за полиомиелитом. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2012; 6: 27–31.
10. Сейбиль В.Б., Малышкина Л.П., Хиштонова С.Н., Лесникова М.В., Барышникова А.С., Коноплева Т.Н. и др. Состояние коллективного иммунитета к полиомиелиту в некоторых областях России. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2013; 2: 56–64.

16. Сейби́ль В.Б., Малышккина Л.П., Тамазян Г.В., Коноплева Т.Н., Успенская Е.С. Коллективный иммунитет к полиомиелиту у детей в Московской области. *Вопросы вирусологии*. 2009; 6: 13–8.
17. Джабиров Ш.С. *Проблема ликвидации инфекций в условиях социально-экономической и военно-политической нестабильности (на примере Республики Таджикистан)*: Дисс. ... докт. мед. наук. М.; 2005.

REFERENCES

1. Resolution of the 41st World Health Assembly WHA 41.28. Global Eradication of poliomyelitis by the year 2000. Geneva: WHO; 1988. Available at: <http://www.who.int/ihr/polioresolution4128en.pdf>
2. Ivanova O.E., Ereemeeva T.P., Lipskaya G.Yu., Cherkasova E.A., Gavrilin E.V., Drozdov S.G. Outbreak of paralytic poliomyelitis in the Chechen Republic in 1995. In: Brown F., ed. *Progress in polio eradication: vaccine strategies for the end game*. Dev. Biol. Basel: Karger; 2001; 105: 231–7.
3. CDC. Certification of poliomyelitis eradication – European Region, June 2002. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2002; 51 (26): 572–4.
4. CDC. Poliomyelitis in Tajikistan: first importation since Europe certified polio-free. *Wkly. Epidemiol. Rec.* 2010; 85 (18): 157–8.
5. Yakovenko M.L., Gmyl A.P., Ivanova O.E., Ereemeeva T.P., Ivanov A.P., Prostova M.A. et al. The 2010 outbreak of poliomyelitis in Tajikistan: epidemiology and lessons learnt. *EURO Surveill.* 2014; 19 (7). Available at: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20706>.
6. Khetsuriani N., Pallansch M.A., Jabirov S., Saparova N., Oberste M.S., Wannemuehler K. et al. Population immunity to polioviruses in the context of a large-scale wild poliovirus type 1 outbreak in Tajikistan, 2010. *Vaccine*. 2013; 31 (42): 4911–6.
7. Onishchenko G.G., Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A., Lazikova G.F., Demina Yu.V., Frolova N.V. Poliomyelitis in Tajikistan. Protection of Russia from emergence and spread of wild poliomyelitis virus. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2011; 2: 12–22. (in Russian)
8. Shishov A.S., Sayfullin M.A., Shakaryan A.K., Ivanova O.E., Sachkova I.Yu. A case of poliovirus infection caused by a wild strain in the adult patient. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova*. 2011; 111 (10): 77–80. (in Russian)
9. Romanenkova N.I., Bichurina M.A., Rozaeva N.R., Pogrebnaya T.N. The role of epidemiologic surveillance of migrants in the system of

- poliomyelitis control. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2012; 6: 27–31. (in Russian)
10. van der Maas N.A., Mollema L., Berbers G.A., Rooijen D.M., van der Avoort H.G., Conyn-Van Spaendonck M.A. et al. Immunity against poliomyelitis in the Netherlands, assessed in 2006 to 2007: the importance of completing a vaccination series. *EURO Surveill.* 2014; 19 (7). Available at: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20705>
11. WHO. *Polio Eradication and Endgame Strategic Plan 2013–2018*. Available at: http://www.polioeradication.org/Portals/0/Document/ Resources/StrategyWork/PEESP_EN_A4.pdf.
12. World Health Organization (WHO). *Manual for the virological investigation of polio*. WHO/EPI/GEN/97.1.1. Geneva: WHO; 1997. Available at: http://whqlibdoc.who.int/hq/1997/WHO_EPI_GEN_97.01.pdf
13. Dragunsky E., Ivanov A., Wells V., Ivshina A.V., Rezapkin G.V., Abe S. et al. Evaluation of immunogenicity and protective properties of inactivated poliovirus vaccine: a new surrogate method for predicting vaccine efficacy. *J. Infect. Dis.* 2004; 190 (8): 1404–12.
14. Ivanov A.P., Tkachenko E.A., Petrov V.I., Pashkov A.J., Dzagurova T.K., Vladimirova T.P. et al. Enzyme immunoassay for the detection of virus specific IgG and IgM antibody in patients with HFRS. *Arch. Virol.* 1988; 100 (1–2): 1–7.
15. Seybil' V.B., Malyskchina L.P., Khishtonova S.N., Lesnikova M.V., Baryshnikova A.S., Konopleva T.N. et al. State of collective immunity against poliomyelitis in some regions of Russia. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2013; 2: 56–64. (in Russian)
16. Seybil' V.B., Malyskchina L.P., Tamazyan G.V., Konopleva T.N., Uspenskaya E.S. Herd immunity against poliomyelitis in children in the Moscow Region. *Itoprosy Virusologii*. 2009; 6: 13–8. (in Russian)
17. Dzhabirov Sh.S. *The Problem of Elimination of Infections Under Conditions of Socio-economic and Military-political Instability (for example, the Republic of Tajikistan)*: Diss. Moscow; 2005. (in Russian)
18. Fifteenth meeting of the European Regional Commission for the Certification of Poliomyelitis Eradication. Copenhagen, June 19–21, 2002. Copenhagen: WHO; 2005.
19. CDC. Outbreaks following wild poliovirus importations – Europe, Africa, and Asia, January 2009 – September 2010. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2010; 59 (43): 1393–9.
20. Onishchenko G., Ezhlova E., Gerasimova A., Tsvirkun O., Shulga S., Lipskaya G. et al. Progress toward measles elimination in the Russian Federation, 2003–2009. *J. Infect. Dis.* 2011; 204 (Suppl. 1): S366–72.

Поступила 30.05.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015
УДК 615.32.03:616.98:578.825.111.036.8.079.6

Алимбарова Л.М.¹, Лазаренко А.А.¹, Баринский И.Ф.¹, Дижса В.И.²

Изучение противовирусной активности НРМ-7.0 – экстракта мицелия высшего гриба *Fusarium sambucinum* на модели экспериментальной герпесвирусной инфекции

¹ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва; ² ЗАО «ДижсаФарм», 129515, г. Москва

Изучена противовирусная активность НРМ-7.0 – экстракта монокультуры высшего гриба *Fusarium sambucinum* на модели экспериментальной герпесвирусной инфекции (ГИ). Установлено, что при системном применении у животных НРМ-7.0 оказывает выраженное терапевтическое воздействие на течение экспериментальной ГИ, способствуя быстрому регрессу элементов и экссудативно-воспалительных явлений, достоверному сокращению средней продолжительности заболевания, предотвращению генерализации процесса. Наиболее значимые результаты получены при использовании НРМ-7.0 по профилактической и лечебно-профилактической схемам применения. По эффективности применения НРМ-7.0 был сопоставим с таковой препарата контроля Ридостин. Полученные результаты позволяют считать НРМ-7.0 перспективной основой для создания противовирусных препаратов и использования в терапии ГИ.

Ключевые слова: *Fusarium sambucinum*; вирус простого герпеса; герпесвирусная инфекция; лечение.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60 (5): 21–26.

Для корреспонденции: Алимбарова Людмила Михайловна, канд. мед. наук, доцент, вед. науч. сотр.; e-mail: virology@mail.ru

A study of the antiviral activity of the HPM-7.0, extract of mycelium of the higher fungi *Fusarium sambucinum*, on the model experimental herpes viral infection

¹Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia; ²DizhaFarm, Ltd., Moscow, Russia

Antiviral activity in the HPM-7.0, extract of a monoculture of the fungus *Fusarium sambucinum*, was studied on the herpesvirus infection model. It was found that in case of systematic use in animals HPM-7.0 has a strong therapeutic effect on the course of experimental herpesvirus infection, contributing to the rapid regression of elements and exudative inflammation. It also reliably reduces the average duration of the disease and prevents generalization of the process. The most significant results were obtained using the HPM-7.0 in preventive and curative-preventive modes. The efficiency of the HPM-7.0 was comparable to that of the drug Ridostin. The results obtained in this work suggest the HPM-7.0 as a promising agent to be used in antiviral drugs intended for treatment of the herpesvirus infection.

Key words: *Fusarium sambucinum*; herpes simplex virus; herpesvirus infection; treatment.

Received 22.01.15

For correspondence: Ludmila Alimbarova, MD, PhD, associate professor, leading researcher associate; e-mail: virology@mail.ru
Citation: Voprosy virusologii. 2015; 60(5): 21–26. (In Russ.)

Введение

Поиск и использование биологически активных соединений, обладающих лечебными свойствами, из природных источников, в том числе из высших грибов, является одним из актуальных направлений создания современных препаратов в медицине. Преимуществом данных препаратов является то, что входящие в их состав биологически активные вещества (БАВ) (полисахариды, органические кислоты, липиды, стероидные вещества, тетрациклические тритерпены, эргостеролы, нуклеозиды, антибиотики) более естественно включаются в обменные процессы человека, чем синтетические вещества, повышая эффективность терапии [1, 2]. Лекарственные средства, приготовленные из грибов, широко используются в традиционной медицине в лечении ряда соматических, онкологических и инфекционных заболеваний. Установлена противовирусная активность экстракта гриба *Trametes versicolor* в отношении ВИЧ и цитомегаловируса, экстракта гриба *Lentinula edodes* в отношении вируса везикулярного стоматита, аденовируса 12-го типа, вируса гриппа А, ВИЧ, экстракта гриба *Inonotus obliquus* в отношении вируса гепатита С и вируса гриппа А [1]. В последние годы внимание ученых привлекли внимание грибы *Fusarium sambucinum*, являющиеся источниками БАВ, а также белка пищевого и кормового назначения [3–6]. Сбалансированный состав грибов *F. sambucinum* стал основанием для изучения их терапевтических свойств. Цель настоящего исследования – изучить противовирусную активность НРМ-7.0, разработанного на основе мицелия монокультуры гриба *F. sambucinum*, на модели экспериментальной герпесвирусной инфекции (ГИ).

Материалы и методы

Вирус. В работе использовали вирус простого герпеса (ВПГ) 2-го антигенного типа, штамм ВН, полученный из Государственной коллекции вирусов РФ ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» в виде вирусосодержащей взвеси с инфекционным титром $5,5 \pm 0,2 \lg \text{ТЦИД}_{50}/\text{мл}$. Вирус поддерживали в серийных пассажах и титровали на перевиваемой культуре клеток почек зеленых мартышек (VERO) в среде Игла, содержащей 2% сыворотки эмбрионов телят («Gibco», США), глутамин и антибиотики. Титр вируса рассчитывали по методу Рида и Менча [7].

Животные. Для моделирования экспериментальной формы ГИ использовали самцов морских свинок массой 250–300 г, полученных из питомника «Столбовая» РАМН и содержащихся в стандартных условиях вивария на стандартном рационе в соответствии с правилами содержания и использования лабораторных животных.

Препараты. НРМ-7.0 – композиция, разработанная на основе мицелия монокультуры гриба *Fusarium sambucinum* Fuckel var. *ossiculum* (Berk et Curt) bilai ВСБ-917 (ВКПМ F-165), полученного способом глубокого культивирования, позволяющим получить чистое сырье (субстанцию с заданными свойствами) в более короткие сроки. Штамм *F. sambucinum* ВСБ-917 (ВКПМ F-165) является продуцентом комплекса БАВ профилактического и лечебного назначения в биомассе и культуральной жидкости, не патогенен и не токсичен. НРМ-7.0 представляет собой концентрат низкомолекулярного пептидного соединения и дефрагментированных ДНК диаметром от 1 до 50 нм и имеет следующий состав: общий белок – 55–57%, минеральные элементы – 24–26%, витамины (группы В, фолиевая и никотиновая кислоты) – 0,8–0,86%, липиды – 4,2–7,6%, полисахариды – 14,6% и т. д. [5]. В состав НРМ-7.0 входят 22 аминокислоты, в том числе незаменимые (триптофан, лизин, метионин), ненасыщенные жирные кислоты, 50% которых приходится на долю линоленовой кислоты, коэнзимы Q₆, Q₉, Q₁₀, углеводы (представленные гликанами, лентинаном, органическими кислотами (яблочной, лимонной, янтарной)). Токсикологические исследования НРМ-7.0, проведенные в лаборатории лекарственной токсикологии Института экспериментальной кардиологии РКПНК МЗ РФ, показали, что состав НРМ-7.0 является нетоксичным, не влияет на гематологические показатели и функциональное состояние основных органов и систем организма подопытных животных.

Для получения жидкой формы НРМ-7.0 грибной мицелий трехкратно замораживали (–40°C) и оттаивали, гомогенизировали, обрабатывали ультразвуком и центрифугировали 15 мин при 8000–12 000 об/мин для освобождения от хитиновой оболочки мицелия. Полученный супернатант отсасывали, фильтровали через фильтр с размером пор 0,22 мкм («Millipore»), проверяли на стерильность и использовали в экспериментах.

В качестве препарата сравнения применяли Ридостин (рибонуклеат натрия) – смесь натриевых солей двуспиральной и одноцепочечной РНК в виде лиофилизированного порошка для приготовления инъекционного раствора производства ЗАО «Вектор-Медика», Россия.

Оценку противовирусной эффективности НРМ-7.0 осуществляли в соответствии с официальными требованиями к доклиническим испытаниям [8]. Активность НРМ-7.0 в отношении ВПГ изучали на самцах морских свинок, которых заражали культуральной, вирусосодержащей жидкостью (ВПГ-2, ВН) по стандартной методике [8, 9]. Вирусосодержащую жидкость (в дозе 100 ТЦД₅₀) наносили с помощью пипетки (с последующим

втиранием) на предварительно скарифицированную кожу пениса. Скарифицирование проводили с помощью хирургического ланцета после анестезирования животных лидокаином. Размер площади скарификации составлял 4–7 мм². С учетом цели эксперимента все животные были разделены на 5 опытных и 3 контрольные группы по 5 особей в каждой. Группа 1 (контрольная) содержала инфицированных ВПГ-2 животных, получавших интраперитонеально плацебо (физиологический фосфатный буфер). В группу 2 вошли животные, инфицированные ВПГ-2 и получавшие НРМ-7.0 интраперитонеально по профилактической схеме за 3 сут до инфицирования, ежедневно в дозе 10 мг/мл на 1 животное 2 раза в сутки в 1-й день и 3 раза в сутки в последующие дни. Группа 3 содержала инфицированных животных, получавших НРМ-7.0 интраперитонеально по лечебной схеме через 3 ч после инфицирования и далее ежедневно в течение 7 сут в дозе 50 мг/мл на 1 животное 3 раза в сутки. В группу 4 вошли инфицированные животные, получавшие НРМ-7.0 интраперитонеально по лечебной схеме через 48 ч после инфицирования и далее ежедневно в течение 7 дней в дозе 50 мг/мл на 1 животное 3 раза в сутки. В группу 5 включили животных, инфицированных ВПГ-2 и получавших НРМ-7.0 интраперитонеально по лечебно-профилактической схеме за 3 сут до инфицирования и через 3 ч после инфицирования ежедневно в течение 7 дней. Группа 6 содержала животных, инфицированных ВПГ-2 и получавших НРМ-7.0 интраперитонеально по лечебно-профилактической схеме за 3 сут до инфицирования и через 48 ч после инфицирования ежедневно в течение 7 дней в дозах, указанных выше. Для изучения побочного действия НРМ-7.0 5 свинок были выделены в отдельную группу (отрицательный контроль). Животных этой группы содержали в тех же условиях, что и подопытных животных и инфицированию не подвергали.

Референс-препарат Ридостин вводили в соответствии с инструкцией по его медицинскому применению с учетом равноэквивалентности доз для человека: по профилактической схеме (за 3 сут до инфицирования ежедневно однократно внутримышечно в дозе 200 мкг на 1 животное 1 раз в сутки (группа 7)); по лечебно-профилактической схеме (за 3 сут до инфицирования внутримышечно ежедневно однократно и через 24 и 72 ч после инфицирования в дозе 200 мкг на 1 животное (группа 8)).

Наблюдение за животными осуществляли в течение 21 дня. Тяжесть инфекционного процесса оценивали ежедневно перед проведением лечения и прослеживали в течение всего периода болезни по следующим параметрам: площадь и степень специфических поражений (везикулы, пустулы, изъязвления, корочки), наличие отека, гиперемии, орхита. Максимальная выраженность каждого признака составляла 4 балла. Основными критериями оценки эффективности препаратов *in vivo* были интенсивность клинических проявлений, средняя продолжительность заболевания (СПЗ), индекс лечебного действия (ИЛД), уровень накопления вируса в смывах в разные сроки после инфицирования (Δ , Ig).

$ИЛД (в \%) = \frac{\text{сумма баллов} - \text{сумма баллов в группе животных, в контроле}}{\text{сумма баллов в контроле}} \cdot 100$.

Вирусологические исследования. Выделение и титрование вируса из биоматериала животных (содержимого везикул, корочек, смывов со слизистой оболочки уrogenитального тракта), взятого в разные сроки после инфицирования, проводили *in vitro* на культуре клеток VERO с использованием стандартных вирусологических методов исследования [8]. Клетки, выращенные на 96-луночных панелях на среде Игла, заражали серийными 10-кратными разведениями биоматериала от 10⁻¹ до 10⁻⁶, приготовленными на стерильном физиологическом фосфатном буфе-

ре, и инкубировали в термостате в течение 96 ч. По окончании срока инкубации оценивали инфекционную активность биоматериала по стандартной методике (по Риду и Менчу) и выражали в Ig ТЦД₅₀/мл [7].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием прикладных программ математико-статистического анализа Microsoft Office-Excel 7.0, Statistica 6.0. Полученные результаты после проверки соответствия данных нормальному распределению обрабатывали с использованием параметрических и непараметрических методов вариационной статистики с заданным уровнем значимости $\alpha = 0,05$ и достоверностью $p = 95\%$ [10].

Результаты

Клинические признаки генитального герпеса (ГГ). ГИ, вызываемая ВПГ, является одной из распространенных инфекций человека, заболеваемость которой неуклонно растет во всех странах мира [11]. Одной из приоритетных моделей изучения ГИ является модель ГГ, воспроизводимая на морских свинках [8]. В ходе опыта по определению эффективности применения НРМ-7.0 у морских свинок установлено, что клинические признаки были типичными для ГИ гениталий и развивались через 24–48 ч после инфицирования. Вначале на слизистой оболочке полового члена и прилежащих участках кожи появлялись единичные везикулезные высыпания на эритематозном фоне, затем при прогрессировании заболевания число везикул увеличивалось, возникали сливные очаги с геморрагическим содержимым, кровоточащие эрозии, изъязвления, умеренно выраженный орхит. В последующие дни эрозии и язвы эпителизировались либо под коркой, либо без ее образования. Максимальное развитие симптоматики отмечали на 5-е сутки после инфицирования. У 2 инфицированных животных, получавших плацебо (группа 1), с 6-го дня после инфицирования отмечали симптомы генерализации ГИ (повышение температуры тела, вялость, адинамичность, нарушение функции тазовых органов, паралич задних конечностей), подтвержденные вирусологическими методами. На 10-е сутки после инфицирования при нарастающих явлениях менингоэнцефалита зафиксировали гибель 1 особи. У другой особи к 18-м суткам после инфицирования наблюдали снижение показателей клинических проявлений заболевания, выражающееся в заживлении эрозий, эпителизации слизистой оболочки, восстановлении функции тазовых органов, при частичном сохранении парезов. Суммарный индекс выраженности симптоматики (СИБС) в контрольной группе составил 66 баллов, СПЗ – 16,4±2,1 сут.

Иная картина заболевания наблюдалась у инфицированных животных на фоне терапии с использованием НРМ-7.0. Результаты изучения эффективности НРМ-7.0 в отношении экспериментального ГГ с использованием НРМ-7.0 представлены в таблице.

