

- бапенмазы экстремально-антибиотикорезистентных энтеробактерий: распространение в Беларуси. *Здравоохранение*. 2017, 3: 40-47.
- Grundmann H., Glasner C., Albiger B. et al. Occurrence of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in the European survey of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE): a prospective, multinational study. *Lancet Infect. Dis.* 2017, 17 (2): 153-163.
 - Gupta N., Limbago B.M., Patel J.B., Kallen A.J. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: epidemiology and prevention. *Clin. Infect. Dis.* 2011, 53 (1): 60-67.
 - ISO 20776-1:2006 «Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems — Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices» — Part 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases.
 - Magiorakos A.P., Burns K., Rodriguez Bano J. et al. Infection prevention and control measures and tools for the prevention of entry of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae into healthcare settings: guidance from the European Centre for Disease Prevention and Control. *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* 2017; 6: 113.
 - Nordmann P., Naas T., Poirel L. Global spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg. Infect. Dis.* 2011, 17 (10): 1791-1798.
 - Tacconelli E., Carrara E., Savoldi A. et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect. Dis.* 2018, 18 (3): 318-327.
 - The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.0, 2018. <http://www.eucast.org>.
 - Vasoo S. Susceptibility testing for the polymyxins: two steps back, three steps forward? *J. Clin. Microbiol.* 2017, 55 (9): 2573-2582.
 - Woodford N., Turtton J.F., Livermore D.M. Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol. Rev.* 2011, 35 (5): 736-755.

Поступила 04.03.19

Контактная информация: Тапальский Дмитрий Викторович, к.м.н.,
Беларусь, 246050, Гомель, ул. Ланге, 5, р.т. 375 29 7354293

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

С.В.Святченко, А.Г.Дурьманов, Н.П.Колосова, А.С.Гудымо, Н.И.Гончарова, П.Ю.Торжкова, Ю.А.Буланович, А.В.Епанчинцева, А.В.Даниленко, В.Ю.Марченко, А.В.Сысоева, И.М.Суслопаров, Т.В.Трегубчак, А.Б.Рыжиков, Р.А.Максютов, Т.Н.Ильичева

ТЯЖЕЛЫЕ СЛУЧАИ ЗАБОЛЕВАНИЯ ГРИППОМ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В ЭПИДЕМИЧЕСКОМ СЕЗОНЕ 2017-2018

ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор», р.п. Кольцово, Новосибирская область

Цель. Оценка популяционного иммунитета к гриппу накануне эпидемического сезона 2017-2018 и характеристика вирусов гриппа, выделенных в данном сезоне от людей с тяжелым течением заболевания и от лиц, привитых осенью 2017. *Материалы и методы.* Исследование сывороток крови в реакции торможения гемагглютинации. Выделение изолятов вирусов гриппа. Их антигенный и генетический анализ. *Результаты.* Накануне эпидемического сезона от 33 до 47% сывороток крови, собранных в разных регионах РФ, имели защитные титры антител к вакцинным сезонным штаммам вируса гриппа А. К вирусу В/Victoria защитные титры имели 24-30% обследуемых. В эпидемическом сезоне 2017-2018 нами выделено 87 изолятов вирусов гриппа А и В. Штаммы А(H1N1)pdm09 вошли в кладу 6В.1, штаммы В/Yamagata — в кладу 3, а штаммы В/Victoria — в кладу 1А; по антигенным свойствам они не отличались от вакцинных штаммов соответствующих подтипов. Изоляты А(H3N2) отнесены к кладе 3С.2а, антигенная характеристика которой затруднена. Выявлен один штамм А(H1N1)pdm09 с аминокислотной заменой H275Y в нейраминидазе, резистентный к осельтамивиру. Все остальные штаммы были чувствительны

к ингибиторам нейраминидазы. *Заключение.* Иммунизация от гриппа вакциной эффективной против циркулирующих штаммов и лечение антинейраминидазными препаратами при первых клинических проявлениях заболевания являются эффективными средствами защиты населения.

