

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Ларионова Н.В., Киселёва И.В., Руденко Л.Г.

## ЭВОЛЮЦИЯ ВИРУСОВ ГРИППА ПО ПРИЗНАКУ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ТЕМПЕРАТУРЕ РЕПРОДУКЦИИ

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 196376, г. Санкт-Петербург, Россия

**Введение.** Оценка способности вирусов гриппа к репродукции при температурных режимах за пределами оптимальных значений приближает нас к пониманию закономерностей их эволюционной изменчивости. Температурный диапазон репродукции эпидемических вирусов также является важным показателем для выбора рациональной стратегии получения аттенуированных реассортантов для живой гриппозной вакцины.

**Цель** исследования – ретроспективный анализ биологических свойств вирусов гриппа из различных пандемических и эпидемических циклов на основе их способности к репликации при температурах за пределами оптимальных значений.

**Материалы и методы.** Исследовали 234 штамма вирусов гриппа А и В человека, вызвавших эпидемии в XX–XXI веках. Инфекционную активность вирусов при разных температурах инкубации определяли в развивающихся куриных эмбрионах. Температурочувствительность и холодоустойчивость репродукции вирусов оценивали по разнице инфекционных титров при оптимальной и повышенной либо пониженной температуре инкубации.

**Результаты.** Данные ретроспективного исследования свидетельствуют о том, что диапазон чувствительности к температуре репродукции в ходе естественного дрейфа возбудителей гриппа А и В подвержен закономерной изменчивости, которая имеет циклический характер.

**Обсуждение.** Для оценки эволюции и эпидемического потенциала вирусов гриппа важно не только регистрировать изменение их антигенных свойств, но и принимать во внимание показатель температурочувствительности репродукции. Оба эти свойства вносят вклад в проявление вирулентности вируса. Продолжительная циркуляция температурочувствительных вирусов может быть предпосылкой появления кардинально нового дрейфового варианта и даже шифта.

**Заключение.** Анализ изменчивости биологических свойств вирусов гриппа приближает к постижению возможных путей их эволюции, что способствует разработке рациональных методов предупреждения распространения вирусов и вызываемой ими заболеваемости.

**Ключевые слова:** эволюция вирусов гриппа; температурочувствительность репродукции (*ts-фенотип*); холодоустойчивость репродукции (*ca-фенотип*).

**Для цитирования:** Ларионова Н.В., Киселева И.В., Руденко Л.Г. Эволюция вирусов гриппа по признаку чувствительности к температуре репродукции. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии (ЖМЭИ)*. 2019; (6):47-55.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-6-47-55>

Larionova N.V., Kiseleva I.V., Rudenko L.G.

## EVOLUTION OF INFLUENZA VIRUSES BASED ON SENSITIVITY TO TEMPERATURE OF REPLICATION

Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of Experimental Medicine», Saint Petersburg, 196376, Russia

**Introduction.** The assessment of the ability of influenza viruses to replication at temperature conditions beyond optimal values approaches us to understanding the laws of their evolutionary variability. The temperature range for the reproduction of epidemic viruses is also an important indicator for choosing a rational strategy for producing attenuated reassortants for a live influenza vaccine.

The **purpose** of the study is a retrospective analysis of the biological properties of influenza viruses from various pandemic and epidemic cycles based on their ability to replicate at temperatures beyond optimal values.

**Для корреспонденции:** Ларионова Наталья Валентиновна, д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела вирусологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 196376, г. Санкт-Петербург.  
E-mail: [nvlarionova@mail.ru](mailto:nvlarionova@mail.ru)

**Materials and methods.** We studied 234 strains of human influenza A and B viruses that caused epidemics in the 20<sup>th</sup> – 21<sup>st</sup> centuries. The infectious activity of viruses at different incubation temperatures was determined in developing chicken embryos. The temperature sensitivity and cold resistance of viruses replication were estimated as a difference of infectious titers at the optimum and raised or lowered incubation temperatures.

**Results.** Data from a retrospective study indicate that the range of sensitivity to replication temperature during the natural drift of influenza A and B pathogens is subject to regular variability that has a cyclic character.

**Discussion.** To assess the evolution and epidemic potential of influenza viruses, it is important not only to register a change in their antigenic properties but also to take into account the temperature sensitivity of the reproduction. Both of these properties contribute to the manifestation of the virulence of the virus. Prolonged circulation of temperature-sensitive viruses can be a prerequisite for the appearance of a radically new drift variant and even shift. **Conclusion.** The analysis of the variability of the biological properties of influenza viruses approaches to the comprehension of possible ways of their evolution, that contributes to the development of rational methods for preventing the spread of viruses and the incidence caused by them.