Данные, представленные в таблице, свидетельствуют о том, что использование НРМ-7.0 по лечебной, профилактической, лечебно-профилактической схемам оказывало на течение ГГ у самцов морских свинок положительное воздействие разной степени выраженности. Наиболее значимые результаты лечения получены в группе инфицированных животных на фоне использования НРМ-7.0 по профилактической схеме – за 3 сут до инфицирования (группа 2) (см. таблицу; рисунок).

Применение НРМ-7.0 приводило к статистически достоверному терапевтическому эффекту (ИЛД составил 42,4%), снижению почти в 2 раза выраженности симптоматики, сокращению СПЗ в среднем на 7,1 сут по сравнению с аналогичными показателями у инфицированных животных, получавших плацебо, предотвращало развитие генерализованной инфекции. Инфекционный процесс отличало мягкое течение, отсутствие выраженных

Эффективность НРМ-7.0 на модели ГГ у морских свинок

№ группы	Группа животных	СПЗ, сут, $M \pm m$	СИВС, баллы, $M \pm m$	ИЛД, %
1	Контроль (плацебо)	16,4±2,1	66,0±4,5	
2	НРМ-7.0 -72, -48, -24 ч	9,25±0,6*	38,0±2,0*	42,4*
3	НРМ-7.0 +3, +24, +48, +72, +96, +120, +144 ч	11,0±1,8*	44,0±2,0*	33,0*
4	НРМ-7.0 +48, +72, +96, +120, +144, +168, +192 ч	12,0±1,4*	51,0±3,0*	22,7*
5	НРМ-7.0 -72, -48, -24, +3, +24, +48, +72, +96, +120, +144 ч	10,5±1,5*	43,5±2,5*	34,0*
6	НРМ-7.0 -72, -48, -24, +48, +72, +96, +120, +144, +168, +192 ч	11,4±1,2*	42,0±2,0*	36,0*
7	Ридостин -72, -48, -24 ч	10,75±1,7*	45,0±1,5*	31,8*
8	Ридостин -72, -48, -24, +24, +72 ч	12,66±1,4*	49,0±2,5*	25,7*

Примечание. * – статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой (плацебо) ($p < 0,05$).

экссудативно-воспалительных явлений, малочисленность высыпаний, сокращение сроков разрешения элементов, отсутствие орхита. Необходимо отметить, что по эффективности применения НРМ-7.0 был сопоставим с референс-препаратом Ридостин (ИЛД равен 31,8%). Доказательством противовирусной активности НРМ-7.0 являются результаты, полученные в опытах по титрованию образцов биоматериала на 24-часовом монослое линии клеток VERO. Так, титры вируса, изолированного у животных, леченных НРМ-7.0, были в 50 раз ниже титров вируса, изолированного у животных контрольной группы, и составили на 5-е сутки после инфицирования $3,5 \pm 0,1$ и $5,25 \pm 0,25 \lg \text{TЦД}_{50}/\text{мл}$, на 7-е сутки – $1,5 \pm 0,1$ и $3,25 \pm 0,15 \lg \text{TЦД}_{50}/\text{мл}$ соответственно.

При использовании НРМ-7.0 по лечебной схеме наибольший терапевтический эффект (ИЛД 33,0%) был достигнут в группе инфицированных животных, обработанных препаратом в ранние сроки после инфицирования (группа 3). Следует отметить, что как и при назначении по профилактической схеме, НРМ-7.0 приводил к уменьшению выраженности экссудативно-воспалительных явлений и оказывал достоверное влияние на сроки и стадию появления элементов. Применение НРМ-7.0 как в ранние сроки после инфицирования (группа 3), так и на фоне выраженных проявлений инфекционного процесса (группа 4) приводило к статистически достоверному сокращению СПЗ в среднем на 4,9 сут по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе. Признаки генерализованной инфекции были отмечены у 1 особи из групп 3 и 4 на 8-е сутки после заражения, однако гибель при нарастающих явлениях менингоэнцефалита была отмечена только в группе 4 на 12-е сутки после заражения (на 2 сут позже, чем в контроле).

У животных, получавших НРМ-7.0 по лечебно-профилактической схеме, в том числе через 3 ч после инфицирования (группа 5) или в более поздние сроки (48 ч после инфицирования в группе 6), были выявлены сходные показатели СИВС, СПЗ, ИЛД. Генерализованной инфекции, как и гибели животных, в данных группах отмечено не было, в то время как в контрольной группе и на фоне применения Ридостина наблюдалась генерализация процесса, приведшая к гибели 1 животного.

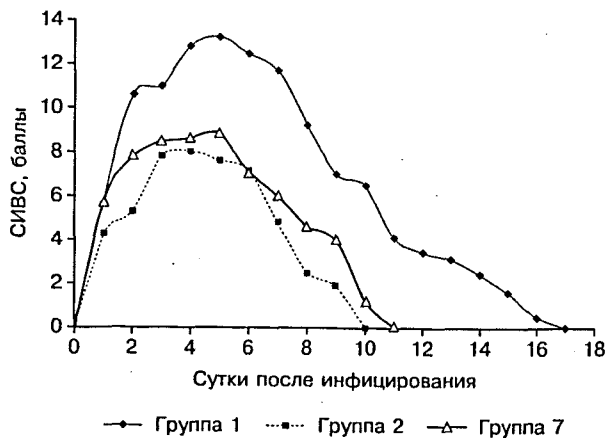
Изучение влияния НРМ-7.0 на уровень выделения ВПГ 2-го типа у самцов морских свинок. У инфицированных животных на фоне лечения НРМ-7.0 и препаратом Ридостин выделение вируса из очагов поражения отмечалось до 7-го дня после инфицирования, в то время как у животных, получавших плацебо, выделение вируса происходило до 9-го дня включительно. Титры вируса из смывов у животных, получавших плацебо, составили на 5-е сутки после инфицирования $5,25 \pm 0,25 \lg \text{TЦД}_{50}/\text{мл}$, у животных, леченных НРМ-7.0, – $3,5 \pm 0,1 \lg \text{TЦД}_{50}/\text{мл}$, у животных, леченных ридостином, – $3,0 \pm 0,1 \lg \text{TЦД}_{50}/\text{мл}$ ($p < 0,05$). Титры вируса под влиянием НРМ-7.0 были достоверно ниже в 50 раз по сравнению с титрами вируса у животных в контрольной группе. Достоверная разница в титрах вируса, выделенного у животных на фоне лечения НРМ-7.0 и препаратом Ридостин, отсутствовала ($p > 0,05$).

При изучении общей переносимости НРМ-7.0 у неинфицированных животных, получавших препарат интра-

перитонеально, видимых побочных реакций (изменений в массе тела, состоянии их шерстного покрова и слизистых оболочек, поведенческих реакциях) в течение всего периода наблюдения зарегистрировано не было.

Обсуждение

Поиск и изучение новых методов лечения ГИ является актуальной задачей [11]. В настоящее время в качестве потенциальных препаратов с противовирусной активностью рассматриваются средства на основе экстрактов, полученных из различных грибов (высших и низших мицелиальных грибов), что связано с их уникальным составом и способностью синтезировать БАВ [1, 2, 12, 13]. Микромицеты используются в различных отраслях народного хозяйства – в медицине, сельском хозяйстве, биотехнологии (для получения белков, липидов, пищевых волокон, антибиотиков, ферментов, витаминов). Среди грибов наибольший интерес вызывают высшие мицелиальные грибы *F. sambucinum*, особенно их непатогенные штаммы, обладающие выраженными полифункциональными свойствами, в том числе антибактериальной, детоксикационной, антиоксидантной,



Динамика течения ГГ у самцов морских свинок на фоне использования НРМ-7.0 – экстракта биомассы мицелия гриба *F. sambucinum* по профилактической схеме.

Группа 1 – плацебо; группа 2 – введение НРМ-7.0 по профилактической схеме (-72, -48, -24 ч); группа 7 – введение референс-препарата Ридостин по профилактической схеме (-72, -48, -24 ч).

адаптогенной, иммуностимулирующей активностью, противовоспалительными и ранозаживляющими свойствами, способностью стимулировать выработку эндогенного гамма- и альфа-интерферона, корригировать местный иммунитет [6]. Указанные свойства обусловлены составом входящих в *F. sambucinum* БАВ: протеина, липидов, углеводов, нуклеиновых кислот, аминокислот, минеральных элементов, витаминов [18].

В последние годы грибы *F. sambucinum* благодаря своему составу и выраженным лечебно-профилактическим, биопротекторным и пребиотическим свойствам широко используются в качестве биологически активных препаратов – нутрицевтиков, пребиотиков – в медицине для лечения и профилактики различных заболеваний, в косметике для оздоровления и омоложения кожных покровов [3].

Известно несколько непатогенных штаммов гриба *F. sambucinum* – продуцентов БАВ, депонированных во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ): штаммы ВКМ N F 3051 D и МКФ 2001-3 (ВКПМ № F-867) – продуценты простагландинов, ВКМ 139 – продуцент убихинона Q₁₀; МКФ 2001-3 (ВКПМ № F-867), ВКПМ F 3051 D – продуценты широкого спектра БАВ в биомассе и культуральной жидкости; ВСБ-917 (ВКПМ № F-169) – продуцент белка пищевого и кормового назначения и БАВ, на основе которого получен препарат «Милайф», влияющий на тканевый обмен [4]. Однако данный штамм характеризуется низким уровнем синтеза углеводов, в том числе высокомолекулярных полисахаридов – гликанов, проявляющих биологическую активность. Штамм *Fusarium sambucinum* var. *ossicolum* (Berk et Curt) bilai PS-64 (ВКПМ № F-165) используется в качестве продуцента белка пищевого и кормового назначения и БАВ, характеризуется более высоким уровнем синтеза углеводов до 23%. На основе штамма создана биологически активная добавка (БАД) к пище «Микро-ВИТ». Недостатком штамма PS-64 (ВКПМ № F-165) является низкая скорость роста и ограниченный спектр продуцируемых физиологически активных веществ. Известны препараты Флоравит (водный и масляный растворы) [5], Таис славянская, разработанные на основе *F. sambucinum* Fuckel var. *ossicolum* штамм ВСБ-917, которые нашли широкое применение в гастроэнтерологии (для лечения вирусных гепатитов В и С, заболеваний ЖКТ), в гинекологии (для нормализации репродуктивной функции), косметологии (для лечения различных заболеваний кожи и слизистых оболочек), реабилитации больных после инфекционных (в том числе ГИ) и неинфекционных заболеваний (расширяют диапазон адаптации организма к неблагоприятным условиям, стрессовым ситуациям) ветеринарии, сельском хозяйстве (при разработке фунгицидов) [5, 14–17].

Нами проведено исследование препарата НРМ-7.0, полученного из мицелия гриба *Fusarium sambucinum* Fuckel var. *ossicolum* (Berk et Curt) bilai ВСБ-917 (ВКПМ № F-165). Препарат характеризуется высоким содержанием аминокислот, в том числе незаменимых (триптофан, лизин, метионин), ненасыщенных аминокислот (50% линоленовой кислоты), витаминов группы В (фолиевая и никотиновая кислоты), микро- и макроэлементов (представленных цинком, медью, кобальтом, молибденом, марганцем, фосфором, кальцием, калием, железом), убихинонов, гликанов, органических кислот (яблочная, лимонная, янтарная), низкомолекулярных олигопептидных соединений, щелочных пептидов, необходимых для жизнедеятельности организма [6]. В составе углеводов мицелия представлены активные полисахариды – гликаны (глюканы и галактотрипептиды), регулирующие работу иммунной системы [18]. Следует отметить, что штамм ВСБ-917 является не только продуцентом БАВ, но и лишен недостатков, характерных для некоторых мицелиальных грибов (в том числе способ-

ности в определенных условиях культивирования продуцировать микотоксины), что позволяет рассматривать его в качестве основы для получения препаратов с противовирусной активностью.

Ранее была установлена специфическая активность НРМ-7.0 в отношении вируса кори (штамм Эдмонстон) *in vitro*: препарат оказывает прямое вирулицидное действие, при этом наблюдается нарушение синтеза вирусспецифических структур, в частности нуклеокапсидов, и процесса формирования вирионов, что в свою очередь приводит к продукции дефектной низкоинфекционной вирусной популяции, обеспечивающей развитие иммунитета [19]. Также была установлена активность в отношении вируса гриппа A/Aichi 1/68 (H3N2) (препарат приводит к полному исчезновению пепломеров из оболочки вируса и частичному нарушению структуры рибонуклеопротеидного комплекса) и вируса гепатита С *in vitro* [20]. В результате проведенного нами исследования была установлена противовирусная активность НРМ-7.0 в отношении ВПГ 2-го типа. Показано, что НРМ-7.0 в широком диапазоне доз и схем применения обладает протективной активностью на модели ГТ, снижая выраженность клинических проявлений заболевания, а также СПЗ по сравнению с таковой в группе плацебо. При этом терапевтический эффект сопровождается достоверным снижением инфекционной активности ВПГ, выделенного у животных, получавших НРМ-7.0, по сравнению с таковой у животных, получавших плацебо. Это проявлялось тем, что инфекционный процесс отличало мягкое течение, отсутствие выраженных экссудативно-воспалительных явлений, малочисленность высыпаний, сокращение сроков разрешения элементов, отсутствие орхита. Наиболее значимые результаты получены при использовании НРМ-7.0 по профилактической и лечебно-профилактической схемам. Выявленный эффект НРМ-7, возможно, обусловлен синергическим взаимодействием входящих в его состав БАВ (пептидных биорегуляторов, полисахаридов, витаминов, антиоксидантов, ферментов, микроэлементов), полученных в результате глубинного культивирования гриба *F. sambucinum*, а также их способностью повышать бактерицидную и лизоцимную активность крови, активировать эритропоз, повышая неспецифическую резистентность организма, что было показано в работах [21, 22], активировать пролиферацию лимфоцитов периферической крови, продукцию интерлейкинов (ИЛ-2), а также оказывать дифференцирующее действие на Т-клетки, приводящее к увеличению общего числа CD3⁺-клеток, CD4⁺ и CD8⁺-лимфоцитов, не вызывающему нарушение баланса CD4⁺/CD8⁺ [19, 23].

Представленные в данном исследовании результаты свидетельствуют о возможности применения препаратов на основе *F. sambucinum* в качестве лекарственных средств в комплексной терапии ГИ (для профилактики и лечения рецидивов инфекции).

Выводы

1. НРМ-7.0 – экстракт монокультуры высшего гриба *F. sambucinum* при системном использовании на модели экспериментальной ГИ у самцов морских свинок в широком диапазоне доз и схем применения оказывает выраженное терапевтическое воздействие на течение заболевания, способствуя быстрому регрессу элементов и экссудативно-воспалительных явлений, достоверному сокращению СПЗ, снижению инфекционной активности вируса у животных.

2. Наиболее значимые результаты получены при использовании НРМ-7.0 по профилактической и лечебно-профилактической схемам.

3. Системное применение НРМ-7.0 не сопровождается развитием побочных реакций у морских свинок.

ЛИТЕРАТУРА (ил. 1, 7, 11, 17 см. REFERENCES)