Журн. микробиол., 2019, № 4, С. 58—64

Ключевые слова: популяционный иммунитет, сезонные вирусы гриппа, антигенная и генетическая характеристика, чувствительность к ингибиторам нейраминидазы

S.V.Svyatchenko, A.G.Durymanov, N.P.Kolosova, A.S.Gudymo, N.I.Goncharova, P.Yu.Torzhkova, Yu.A. Bulanovich, A.V.Epanchintseva, A.V.Danilenko, V.Yu.Marchenko, A.V.Syssoeva, I.M.Susloparov, T.V.Tregubchak, A.B.Ryzhikov, R.A.Maksyutov, T.N.Ilicheva

SEVERE CASES OF SEASONAL INFLUENZA IN RUSSIA IN 2017-2018

State Research Center of Virology and Biotechnology «VECTOR», Koltsovo, Novosibirsk region, Russia

Aim. Evaluation of herd immunity prior to the 2017-2018 influenza season, and characterization of influenza viruses isolated from severe or fatal influenza cases and from influenza cases in people vaccinated in the fall of 2017. *Materials and methods.* Evaluation of herd immunity in hemagglutination inhibition assay. Isolation of influenza viruses. Antigenic and genetic analysis. *Results.* Prior to epidemic season 33-47% of blood sera samples collected on the territory of Russia showed presence of protective antibody titers against vaccine strains of influenza A, 24-30% of samples — against B/Victoria. During 2017-2018 epidemic season 87 influenza A and B viruses were isolated. A(H1N1)pdm09 strains belonged to clade 6B.1, B/Yamagata strains to clade 3, and B/Victoria strains to clade 1A; they were antigenically similar to corresponding vaccine strains. A(H3N2) viruses belonged to clade 3C.2a and were difficult to characterize antigenically. One strain of influenza virus A(H1N1pdm09) was resistant to oseltamivir and had H275Y amino acid substitution in neuraminidase. All other isolates were susceptible to neuraminidase inhibitors. *Conclusion.* Influenza vaccination with vaccine effective against current circulating strains and treatment with neuraminidase inhibitor drugs at first manifestation of clinical signs of influenza disease are effective means of population protection against influenza.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2019, No. 4, P. 58—64

Key words: herd immunity, seasonal influenza viruses, antigenic and genetic characteristics, neuraminidase inhibitors susceptibility

ВВЕДЕНИЕ

Эпидемический подъем заболеваемости гриппом в России начался на 6-7 неделях 2018 года, что существенно позже, чем обычно, и примерно на два месяца позже, чем в Западной Европе и США. В отличие от стран Запада эпидемический подъем заболеваемости был плавным, на протяжении всей эпидемии приблизительно в равных пропорциях у больных выявляли вирусы гриппа A(H1N1)pdm09, A(H3N2) и B. В целом эпидемический сезон 2017-2018 гг. в России характеризовался низкой заболеваемостью лиц, вакцинированных осенью 2017 г., и общей низкой летальностью [URL: <http://www.influenza.spb.ru/news/id394/>].

В ГНЦ ВБ «Вектор» более 10 лет проводится мониторинг гриппа с целью выявления новых вирусных вариантов, которые представляют опасность как возможные предшественники будущих пандемических штаммов. Для этого мы проводим анализ первичного материала и выделенных из него штаммов при всех подтвержденных тяжелых случаях гриппа, а также случаях заболевания вакцинированных лиц [4,5].

В связи с этим, целью настоящей работы была оценка популяционного иммунитета к вирусам гриппа накануне эпидемического сезона 2017-2018 гг., а также характеристика штаммов вирусов гриппа, выделенных из аутопсийного и клинического материала от людей с тяжелым течением заболевания и от лиц, вакцинированных осенью 2017 г.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В реакции торможения гемагглютинации (РТГА) использовались антигены, представляющие собой инактивированные β -пропиолактоном штаммы вирусов гриппа А и В, полученные из сотрудничающего центра Всемирной организации здравоохранения (СЦ ВОЗ) в Атланте (США): А/Michigan/45/2015 (H1N1pdm09), А/HongKong/4801/2014 (H3N2), В/Brisbane/60/2008 (линия Victoria), а также штамм А/Anhui/01/2013 (H7N9), полученный из СЦ ВОЗ, Гонконг, Китай, и выделенный нами штамм А/great crested grebe/Tuva/34/2016 (H5N8) [6].