**Keywords:** *evolution of influenza viruses; temperature sensitivity of reproduction (ts phenotype); cold resistance of reproduction (ca phenotype).*

**For citation:** Larionova N.V., Kiseleva I.V., Rudenko L.G. Evolution of influenza viruses based on sensitivity to temperature of replication. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii (Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology, Russian journal)*. 2019; (6):47-55. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-6-47-55>

**For correspondence:** Natalie V. Larionova, Doctor of Biological Sciences, Leading Research Associate of the Department of Virology FSBSI «Institute of Experimental Medicine», Saint Petersburg, 196376, Russia. E-mail: [nvlarionova@mail.ru](mailto:nvlarionova@mail.ru)

**Information about authors:**

Larionova N.V., <http://orcid.org/0000-0003-1171-3383>

Kiseleva I.V., <http://orcid.org/0000-0002-3892-9873>

Rudenko L.G., <http://orcid.org/0000-0002-0107-9959>

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 21 November 2018

Accepted 12 March 2019

## Введение

Движущей силой эволюции эпидемических вирусов гриппа является способность противостоять нейтрализующему действию не только специфических факторов иммунитета, но и неспецифическим воздействиям, подавляющим вирус. Мутации, направленные на воспроизведение (самосохранение), способны приводить к возникновению вирионов с изменёнными биологическими свойствами, что может проявляться новой симптоматикой заболеваний.

Важной, но малоизученной характеристикой вирусов гриппа, связанной с познанием закономерностей их эволюционной изменчивости и патогенности, является способность к репродукции при температурных режимах за верхним и нижним пределами оптимальных значений. Экспериментально выявленный диапазон температур, допустимый для репродукции вирусов гриппа А в развивающихся куриных эмбрионах (РКЭ), составляет 25–40 °С при температурном оптимуме 32–36 °С, а вирусов гриппа В – 25–38 °С при оптимуме 32–35 °С.

На начальном этапе изучения вирусов гриппа сформировалось однозначное представление, просуществовавшее до середины 1970-х годов, о том, что все циркулирующие вирусы гриппа человека, включая возбудителей эпидемий А(Н1N1) 1930–1940-х годов, А(Н2N2), родоначальников пандемии А(Н3N2) и вирусы гриппа В, обладают

высокой репродуктивной активностью при повышенных температурах [1–6]. Устойчивость к превышающим оптимальные значения температурам позволяет вирусам проникать в нижние отделы респираторного тракта человека, обеспечивает их вирулентность и способность успешно противостоять защитным факторам организма [4].

Однако позднее среди циркулирующих вирусов гриппа была выявлена достаточно широкая вариабельность по признаку температурочувствительности/устойчивости репродукции (*ts/non-ts*-фенотип) [4, 7]. Наряду с варьирующими по температурочувствительности вирусами были обнаружены штаммы, отличающиеся по вирулентности [7].

Температурочувствительные мутанты вируса гриппа являются объектом пристального интереса при разработке реассортантных аттенуированных штаммов для живой гриппозной вакцины. Полученные лабораторным путем *ts*-вирусы всегда аттенуированы для человека. Доноры аттенуации – адаптированные к низким температурам инкубации лабораторные *ts*-мутанты – лежат в основе метода создания аттенуированных реассортантных вакцинных штаммов [8–11].

Факт обнаружения природного температурочувствительного вируса гриппа впервые отмечен в 1973 г., когда из популяции температуроустойчивого эпидемического вируса А(Н3N2) при культивировании в РКЭ без специальной адаптации был выделен *ts*-клон [12]. Следом за этим исследованием факты циркуляции штаммов серотипа А(Н3N2), характеризующихся несвойственной для эпидемических вирусов прежних лет температурочувствительностью репродукции при 40 °С, были обнаружены в период эпидемии 1975/76 гг. [13, 14]. В эпидемический сезон 1977/78 гг. 17 из 26 исследованных изолятов серотипа А(Н1N1) и 2 из 11 изолятов А(Н3N2) имели *ts*-фенотип. Вирусы, изолированные в одном городе и даже от одного индивидуума, значительно варьировали по признаку температурочувствительности. Вирус А(Н1N1) со сниженной до 38 °С способностью к репродукции в культуре клеток MDCK был к тому же частично аттенуирован для человека. *Ts*-мутант с ограничительной температурой репродукции 37 °С оказался ещё более аттенуированным в тесте на волонтерах. По мнению исследователей, появление в природе вирусов с *ts*-фенотипом, наряду с *non-ts*, коррелирует с наблюдением о том, что вирусы варьирующей вирулентности естественно социркулируют в сообществе [14].