2. Филиппова И.А., Фунтик Т.В. Фунготерапия – естественная медицина будущего. *Успехи медицинской микологии*. 2005; 5: 279–81.
3. Неминущая Л.А., Воробьева Г.И., Токарик Э.Ф., Еремед В.И., Самуйленко А.Я. Возможность получения пребиотиков из биомассы дрожжей-сахаромицетов и гриба *Fusarium sambucinum* шт. MKF-2001-3. В кн.: *Материалы международной научно-практической конференции посвященной 35-летию ВНИИТБП «Научные основы производства ветеринарных биологических препаратов»*. Щелково; 2005: 511–6.
4. Морозова Г.Р., Морозов А.Л. *Препарат, влияющий на тканевой обмен, и применение штамма гриба *Fusarium sambucinum* Fuckel var. *Ossicolium* (Berk. et. Curf) Bilai для его получения. Патент РФ № 93057876; 1993.*
5. Григораш А.И., Зайкина М.Ю., Погорельская Л.В., Бредихина Н.А., Трифонов А.В. БАД «Флоравит-Э» на основе экстрактов гриба *Fusarium sambucinum* – эффективный иммуномодулятор и адаптоген. *Успехи медицинской микологии*. 2006; 7: 346.
6. Диж В.И., Диж Е.Н. *Средство, обладающее системным действием, его применение, фармкомпозиции, способы лечения и профилактики. Патент РФ № 2366697; 2007.*
8. Миронов А.Н., Бунатян Н.Д., Васильев А.Н., Верстакова О.Л., Журалева М.В., Лепакхин В.К. и др. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. М.: Гриф и К; 2012.
9. Маренникова С.С., Матевич Г.Р., Чекунова Э.В. и др. Разработка и практическое использование новых экспериментальных моделей разных форм герпетической инфекции. *Вопросы вирусологии*. 1986; 1: 59–65.
10. Гланс С. *Медико-биологическая статистика*. М.: Практика; 1999.
12. Огарков Б.Н., Огаркова Г.Р., Самусенок Л.В. Пути создания некоторых лекарственных препаратов из микро- и макромицетов. *Успехи медицинской микологии*. 2005; 5: 206–10.
13. Григораш А.И., Соловьев Б.В., Погорельская Л.В., Кудрявцев А.Е., Михайлова Н.А. Антигены и биорегуляторы – перспективные инструменты борьбы с инфекционными болезнями. *Материалы IV Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. Инфекционные болезни*. 2012; 10, прил. 1: 107.
14. Турьянов М.Х., Погорельская Л.В., Бредихина Н.А. и др. *Биологически активная добавка «Флоравит Э» в гастроэнтерологии. Методические рекомендации для врачей*. М.: Российская медицинская академия последипломного образования; 2005.
15. Брагинцева Л.М., Григораш А.И., Коваленко В.А., Макланов А.И., Устынюк Т.К. *Биологически активная добавка к пище и способ ее получения. Патент РФ № 2177699 C1; 2002.*
16. Лоеню Н.Н., Чернова И.Е., Пучков А.В. Применение экстракта биомассы гриба *Fusarium sambucinum* в рационах соболей. *Кролиководство и звероводство*. 2010; 6: 6–8.
18. Кашкина М.А., Елинов Н.П. Иммуномодулирующая активность полисахаридов из грибов. *Микология и фитопатология*. 1985; 19 (4): 345–56.
19. Тихонова Н.Т., Лоте В.Д., Мамаева Т.А., Наумова М.А., Диж В.И. О вирулицидной активности иммунокорректирующего препарата природного происхождения Миллиф. *Клиническая фармакология и терапия*. 1999; 8 (4): 41–5.
20. Диж В.И. Миллиф (MILIFE) – препарат с выраженным антивирусным и иммуностимулирующим эффектами. *Медицинская картотека*. 2006; 1: 42–4.
21. Супрун С.М., Донченко Г.В., Пархоменко Ю.М., Харкевич Е.С. и др. Витаминно-протеиновый продукт на основе селекционированных штаммов грибов: характеристика и применение. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2013; 13: 258–61.
22. Богданов В.В., Фаткулина Э.Ф., Березин Б.Б., Ильина А.П., Ямскова В.П., Ямсков И.А. Пептидосодержащая фракция из культуральной среды *Fusarium sambucinum*: состав и биологическое действие. *Прикладная биохимия и микробиология*. 2014; 2: 177–83.
23. Свирищевская Е.В., Вискова Н.Ю., Сапожников А.М., Диж В.И., Кучерова И.В. Изучение иммуномоделирующих свойств экстракта мицелия высшего гриба *Fusarium sambucinum*. *Иммунология*. 1995; 11–12: 45–51.
2. Filippova I.A., Funtik T.V. Fungoterapiya – natural medicine of the future. *Uspekhi meditsinskoj mikologii*. 2005; 5: 279–81. (in Russian)
3. Neminsuchaya L.A., Vorob'eva G.I., Tokarik E.F., Eremets V.I., Samuylenko A.Ya. The possibility of prebiotics from biomass yeast *Saccharomyces* and fungus *Fusarium sambucinum* piece MKF-2001-3. In: *Proceedings of the International Scientific-practical Conference Dedicated to the 35th Anniversary of VNIITBP "Scientific Basis for the Production of Veterinary Biologicals Preparations."* [Materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii posvyashchennoy 35-letiyu VNIITBP "Nauchnye osnovy proizvodstva veterinarnykh biologicheskikh preparatov"] J. Shchelkovo; 2005: 511–6. (in Russian)
4. Morozova G.R., Morozov A.L. *Agents Acting on the Tissue Metabolism and the Use of a Strain of the Fungus *Fusarium Sambucinum* Fuckel var. *Ossicolium* (Berk. Et. Curf) Bilai to Obtain it. Patent RF N 93057876; 1993.* (in Russian)
5. Grigorash A.I., Zaykina M.Y., Pogorelskaya L.V., Bredikhina N.A., Trifonov A.V. BAA "Floravit-E" on the basis of extracts of the fungus *Fusarium sambucinum* – effective immunomodulator and adaptogen. *Uspekhi meditsinskoj mikologii*. 2006; 7: 346. (in Russian)
6. Dizha E.N., Dizha V.I. *Agent having systemic action, its application, farmkompozitsii, methods of treatment and prevention. Patent RF N 2366697; 2007.* (in Russian)
7. Reed L.J., Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Am. J. Hyg.* 1938; 27: 493–7.
8. Mironov A.N., Bunatyan N.D., Vasil'ev A.N., Verstakova O.L., Zhuravleva M.V., Lepakhin V.K. et al. *Guidelines for Preclinical Studies of Drugs [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv]*. Moscow: Grif i K; 2012. (in Russian)
9. Marennikova S.S., Matsevich G.R., Chekunova E.V. et al. Development and practical use of new experimental models of different forms of herpes infection. *Voprosy virusologii*. 1986; 1: 59–65. (in Russian)
10. Glants S. *Biomedical Statistics. [Mediko-biologicheskaya statistika]*. Moscow: Praktika; 1999. (in Russian)
11. Bradley H., Markowitz L.E., Gibson T., McQuillan G.M. Seroprevalence of herpes simplex types 1 and 2—United States, 1999–2010. *J. Infect. Dis.* 2014; 209 (3): 325–33.
12. Ogarkov B.N., Ogarkova G.R., Samusenok L.V. Towards the creation of some drugs of micro- and macromycetes. *Uspekhi meditsinskoj mikologii*. 2005; 5: 206–10. (in Russian)
13. Grigorash A.I., Solov'ev B.V., Pogorel'skaya L.V., Kudryavtsev A.E., Mikhaylova N.A. Antigens and Regulators – promising tools to fight infectious diseases. *Materials IV Annual All-Russian Congress on Infectious Diseases. Infektsionnye bolezni*. 2012; 10 Suppl. 1: 107. (in Russian)
14. Tur'yanov M.Kh., Pogorel'skaya L.V., Bredikhina N.A. et al. *Dietary Supplement "Floravit E" in Gastroenterology. Guidelines for Physicians [Biologicheski aktivnaya dobavka "Floravit E" v gastroenterologii. Metodicheskie rekomendatsii dlya vrachej]*. Moscow: Rossiyskaya meditsinskaya akademiya posleddiplomnogo obrazovaniya; 2005. (in Russian)
15. Bragintseva L.M., Grigorash A.I., Kovalenko V.A., Maklanov A.I., Ustynyuk T.K. *Biologically Active Food Supplement and its Method of Preparation. Patent RF N2177699 C1; 2002.* (in Russian)
16. Loenko N.N., Chemova I.E., Puchkov A.V. The use of biomass extract of the fungus *Fusarium sambucinum* in rations sables. *Krolikovodstvo i zverovodstvo*. 2010; 6: 6–8. (in Russian)
17. Dzhavakhiya V., Shcherbakova L., Semina Y., Zhemchuzhina N., Campbell B. Chemosensitization of plant pathogenic fungi to agricultural fungicides. *Front. Microbiol.* 2012; 9: 3:87.
18. Kashkina M.A., Elinov N.P. Immunomodulatory activity of polysaccharides from mushrooms. *Mikologiya i fitopatologiya*. 1985; 19 (4): 345–56. (in Russian)
19. Tikhonov N.T., Lotte C.D., Mamaeva T.A., Naumov, M.A., Dizha V.I. About virucidal activity of immune correcting drug of natural origin Milife. *Klinicheskaya farmakologiya i terapiya*. 1999; 8 (4): 41–5. (in Russian)
20. Dizha V.I. Milife (MILIFE) – a drug with significant antiviral and immunostimulatory effects. *Meditsinskaya karteika*. 2006; 1: 42–4. (in Russian)
21. Suprun S.M., Donchenko G.V., Parkhomenko Yu.M., Kharkevich E.S. et al. Vitamin and protein-based product selection strains of fungi: characterization and application. *Faktori eksperimental'noi evolyutsii organizmiv*. 2013; 13: 258–61. (in Russian)
22. Bogdanov V.V., Fatkulina E.F., Berezin B.B., Il'ina A.P., Yamskova V.P., Yamskov I.A. Fraction of peptide from the culture medium *Fusarium sambucinum*: structure and biological activity. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2014; 2: 177–83. (in Russian)
23. Svirshchevskaya E.V., Viskova N.Yu., Sapozhnikov A.M., Dizha V.I., Kucheroва I.V. Study of immunomodulatory properties of the extract of the mycelium of higher fungus *Fusarium sambucinum*. *Immunologiya*. 1995; 11–12: 45–51. (in Russian)

REFERENCES

1. Wasser S.P., Weis A.L. Therapeutic effects of substances occurring in Higher Basidiomycetes mushrooms: a modern perspective. *Crit. Rev. Immunol.* 1999; 1: 65–96.

Поступила 22.01.15

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 пассаживали 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 высевали 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-

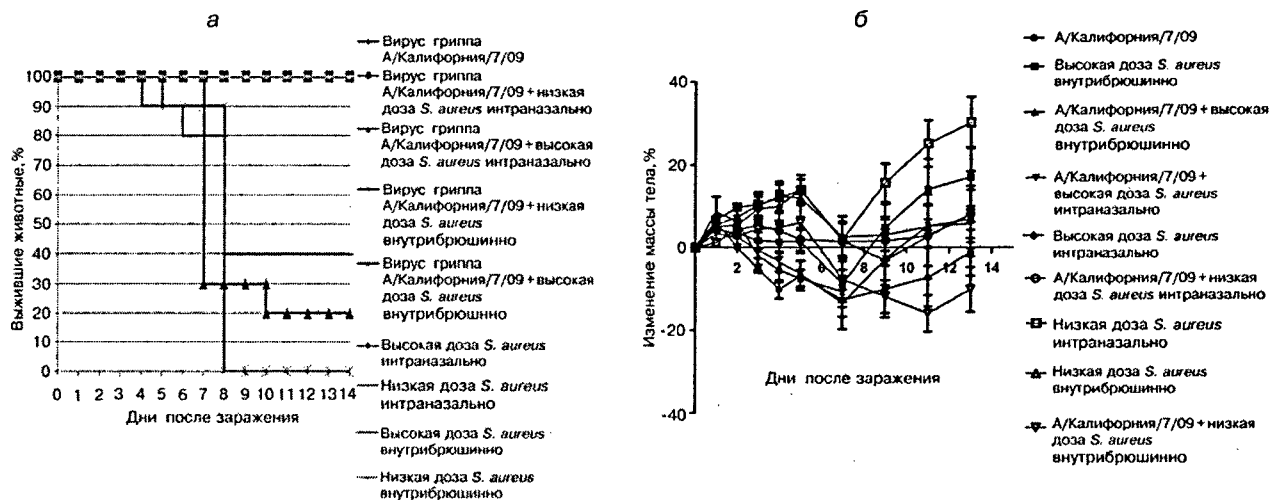


Рис. 1. Влияние различных доз и способов заражения *S. aureus* на выживаемость (а) и изменение массы тела (б) мышей.

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±0,2 lg) заражении, чем при аналогичном интраназальном (6,2±0,2 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

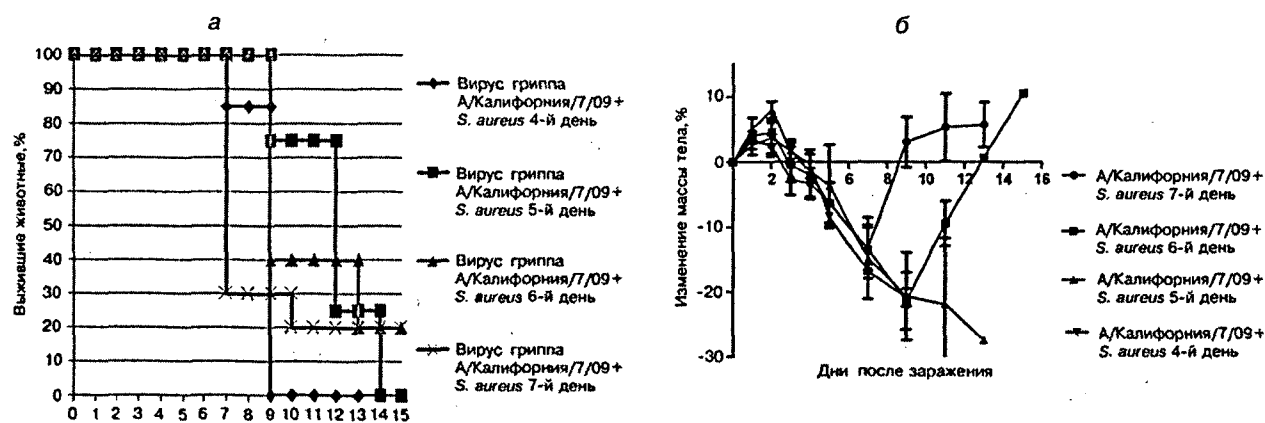


Рис. 2. Влияние сроков заражения на выживаемость (а) и изменение массы тела (б) мышей.

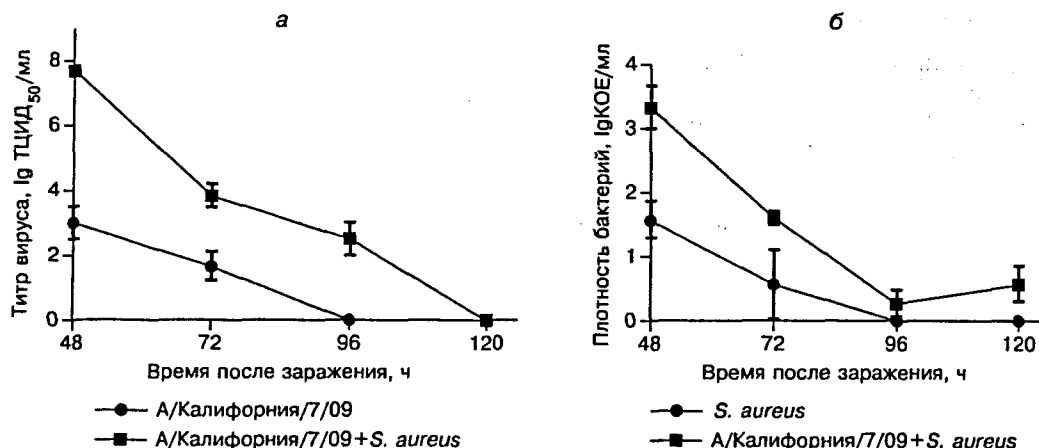


Рис. 3. Время очищения легких от вирусной (а) и бактериальной (б) инфекции.

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

Гулюкин М.И.¹, Козырева Н.Г.¹, Иванова Л.А.¹, Степанова Т.В.¹, Клименко А.И.², Коваленко А.В.²,
Дробин Ю.Д.², Василенко В.Н.²

Межвидовая передача вируса лейкоза крупного рогатого скота в эксперименте

¹ФГБНУ «Всероссийский НИИ экспериментальной ветеринарии имени Я.Р. Коваленко», 109428, г. Москва; ²ФГБНУ «Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт», 346421, г. Новочеркасск

Представлены доказательства заражения кроликов вирусом лейкоза крупного рогатого скота (BLV) из молока и крови от больной энзоотическим лейкозом коровы при введении через желудочно-кишечный тракт или непосредственно в кровеносное русло. Полученные результаты свидетельствуют о способности BLV преодолевать межвидовые барьеры и опасности нативного молока как продукта, обладающего инфекционными свойствами.

Ключевые слова: вирус лейкоза крупного рогатого скота; межвидовая передача; инфицированное молоко; алиментарный путь заражения.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60 (5): 32–37.

Gulyukin M.I.¹, Kozyreva N.G.¹, Ivanova L.A.¹, Stepanova T.V.¹, Klimenko A.I.², Kovalenko A.V.²,
Drobin Y.D.², Vasilenko V.N.²

Experimental interspecies transmission of the bovine leukaemia virus

¹Y.R. Kovalenko All-Russian Institute of Experimental Veterinary Medicine, Moscow, Russia; ²North-Caucasus Zonal Scientific Research Veterinary Institute, Novocherkassk, Russia

Interspecies transmission of the BLV by the inoculation of milk and blood of cows infected by the enzootic bovine leukemia virus directly into the bloodstream or through the gastrointestinal tract of heterologous species (rabbit) was demonstrated. The results of this work indicate the ability of the BLV to overcome the interspecies barriers. Use of native milk with infectious properties is shown to be dangerous.

Key words: bovine leukemia virus (BLV); interspecies transmission; infectious properties of milk; gastrointestinal tract.

Received 22.01.15

For correspondence: Mikhail Gulyukin, Doctor of Veterinary Sciences, prof., academician of RAS; e-mail: admin@viev.ru
Citation: Voprosy virusologii. 2015; 60(5): 32–37. (In Russ.)

Энзоотический лейкоз крупного рогатого скота (enzootic bovine leukosis) – злокачественное лимфопролиферативное заболевание, этиологическим агентом которого является вирус лейкоза крупного рогатого скота (bovine leukemia virus – BLV), относящийся к семейству Retroviridae, роду *Deltaretrovirus*, в который также входят Т-лимфотропные вирусы приматов – человека и обезьян (PTLV-1,-2,-3) – primate T-lymphotropic virus 1–3 [1, 2].

По официальным данным, в Российской Федерации зарегистрировано 2213 пунктов, неблагополучных по лейкозу крупного рогатого скота, где уровень инфицированности животных составляет от 10 до 80%, а заболеваемость – 3–4%. Такая эпизоотическая ситуация в РФ сохраняется уже в течение нескольких лет. В естественных условиях BLV может передаваться крупному рогатому скоту, зебу, буйволам, овцам. Зарегистрирован случай носительства антител к BLV у шведских лосей [3–6].

Передача BLV восприимчивому крупному рогатому скоту может осуществляться через кровь, а также всеми секретами и экскретами при попадании в них лимфоцитов, зараженных вирусом. Анализ данных о роли молока как фактора передачи BLV показал, что в естественных условиях заражение телят вирусом лейкоза этим путем происходит весьма редко [7]. Однако вероятность передачи вируса с молоком значительно возрастает при контактировании кровью, например в случае заболевания коровы-вирусоносителя маститом [8].

Проблема передачи ретровирусов с молоком от инфицированной матери ее потомству существует не только

для BLV, но и для представляющих значительную опасность PTLV и вируса иммунодефицита человека [1, 9]. Исходя из сходства биологических свойств этих вирусов, следует ожидать, что способ и механизмы их передачи имеют много общего.

В последнее время данная проблема приобрела новый импульс, поскольку стали известны многочисленные факты передачи экзогенных ретровирусов хозяевам других видов [5, 6]. Однако с этой точки зрения BLV имеет некоторые особенности. Если многочисленные Т-лимфотропные вирусы человека и обезьян, объединенные в настоящее время в группу PTLV, очень близки, BLV формирует отдельную филогенетическую ветвь, отличаясь от PTLV по нуклеотидной последовательности наиболее консервативного гена *pol* на 42%, и за исключением домашнего крупного рогатого скота (*Bos taurus*) не обнаружен ни среди ныне существующих, ни среди ископаемых представителей рода *Bos* [10].

Получены свидетельства потенциальной опасности BLV для человека [11]. При исследовании методом иммуноблоттинга сывороток крови 257 человек в 74% случаев были выявлены антитела к капсидному антигену BLV (p24), что может служить свидетельством широкого распространения контактов людей с BLV, но не обязательно означает их инфицирование [11]. Выявление участков генома BLV и белка p24 в образцах тканей и культурах клеток молочной железы коров и человека доказывает, что BLV обладает тропизмом к клеткам этих тканей, в частности к эпителию [8, 9, 12]. Нельзя также

исключить и продукцию BLV тканями молочной железы, а не только присутствие ДНК провируса в лимфоцитах крови, содержащихся в молоке, как это принято считать. Поэтому проблема передачи BLV человеку вследствие тесного контакта и употребления в пищу продуктов животноводства остается актуальной.

В связи с этим представляет особый интерес изучение возможности передачи BLV гетерологичному виду животных при скармливании молока, молока с добавлением крови или внутривенной инокуляции крови от больной энзоотическим лейкозом коровы.

Материалы и методы

В работе использовали 23 кролика калифорнийской породы в возрасте 3 мес, разделенных на 3 опытные (по 6 кроликов) и контрольную (5 кроликов) группы. Заражающим материалом служили молоко и кровь больной энзоотическим лейкозом коровы с лейкоцитозом 20,1 тыс/мкл и лимфоцитозом 95%. Каждый кролик 1-й, 2-й и контрольной групп получал *per os* 50 мл молока дважды в день в течение 30 дней: животные 1-й группы – от больной лейкозом коровы, 2-й группы – от больной лейкозом коровы с добавлением 5 мл цельной крови той же коровы, контрольной группы – от здоровой коровы. Кроликам 3-й группы вводили однократно внутривенно по 1 мл крови от больной лейкозом коровы. В общей сложности кролики 2-й и 3-й опытных групп получили $2,86 \cdot 10^{10}$ и $1,91 \cdot 10^7$ лимфоцитов крови соответственно. Кроликов содержали в виварии в индивидуальных клетках на стандартном рационе кормления.

Исследовали кровь, полученную из краевой вены уха кроликов в течение первого месяца эксперимента еженедельно, далее с интервалом 1 мес. Период наблюдений составил 300 сут.

Серологические исследования проводили посредством реакции диффузионной преципитации (РДП) с использованием коммерческого набора для диагностики лейкоза крупного рогатого скота производства Курской биофабрики и методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием диагностического набора в блокирующем варианте *Enzootic Bovine Leukosis Virus (BLV) gp51 Antibody Test Kit/IDEXX Leukosis Blocking P02140-07*, предназначенного для исследования проб сыворотки крови и плазмы крупного рогатого скота, с некоторыми модификациями. Дополнительно к положительному

и отрицательному контролю, входящим в состав набора, использовали отрицательную и положительную в РДП $gp51$ BLV сыворотки крови кроликов. Результаты оценивали по степени блокирования (в %) антителами исследуемой сыворотки связывания конъюгата моноклональных антител к $gp51$ BLV с иммобилизованным антигеном BLV тест-системы. Реакцию считали положительной, если блокирование составляло не менее 50%.

Гематологические исследования. Подсчитывали количество лейкоцитов в 1 мкл крови, стабилизированной гепарином, выводили лейкоформулу и определяли относительный лимфоцитоз (в %).

Молекулярно-генетические исследования. Идентификацию фрагментов основных провирусных генов BLV проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР): фрагмента провирусного гена *pol* BLV с использованием праймеров PF2/PR2 [13], фрагмента гена *env* BLV – методом гнездовой ПЦР с использованием праймеров OBLV1A – 6A (*out*, внешние), OBLV3 – 5 (*in*, внутренние) согласно рекомендациям Международного эпизоотического бюро [2] в нашей модификации, *env5032*, *env5099*, *env5521r*, *env5608r* [14] в нашей модификации. Продукты ПЦР анализировали методом электрофоретического разделения в 1,5–2% агарозном геле, окрашенном бромистым этидием (EtBr) в конечной концентрации 0,5 мкг/мл.