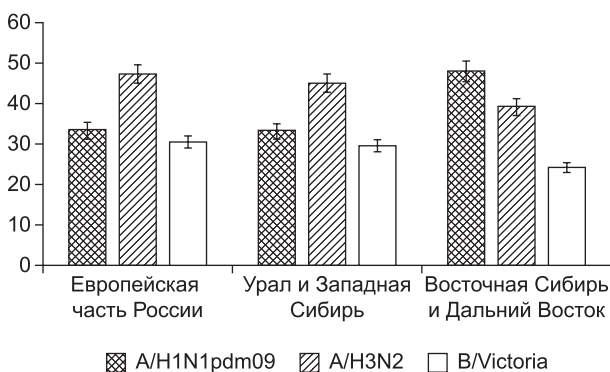
Сбор образцов крови от здоровых доноров, получение сывороток, транспортировку образцов в ГНЦ ВБ «Вектор», проведение РТГА осуществляли, как описано ранее [1].

Выделение штаммов вирусов гриппа А и В проводили из аутопсийного материала (фрагменты бронхов, трахеи, легких) от людей, умерших предположительно от гриппа, и клинического материала (мазки из носа и зева в транспортной среде) от лиц с тяжелым течением ОРВИ, а также от вакцинированных против гриппа накануне эпидемии. Первичный материал собирали и тестировали в полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) сотрудники региональных Центров гигиены и эпидемиологии. Все положительные образцы поступали в ГНЦ ВБ «Вектор», полученный материал использовали для выделения изолятов в клеточной культуре МДСК путем заражения монослоя клеток [8]. Типирование выделенных изолятов вирусов гриппа А и В и изучение их антигенных свойств проводили в РТГА [8], используя постинфекционные хорьковые референс-сыворотки, предоставленные СЦ ВОЗ по гриппу (Атланта, США). Результаты типирования подтверждали методом ОТ-ПЦР с использованием наборов реагентов «РИБО-преп», «АмплиСенс Influenza virus A/B-FL» и «АмплиСенс Influenza virus A-тип-FL» (ЦНИИЭ, Москва). Секвенирование генов HA, NA и NS проводили по методу Сэнгера. Для нескольких штаммов были получены полногеномные нуклеотидные последовательности на платформе MiSeq, Illumina.

Тестирование чувствительности к ингибиторам нейраминидазы осельтамивиру и занамивиру проводили флуоресцентным методом [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для оценки популяционного иммунитета к вирусам гриппа А и В было исследовано 1757 образцов сыворотки крови, собранных на территории РФ от здоровых доноров осенью 2017 г. Ни один из образцов даже в разведении 1:10 не реагировал в РТГА с антигенами А(H5N8) и А(H7N9). Более трети образцов, собранных в разных регионах России, имели значимые титры (1:40 и выше) в РТГА с вакцинными штаммами вируса



Доля (%) сывороток крови, собранных осенью 2017 г., имеющих значимые титры в РТГА с вакцинными штаммами вирусов гриппа типа А и В.

гриппа А подтипов H1N1pdm09 и H3N2 (рис.). Несколько ниже оказалась доля серопозитивных лиц в отношении вируса гриппа В генетической линии Виктория. Сравнение полученных результатов с данными серомониторинга накануне предыдущего эпидемиологического сезона [5] показало некоторое снижение уровня популяционного иммунитета у населения Европейской части РФ, Урала и Западной Сибири к вирусу гриппа А(H1N1)pdm09, в то время как доля серопозитивных лиц к вирусу

A(H3N2), напротив, увеличилась, что может быть связано с преобладанием в циркуляции в сезоне 2016-2017 штаммов подтипа H3N2.