Дальнейшие исследования отличающихся по температурочувствительности штаммов на серонегативных к этим возбудителям волонтерах подтвердили, что температурочувствительные вирусы А(Н1N1), у которых ограничительная температура репродукции не превышала 38 °С, вызывали лёгкие инфекции, тогда как изолят с предельно допустимой температурой репродукции 39 °С был значительно более реактогенным. Авторы сделали вывод о широком распространении в популяции различающихся по температурочувствительности вирусов гриппа и, вероятно, характеризующихся различной вирулентностью [14].

Пропорция *ts*-вирусов неуклонно возрастала с годами наблюдения. Так, в 1949–1957 гг. *ts*-вирусы составляли 8,3% всех исследованных изолятов серотипа А(Н1N1), тогда как в 1979–1980 гг. 82,4% популяции вирусов Н3N2 характеризовалось температурочувствительностью [14].

Нами проведён ретроспективный анализ эпидемических вирусов гриппа А и В человека, выделенных в разных регионах, в различные эпидемические и пандемические циклы, по способности к репродукции в РКЭ при температурах за пределами оптимальных значений с целью проследить эволюцию признака температурочувствительности.

### Материалы и методы

Эталонные эпидемические штаммы вирусов гриппа А (Н1N1, Н2N2, Н3N2) и В, изоляты из эпидемий разных лет и пандемические вирусы получены из коллекций Центра по контролю и предупреждению заболеваемости (CDC, США), Национального института биологических стандартов и контроля (NIBSC, Великобритания), отдела вирусологии им. А.А. Смородинцева ФГБНУ «Институт экспериментальной

медицины» (Россия), ФГБУ «НИИ гриппа» им. А.А. Смородинцева» Минздрава России (Россия). Все вирусы прошли ограниченное число пассажей в РКЭ.

Инфекционную активность вирусов оценивали при репродукции в РКЭ [15] и выражали в  $\lg$  ЭИД<sub>50</sub>/мл.

Для характеристики чувствительности вирусов к температуре инкубации использовали показатель RCT (reproductive capacity at different temperatures), который представляет собой разницу в инфекционных титрах при оптимальной и субоптимальной температуре инкубации.

Температурочувствительность вирусов гриппа оценивали по разности инфекционных титров при оптимальной (32–33 °С) и повышенной до 40 °С (для вирусов гриппа А) либо до 37–38 °С (для вирусов гриппа В) температуре. Вирусы считали температурочувствительными, т.е. проявляющими *ts*-фенотип (*temperature sensitive*), при RCT > 4,5  $\lg$  ЭИД<sub>50</sub>/мл, или температуроустойчивыми (*non-ts*-фенотип), при RCT < 3,5  $\lg$  ЭИД<sub>50</sub>/мл. При RCT 3,5–4,5  $\lg$  ЭИД<sub>50</sub>/мл вирусы оценивали, как характеризующиеся  $\pm ts$ -фенотипом.

Холодоустойчивость вирусов гриппа оценивали по разности инфекционных титров при оптимальной (32–33 °С) и пониженной до 25 °С температуре инкубации. Вирусы считали холодоустойчивыми т.е. проявляющими *ca* (*cold adapted*) фенотип, при RCT<sub>25</sub> < 3,5  $\lg$  ЭИД<sub>50</sub>/мл или холодочувствительными (*non-ca* фенотип), при RCT<sub>25</sub> > 4,5  $\lg$  ЭИД<sub>50</sub>/мл. При RCT<sub>25</sub> 3,5–4,5  $\lg$  ЭИД<sub>50</sub>/мл вирусы оценивали, как обладающие  $\pm ca$ -фенотипом.

## Результаты

Изучен фенотип 234 штаммов эпидемических вирусов гриппа А и В человека: 65 – А(Н1N1), 23 – А(Н2N2), 84 – А(Н3N2) и 62 – В.