Выявление участков генов *tax-rex* и *gag* выполняли согласно инструкции производителя диагностических наборов.

Результаты и обсуждение

В табл. 1 представлены обобщенные результаты серологических и молекулярно-генетических исследований кроликов опытных и контрольной групп, полученные в течение периода наблюдений.

При проведении серологических исследований методом РДП и более чувствительным методом блокирующего ИФА у кроликов контрольной и 1-й опытной групп не были выявлены антитела к гликопротеидному антигену $gp51$ BLV (см. табл. 1).

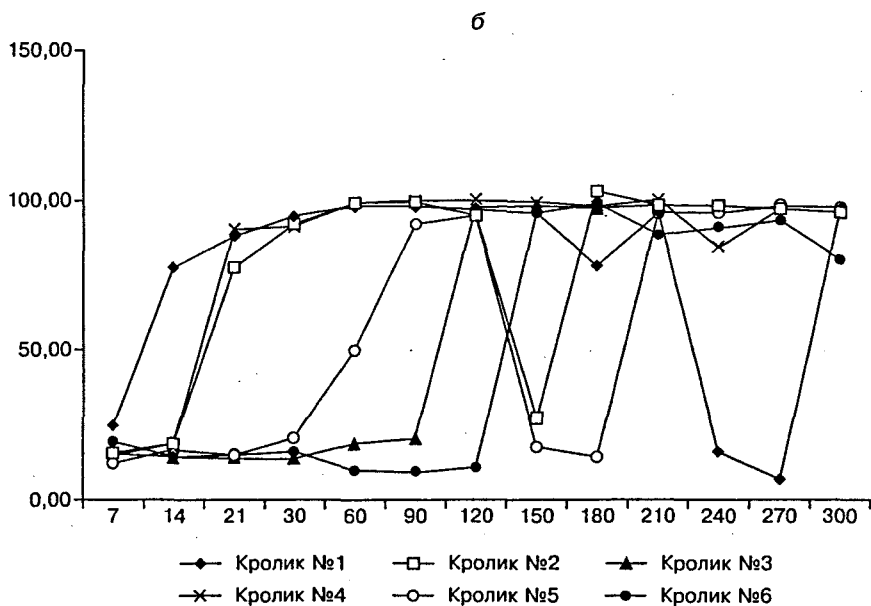
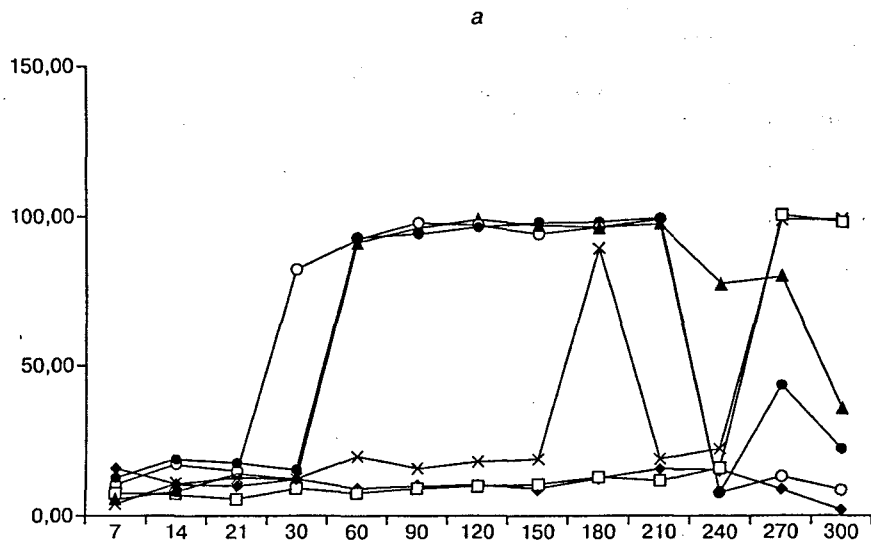
Во 2-й опытной группе спустя 30 сут от начала эксперимента у 2 кроликов произошла сероконверсия, выявленная в ИФА (кролик № 5) и РДП (кролик № 6). Всего за период наблюдений в РДП антитела к $gp51$ BLV были выявлены у 3 из 6 животных (№ 3, 5, 6), методом конкурентного ИФА – у 5 из 6 кроликов, в том числе у

Таблица 1

Динамика выявления признаков индуцированной BLV инфекции у кроликов

Группа	Метод исследования	Сутки от начала эксперимента												
		7	14	21	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
1-я	РДП	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/5	0/5	0/5
	ИФА	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/5	0/5	0/5
	ПЦР	2/6	3/6	5/6	6/6	6/6	4/6	4/6	3/6	5/6	4/6	2/5	3/5	5/5
2-я	РДП	0/6	0/6	0/6	1/6	3/6	2/6	3/6	3/6	3/6	3/5	3/6	2/6	3/6
	ИФА	0/6	0/6	0/6	1/6	4/6	4/6	4/6	4/6	5/6	4/6	1/6	4/6	2/6
	ПЦР	2/6	1/6	6/6	3/6	6/6	6/6	5/6	2/6	5/6	6/6	4/6	2/6	6/6
3-я	РДП	0/6	1/6	2/6	3/6	3/6	4/6	4/6	4/6	5/6	6/6	4/5	4/5	4/5
	ИФА	0/6	1/6	2/6	3/6	4/6	4/6	4/6	4/6	5/6	6/6	3/5	4/5	5/5
	ПЦР	0/6	3/6	6/6	2/6	6/6	6/6	5/6	6/6	6/6	4/6	4/5	4/5	5/5
Контроль	РДП	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	ИФА	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	ПЦР	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

Примечание. Здесь и в табл. 2: числитель – количество положительно прореагировавших животных; знаменатель – количество животных в группе.



◆ Кролик №1 □ Кролик №2 ▲ Кролик №3
 × Кролик №4 ○ Кролик №5 ● Кролик №6

Динамика развития гуморального иммунного ответа у кроликов на введение материала коровы, больной энзоотическим лейкозом. Результаты блокирующего варианта ИФА.

а – 2-я, б – третья опытные группы. По вертикали – блокирование связывания иммунопероксидазного конъюгата (в %); по горизонтали – срок от начала эксперимента (в сут).

кроликов № 2 и № 4 впервые только на 270-е и 180-е сутки периода наблюдений соответственно. У кролика № 1 развитие гуморального иммунного ответа на gp51 BLV не было зафиксировано (см. табл. 1).

По данным обоих серологических тестов, у всех кроликов 3-й группы внутривенное введение крови инфицированной коровы вызвало развитие гуморального иммунного ответа на BLV. Наиболее рано – на 14-е сутки от начала опыта – сероконверсия произошла у кролика № 1.

Особенностью гуморального иммунного ответа у всех положительно прореагировавших кроликов 2-й и 3-й групп было значительное колебание уровня антител и в РДП, и в ИФА (см. рисунок).

Молекулярно-генетическими исследованиями было установлено, что в 1-й опытной группе амплификация участка провирусного гена *tax-rex* происходила в ПЦР всего у 4 животных начиная со 180-х суток. С использованием праймеров, разработанных на участок гена *pol*,

амплификация искомого фрагмента происходила у всех 6 животных, однако у одного и того же животного ДНК провируса BLV обнаруживали не постоянно. При использовании праймеров, комплементарных участку гена *env*, искомым участком генома провируса был выявлен у всех 6 животных, причем впервые на 14-е сутки эксперимента. Амплификацию участка гена *gag* наблюдали у 5 животных: у 3 животных однократно на 210-е сутки, затем еще у 2 животных на 270-е и 300-е сутки эксперимента.

По результатам амплификации участка провирусного гена *tax-rex* во 2-й группе прореагировало всего 3 кролика. Начиная с 30-х суток у 1 животного фрагмент гена выявляли постоянно на протяжении 6 мес, затем ДНК провируса не обнаруживали до окончания срока наблюдения. У 2 кроликов искомым участком выявили однократно на 240-е сутки. При применении праймеров, разработанных на участок гена *pol*, прореагировали все

Выявление ДНК провируса BLV в крови кроликов в динамике

Участок гена	Сутки от начала эксперимента												
	7	14	21	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
1-я опытная группа													
tax-rex	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	2/6	3/6	1/5	0/5	0/5
pol	2/6	1/6	1/6	2/6	5/6	4/6	1/6	2/6	3/6	2/6	3/5	2/5	5/5
env	0/6	2/6	5/6	5/6	5/6	1/6	4/6	1/6	3/6	2/6	0/5	0/5	5/5
gag	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	3/6	0/5	1/5	1/5
2-я опытная группа													
tax-rex	0/6	0/6	0/6	1/6	1/6	1/6	1/6	1/6	1/6	0/6	2/6	0/6	0/6
pol	1/6	2/6	5/6	2/6	3/6	4/6	1/6	1/6	3/6	4/6	2/6	2/6	5/6
env	0/6	0/6	3/6	1/6	6/6	3/6	5/6	2/6	2/6	3/6	1/6	0/6	3/6
gag	1/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	1/6	0/6	1/6	5/6	0/6	0/6	4/6
3-я опытная группа													
tax-rex	0/6	1/6	2/6	1/6	3/6	0/6	4/6	3/6	5/6	2/6	3/5	1/5	1/5
pol	0/6	2/6	3/6	1/6	4/6	3/6	0/6	4/6	3/6	3/5	4/5	4/5	4/5
env	0/6	0/6	5/6	0/6	4/6	3/6	3/6	6/6	4/6	2/6	2/5	0/5	4/5
gag	0/6	1/6	4/6	2/6	1/6	1/6	2/6	2/6	3/6	4/6	0/5	1/5	2/5
Контрольная группа													
tax-rex	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
pol	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
env	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
gag	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

6 животных, первая детекция провирусной ДНК приходилась на 7-е сутки; на электрофореграмме специфическая полоса отличалась слабой интенсивностью, что, вероятно, объясняется низким содержанием провирусной ДНК в крови. Участок гена *env* обнаруживали у всех 6 кроликов начиная с 21-х суток наблюдения.

При использовании праймеров, комплементарных участку гена *gag*, провирусная ДНК выявлена у 5 животных. Впервые выявление ДНК возбудителя произошло на 7-е сутки наблюдения, затем после значительного перерыва – начиная со 120-х суток эксперимента.

В 3-й группе у 6 животных провирусная ДНК обнаружена всеми системами праймеров с разными интервалами начиная с 14-х суток.

В табл. 2 представлены результаты выявления участков основных генов BLV в течение всего периода наблюдений.

У животных всех опытных групп выявление ДНК провируса BLV с применением систем праймеров на различные провирусные гены отличалось нестабильностью. Фрагменты всех 4 генов провируса BLV обнаруживали в 3-й группе у всех 6 животных, во 2-й – у 2, в 1-й – у 4 кроликов.

По результатам определения признаков заражения опытных животных BLV – наличию антител к вирусу непрямыми методами диагностики (РДП, ИФА) и генома провируса прямым методом диагностики (ПЦР) – установлено, что каждое опытное животное являлось инфицированным, т. е. хотя бы однократно был получен положительный результат, что доказывает факт воспроизведения BLV-инфекции на кроликах. Все животные в опыте вне зависимости от способа заражения и дозы прореагировали положительно при выявлении ДНК провируса в крови (см. табл. 2).

За период наблюдений гематологические показатели в контрольной группе колебались в следующих пределах:

лейкоцитоз 5,4–7,2 тыс./мкл, лимфоцитоз 55–59%; в 1-й опытной группе – соответственно 5,0–8,5 тыс./мкл и 52–60%. В период 120–300 сут от начала опыта отмечали повышение лейкоцитоза и относительного лимфоцитоза у 2 кроликов 2-й группы (№ 3 и № 6) до 11 тыс./мкл и 65% и 4 кроликов 3-й группы (№ 1, 4, 5, 6) до 12,6 тыс./мкл и 77% соответственно. Эти показатели, однако, не превышали значений физиологической нормы и достоверно не отличались от показателей 1-й опытной и контрольной групп.

Для доказательства заражения кроликов молоком и кровью от лейкозной коровы была поставлена биопроба на кроликах и овцах. Для этого спустя 300 сут от начала эксперимента от каждого кролика в опыте было получено по 1 мл крови, которую ввели интактным кроликам. Наблюдения за этими кроликами проводили в течение 1 года. Биопробу на овцах выполняли выборочно. Овцам № 6587, 6551 и 6592 внутривенно ввели по 1 мл крови от 1 кролика из каждой опытной группы: соответственно от кролика № 1 из 1-й группы, № 1 2-й группы и № 2 из 3-й группы. Исследования крови овец проводили в течение 14 мес с интервалом 30 сут в РДП, конкурентном ИФА и ПЦР на основные гены BLV.

Результаты биопробы. Гуморальный иммунный ответ в группе кроликов, которым вводили кровь от кроликов 1-й опытной группы, отсутствовал; у кроликов, которым вводили кровь от кроликов 2-й опытной группы, он был слабым (изгиб контрольной линии преципитации) и проявился только у 2 из 6 кроликов на 150-е и 240-е сутки соответственно; у кроликов, которым вводили кровь от кроликов 3-й опытной группы, зафиксировали более сильный гуморальный ответ с образованием полосы преципитации у 4 из 5 кроликов в последние 2 мес периода наблюдений. Во всех случаях выявления антител оно было однократным на протяжении всего эксперимента.

Провирусная ДНК была обнаружена у всех без исключения кроликов, использованных для постановки биопро-

бы. Ранее (спустя 30 сут после введения инфицирующего материала) выявление ДНК провируса во всех случаях подтвердилось при более поздних исследованиях и, по-видимому, не было связано с присутствием в кровеносном русле провируса, содержащегося во введенном материале.

Таким образом, на основании молекулярно-генетических исследований можно сделать вывод о заражении BLV всех кроликов, использованных для биопробы. Тем самым не только подтверждено наличие BLV-инфекции у кроликов 1–3-й опытных групп, но и проведен второй пассаж BLV на кроликах.

В результате биопробы на овцах было установлено, что продукция антител к антигенам BLV у этого вида животных была незначительной, поскольку не была выявлена в РДП ни у одной овцы; в блокирующем ИФА получен достоверный положительный результат однократно – у овец 6587 и 6592 и двукратно – у овцы 6551. Результаты молекулярно-генетических исследований были положительными у всех 3 овец. Таким образом, было подтверждено инфицирование всех 3 кроликов, выбранных для проведения биопробы на овцах.

Несмотря на то, что в естественных условиях BLV поражает только крупный рогатый скот, в эксперименте, а также при длительном совместном содержании с инфицированными крупным рогатым скотом он легко передается овцам и козам и может вызвать у них злокачественную трансформацию лимфоцитов. В условиях эксперимента BLV также способен заражать многие виды животных, в том числе не относящихся к жвачным [3]. Поэтому проблема передачи BLV человеку вследствие тесного контакта и употребления в пищу продуктов животноводства остается актуальной.

Как показали результаты нашего эксперимента, при скармливания кроликам молока большой энзоотическим лейкозом коровы ДНК провируса появляется в крови уже через 7 сут от начала эксперимента, что даже несколько раньше, чем при внутривенном введении крови с высоким содержанием лимфоцитов. Выявление провируса в столь ранние сроки в крови кроликов 1-й и 2-й опытных групп, получавших вирусосодержащий материал перорально, означает существование эффективного механизма проникновения вируса через барьер желудочно-кишечного тракта.

В настоящее время опубликовано большое количество работ, посвященных изучению влияния BLV на лабораторных животных. Как правило, если заражению подвергали кроликов, инфекционный процесс сопровождался у них развитием иммунодефицитных состояний, таких как потеря массы тела, алопеции, риниты, конъюнктивиты и др. [4]. Следует отметить, что условия проведения экспериментов в нашей работе значительно отличались от описанных в литературе. Целью нашей работы было изучение возможности межвидовой передачи BLV в условиях, максимально приближенных к естественным. Результаты наших экспериментов дают основание считать, что BLV передается прежде всего вирусосодержащими жидкостями, такими как кровь и молоко, через слизистую оболочку пищеварительного тракта, поврежденную поверхность кожи или при непосредственном введении в кровеносное русло. Вероятно, такие пути передачи, обеспечивая распространение вируса в популяции восприимчивых животных, не требуют больших доз инфицирующего материала.

При заражении крыс пероральной, внутривенной и внутрибрюшинной инокуляцией вируса HTLV-1, продуцируемого клетками МТ-2, провирус HTLV-1 выявляли в периферической крови и некоторых органах по меньшей мере в течение 12 нед, однако ни одна из перорально инокулированных крыс не продуцировала антитела к HTLV-1 на выявляемом уровне в отличие от зараженных внутривенно или внутриперитонеально. Следовательно, путь передачи

HTLV-1 влиял на интенсивность иммунного ответа, но не на персистенцию вируса [15]. Авторы не исключают развитие иммунологической толерантности к HTLV-1 у перорально инокулированных крыс. Результаты, полученные в нашей работе, во многом совпадают с этими данными. Как видно из табл. 1, выявление провируса BLV происходило примерно с одинаковой частотой у кроликов всех опытных групп, но у всех кроликов, зараженных перорально молоком, и у 1 из кроликов, зараженных молоком с добавлением крови, антитела не были обнаружены, что может свидетельствовать о развитии толерантности. Вместе с тем сравнение гуморального иммунного ответа у кроликов 1-й и 2-й опытных групп указывает на влияние на его развитие количества введенного перорально провируса. Можно предположить, что добавление крови к молоку повысило содержание провируса в заражающем материале, и это привело к отмене развития толерантности у большинства кроликов 2-й группы. Внутривенное введение заражающего материала не вызывало развития иммунологической толерантности. По-видимому, это связано с различной провирусной нагрузкой, однако мы не оценивали ее в этом эксперименте. Установлена корреляция между провирусной нагрузкой, обусловленной путем и дозой инокуляции кроликам материала, содержащего HTLV-1, и клиническими симптомами, развившимися у подвергнутых заражению животных [16].

Пероральная передача BLV с молоком больных лейкозом коров их потомкам потенциально опасна для практического животноводства. Развитие иммунологической толерантности, в результате развития у инфицированных животных отсутствует гуморальный иммунный ответ на BLV, по-видимому, не происходит в массовом масштабе, однако в значительной степени снижает эффективность базирующихся в основном на серологической диагностике оздоровительных мероприятий при лейкозе крупного рогатого скота.

Результаты проведенного нами эксперимента устанавливают факт межвидовой передачи BLV при введении заражающего материала в организм гетерологичного вида животных непосредственно в кровяное русло или через желудочно-кишечный тракт; подтверждают инфекционные свойства молока больных лейкозом коров, что свидетельствует о потенциальной опасности употребления людьми парного молока. Обнаружение ДНК провируса в кровяном русле спустя 7–14 сут после введения заражающего материала *per os* свидетельствует о существовании активного механизма переноса возбудителя через стенку желудочно-кишечного тракта, совершенно не изученного в отношении BLV. Ждут дальнейшего изучения факты отсутствия гуморального иммунного ответа при пероральном введении кроликам содержащего BLV материала, а также роль провирусной нагрузки в развитии признаков инфекции. Требуется также изучения причина, по которой кролики как модель для изучения дельтареtrovirusных инфекций столь чувствительны к возбудителям этих инфекций и реагируют на них развитием многообразных симптомов, в том числе иммунной депрессии.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1–6, 8–12, 14–16 см. REFERENCES)

7. Валихов А.Ф., Бурба Л.Г., Шишков В.П. Иммунологическое и вирусологическое исследование молока, крови и спермы крупного рогатого скота, инфицированного онкорнавирусом. Лейкозы сельскохозяйственных животных. В кн.: *Материалы Советско-Нидерландского симпозиума. Труды Всероссийского научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко*. М.: 1983; 59: 71–2.
13. Козырева Н.Г., Иванова Л.А., Гулюкин М.И., Колбасов Д.В., Цыбанов С.Ж., Калабеков И.М. и др. Оптимизация ПЦР для выявления ДНК провируса лейкоза КРС с использованием сконструированных праймеров, комплементарных участку провирусного гена *pol*. *Ветеринария и кормление*. 2011; 1: 16–7.