В эпидемическом сезоне 2017-2018 г. в ГНЦ ВБ «Вектор» поступил аутопсийный и клинический материал из Центров гигиены и эпидемиологии 61 субъекта РФ. Всего было получено 983 первичных образца, положительных на наличие РНК вирусов гриппа А и В, в том числе 90 аутопсийных образцов, 757 образцов от пациентов с тяжелым течением заболевания и 136 образцов от пациентов, вакцинированных от гриппа осенью 2017 года (табл.).

Данные о пациентах с тяжелым течением гриппа в эпидемическом сезоне 2017-2018 гг.

Группа, пол	Летальные случаи	Тяжелые случаи с благоприятным исходом	Вакцинированные осенью 2017 г.
Пол			
М	60	266	49
Ж	30	438	72
Не известен	-	53	15
Возраст			
0-18	14	232	81
19-59	52	385	41
60 и старше	22	70	11
Не известно	2	70	3
Беременные	1	146	12
Вакцинированные	4	132	136
Всего	90	757	136

Из первичного материала было выделено 60 штаммов вируса гриппа А (среди них 47 изолятов А(H1N1)pdm09 и 13 изолятов А(H3N2) и 27 штаммов вируса гриппа В, из которых 25 изолятов относились к генетической линии Yamagata и 2 к генетической линии Victoria. По антигенным свойствам все штаммы вируса гриппа А(H1N1)pdm09 были подобны вакцинному штамму А/Michigan/45/2015, штаммы вируса гриппа В/Yamagata подобны вакцинному штамму В/Phuket/3073/2013, а штаммы вируса гриппа В/Victoria — вакцинному штамму В/Brisbane/60/2008. Изоляты вируса гриппа А(H3N2) по культуральным свойствам были подобны штаммам, выделенным в предыдущем сезоне: агглютинация эритроцитов морской свинки появлялась только при повторном пассировании в культуре клеток MDCK, при этом лишь 7 из 13 изолятов были способны к гемагглютинации в присутствии 20 нМ осельтамивира [5]. Именно они были отобраны для анализа в РТГА. Для антигенной характеристики изолятов H3N2 была использована референсная сыворотка, полученная в СЦ ВОЗ (США) при иммунизации хорьков вакцинным штаммом А/Hong Kong/4801/2014, наработанным на развивающихся куриных эмбрионах (РКЭ). Обратные титры сыворотки в РТГА с изолятами H3N2 были ниже гомологичного титра в 8 раз. Подобное снижение сродства штаммов H3N2 к сывороткам, полученным на антиген эмбрионального происхождения, отмечается учеными во всем мире, при этом анализ вирусов с сывороткой, полученной на культуральный антиген, не выявляет у них значительных антигенных отличий от вакцинного штамма [3].

Нами была определена нуклеотидная последовательность генов гемагглютини-на 36 штаммов, проведен филогенетический анализ, по результатам которого вирусы гриппа А(H1N1)pdm09 от 13 случаев заболевания оказались в кладе 6В.1; 13 вирусов гриппа А(H3N2) в кладе 3С.2а (из них 7 — в подкладе 3С.2а1, 4 в подкладе 3С.2а2 и 2 в подкладе 3С.2а3); 2 штамма В/Victoria в кладе 1А и 8 вирусов В/Yamagata в кладе 3.

По результатам фенотипического исследования все выделенные изоляты вирусов гриппа А(H3N2) и В были чувствительны к действию антинейраминидазных препаратов осельтамивира и занамивира. Среди 47 проанализированных изолятов А(H1N1)pdm09 был выявлен лишь 1 штамм А/Samara/117868/2018, характеризовавшийся значительной резистентностью к действию осельтамивира, при этом его восприимчивость к занамивиру оставалась нормальной. Генетический анализ выявил наличие в нейраминидазе аминокислотной замены Н275Y, ассоциируемой с резистентностью к осельтамивиру среди вирусов А(H1N1)pdm09.