REFERENCES

1. Stoye J.P., Blomberg J., Coffin J.M., Fan H. et al. Retroviridae. In: King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J., eds. *Virus Taxonomy. 9th Rep. Intern. Comm. Taxonomy of Viruses*. London, Waltham, San Diego: Elsevier Ac. Press.; 2012: 481–95.
2. World Organization of Animal Health (OIE). *Enzootic bovine leucosis*. In: *Manual of standards for diagnostic tests and vaccines*. 2008; 2: 729–38.
3. Burny A., Bruck C., Cleuter V., Couez D., Deschamps J., Ghysdael J. et al. A bovine leukemia virus, a versatile agent with various pathogenic effects in various animal species. *Cancer Res.* 1985, 45 (9, suppl.): 4578–82.
4. Dimitrov P., Simeonov K., Todorova K., Ivanova Z., Toshkova R., Shikova E. et al. Pathological features of experimental bovine leukaemia viral (BLV) infection in rats and rabbits. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*. 2012; 56: 115–20.
5. Hirsch V.M., Dapolito G., Goeken R., Campbell B.J. Phylogeny and natural history of the primate lentiviruses, SIV and HIV. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 1995; 5: 798–806.
6. Wolfe N.D., Heneine W., Carr J.K., Garcia A.D., Shanmugam V., Tamoufe U. et al. Emergence of unique primate T-lymphotropic viruses among central African bushmeat hunters. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 2005; 102 (22): 7994–9.
7. Valikhov A.F., Burba L.G., Shishkov V.P. Immunological and virologic examination of milk, blood and sperm from cattle infected with onkomavirus. Leukoses of farm animals. In: *Materials of the Soviet and Netherlands symposium. Proceedings of the All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine. Y.R. Kovalenko. [Materialy Sovetskogo-Niderlandskogo simpoziuma. Trudy Vserossiyskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta eksperimental'noy veterinarii im. Ya.R. Kovalenko]*. Moscow; 1983; 59: 71–2. (in Russian)
8. Buehring G.C., Kramme P.M., Schultz R.D. Evidence for bovine leukemia virus in mammary epithelial cells of infected cows. *Lab. Invest.* 1994; 71: 359–65.
9. Buehring G.C., Choi K.Y., Jensen H.M. Bovine leukemia virus in human breast tissues. *Breast Cancer Res.* 2001; 3 (suppl. 1): S1–24.
10. Dube S., Bachman S., Spicer T., Love J., Choi D., Esteban E. et al. Degenerate and specific PCR assays for the detection of bovine leukaemia virus and primate T cell leukaemia/lymphoma virus pol DNA and RNA: phylogenetic comparisons of amplified sequences from cattle and primates from around the world. *J. Gen. Virol.* 1997; 78: 1389–98.
11. Buehring G.C., Philpott S.M., Choi K.Y. Humans Have Antibodies Reactive with Bovine Leukemia Virus. *AIDS Res. Hum. Retrovirus*. 2003; 19 (12): 1105–13.
12. Mesa G., Ulloa J.C., Uribe A.M., Gutierrez M.F. Bovine Leukemia Virus Gene Segment Detected in Human Breast Tissue. *Open J. Med. Microbiol.* 2013; 3 (1): 84–90.
13. Kozyreva N.G., Ivanova L.A., Gulyukin M.I., Kolbasov D.V., Tsybanov S.Zh., Kalabekov I.M. et al. Optimization of PCR for identification of DNA of a provirus of a bovine leukosis with use of the designed primers, complementary to a site of a provirus gene of pol. *Veterinariya i kormlenie*. 2011; 1: 16–7. (in Russian)
14. Beier D., Blankenstein P., Marquardt O., Kuzmak J. Identification of different BLV provirus isolates by PCR, RFLPA and DNA sequencing. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 2001; 114 (7–8): 252–6.
15. Kato H., Koya Y., Ohashi T., Hanabuchi S., Takemura F., Fujii M. et al. Oral administration of human T-cell leukemia virus type 1 induces immune unresponsiveness with persistent infection in adult rats. *J. Virol.* 1998; 72 (9): 7289–93.
16. Zhao T.-M., Hague V., Caudell D.L., Simpson R.M., Kindt T.J. Quantification of HTLV-I proviral load in experimentally infected rabbits. *Retrovirology*. 2005; 2: 34.

Поступила 22.01.15

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 578.891:578.421.083.2

Эспер С.А.¹, Гребенникова Т.В.^{1,2}, Исагулянец М.Г.², Кюрегян К.К.³, Прилипов А.Г.², Ходорович А.М.¹

Исследование внутрибольничной и внутрилабораторной контаминации вирусами гепатита А и С

¹ГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов», 117198, г. Москва; ²Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалея» Минздрава России, 123098, г. Москва; ³ФГБНУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова», 142782, г. Москва

Важнейшим вопросом клинической лабораторной диагностики является исследование внутрибольничной и внутрилабораторной вирусной контаминации. Изучение возможности выявления вирусов в окружающей среде – актуальная проблема на сегодняшний день. В работе исследовали различные поверхности внутрибольничных и внутрилабораторных помещений на присутствие вирусов гепатита А и С с использованием чувствительных молекулярных методов. При изучении поверхностей внутри больницы был зафиксирован 1 случай контаминации РНК вируса гепатита А. При исследовании поверхностей внутри лаборатории в 78,9% случаев была обнаружена контаминация ДНК-ампликонами и в 21,1% – РНК вируса гепатита С.

Ключевые слова: гепатит А; гепатит С; внутрибольничная и внутрилабораторная контаминация.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60 (5): 37–41.

Esper S.A.¹, Grebennikova T.V.^{1,2}, Isagulyants M.G.², Kyuregyan K.K.³, Prilipov A.G.², Hodorovich A.M.¹

Detection of the intrahospital and laboratory contamination with the hepatitis A and C viruses

¹Peoples' Friendship University of Russia, 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; ³M.P. Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis, Moscow, Russia

Detection and confirmation of nosocomial viral contamination is an important aspect of the laboratory diagnostics. Sensitive methods were used to detect contamination of hospital and laboratory environment with the hepatitis A (HAV) and hepatitis C (HCV) viruses. One case of the contamination with HAV RNA was detected in hospital environment. There are multiple cases of the contamination with HCV RNA (21.1%) and cDNA (78.9%) in the laboratory environment.

Key words: hepatitis A; hepatitis C; hospital and indoor contamination.

This work was supported by a grant under the thematic partnership Swedish Institute 09272/2013.

Received 25.05.15

For correspondence: Suzan Esper, postgraduate; e-mail: suzan_asper@yahoo.com

Citation: Voprosy virusologii. 2015; 60(5): 37–41. (In Russ.)

Для корреспонденции: Эспер Сузан Аднановна, e-mail: suzan_asper@yahoo.com

Введение

Вирусные гепатиты А и С широко распространены в мире. Эта проблема актуальна и для Российской Федерации. По своим медицинским и социально-экономическим характеристикам вирусные гепатиты входят в десятку наиболее распространенных инфекционных болезней населения [1]. В последнее время распространение вирусов гепатита приобрело пандемический характер и в сочетании с дорогостоящим, длительным и далеко не всегда эффективным лечением делает проблему распространения гепатитов социально значимой и актуальной [1]. Предыдущие исследования показали важность окружающей среды в передаче различных вирусов [2–4]. Так как многие вирусы могут оставаться инфекционными вне организма человека длительное время, поверхности и предметы могут играть важную роль в распространении возбудителей, в том числе вирусов гепатита А и С [5, 6]. При условии недостаточно эффективного санитарного надзора существует высокий риск передачи вирусных заболеваний в общественных местах, тем более в больницах [7–10]. В связи с этим актуальны работы, направленные на выявление контаминации вирусами гепатита А и С. Чтобы оценить и устранить риск передачи вирусов в медицинских учреждениях необходим мониторинг контаминации больничных помещений. Он может быть мощным инструментом для предотвращения передачи вирусов. Такая оценка также важна в исследовательских и диагностических учреждениях и лабораториях, работающих с инфекционными материалами [11–15]. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) и полимеразная цепная реакция в реальном времени были применены многими исследователями для быстрого и чувствительного обнаружения вирусов гепатита А и С [15–17]. Ранее мы сравнивали различные наборы для выявления гепатита А и С. Было обнаружено, что для детекции РНК вируса гепатита А можно использовать как тест-систему АмплиСенс® HAV-FL («ИнтерЛабСервис»), так и метод гнездовой ПЦР, в то время как для чувствительной детекции РНК вируса гепатита С оказалась предпочтительной гнездовая ПЦР [17]. Также определяли, насколько долго вирусы гепатита А и С могут сохраняться на поверхностях. Эти вирусы обнаруживали на рабочих поверхностях в течение 3 сут после искусственной контаминации [17]. Поскольку вирусы гепатита А и С достаточно стабильны на поверхностях, их детекция может быть использована как маркер для мониторинга качества санитарной обработки и оценки уровня внутрибольничной контаминации. В данной работе проведен анализ уровня контаминации вирусами гепатитов А и С внутрибольничных и лабораторных помещений, а также количественная оценка уровня загрязнения помещений нуклеиновыми кислотами вирусов гепатита А и С и продуктами их амплификации.

Материалы и методы

Выделение РНК проводили с использованием неорганического носителя (SiO_2). К 200 мкл образца добавляли 600 мкл лизирующего буфера (6 М гуанидин тиоцианата, 0,1 М трис-НСI, рН 6,4, 0,1% тритон Х-100) и 20 мкл неорганического сорбента, тщательно перемешивали и снова инкубировали 10 мин при комнатной температуре в шейкере, затем центрифугировали 30 с при 13 000 g и удаляли надосадочную жидкость. Осадок сорбента дважды промывали 200 мкл промывочного буфера (6 М гуанидин тиоцианата, 0,1 М трис-НСI, рН 6,4) и 2 раза – 70% этанолом. Осадок подсушивали в течение 10 мин при 56°C и элюировали РНК с сорбента в 30 мкл воды, обработанной диэтилпирикарбонатом для удаления РНКаз.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

Для определения вирусов гепатита А и С использовали тест-системы АмплиСенс® HAV-FL и АмплиСенс® HCV-FL («ИнтерЛабСервис»), для гнездовой ПЦР – праймеры, разработанные в лаборатории (табл. 1). При гнездовой ПЦР обратную транскрипцию проводили совместно с амплификацией в одной пробирке. Реакцию выполняли в конечном объеме 25 мкл. Реакционная смесь содержала 5 мкл РНК, 2,5 мкл 10-кратного ТАЕ-буфера, 0,25 мМ MgCl_2 , 0,25 мМ каждого dNTP, по 10 пмоль каждого праймера, 0,5 мкл RNasin, 0,25 ед. Taq-полимеразы, 50 ед. MMLV-ревертазы. Последовательности праймеров и условия амплификации указаны в табл. 1. Соотношение циклов амплификация: реамплификация 30:30

Вирусы. Положительный контроль вируса гепатита А – культуральный вирус, генотип 1А, разведенный в инактивированной сыворотке крупного рогатого скота, концентрация – 10^5 копий РНК на 1 мл. Положительный контроль вируса гепатита С – сыворотка крови от пациентов с хроническим гепатитом С в концентрации 10^7 копий РНК на 1 мл.

Набор RNASE- FreeDNASE («Promega») для удаления ДНК из проб.

Сбор образцов. Было собрано 139 образцов с различных поверхностей в период с октябрь по декабрь 2013 г. в рабочее время в одной из больниц Москвы. Сбор с поверхностей проводили в стоматологическом, терапевтическом, процедурном кабинетах, в инфекционной зоне, кабинете сбора крови, туалете и коридорах (табл. 2). Кроме того, образцы собирали с различных поверхностей 3 московских лабораторий, работающих с вирусами гепатита (табл. 3). Сборы производили в рабочее время с помощью ватных тампонов, смоченных раствором 6 М гуанидин тиоцианата с поверхности площадью 30 см². В дальнейшем тампоны помещали в морозильную камеру при -20°C и анализировали молекулярными методами в течение 2 нед.

Таблица 1

Последовательность праймеров и условия проведения гнездовой ПЦР

Последовательность	Положение	Направление	Положение в геноме	Протокол
Вирус гепатита С (участок 5'UTR)				
5'-ctgtgagga act actgtctt-3'	Внешнее	Прямое	45–64	Первая стадия: 1 цикл (50°C 50 мин, 95°C 5 мин), 30 циклов (95°C 30 с, 55°C 30 с, 72°C 30 с); вторая стадия: 1 цикл (95°C 1 мин, 55°C 30 с, 72°C 5 мин)
5'-tat cag gca gta cca caa gg-3'	"	Обратное	298–275	
5'-ttcacg cag aaagcgtctag-3'	Внутреннее	Прямое	63–82	
5'-accscaactactcgctag-3'	"	Обратное	250–269	
Вирус гепатита А (участок VP1/2A)				
5'-att cag att aga ctg cct tgg ta-3'	Внешнее	Прямое	2799–2821	Первая стадия: 1 цикл (50°C 50 мин, 95°C 5 мин), 30 циклов. Вторая стадия: (95°C 30 с, 55°C 30 с, 72°C 30 с), 1 цикл (95°C 1 мин, 55°C 30 с, 72°C 5 мин)
5'-agtaaaactccagcatc cat ttc-3'	"	Обратное	3352–3375	
5'-ggtttc tat tca gat tgcaaatla-3'	Внутреннее	Прямое	2891–2914	
5'-cat tat ttcatgctctcag-3'	"	Обратное	3246–3265	

Результаты анализа внутрибольничных проб, собранных с поверхностей, на присутствие РНК вирусов гепатита А и С

Место сбора	Период времени				
	07.10.13–16.10.13	21.10.13–30.10.13	06.11.13–18.11.13	25.11.13–04.12.13	09.12.13–23.12.13
Процедурный кабинет					
Ручка двери	-	-	-	+	-
Кресло пациента	-	-	-	-	-
Рабочий стол	-	-	-	-	-
Ручки кранов	-	-	-	-	-
Кнопка мыльницы	-	-	-	-	-
Кушетка	-	-	-	-	-
Стоматологический кабинет					
Ручка двери	-	-	-	-	-
Рабочий стол	-	-	-	-	-
Кресло пациента	-	-	-	-	-
Ручки кранов	-	-	-	-	-
Кнопка мыльницы	-	-	-	-	-
Терапевтический кабинет					
Рабочий стол	-	-	-	-	-
Ручка двери	-	-	-	-	-
Кресло пациента	-	-	-	-	-
Ручки кранов	-	-	-	-	-
Кнопка мыльницы	-	-	-	-	-
Инфекционное отделение					
Ручка двери	-	-	-	-	-
Кушетка	-	-	-	-	-
Рабочий стол	-	-	-	-	-
Кресло пациента	-	-	-	-	-
Ручки кранов	-	-	-	-	-
Кнопка мыльницы	-	-	-	-	-
Лаборатория					
Ручка двери	-	-	-	-	-
Кресло пациента	-	-	-	-	-
Рабочий стол	-	-	-	-	-
Кушетка	-	-	-	-	-
Инструменты	-	-	-	-	-
Ручки кранов	-	-	-	-	-
Кнопка мыльницы	-	-	-	-	-
Стол для анализов	-	-	-	-	-
Туалет					
Кнопка туалета	-	-	-	-	-
Сидение туалета	-	-	-	-	-
Ручки кранов	-	-	-	-	-
Кнопка мыльницы	-	-	-	-	-
Ручка двери	-	-	-	-	-
Лифт					
Кнопки	-	-	-	-	-
Стены	-	-	-	-	-
Коридор					
Стулья	-	-	-	-	-
Ручки дверей	-	-	-	-	-

Примечание. + – образец, положительный на РНК вируса гепатита А.

Таблица 3

Результаты анализа проб, собранных с поверхностей 2 лабораторий, на присутствие нуклеиновых кислот вирусов гепатита А и С

Номер пробы	Лаборатория 1		
	Пробы	HAV	HCV
1	Лабораторный стол 1	-	+
2	Лабораторный стол 2	-	+
3	Лабораторный стол 3	-	+
4	Лабораторный стол 4	-	+
5	Лабораторный стол 5	-	+
6	Рабочий стол 1	-	+
7	Рабочий стол 2	-	+
8	Рабочий стол 3	-	+
9	Рабочий стол 4	-	+
	Лаборатория 2		
	Пробы	HAV	HCV
10	Лабораторный стол 1 (2 пробы)	-	+
11	Лабораторный стол 2 (2 пробы)	-	+
12	Лабораторный стол 3 (2 пробы)	-	+
13	Лабораторный стол 4 (2 пробы)	-	+
14	Лабораторный стол 5 (2 пробы)	-	+
15	Лабораторный стол 6 (2 пробы)	-	+
16	Ламинар 1 (2 пробы)	-	+
17	Ламинар 2 (2 пробы)	-	+
18	Ламинар 3 (2 пробы)	-	+
19	Ламинар 4 (2 пробы)	-	+

Результаты и обсуждение

Анализ внутрибольничной контаминации

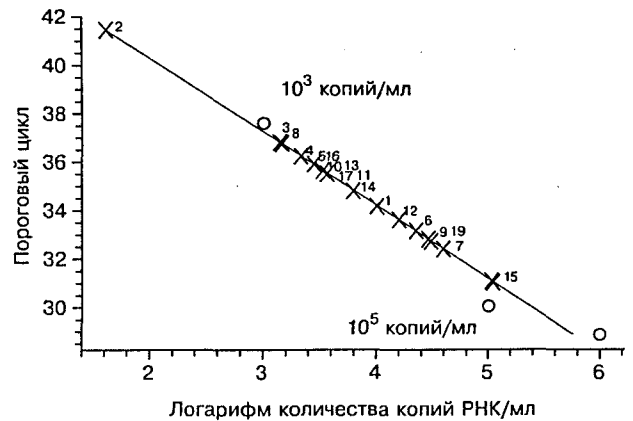
После сбора образцов в одной из больниц Москвы все образцы исследовали на наличие РНК вирусов гепатита А и С. Из каждого тампона были выделены нуклеиновые кислоты, и проведена обратнотранскриптная ПЦР (ОТ-ПЦР) со специфическими праймерами. Результаты представлены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, РНК вируса гепатита А была обнаружена в пробе с поверхности дверной ручки в процедурном кабинете, что может быть результатом контакта с ней рук, загрязненных вирусом гепатита А. Все проанализированные пробы показали отсутствие РНК вируса гепатита С.

Анализ внутрилабораторной контаминации

Образцы были собраны с различных лабораторных поверхностей: в лаборатории 1 – 9 проб и в лаборатории 2 – 18 проб (лабораторные и рабочие столы, поверхности ламинаров), также были исследованы поверхности в помещениях в лаборатории 3–40 проб (комната для выделения нуклеиновых кислот, комната для проведения электрофореза, чистая комната, комната для проведения ПЦР, кабинет для иммуноферментного анализа). Все пробы исследовали на присутствие РНК вирусов гепатита А и С. В двух из трех лабораторий все пробы оказались положительными на наличие нуклеиновых кислот вируса гепатита С и отрицательными на наличие нуклеиновых кислот вируса гепатита А. Результаты представлены в табл. 3. В лаборатории 3 нуклеиновые кислоты вируса гепатита А и С обнаружены не были.

Положительные пробы из лабораторий 1 и 2 были проанализированы количественно. Установлено, что ко-



Результаты количественного анализа проб, собранных с поверхностей в лабораториях, на наличие нуклеиновых кислот вируса гепатита С.

O – стандарт; X – проба. Цифрами указаны номера образцов, представленные в табл. 3.

личество нуклеиновых кислот в пробах составляют от 10^3 до 10^5 копий РНК на 1 мл (см. рисунок).

Поскольку данные лаборатории регулярно занимаются анализом генома вируса гепатита С, было проведено исследование природы нуклеиновой кислоты выявленной контаминации: РНК или ДНК-ампликоны. Пробы, собранные с поверхностей в лабораториях и положитель-

Таблица 4

Результаты анализа состава нуклеиновых кислот в пробах, положительных на наличие РНК HCV гепатита С

Пробы	Лаборатория 1		
	HCV	Без обратной транскрипции	ДНКазой с предварительной обработкой
Лабораторный стол 1	+	+	-
Лабораторный стол 2	+	-	-
Лабораторный стол 3	+	+	-
Лабораторный стол 4	+	+	-
Лабораторный стол 5	+	-	-
Рабочий стол 1	+	+	-
Рабочий стол 2	+	+	-
Рабочий стол 3	+	+	-
Рабочий стол 4	+	+	-
Пробы	Лаборатория 2		
	HCV	Без обратной транскрипции	ДНКазой с предварительной обработкой
Лабораторный стол 1 (2 пробы)	+	+	-
Лабораторный стол 2 (2 пробы)	+	-	-
Лабораторный стол 3 (2 пробы)	+	+	-
Лабораторный стол 4	+	+	-
Лабораторный стол 5 (2 пробы)	+	+	-
Лабораторный стол 6 (2 пробы)	+	+	-
Ламинар 1 (2 пробы)	+	+	-
Ламинар 2 (2 пробы)	+	+	-
Ламинар 3 (2 пробы)	+	+	-
Ламинар 4 (2 пробы)	+	-	-

ные на нуклеиновую кислоту вируса гепатита С, были обработаны ДНКазой для удаления ампликонов и ДНК из проб, затем проанализированы молекулярными методами. Эти пробы были также амплифицированы без первой стадии обратной транскрипции для дифференциации присутствия вирусной РНК и ДНК-ампликонов в пробах. Результаты анализа представлены в табл. 4.

При амплификации 27 положительных проб без обратной транскрипции положительный результат – наличие нуклеиновых кислот вируса гепатита С – был получен в 27,9% случаев (21 проба из 27). После обработки проб ДНКазой все 27 проб были отрицательными при исследовании на присутствие нуклеиновых кислот вируса гепатита С. Разница в результатах может быть вызвана тем, что препараты ДНКазы могут содержать примеси РНКазы. Таким образом, контаминация лабораторных поверхностей была в 78,9% случаев вызвана ДНК-ампликонами и в 21,1% случаев – РНК вируса гепатита С.

Необходимо добавить, что после дезинфекции поверхностей в лабораториях 0,2% раствором Новодеза – дезинфицирующим средством, обладающим антимикробной активностью против грамотрицательных и грамположительных бактерий, вирусов и патогенных грибов, все образцы показали отрицательные результаты, что подтверждает необходимость регулярной обработки таких поверхностей.

Исследование внутрибольничной и внутрилабораторной вирусной контаминации очень важно на сегодняшний день. Необходима разработка современных методик для детекции сверхмалых количеств вирусов контактным путем, мониторинга контаминации помещений и оценки роли различных предметов в передаче вирусов. Анализ 139 проб с различных внутрибольничных поверхностей выявил РНК вируса гепатита А в 1 пробе, взятой с поверхности дверной ручки в процедурном кабинете. Это может быть результатом прикосновения к ней рук, загрязненных вирусом гепатита А, так как этот вирус передается фекально-оральным путем. Результаты исследования показали отсутствие в пробах, собранных в больничных помещениях, РНК вируса гепатита С. В целом анализ контаминации вирусами гепатита А и С продемонстрировал хороший уровень санитарии в исследуемой больнице. В ходе опроса выяснилось, что в данной больнице помещения обрабатываются Аламинолом и Алмадезом до и после каждой смены врачей. Наши результаты согласуются с исследованиями, проведенными в других лабораториях. Так, 114 проб были собраны с поверхностей в одной из больниц и проверены на присутствие норовируса, аденовируса, вируса гепатита С и вируса *Torquetenovirus* (ТТВ) [5]. Была обнаружена 1 положительная проба, содержащая РНК норовируса и 1 проба, содержащая РНК ротавируса, в 17 пробах обнаружена ДНК вируса ТТВ, контаминация вирусом гепатита С не выявлена [5]. Мы также проанализировали пробы, собранные в лабораторных помещениях, отведенных для работы с инфицированными материалами, в частности с сыворотками крови больных вирусным гепатитом С. В двух лабораториях из трех все пробы были положительны на РНК вируса гепатита С, и все пробы в трех лабораториях показали отрицательный результат на РНК вируса гепатита А. В дальнейшем подробно исследовании установлено, что контаминация в лабораториях в 78,9% случаев была вызвана ДНК-ампликонами. В лаборатории обнаружено высокое загрязнение поверхностей ДНК-ампликонами (21 проба из 27, 78,9%) и в меньшей степени – РНК вируса гепатита С (6 проб из 27, 21,1%) до санитарной обработки 0,2% Новодезом. Данная работа иллюстрирует важность регулярного мониторинга внутрибольничных и внутрилабораторных помещений на наличие контамина-

ции вирусами человека. Такие исследования приведут к усовершенствованию методов контроля и последующей дезинфекции в целях обеспечения безопасной жизнедеятельности сотрудников медицинских и научных учреждений и населения в целом.

Работа выполнена при поддержке гранта по тематическому партнерству шведского института 09272/2013.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 3–16 см. REFERENCES)

1. Шаханина И.Л., Радута О.И. Вирусные гепатиты в России: официальная статистика и экономические потери. *Вакцинация. Новости вакцинопрофилактики*. 2001; 6: 6–9.
2. Онищенко Г.Г., Актуальные вопросы эпидемиологии и профилактики вирусных гепатитов В и С в Российской Федерации. *Медицина для всех*. 1999; 2: 2–4.
17. Эспер С.А., Гребенникова Т.В., Исаягулянц М.Г., Кюрегян К.К., Ходорович А.М. Разработка методов и подходов обнаружения вирусов гепатита А и С на поверхностях для дальнейшего исследования внутрибольничной контаминации. *Здоровье населения и среда обитания*. 2015; 3 (264): 42–4.

REFERENCES

1. Shakhanina I.L., Raduto O.I. Viral hepatitis in Russia: official statistics, and economic losses. *Vaktsinatsiya. Novosti vaktsinoprofilaktiki*. 2001; 6: 6–9. (in Russian)
2. Onishchenko G.G. Topical issues of epidemiology and prevention of viral hepatitis B and C in the Russian Federation. *Meditsina dlya vseh*. 1999; 2: 2–4. (in Russian)
3. Ganime A.C., Carvalho-Costa F.A., Mendonça M.C.L., Vieira C.B., Santos M., Filho R.C. et al. Group A rotavirus detection on environmental surfaces in a hospital intensive care unit. *Am. J. Infect. Control*. 2012; 40 (6): 544–7.
4. Carducci A., Verani M., Lombardi R., Casini B., Privitera G. Environmental survey to assess viral contamination of air and surfaces in hospital settings. *J. Hosp. Infect.* 2011; 77 (3): 242–7.
5. Davanzo E., Frasson C., Morandin M., Trevisan A. Occupational blood and body fluid exposure of university health care workers. *Am. J. Infect. Control*. 2008; 36 (10): 753–6.
6. Petersen N.J. An assessment of the airborne route in hepatitis B transmission. *Ann. N Y Acad. Sci.* 1980; 353: 157–66.
7. Lopman B.A., Reacher M.H., Vipond I.B., Hill D., Perry C., Halladay T. et al. Epidemiology and cost of nosocomial gastroenteritis, Avon, England, 2002–2003. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10 (10): 1827–34.
8. Gupta A.K., Anand N.K., Manmohan N.K., Lamba L.M.S., Gupta R., Srivastava L. Role of bacteriological monitoring of the hospital environment and medical equipment in a neonatal intensive care unit. *J. Hosp. Infect.* 1991; 19: 263–71.
9. Gallimore C.I., Taylor C., Gennery A.R., Cant A.J., Galloway A., Xerry J. et al. Comparison of two pediatric wards over a winter season. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46: 3112–5.
10. Morris J., Duckworth G.J., Ridgway G.L. Gastrointestinal endoscopy decontamination failure and the risk of transmission of blood-borne viruses: a review. *J. Hosp. Infect.* 2006; 63: 1–13.
11. Morter S., Bennet G., Fish J., Richards J., Allen D.J., Nawaz S. et al. Norovirus in the hospital setting: virus introduction and spread within the hospital environment. *J. Hosp. Infect.* 2011; 77: 106–12.
12. Chadwick P.R., Beards G., Brown D., Caul E.O., Cheesbrough J., Clarke I. et al. Management of hospital outbreaks of gastroenteritis due to small round structured viruses. *J. Hosp. Infect.* 2000; 45: 1–10.
13. Harris J.P., Lopman B.A., O'Brien S.J. Infection control measures for norovirus: a systematic review of outbreaks in semi-closed settings. *J. Hosp. Infect.* 2010; 74: 1–9.
14. Xerry J., Gallimore C.I., Iturriza-Gómara M., Allen D.J., Gray J.J. Transmission events within outbreaks of gastroenteritis determined through analysis of nucleotide sequences of the P2 domain of genotype II noroviruses. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46 (3): 947–53.
15. Pang X.L., Lee B.E., Pabbaraju K., Gabos S., Craik S., Payment P. et al. Pre-analytical and analytical procedures for the detection of enteric viruses and enterovirus in water samples. *J. Virol. Methods*. 2012; 184: 77–83.
16. Reynolds K.A., Gerba C.P., Pepper I.L. Detection of infectious enteroviruses by an integrated cell culture-PCR procedure. *Appl. Environ. Microbiol.* 1996; 62 (4): 1424–7.
17. Esper S.A., Grebennikova T.V., Isagulyants M.G., Kyuregян K.K., Khodorovich A.M. Development methods and approaches for detection of hepatitis a and c viruses on the surfaces for further intrahospital contamination study. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya*. 2015; 3 (264): 42–4. (in Russian)

Чичерина Г.С.¹, Морозова О.В.^{2,3}, Панов В.В.¹, Романенко В.Н.⁴, Бахвалов С.А.¹, Бахвалова В.Н.¹

Особенности инфекции вирусом клещевого энцефалита *Ixodes persulcatus* Shulze и *Ixodes pavlovskyi* Pomerantsev в период роста численности и трансформации видовой структуры сообщества ИКСОДИД

¹ФГБУН «Институт систематики и экологии животных» СО РАН, 630091, г. Новосибирск; ²Институт вирусологии им. Д. И. Иванковского ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва; ³ФГБУН «НИИ физико-химической медицины» ФМБА России, 119435, г. Москва; ⁴ФГБОУ ВПО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», 643050, г. Томск

С использованием методов иммуноферментного анализа на антиген, обратной транскрипции с последующей количественной полимеразной цепной реакцией (ПЦР) с генотипспецифичными флуоресцентными зондами в реальном времени, филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей генов *E* и *NS1*, биопробы на мышах, реакции гемагглютинации, а также определения нейроинвазивности проведено сравнение инфекции вирусом клещевого энцефалита (ВКЭ) иксодовых клещей *Ixodes persulcatus* P. Schulze и *Ixodes pavlovskyi* Pomerantsev 1946 в зоне симпатрии их ареалов на территории Новосибирской области в период роста численности иксодовых клещей со сменой доминирующего вида. Соотношение двух видов клещей зависело не от биотопов соснового или березового леса, а от удаленности от лесопарковой зоны Новосибирского научного центра: при уменьшении антропогенной нагрузки относительная доля клеща Павловского уменьшалась. Вирусофорность (с учетом патогенного и апатогенного для лабораторных мышей ВКЭ), спектры 3 основных генетических типов ВКЭ, нейровирулентность и гемагглютинирующая активность ВКЭ у клещей таежного и Павловского были сходными. Различия состояли в том, что доли патогенного для лабораторных мышей вируса и дальневосточного генетического типа ВКЭ, а также вирусные нагрузки сибирского и европейского типов ВКЭ у клеща Павловского существенно превышали таковые у таежного клеща.

Ключевые слова: антропогенный очаг клещевого энцефалита; клещ Павловского *Ixodes pavlovskyi* Pomerantsev 1946; таежный клещ *Ixodes persulcatus* P. Schulze; вирус клещевого энцефалита; вирусофорность; вирусная нагрузка; генетические типы; нейровирулентность; гемагглютинирующая активность.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60 (5): 42–46.

Chicherina G.S.¹, Morozova O.V.², Panov V.V.¹, Romanenko V.N.³, Bakhvalov S.A.¹, Bakhvalova V.N.¹

Features of the tick-borne encephalitis virus infection of *Ixodes persulcatus* Shulze and *Ixodes pavlovskyi* Pomerantsev 1946 during period of growth and transformation of species structure of the ixodids community

¹Institute of Systematics and Ecology of Animals, Novosibirsk, Russia; ²D.I. Ivanovsky Institute of Virology «Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya», Moscow, Russia; ³Tomsk State University, Tomsk, Russia

ELISA for antigen detection, reverse transcription with quantitative real-time PCR with the subtype-specific fluorescent probes, phylogenetic analysis of the *E* and *NS1* gene nucleotide sequences, bioassays with suckling mice, hemagglutination and neuroinvasiveness tests were used to compare the tick-borne encephalitis virus (TBEV) infection of the ixodid ticks *Ixodes persulcatus* P. Schulze and *Ixodes pavlovskyi* Pomerantsev 1946 in sympatria area of their natural habitats in Novosibirsk region during growth period of their populations with the replacement of prevailing species of the monodominant type of ixodid population structure. Ratio of the two tick species did not depend on biotopes of pine or birch forest, but rather on the distance from Novosibirsk Scientific Center: the lower anthropogenic pressure, the smaller *I. pavlovskyi* proportion. The TBEV rate (including both pathogenic and apathogenic viruses for laboratory mice), spectra of the 3 main genetic types of TBEV, neurovirulence and hemagglutination activity were similar for both *I. persulcatus* and *I. pavlovskyi*. However, proportion of pathogenic for laboratory mice virus and the TBEV Far Eastern subtype, as well as viral loads of Siberian and European types for the TBEV from *I. pavlovskyi*, were significantly higher than those from *I. persulcatus*.

Key words: anthropogenic endemic region of tick-borne encephalitis; ixodid tick *Ixodes pavlovskyi* Pomerantsev 1946; taiga tick *Ixodes persulcatus* P. Schulze; tick-borne encephalitis virus (TBEV); viral infection rate; viral load; TBEV genetic types; TBEV neurovirulence; hemagglutination activity.

Our research was supported by grants №83, 135, 141 of the Integration Program of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences and by the Federal Fundamental Scientific Research Programme for 2013-2020 (VI.51.1.5).

Received 02.12.13

For correspondence: Valentina Bakhvalova, candidate of biological sciences, e-mail: bvntbe@yandex.ru
Citation: Voprosy virusologii. 2015; 60(5): 42–46. (In Russ.)

Введение

В природных очагах устойчивость паразитарной системы, включающей вирус клещевого энцефалита (ВКЭ), его беспозвоночных и позвоночных резервуарных хозяев, обеспечивается полигостальностью, перестройками вирусного

квазивида и разнообразием циклов трансмиссии. Наиболее эффективна безвиремийная передача вируса между клещами в процессе питания на одном прокормителе [1]. Для этого необходимо совпадение сезонных циклов клещей и их прокормителей, способных обеспечить репликацию ВКЭ в особях

иммунокомпетентных клетках кожи [1–3]. Вследствие этого наиболее эпидемически значимыми переносчиками ВКЭ считали *Ixodes persulcatus* P. Schulze и *Ixodes ricinus* L.

Среди 12 типов населения иксодовых клещей, объединенных в 3 группы: моно-, би- и полидоминантную, в Западной Сибири ранее был описан монодоминантный тип с доминированием таежного клеща в сочетании с малочисленными видами, в том числе с близкородственным реликтовым видом иксодид из группы *persulcatus* – клещом Павловского *Ixodes pavlovskyi* Pomerantsev 1946 [4]. Однако в последние годы вблизи Томска [5] и Новосибирска [6] отмечено массовое появление клеща Павловского, ареал которого включает алтайскую и дальневосточную разобщенные части [7]. Отличия клещей состоят в специализации половозрелой фазы к хозяевам: таежный клещ прокармливается в основном на крупном рогатом скоте, крупных и средних диких млекопитающих, а клещ Павловского – на птицах, реже на зайцах и ежах [7]. Температура тела у птиц (42–44°C) выше, чем у млекопитающих, что может обуславливать селекцию температуроустойчивых мутантов ВКЭ. Сравнительные исследования вирусоносительства среди разных видов иксодовых клещей в природных очагах, претерпевающих изменения видового состава иксодид, немногочисленны [8, 9].

Цель данной работы – количественные и качественные характеристики ВКЭ у иксодовых клещей *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi* в западносибирском антропоургическом очаге в период трансформации видового состава населения иксодид.

Материалы и методы

Сбор клещей. Учеты численности и сбор клещей проводили с растительности на флаг в мае–июне 2011–2012 гг. на территории антропоургического очага КЭ – лесопарка Новосибирского научного центра (ННЦ), расположенного в зоне симпатрии западно-сибирской части ареала таежного клеща и алтае-саянской части ареала клеща Павловского (54°49' N, 83°05' E). Ранее здесь отмечали абсолютное доминирование таежного клеща [10]. Видовую принадлежность определяли с помощью стереоскопического микроскопа по морфологическим признакам [7]. Для детекции ВКЭ клещей гомогенизировали индивидуально в 0,1 мл физиологического раствора или по 10 экземпляров в 1 мл. Индивидуальную зараженность определяли посредством перерасчета [11].

Детекцию ВКЭ проводили в гомогенатах клещей посредством иммуноферментного анализа (ИФА) на антиген ВКЭ с использованием набора ВектоВКЭ-антиген-стрип (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск), обратной транскрипции с последующей ПЦР в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ) [12] и биопробы на мышах ICR [13]. Критерием патогенности изолятов служило наличие у зараженных мышей признаков заболевания, специфичность которых подтверждалась методами идентификации патогена в головном мозге заболевших мышей. При наличии белка Е и/или РНК ВКЭ в испытуемых гомогенатах клещей и отсутствии признаков заболевания у лабо-

раторных мышей исходного заражения или первого пассажи, образец считали апаатогенным для лабораторных мышей ICR.

Вирусные нагрузки в клещах оценивали с использованием двух независимых методов [14]: количественной ОТ-ПЦР-РВ с калибровочным графиком зависимости пороговых циклов (Сt) флуоресценции от количества рекомбинантной плазмидной ДНК; ИФА на антиген Е ВКЭ с калибровочным графиком зависимости оптической плотности ВКЭ от количества очищенного антигена Е [14].

Специфичность детекции ВКЭ подтверждали посредством реакции биологической нейтрализации на мышах (РН) [15] и реакции торможения гемагглютинации (РТГА) [16] с поликлональными антителами, направленными к ВКЭ. Молекулярное типирование проводили с помощью ОТ-ПЦР-РВ [12, 14] и и филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей фрагментов генов Е и NS1 ВКЭ.

Определение нуклеотидных последовательностей генов Е и NS1 для изолятов РНК ВКЭ из гомогенатов клещей и мозга биопробных мышей проводили в Центре секвенирования ДНК ФГБУН Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск) с использованием автоматического анализатора ДНК модели ABI 310 (“Applied Biosystems”, США) и набора BigDye 3.1. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей проводили при помощи программного обеспечения Mega 5.0 (<http://www.megasoftware.net/>) с использованием 4 альтернативных алгоритмов при 1000 репликаций [17].

Нейровирулентность ВКЭ в клещах определяли посредством интрацеребрального и подкожного заражения мышей ICR массой тела 8–10 г десятикратными разведениями (4 особи на 1 разведение) патогенных для мышей клещевых суспензий. Титры вируса рассчитывали в $Ig_{LD_{50}}$ [18].