В отличие от 2015–2016 и 2016–2017 гг., когда в начале эпидемического периода в Северном полушарии в циркуляции преобладал один из подтипов вируса гриппа А (H1N1pdm09 и H3N2, соответственно), а вирусы гриппа В получали распространение в конце сезона, в 2017–2018 гг. с самого начала наблюдалась совместная циркуляция штаммов типа А и В. Для США было характерно значительное преобладание вирусов гриппа А (70%) над вирусами гриппа В (30%), при этом среди вирусов гриппа А 85% относились к подтипу H3N2 [3]. Для большинства же других стран Северного полушария было характерно сопоставимое распространение вирусов двух типов с небольшим перевесом в сторону гриппа А (Канада, 57%) или в сторону гриппа В (Европа, 56%). Разные страны в Европе характеризовались преобладанием одного из двух подтипов вируса гриппа А (в Великобритании — H3N2; во Франции, Германии, Италии -H1N1pdm09), но в целом по региону распространенность обоих подтипов была примерно равной. В Китае вирусы гриппа А и В приблизительно в равных пропорциях циркулировали с 46 недели 2017 г. по 11 неделе 2018 г. На пике эпидемии (2–4 недели 2018 г.) среди вирусов гриппа А существенно преобладали штаммы A(H1N1)pdm09 [7].

Подавляющее большинство вирусов гриппа А(H1N1)pdm09, исследованных в Северной Америке и Европе, были антигенно сходны с вакцинным штаммом A/Michigan/45/2015 и входили в кладу 6В.1 [3].

Большинство штаммов A(H3N2), охарактеризованных в США, входили в кладу 3С.2а и были сходны антигенно с вакцинным штаммом A/Hong Kong/4801/2014, наработанном в культуре клеток. Однако лишь половина из этих штаммов оказалась сходной антигенно с вариантом вакцинного штамма, адаптированного к РКЭ и используемого в производстве вакцины, что может быть связано с возникновением аминокислотных замен в процессе адаптации. В результате иммунитет, формируемый у населения на адаптированный антиген, может обладать недостаточной протективностью по отношению к распространенным в природе штаммам. Подобные особенности антигенной характеристики были свойственны и вирусам H3N2 в Европе, где также преобладали представители клады 3С.2а. В эпидемическом сезоне 2018–2019 ВОЗ рекомендовала заменить H3N2-компонент вакцины на новый штамм A/Singapore/INFIMN-16-0019/2016, который, будучи наработан на РКЭ, позволяет получать сыворотки, способные лучше, хотя и не вполне оптимально, реагировать со штаммами, преобладающими в циркуляции на сегодняшний день [3].

Во всех странах Северного полушария среди вирусов гриппа В преобладали штаммы генетической линии Yamagata (89–98%), которые относились к кладе 3 и были антигенно сходны с вакцинным штаммом В/Phuket/3073/2013.

Среди встречавшихся реже в США и Европе вирусов В/Victoria значительная доля (80% в США) имела делецию шести нуклеотидов в гене гемагглютинина. Впервые подобные штаммы были выявлены в эпидемическом сезоне 2016–2017. Они отличаются антигенно от вакцинного штамма В/Brisbane/60/2008, в связи с чем их типичный представитель В/Colorado/06/2017 по рекомендации ВОЗ был включен в состав вакцины на сезон 2018–2019 [3].

В России в эпидемическом сезоне 2017–2018 не было доминирующего субтипа вируса: в течение всего периода практически в равной пропорции циркулировали штаммы A(H1N1)pdm09, A(H3N2) и В/Yamagata. Встречались единичные случаи заболевания вирусом В/Victoria, однако вариантов с делецией выявлено не было. Все выделенные нами изоляты A(H1N1)pdm09, В/Yamagata и В/Victoria были антигенно сходны с соответствующими вакцинными штаммами. Проанализированные в РТГА изоляты A(H3N2) отличались от вакцинного штамма A/Hong Kong/4801/2014, культивированного на РКЭ, что можно объяснить возникновением изменений в его антигенных свойствах в процессе адаптации.

Из проанализированных нами 87 изолятов вирусов гриппа А и В лишь один штамм, типированный как A(H1N1)pdm09, выделенный от летального случая забо-

левания гриппом, был резистентен к осельтамивиру, оставаясь при этом восприимчивым к занамивиру, и имел аминокислотную замену N275Y в нейраминидазе. Не известно, принимал ли заболевший осельтамивир. Резистентность может возникать как в результате селекции вирусной популяции у пациентов, принимающих антинейраминидазную терапию, так и в результате спонтанной мутации. Тем не менее, в эпидемическом сезоне 2017-2018 не более 1% проанализированных в Северном полушарии вирусов гриппа характеризовалось снижением чувствительности к ингибиторам нейраминидазы [3]. Данный класс препаратов по-прежнему является высокоэффективным и специфичным средством в лечении гриппа и рекомендуется к применению на раннем этапе развития заболевания.

В РФ накануне эпидемического сезона 2017-2018 были провакцинированы 67,4 млн человек, что составило 46,6% от численности населения страны. В группах риска доля привитых оказалась еще выше (89% работников медицинских учреждений, 85% работников образовательных учреждений, 70% студентов, 63% людей старше 60 лет) [URL: <http://www.influenza.spb.ru/news/id394/>]. В эпидемическом сезоне 2017-2018 к нам поступили пробы от 136 случаев заболевания гриппом среди вакцинированных осенью 2017 года, из них в 60% случаев заболевшие являлись детьми в возрасте до 18 лет. Эти данные можно отчасти объяснить предположением, в соответствии с которым защитные титры антител для детей должны быть существенно выше, чем для взрослых (1:110 по сравнению с 1:40) [2]. Принятие во внимание этой информации, вероятно, могло бы оптимизировать разработку гриппозной вакцины для данной возрастной группы.

Несомненно, массовая вакцинация населения снизила остроту эпидемии гриппа в России в сезоне 2017-2018 гг. Эпидемический подъем заболеваемости начался на 6-7 неделях 2018 года, в целом по стране эпидемия длилась 12 недель, но во многих субъектах она закончилась через 5-6 недель. Всего переболело 10,4 % населения. Удельный вес больных тяжелой острой респираторной инфекцией гриппозной этиологии, помещенных в отделение интенсивной терапии (2,3%), был меньше, чем в предыдущем сезоне (5,4%), и минимальным за последние 6 сезонов [URL: <http://www.influenza.spb.ru/news/id394/>].

В трехвалентной вакцине, рекомендованной ВОЗ к использованию в эпидемическом сезоне по гриппу 2018-2019, были заменены сразу 2 компонента: H3N2 (штамм A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 вместо штамма A/Hong Kong/4801/2014) и B/Victoria (штамм B/Colorado/06/2017 из новой подклады 1A.1 вместо штамма B/Brisbane/60/2008) [3]. Новый вариант вируса гриппа B/Victoria, имеющий делецию в гене гемагглютинаина, антигенно отличается от циркулировавших ранее штаммов. Данный вариант еще не получил распространения в России, в связи с чем иммунизация накануне следующего эпидемического сезона является в особенности актуальной.

Авторы выражают глубокую благодарность коллегам из Центров гигиены и эпидемиологии субъектов РФ за сбор и своевременную доставку первичных образцов в ГНЦ ВБ «Вектор». Работа выполнена в рамках тем государственного задания ГЗ-1/16 и ГЗ-2/18 (ГНЦ ВБ «Вектор»).

ЛИТЕРАТУРА

1. Шиповалов А.В., Дурманов А.Г., Петрова О.В., Иванова Е.В., Епанчинцева А.В., Святченко С.В. Мальцев С.В., Марченко В.Ю., Михеев В.Н., Рыжиков А.Б., Ильичева Т.Н. Анализ популяционного иммунитета к гриппу накануне эпидемических сезонов в 2014 г. и 2015 г. Журн. микробиол. 2017, 2: 53-60.
2. Black S., Nicolay U., Vesikari T. et al. Hemagglutination inhibition antibody titers as a correlate of protection for inactivated trivalent influenza vaccines in children. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2011, 30(12): 1081-1085.