Статистическое сравнение выборочных средних и выборочных долей проводили по критерию Стьюдента [19]. Средние геометрические титры (СГТ) антигенов определяли вычислением антилогарифма от среднего арифметического десятичных логарифмов обратных значений титров в соответствии с указаниями в работе [18]. Принят уровень значимости различий $p < 0,05$.

Содержание, кормление, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных (Приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 № 755).

Результаты и обсуждение

Распределение иксодид по биотопам. Мониторинг антропоургического очага КЭ на территории Новосибирской области в 1980–2005 гг. показал циклические вариации численности клещей в диапазоне 4,4–18,6 экземпляров на 1 флажок-километр (экз/флаго-км), а с 2006 по 2012 г. – быстрый рост численности иксодид до 52,0 экз/флаго-км. При этом коле-

Таблица 1

Численность имаго иксодид в исследуемом антропоургическом очаге

Участок сбора клещей	Суммарная численность иксодид (экз/флаго-км±m)		Доля клеща Павловского, % (±m)	
	2011 г.	2012 г.	2011 г.	2012 г.
№ 1 – сосновый бор, от ННЦ не более 3 км	39,3±3,7	31,9±5,5	84,4±1,7	93,8±1,5*
№ 2 – мелколиственный разреженный березовый лес с незначительной примесью осины и хорошо развитым травяным покровом, от ННЦ не более 3 км	55,7±6,7	55,9±8,9	84,6±2,4	95,8±0,8*
№ 3 – мелколиственный березово-осиновый лес, хорошо развитый кустарниковый ярус со смыканием крон, от ННЦ 5–6 км	38,0±14,0	46,5±7,4	58,3±5,0**	82,0±1,7*
№ 4 – пойма реки, разреженный сосновый бор с примесью березы, осины, хорошо развитым кустарником и густым травостоем, от ННЦ 12–15 км	52,0±10,6	42,8±21,7	12,5±4,8**	16,7±6,1
Всего	45,0±3,4	43,3±4,2	60,5±1,7	80,9±1,0*

Примечание. (экз/флаго-км±m) – численность клещей и статистическая погрешность (m) показателя; (±m) – % от общего количества иксодид, принято за 100%; m – статистическая погрешность доли (в %); * – доля клеща Павловского в 2012 г. значимо ($p < 0,001$) выше его доли в 2011 г. на том же участке; ** – доли клеща Павловского на участках № 3 и № 4 значимо ($p < 0,001$) различаются и, кроме того, отличаются от долей на участках № 1 и № 2 ($p < 0,001$).

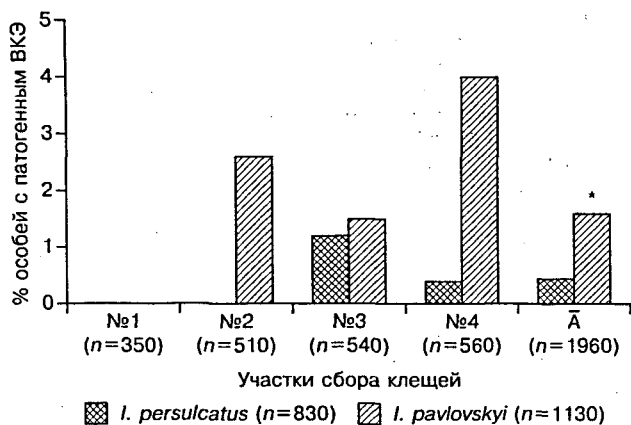


Рис. 1. Зараженность патогенным ВКЭ имаго голодных иксодовых клещей, отловленных в очаге (усредненные данные за 2011–2012 гг.).

А – усредненный % зараженности клещей на всей изученной территории; * – зараженность клеща Павловского патогенным ВКЭ достоверно ($p < 0,05$) выше зараженности таежного клеща.

В скобках приведено количество (n) исследованных клещей.

бания плотности прокормителей клещей – мелких грызунов и насекомоядных оставались в пределах периодических флуктуаций, численность птиц [20] постепенно уменьшалась вследствие антропогенной дигрессии их населения.

Сбор иксодовых клещей проводили в годы высокой численности клещей в мае–июне 2011–2012 гг. на 4 участках с разными рельефом, растительностью, удаленностью от ННЦ и, следовательно, антропогенным действием (табл. 1).

Общая численность клещей в биотопах не была связана с удаленностью от ННЦ. Определение видовых принадлежности 3190 экземпляров клещей выявило 2 вида иксодид – таежного клеща и клеща Павловского с превалированием ($p < 0,001$) последнего. В среднем доля клеща Павловского возросла от $60,5 \pm 1,3$ в 2011 г. до $80,9 \pm 1,0\%$ в 2012 г. ($p < 0,001$). При этом по мере увеличения расстояния от ННЦ снижалась доля клеща Павловского (см. табл. 1). Полученные данные свидетельствовали о продолжении экспансии клеща Павловского на территории Новосибирской области [21] в прямой зависимости от антропогенного воздействия.

Зараженность клещей ВКЭ изучали посредством ИФА на антиген Е, ОТ-ПЦР-РВ, РГА и биопробы на мышах. Сравнительный анализ зараженности клещей ВКЭ на разных участках показал неравномерность распределения вирусофорных особей обоих видов по территории. В 2011 г. частота обнаружения РНК ВКЭ в клещах варьировала по участкам от $1,5 \pm 1,0$ до $14,2 \pm 3,8\%$ у клеща Павловского и от $1,9 \pm 1,9$ до $6,7 \pm 1,4\%$ у таежного клеща. По результатам применения комплекса методов (с учетом патогенных и апатогенных для мышей изолятов), зараженность клещей Павловского и таежного составляла в среднем $4,0 \pm 0,9$ и $5,3 \pm 1,0\%$ соответ-

ственно. Вместе с тем частота обнаружения патогенного для лабораторных мышей ВКЭ у клеща Павловского ($2,1 \pm 0,7\%$) была значимо выше ($p < 0,01$), чем у таежного ($0,2 \pm 0,2\%$). Данные биопробы (рис. 1) свидетельствовали о зависимости частоты изоляции патогенного ВКЭ как от лесорастительных условий участков, так и от вида переносчика.

Количественные оценки. По данным количественной ОТ-ПЦР-РВ [14], диапазон Ct в суспензиях клеща Павловского составлял 15,3–41,4 ($3 \cdot 10^7$ – 10^9 геном-эквивалентов в реакционной смеси), у таежного клеща – 26,4–49,5 (10^4 – 10^6 геном-эквивалентов в реакционной смеси), что с учетом эффективности выделения РНК и ревертирования соответствовало более высоким вирусным нагрузкам для клеща Павловского – до 10^9 вирионов по сравнению с количеством вирионов до 10^6 у таежного клеща.

Дополнительно количественные оценки антигена Е ВКЭ в гомогенатах проводили посредством ИФА [14]. Значения оптической плотности в непатогенных образцах клещей обоих видов не превышали 0,350, что соответствовало 0,9 нг/мл. С учетом молекулярной массы гликопротеина Е 60 кДа это количество соответствовало приблизительно 10^{10} молекул белка Е или $5 \cdot 10^7$ вирионов в клещах с непатогенным ВКЭ. В патогенных образцах клеща Павловского диапазон содержания белка Е составлял до 25 нг/мл (до 10^9 вирионов в клеще), у таежного – до 3,0 нг/мл (до 10^8 вирионов). В среднем количество гликопротеина Е в патогенных пробах клеща Павловского ($6,1 \pm 1,7$ нг/мл) значимо ($p < 0,05$) превышало таковое у таежного клеща ($1,9 \pm 0,65$ нг/мл). Таким образом, количественные оценки вирусных нагрузок с использованием 2 независимых методов совпадали.

Молекулярное типирование ВКЭ. Спектр 3 основных генетических типов ВКЭ у 2 видов клещей не различался (табл. 2).

В образцах клещей при молекулярном типировании посредством филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей генов Е, NS1 и ОТ-ПЦР-РВ с генотип-специфичными флуоресцентными зондами выявлены РНК ВКЭ сибирского (Sib), дальневосточного (FE) и европейского (Eur) типов. При этом отмечено почти трехкратное превышение доли изолятов РНК ВКЭ FE-типа у клеща Павловского по сравнению с таежным при близких усредненных значениях Ct. В отличие от FE-типа РНК ВКЭ Sib- и Eur-типов у разных видов детектировали примерно с равной частотой, но, судя по различиям средних значений Ct, вирусные нагрузки ВКЭ Sib- и Eur-типов были выше у клеща Павловского по сравнению с таежным. Эти факторы могли обуславливать достоверно более высокую частоту обнаружения патогенного ВКЭ у клеща Павловского по сравнению с таежным (см. рис. 1).

Анализ выявил особенности распределения генетических типов и концентраций РНК ВКЭ у клещей обоих видов в зависимости от содержания в образцах патогенного для мышей ВКЭ. Патогенные для мышей изоляты содержали РНК ВКЭ 2 типов (Sib и FE) преимущественно в виде смешанной инфекции, апатогенные – моноинфекцию 3 типов ВКЭ с преобладанием Sib-типа (рис. 2, а). Необходимо отметить отсутствие Eur-типа в патогенных образцах. Усредненные Ct Sib- и FE-типов ВКЭ в патогенных пробах обоих видов клещей значимо не различались, но в апатогенных образцах усредненные Ct Sib- и Eur-

Таблица 2

Генетический состав ВКЭ и пороговые циклы в ОТ-ПЦР-РВ в клещах среди образцов, содержащих РНК ВКЭ

Вид клеща	Дальневосточный тип		Сибирский тип		Европейский тип	
	доля изолятов, % ($\bar{A} \pm m$)	пороговые циклы (Ct $\pm m$)	доля изолятов, % ($\bar{A} \pm m$)	пороговые циклы (Ct $\pm m$)	доля изолятов, % ($\bar{A} \pm m$)	пороговые циклы (Ct $\pm m$)
<i>Ixodes pavlovskiyi</i>	61,1 \pm 11,8*	33,3 \pm 1,4 (26,5–41,4)**	83,3 \pm 9,0	31,0 \pm 1,5 (15,3–39,8)**, ***	11,1 \pm 7,6	24,8 \pm 3,9 (20,9–28,6)**, ***
<i>Ixodes persulcatus</i>	21,1 \pm 9,6*	33,9 \pm 2,9 (26,4–39,4)**	78,9 \pm 9,6	40,9 \pm 2,0 (26,9–49,5)**, ***	15,8 \pm 8,6	44,2 \pm 1,9 (42,3–46,1)**, ***

Примечание. \bar{A} – % изолятов РНК ВКЭ; m – статистическая погрешность (в %) [19]; Ct – усредненная величина пороговых циклов ОТ-ПЦР; m – статистическая погрешность величины цикла; * – % изолятов РНК ВКЭ дальневосточного типа от клеща Павловского выше, чем от таежного ($p < 0,05$); ** – диапазон варьирования пороговых циклов; *** – усредненные величины пороговых циклов ОТ-ПЦР для изолятов РНК ВКЭ сибирского и европейского типов значимо ($p < 0,001$) ниже у клеща Павловского, чем у таежного.

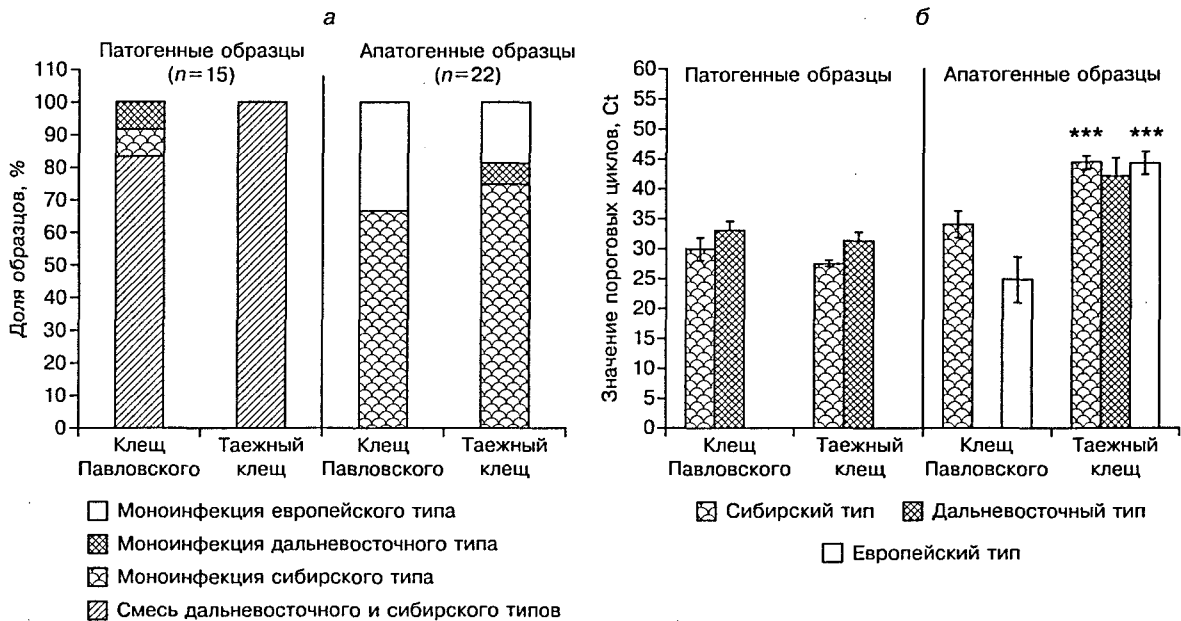


Рис. 2. Распределение генетических типов (а) и пороговые циклы (б) ВКЭ у разных видов клещей среди образцов, содержащих РНК ВКЭ, в зависимости от патогенности.

Процент рассчитывали относительно патогенных или апатогенных РНК ВКЭ-содержащих образцов каждого вида, принимаемых за 100%; *** – ($p < 0,001$) усредненные пороговые циклы (Ct) Sib- и Eur-типов ВКЭ в апатогенных образцах таежного клеща значительно выше по сравнению с Ct ВКЭ тех же типов в апатогенных пробах клеща Павловского.

типов ВКЭ были значимо ($p < 0,001$; $p < 0,05$) меньше у клеща Павловского, чем у таежного (рис. 2, б). Следовательно, концентрации РНК ВКЭ Sib- и Eur-типов в апатогенных пробах клеща Павловского значительно превышали таковые у таежного клеща.

Сравнительный анализ структуры гена E штамма 2730 ВКЭ (номер доступа в GenBank JN993573), изолированного от клеща Павловского, показал соответствие подтипу Заусаев сибирского типа ВКЭ (уровень гомологии 97 – 99%), доминирующему в эндемичных областях России [14, 22, 23].

Нейровирулентность ВКЭ. При титровании на лабораторных мышках патогенного ВКЭ непосредственно из вирусоформных суспензий клещей Павловского и таежного значимых различий нейровирулентности не выявлено: усредненный внутримозговой титр ВКЭ составил $4,23 \pm 0,33$ и $3,27 \pm 0,56$ Ig ЛД₅₀, подкожный – $2,5 \pm 0,15$ и $1,3 \pm 0,73$ Ig ЛД₅₀, индексы инвазивности – $1,86 \pm 0,31$ и $1,94 \pm 0,22$ соответственно.

Гемагглютинирующие свойства ВКЭ в суспензиях клещей обоих видов не были выявлены, несмотря на наличие антигена E в ИФА, что могло быть обусловлено разной чувствительностью методов [12]. После инокуляции клещевых суспензий мышам в мозге заболевших КЭ особой титры гемагглютинирующего вируса варьировали в диапазоне от 1:2 до 1:1280 при титрах гликопротеина E в ИФА от 1:100 до 1:6400. СГТ гемагглютинина в мозге больных мышей ICR после исходного заражения суспензиями клещей Павловского составляла 1:118,9 ($2,08 \pm 0,28$ Ig), что значимо не превышало СГТ гемагглютинирующего антигена у мышей после заражения суспензиями таежного клеща – 1:23,4 ($1,37 \pm 0,8$ Ig), но тем не менее свидетельствовало о тенденции повышенной гемагглютинирующей активности изолятов ВКЭ от клеща Павловского по сравнению с изолятами от таежного клеща. Зависимости между количеством гликопротеина E ВКЭ (ИФА) в суспензиях клещей и величинами титров гемагглютинирующего антигена (РГА) в мозге мышей, которым вводили эти суспензии, не отмечено.

В западносибирском антропогенном очаге, расположенном в зоне симпатрии ареалов клещей Павловского и таежного, в период роста численности имаго иксодид показана смена доминирующего вида *I. persulcatus* видом *I. pavlovskyi*. Процесс массового заселения территории очага клещом Павловского не связан с ростом численности мелких насекомоядных, грызунов или птиц, а обусловлен вероятнее всего антропогенной транс-

формацией лесорастительных условий до неблагоприятных для таежного клеща, но пригодных для обитания менее чувствительного к гигротермическим перепадам клеща Павловского.

Сравнительное изучение зараженности *I. pavlovskyi* и *I. persulcatus* ВКЭ, количественных и качественных характеристик вируса в период трансформации видового состава населения иксодид показало, что общая вирусоформность клещей, спектр основных генетических типов ВКЭ, нейровирулентность и гемагглютинирующая активность вируса значимо не отличались между двумя видами. Вместе с тем относительное содержание клещей, инфицированных патогенным для лабораторных мышей вирусом и дальневосточным типом ВКЭ, количества вирионов сибирского и европейского типов были больше у клеща Павловского по сравнению с таежным, что, возможно, отражает циркуляцию ВКЭ у птиц – прокормителей имаго клеща Павловского и приводит к повышенным частотам патогенных изолятов ВКЭ от этого вида клещей.

Выводы

1. На территории Новосибирской области в 2011 – 2012 гг. в период роста численности иксодовых клещей до 52 экз/флажок-км зарегистрирована смена доминирующего вида *I. persulcatus* видом *I. pavlovskyi* (до 96% вблизи ННЦ).

2. Вирусоформность, детекция 3 основных типов ВКЭ, гемагглютинирующая активность и нейронинвазивность были сходными для изолятов вируса от обоих видов иксодовых клещей.

3. Доля клещей, содержащих патогенный для лабораторных мышей вирус и ВКЭ дальневосточного типа, а также количества вирионов сибирского и европейского типов были больше у клеща Павловского по сравнению с таежным.

Исследования выполнены при финансовой поддержке грантов №83, 135, 141 Интеграционных программ Сибирского отделения Российской академии наук и Федеральных программ фундаментальных научных исследований 2013-2020 (VI.51.1.5).