- Garten R., Blanton L., Elal A.I. et al. Update: influenza activity in the United States during the 2017-18 season and composition of the 2018-19 influenza vaccine. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2018, 67(22): 634-642.
- Ilyicheva T., Durymanov A., Susloparov I. et al. Fatal cases of seasonal influenza in Russia in 2015-2016. *PLoS One.* 2016, 11(10): e0165332.
- Ilyicheva T.N., Durymanov A.G., Svyatchenko S.V. et al. Humoral immunity to influenza in an at-risk population and severe influenza cases in Russia in 2016-2017. *Arch.Virol.* 2018. doi: 10.1007/s00705-018-3904-9.
- Marchenko V.Y., Susloparov I.M., Komissarov A.B. et al. Reintroduction of highly pathogenic avian influenza A/H5N8 virus of clade 2.3.4.4. in Russia. *Arch. Virol.* 2017, 162(5): 1381-1385.
- World Health Organization FluNet database. URL: http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/flunet/en/.
- World Health Organization surveillance network: Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. Geneva: WHO Press, 2011.

Поступила 03.12.18

Контактная информация: Святченко Светлана Викторовна,
630559, Кольцово, Новосибирская область, р. т. (383)363-47-00

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Н.А.Контаров^{1,2}, И.В.Погарская², Н.В.Юминова²

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТОВ, ОБЛАДАЮЩИХ ПРОТИВОВИРУСНЫМ ДЕЙСТВИЕМ, НА АКТИВНОСТЬ НЕЙРАМИНИДАЗЫ ВИРУСА ГРИППА И ПРОЦЕСС ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ В МИТОХОНДРИЯХ КЛЕТОК ОРГАНИЗМА-ХОЗЯИНА

¹Первый московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова, ²НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва

Цель. Изучение ингибирующего действия полиэлектролитов (ПЭ), обладающих противовирусным действием, в отношении нейраминидазы вируса гриппа. Определение типа и константы ингибирования. Изучение влияние полиэлектролитов на процесс окислительного фосфорилирования в митохондриях клеток организма-хозяина. *Материалы и методы.* В работе использовались очищенные штаммы вируса гриппа: А/ВЧП/Вейбридж (H₇N₇), А/Маллард Пенсильвания/10218/84 (H₃N₂), А/NI/BRG-14 (H₃N₁) с исходным инфекционным титром 4,5 lg ТЦД₅₀/мл. Растворы ПЭ полистиролсульфонат со степенью полимеризации 8 (ПСС-8) в концентрациях 0,5 — 4,0 мМ и полиаллиламин (6 кДа) ПАА (6 кДа) в концентрациях 0,5-4,0 мкМ. Для определения активности нейраминидазы вируса гриппа использовали штаммы вируса гриппа после удаления низкомолекулярных ингибиторов нейраминидазы диализом против бидистиллированной воды. Субстратом нейраминидазы являлся фетуин в конечных концентрациях от 0,052 до 1,2 мкМ для ПАА (6 кДа) и от 0,052 до 1,2 мМ для ПСС-8. В качестве количественных характеристик дыхания и фосфорилирования митохондрий использовали дыхательные коэффициенты по Ларди-Вельману (ДКл) и Чансу-Вильямсу (ДКч), а также отношение АДФ/О. Митохондрии выделяли из скелетных мышц. Определение дыхательных коэффициентов и отношения АДФ/О проводили полярографическим методом. *Результаты.* Выявлен неконкурентный тип ингибирования указанных ПЭ в отношении нейраминидазной активности вирусов гриппа с константами ингибирования $K_1 = 1,6 \pm 0,08$ мкМ для ПАА (6 кДа) и $K_1 = 1,7 \pm 0,085$ мМ для ПСС-8. Определены дыхательные коэффициенты и отношение АДФ/О в отсутствии и после добавления к митохондриям ПСС-8 и ПАА (6 кДа) в концентрациях 20 мМ и 10 мкМ, соответственно. Наблюдалось снижение дыхательных коэффициентов и отношения АДФ/О, что указывало на ингибирование ферментов электрон-транспортной цепи митохондрий. При концентрациях менее 20 мМ и 10 мкМ для ПСС-8 и ПАА (6 кДа) все показатели достоверно не менялись. *Заключение.* Неконкурентный механизм ингибирования нейраминидазной активности вирусов гриппа ПЭ объясняется кон-