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1–3, 6, 13, 16, 17 см. REFERENCES)

- Богданов И.И. Иксодовые клещи Западной Сибири. Сообщение VII. Типы населения иксодовых клещей. Вестник Омского государственного педагогического университета. *Естественные науки и экология*. 2006. Available at: www.omsk.edu

5. Романенко В.Н. Мониторинг видового состава и численности иксодовых клещей (Parasitiformes, Ixodidae) в антропогенных биотопах. *Вестник Томского государственного университета*. 2009; 324: 376–9.
7. Филиппова Н.А., ред. *Таежный клещ Ixodes persulcatus Schulze (Acarina, Ixodidae): морфология, систематика, экология, медицинское значение*. Ленинград: Наука; 1985.
8. Иванова Н.В. Роль мелких млекопитающих в очагах природных инфекций на антропогенно трансформированной территории юго-востока Западной Сибири: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Томск; 2009.
9. Романенко В.Н., Кондратьева Л.М. Зараженность иксодовых клещей, снятых с людей, вирусом клещевого энцефалита на территории г. Томска и его окрестностей. *Паразитология*. 2011; 45 (1): 3–10.
10. Добротворский А.К., Бакхвалова В.Н., Харитонов Н.Н., Сапегина В.Ф. Динамика параметров паразитарной системы клещевого энцефалита в условиях северной лесостепи Приобья. *Сибирский экологический журнал*. 1994; 1 (4): 369–75.
11. Беклемисhev В.Н. К изучению зараженности клещей переносчиков энцефалита методом биопробы. *Вопросы вирусологии*. 1962; 2: 240–2.
12. Морозова О.В., Бакхвалова В.Н., Панов В.В. Сравнение методов детекции вируса клещевого энцефалита. В кн.: *Фундаментальные науки – медицине. Сборник трудов научной конференции*. Новосибирск: АРТА; 2008: 171–7.
14. Морозова О.В., Гришечкин А.Е., Бакхвалова В.Н., Исаева Е.И., Подчерняева Р.Я. Динамика репродукции вируса клещевого энцефалита в культурах клеток. *Вопросы вирусологии*. 2012; 2: 40–3.
15. Дерябин П.Г., Лебедева Г.А., Логинова Н.В. Реакция нейтрализации тогавирусов на мышах и культурах клеток. В кн.: *Гайдамович С.Я., ред. Арбовирусы (методы лабораторных и полевых исследований)*. М.: Наука; 1986: 120–6.
18. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. *Статистические методы в микробиологических исследованиях*. Ленинград: Медгиз; 1962.
19. Лакин Г.Ф. *Биометрия*. М.: Высшая школа; 1980.
20. Цыбулин С.Н., Жимулев И.Ф., Панов В.В., Вартапетов Л.Г., Жуков В.С., Богомолова И.Н. и др. Животный мир. Позвоночные. (Динамика численности и пространственная неоднородность сообществ). В кн.: *Жимулев И.Ф., ред. Динамика экосистем Новосибирского Академгородка*. Новосибирск: Издательство СО РАН; 2013: 56–80.
21. Чичерина Г.С., Романенко В.Н., Панов В.В., Морозова О.В., Бакхвалова В.Н. Антропогенная трансформация сообщества иксодовых клещей в западносибирском природном очаге клещевого энцефалита. В кн.: *«Научные чтения памяти Н.Ф. Реймерса и Ф.Р. Штильмарка. Антропогенная трансформация природной среды», г. Пермь, 6–9.12.2011*. Пермь: Пермский государственный национальный исследовательский университет; 2011: 135–41.
22. Карань Л.С., Маленко Г.В., Боцкова Н. Г., Левина Л.С., Колясникова Н.М., Гамова Е.Г. и др. Применение молекулярно-генетических методов для изучения структуры штаммов вируса клещевого энцефалита. *Бюллетень Сибирского отделения РАН*. 2007; 4: 34–40.
23. Погодина В.В., Карань Л.С., Колясникова Н.М., Левина Л.С., Маленко Г.В., Гамова Е.Г. и др. Эволюция клещевого энцефалита и проблема эволюции возбудителя. *Вопросы вирусологии*. 2007; 5: 16–21.
- R@uz@ek, ed. *Flavivirus encephalitis*. ISBN: 978-953-307-669-0, "InTech". 2011: 213–234. Available at: <http://www.intechopen.com/articles/show/title/tick-borne-encephalitis-virus-quasispecies-rearrangements-in-ticks-and-mammals>
7. Filippova N.A., ed. *Taiga Tick Ixodes Persulcatus Schulze (Acarina, Ixodidae): Morphology, Systematics, Ecology, Medical Importance*. [Таежный клещ Ixodes persulcatus Schulze (Acarina, Ixodidae): морфология, систематика, экология, медицинское значение]. Leningrad: Nauka; 1985. (in Russian)
8. Ivanova N.V. The role of Small Mammals in the Natural Foci of Infections in Anthropogenically Transformed Areas of South-East of Western Siberia: Diss. Tomsk; 2009. (in Russian)
9. Romanenko V.N., Kondrat'eva L.M. Infection of ixodid ticks after infestation on humans with the of tick-borne encephalitis virus in Tomsk and its suburbs. *Parazitologiya*. 2011; 45 (1): 3–10. (in Russian)
10. Dobrotvorskij A.K., Bakhvalova V.N., Kharitonova N.N., Sapagina V.F. Dynamics of tick-borne encephalitis virus parasitic system under conditions of Northern forest steppe of Priobye. *Sibirskiy ekologicheskiy zhurnal*. 1994; 1 (4): 369–75. (in Russian)
11. Beklemishev V.N. Study of ticks as vectors of tick-borne encephalitis by bioassay. *Ioprosy virusologii*. 1962; 2: 240–2. (in Russian)
12. Morozova O.V., Bakhvalova V.N., Panov V.V. Comparison of tick-borne encephalitis virus detection methods. In: *Fundamental Sciences to Medicine. Proceedings of the Scientific Conference [Fundamental'nye nauki – meditsine. Sbornik nauchnoy konferentsii]*. Novosibirsk: ARTA; 2008: 171–7. (in Russian)
13. Bakhvalova V.N., Dobrotvorskij A.K., Panov V.V., Matveeva V.A., Tkachev S.E., Morozova O.V. Natural tick-borne encephalitis virus infection among wild small mammals in the southeastern part of western Siberia, Russia. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2006; 6 (1): 32–41.
14. Morozova O.V., Grishchkin A.E., Bakhvalova V.N., Isaeva E.I., Podchernyayeva R.Ya. Changes in the reproduction of tick-borne encephalitis virus in cell cultures. *Ioprosy virusologii*. 2012; 2: 40–3. (in Russian)
15. Deryabin P.G., Lebedeva G.A., Loginova N.V. Neutralization test for togaviruses in mice and tissue cultures. In: *Gaydamovich S.Ya., ed. Arboviruses (methods of laboratory and field research)*. [Arbovirusy (metody laboratornykh i polevykh issledovaniy)]. Moscow: Nauka; 1986: 120–6. (in Russian)
16. Clarke D.H., Casals J. Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 1958; 7 (5): 561–73.
17. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol*. 2011; 28: 2731–9.
18. Ashmarin I.P., Vorob'ev A.A. Statistical Methods in Microbiological Studies. [Statisticheskiye metody v mikrobiologicheskikh issledovaniyakh]. Leningrad: Medgiz; 1962. (in Russian)
19. Lakin G.F. *Biometry*. [Biometriya]. Moscow: Vysshaya shkola; 1980. (in Russian)
20. Tsybulin S.N., Zhimulev I.F., Panov V.V., Vartapetov L.G., Zhukov V.S., Bogomolova I.N. et al. Animal world. Vertebrates. (Population dynamics and spatial heterogeneity). In: *Zhimulev I.F., ed. Ecosystem Dynamics of Novosibirsk Akademgorodok*. [Dinamika ekosistem Novosibirskogo Akademgorodka]. Novosibirsk: Izdatel'stvo SO RAN; 2013: 56–80. (in Russian)
21. Chicherina G.S., Romanenko V.N., Panov V.V., Morozova O.V., Bakhvalova V.N. Anthropogenic transformation of tick population in West Siberian natural focus of the tick-borne encephalitis. In: *"Scientific Memory Read NF Reimers and FR Shitlmark. Anthropogenic Transformation of the Natural Environment"*. Perm', 6–9.12.2011. [«Nauchnye chteniya pamyati N.F. Reymersa i F.R. Shitl'marka. Antropogennaya transformatsiya prirodnoy sredy», g. Perm', 6–9.12.2011]. Perm': Permskiy gosudarstvennyy natsional'nyy issledovatel'skiy universitet; 2011: 135–41. (in Russian)
22. Karan' L.S., Malenko G.V., Bochkova N.G., Levina L.S., Kolyasnikova N.M., Gamova E.G. et al. The use of molecular genetic methods to study structures of the tick-borne encephalitis virus strains. *Byulleten 'Sibirskogo otdeleniya RAMN*. 2007; 4: 34–40. (in Russian)
23. Pogodina V.V., Karan' L.S., Kolyasnikova N.M., Levina L.S., Malenko G.V., Gamova E.G. et al. Evolution of tick-borne encephalitis and a problem of evolution of its causative agent. *Voprosy virusologii*. 2007; 5: 16–21. (in Russian)

REFERENCES

РЕЦЕНЗИИ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.98:578.828.6]-092:612.017.1.064 (049.32)

Покровский В. В., Кравченко А. В., Юрин О. Г., Воронин В. В., Ермак Т. Н., Беляева В. В., Ладная Н. Н., Шахгильдян В. И., Афонина Л. Ю., Потехаев С. Н., Фомин Ю. А., Зими́на В. Н., Фролова О. П., Шипулин Г. А., Богославская Е. В. ВИЧ-инфекция и СПИД: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013. 606 с.

В престижном издании книг по медицине – национальных руководствах в серии обобщающих руководств по основным медицинским специальностям опубликована обстоятельная монография «ВИЧ-инфекция и СПИД: национальное руководство».

Главный редактор – академик РАН В.В. Покровский.

Издание подготовлено ассоциацией медицинских обществ по качеству. Монография создана многоопытным и талантливым авторским коллективом специалистов Москвы и Санкт-Петербурга. Коллектив специалистов-авторов начал формироваться в середине 80-х годов прошлого столетия по инициативе выдающегося инфекциониста и организатора медицинской науки академика РАН В.И. Покровского. Именно этот коллектив описал самый первый случай ВИЧ/СПИД-инфекции в бывшем СССР.

Данная монография, представляя современное состояние и развитие этой глобальной инфекции, охватывает все разделы, связанные с ВИЧ-инфекцией и СПИДом, и обоснованно относится к категории национальных руководств.

Все члены авторского коллектива – создатели этого ценного руководства имеют огромный опыт всестороннего изучения ВИЧ-инфекции и СПИДа, что обуславливает творческий и системный характер всего текста данной монографии.

Авторский коллектив включает имена выдающихся специалистов – фактических основоположников изучения ВИЧ/СПИД-инфекции в Российской Федерации, к которым относятся В.В. Покровский, А.В. Кравченко, О.Г. Юрин, В.В. Воронин, Т.Н. Ермак, В.В. Беляева, Н.Н. Ладная, В.И. Шахгильдян, Л.Ю. Афонина, С.Н. Потехаев, Ю.А. Фомин, В.Н. Зими́на, О.П. Фролова, Г.А. Шипулин, Е.В. Богославская.

Руководство состоит из шести логически связанных разделов, в которых охвачены все направления и проявления непосредственно ВИЧ-инфекции, а также всесторонне рассматриваются и анализируются проблемы медицинской помощи при ВИЧ-инфекции – профилактика и социальные аспекты.

Первый раздел: общая патология ВИЧ-инфекции (2 главы), в котором рассматриваются вопросы этиологии этой инфекции, структура и функция компонентов вирусной частицы и последовательные этапы репродукции ВИЧ в восприимчивых клетках.

Второй раздел: эпидемиология ВИЧ-инфекции, в котором в 8 главах представлены все аспекты эпидемиологии инфекции, в том числе в Российской Федерации. Весь раздел написан блестяще.

Третий раздел (2 главы): лабораторная диагностика; методы мониторинга; течение и лечение ВИЧ-инфекции. Этот раздел раскрывает большие достижения науки и практического здравоохранения, представляя исчерпывающую информацию по данной теме. Вместе с тем в разделе представлен и большой опыт написавших его авторов.

Четвертый раздел: клиническая картина (5 глав). Последовательно излагаются все клинические проявления, связанные с изучением ВИЧ-инфекции, прекрасно отражен международный, большой собственный и в целом отечественный опыт, восходящий еще к 80-м годам прошлого столетия. Блестяще написана 15-я глава.

Пятый раздел (5 глав): также последовательно и исчерпывающе излагается многосторонняя проблема меди-

цинской помощи пациентам с ВИЧ-инфекцией, а также большой опыт оказания медицинской помощи (постановка диагноза, диспансерное наблюдение за больными ВИЧ-инфекцией, лекарственная терапия ВИЧ-инфекции). Прекрасно написана 19-я глава (информирование и психологическая поддержка при ВИЧ-инфекции, паллиативная помощь больным ВИЧ-инфекцией). Как и в предыдущих и последующих разделах монографии, все 5 глав написаны высокопрофессионально и отражают большой и многолетний опыт всех авторов, написавших этот раздел. Вся глава, посвященная лекарственной терапии, несомненно дает правильное представление о состоянии этой проблемы. В ней в логической последовательности излагаются все ее аспекты, а также позитивные достижения, имеющие в конечном счете и выраженную социальную направленность. Авторы этой главы О.Г. Юрин, А.В. Кравченко и В.Г. Канестри, а также В.В. Покровский внесли значимый вклад в становление и развитие данной проблемы, идя постоянно в ногу со временем.

Представляя анти-ВИЧ-лекарства, авторы обоснованно уделяют внимание отечественному препарату Фосфазиду (Никавир), который регулярно с 1999 г. по настоящее время применяется как обязательный компонент лекарственной терапии ВИЧ/СПИДа. Являясь фосфорсодержащим производным Азидотимидина, Фосфазид принципиально отличается от него значительно более низкой токсичностью, более благоприятной фармакокинетикой и более медленным (консервативным) формированием процесса лекарственной устойчивости в отличие от Азидотимидина.

Шестой раздел (4 главы) посвящен профилактике ВИЧ-инфекции в самом широком понимании этой проблемы. Естественно данный раздел логически завершает всю композиционную структуру монографии. В разделе рассматриваются такие ключевые проблемы, как предупреждение распространения ВИЧ среди общего населения и более специализированные вопросы, касающиеся уязвимых контингентов.

В монографию включено 26 приложений, подробно отражающих комплекс мероприятий и многолетний опыт (начиная с конца 80-х годов прошлого столетия), в результате чего была создана научно-организационная система всестороннего взаимодействия с ВИЧ-инфицированными пациентами. Приложения включают научно-практические мероприятия в области права, диагностики ВИЧ-инфекции у взрослых и детей, мероприятия в сфере деятельности центров по профилактике и борьбе со СПИДом и инфекционными заболеваниями. В последнем случае Федеральный научно-профилактический центр и территориальные центры почти за 30 лет своей плодотворной деятельности приобрели огромный последовательный опыт, который наряду с представленным международным опытом блестяще отражен в данной монографии.

Следует приветствовать издание монографии «ВИЧ-инфекция и СПИД: национальное руководство».

*Генеральный директор компании
ЗАО «Ассоциация АЗТ» А.В. Кононов,
доктор биол. наук, проф. Г.А. Галегов,
доктор мед. наук, проф. П.Г. Дерябин (Москва)*

Олег Иванович Киселев (к 70-летию со дня рождения)



5 сентября 2015 г. исполняется 70 лет директору федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт гриппа» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Санкт-Петербург), академику РАН, доктору биологических наук, профессору Олегу Ивановичу Киселеву.

Академик О.И. Киселев известен как один из ведущих ученых-вирусологов. Он внес существенный вклад в решение широкого спектра фундаментальных и прикладных задач в области молекулярной вирусологии, биохимии, геной инженерии, диагностики, химиотерапии и профилактики гриппа и других вирусных инфекций.

Олег Иванович Киселев родился в 1945 г. в г. Магнитогорске. В 1968 г. с отличием окончил 1-й Ленинградский медицинский институт им. акад. И.П. Павлова. В 1971 г. закончил аспирантуру в Институте экспериментальной медицины и защитил кандидатскую работу на тему «О ядерном и митохондриальном происхождении рибонуклеиновых кислот митохондрий». В 1982 г. О.И. Киселев защитил докторскую диссертацию «Белоксинтезирующие структуры митохондрий и топография биосинтеза митохондриальных белков» по специальности «Биологическая химия».

В 1998 г. решением ВАК РФ ему присвоено звание профессора по специальности «Биологическая химия», в 2000 г. избран членом-корреспондентом, а в апреле 2005 г. – действительным членом Российской академии медицинских наук.

С 1982 по 1988 г. О.И. Киселев работал на предприятиях Министерства медицинской промышленности. Научные исследования этого периода относились к области молекулярной биологии генома

человека, цитоплазматической наследственности, контролю экспрессии генов у про- и эукариот, геной инженерии продуцентов физиологически активных веществ.

В 1988 г. О.И. Киселев возглавил Всесоюзный научно-исследовательский институт гриппа и является его руководителем уже более 25 лет. Под его руководством Институт стал ведущим вирусологическим научным центром. О.И. Киселев возглавляет Национальный центр по гриппу Всемирной организации здравоохранения. За работу на высоком научно-методическом уровне по надзору за гриппом и другими вирусными респираторными инфекциями Центр ежегодно получает благодарности от руководства ВОЗ.

О.И. Киселев является экспертом ВОЗ. В 2011 г. он избран членом Группы советников ВОЗ по подготовке к пандемии (Pandemic Influenza Preparedness Advisory Group – PIP AG), в которой представляет интересы Министерства здравоохранения РФ и в целом Российской Федерации.

Олег Иванович внес большой вклад в разработку отечественных противовирусных этиотропных химиопрепаратов. Под его руководством выполнены приоритетные работы по созданию и выпуску соединений адамантанового ряда, а также препаратов на полимерных носителях, целенаправленному конструированию противовирусных препаратов ряда азолоазинов, акридонов, фуллеренов, разработана модель для изучения токсических и апоптогенных свойств прионных белков.

Под руководством О.И. Киселева выполняется ряд международных проектов по принципиально новым вакцинам против гриппа. Разработаны генно-инженерные вакцины против птичьего гриппа и туберкулеза. Выполняются Европейский проект по растительной и delNS-вакцинам, федеральные проекты по нанотехнологиям и новому отечественному препарату Триазавирин.

При содействии О.И. Киселева в Институте организовано производство диагностических препаратов для диагностики респираторных инфекций человека.

О.И. Киселев уделяет большое внимание вопросам региональной и глобальной инфекционной безопасности. Он придает большое значение созданной и научно обоснованной на базе НИИ гриппа системе эпидемиологического и этиологического надзора за гриппом и ОРЗ, позволяющей прогнозировать развитие эпидемий на территории РФ и стран СНГ. Большое внимание Олег Иванович уделяет развитию сотрудничества с ВОЗ, укреплению научных контактов с исследовательскими центрами США, Германии, Австрии, Китая. Он курирует ряд интернациональных научных проектов.

Результаты научных исследований юбиляра широко публикуются в отечественной и зарубежной печатной литературе.

ти. Он автор более 350 научных работ, в том числе 46 изобретений и патентов, 19 монографий, 260 научных статей. Среди них фундаментальные работы “Прионы и прионные болезни”, “Антивирусные препараты для лечения гриппа и ОРЗ. Дизайн препаратов на основе полимерных носителей”, “Вирусы папилломы человека в развитии рака шейки матки”, “Грипп птиц: происхождение инфекционных биокастроф”, “Фуллерены в биологии”, “Химиопрепараты и химиотерапия гриппа”, “Беременность, иммуносупрессия, грипп и плацентарная экспрессия эндогенных ретровирусов”.

Профессор О.И. Киселев отводит большую роль подготовке молекулярных биологов и инфекционистов высшей квалификации. Под его научным руководством и консультировании подготовлено 4 докторских и 11 кандидатских диссертаций.

Научную работу Олег Иванович успешно совмещает с руководством большим коллективом и научно-общественной деятельностью – является председателем Проблемной комиссии Российской академии медицинских наук “Грипп и гриппоподобные инфекции”, председателем Комиссии по гриппозным вакцинным и диагностическим штаммам Министер-

ства здравоохранения РФ, председателем Диссертационного совета. Выполняет обязанности члена редакционного совета “Медицинского академического журнала” и заместителя главного редактора журнала “Цитокины и воспаление”.

В 2003 г. за разработку технологии, организацию промышленного выпуска и внедрение в медицинскую практику готовых лекарственных форм нового отечественного препарата Циклоферон О.И. Киселеву в составе авторского коллектива присуждена премия Правительства РФ. В этом же году он удостоен почетного звания “Человек года” в номинации “Врач года” с занесением имени в “Книгу почета и чести России”. Указом Президента РФ в 2004 г. О.И. Киселев награжден медалью ордена “За заслуги перед Отечеством” II степени. В 2009 г. он был награжден дипломом лауреата национальной ежегодной премии “Лучший руководитель года”. В 2014 г. О.И. Киселеву присвоено почетное звание “Заслуженный деятель науки Российской Федерации”.

Коллеги и друзья поздравляют Олега Ивановича с юбилеем и желают ему крепкого здоровья и дальнейших творческих свершений.