Результаты ретроспективного исследования вирусов гриппа человека по признаку температурочувствительности репродукции свидетельствуют о том, что температурный диапазон репродукции подвержен значительной изменчивости в ходе естественного дрейфа возбудителей гриппа А (Н1N1, Н2N2 и Н3N2) и В («ранние» вирусы, вирусы линий В/Виктория/2/87- и В/Ямагата/16/88-подобных).

На **рис. 1** в качестве примера представлена характеристика эволюции признака температурочувствительности репродукции в РКЭ вирусов гриппа А(Н3N2) при 40 °С. Возбудитель пандемии А(Н3N2) А/Гонконг/1/68 характеризовался температуроустойчивостью репродукции при 40 °С. Его дрейфовые варианты сохраняли *non-ts*-фенотип до 1975 г. 61% исследованных изолятов 1976 г. отличались температурочувствительностью, как и их эталонный представитель А/Москва/406/76, тогда как 22 и 17% обладали соответственно  $\pm ts$ - и *non-ts*-фенотипом.

Эталонный вирус эпидемии 1977 г. А/Техас/1/77 был температуроустойчив, но уже в 1979 г. он уступил место чувствительному к повышенной температуре инкубации вирусу А/Бангкок/1/79 и его антигенной разновидности А/Бангкок/2/79. Температурочувствительные вирусы А(Н3N2) преобладали в циркуляции до 1984 г. 73% исследованных представителей этого периода характеризовались *ts*-фенотипом, включая эталонный вирус А/Филиппины/2/82, остальные 27% имели  $\pm ts$ -фенотип.

В 1985–1986 гг. среди циркулирующих штаммов наблюдалась гетерогенность по анализируемому признаку. Гетерогенность по *ts*-фенотипу соответствовала антигенной гетерогенности циркулировавших в этот временной интервал вирусов: наряду с температурочувствительными вирусами, такими как эталонные А/Миссисипи/1/85 и А/СССР/2/85, встречались изоляты предшествующих эпидемических циклов, отличающиеся по *ts*-фенотипу и близкородственные А/Техас/1/77, А/Бангкок/1/79 и А/Филиппины/2/82 [16].

В 1987–1995 гг. продолжилась циркуляция температурочувствительных вирусов, включавших эталонные штаммы А/Сычуань/2/87, А/Шангдонг/9/93, А/Иоганнесбург/33/94, А/Нанчанг/933/95.

В 1997 г. им на смену пришли устойчивые к повышенной температуре штаммы,

циркуляция которых прослежена нами до 1999 г. (представители – эталонные вирусы А/Сидней/5/97, А/Панама/2007/99, А/Москва/10/99).

С 2000 по 2004 г. попеременно и одновременно циркулировали вирусы, различающиеся по температурочувствительности.

Подобная картина наблюдалась также среди вирусов гриппа А других пандемических циклов и у вирусов гриппа В. Начало пандемического цикла у вирусов гриппа А(H2N2), у ранних представителей вирусов гриппа А(H1N1) и В неизменно характеризовалось циркуляцией температуроустойчивых возбудителей. Дальнейшая эволюция приводила к попеременной циркуляции *non-ts*- и *ts*-вирусов. Ход эволюции вирусов гриппа по температурной характеристике репродукции представляется как циклическая смена циркулирующих фенотипов: *non-ts* → *non-ts* и *ts* → *ts* → *ts* и *non-ts* → *non-ts* и т.д. (рис. 2).

Каждый сероподтип вируса гриппа А(H1N1 и H3N2) и обе линии вируса гриппа В (В/Виктория и В/Ямагата) прошли несколько циклов волнообразного изменения признака температурочувствительности. Даже вирусы «азиатского» гриппа А(H2N2), несмотря на непродолжительный, всего 11-летний период циркуляции, характеризовались эволюционным переходом от *non-ts*- к *ts*-фенотипу.

Характеризуя температуроустойчивость репродукции у вирусов гриппа В разных линий, можно сделать вывод о том, что при общей тенденции к снижению порога устойчивости к повышенной температуре инкубации, представители линии В/Виктория чаще обладали более выраженным *non-ts*-фенотипом по сравнению с вирусами линии В/Ямагата, но уступали по этому признаку стабильно температуроустойчивым «ранним», циркулировавшим до эволюционного разделения на две линии вирусам гриппа В (см. таблицу).

Сравнительный анализ температуроустойчивости репродукции эпидемических штаммов вируса гриппа В при 37 °С, циркулировавших с 1940 г. по настоящее вре-

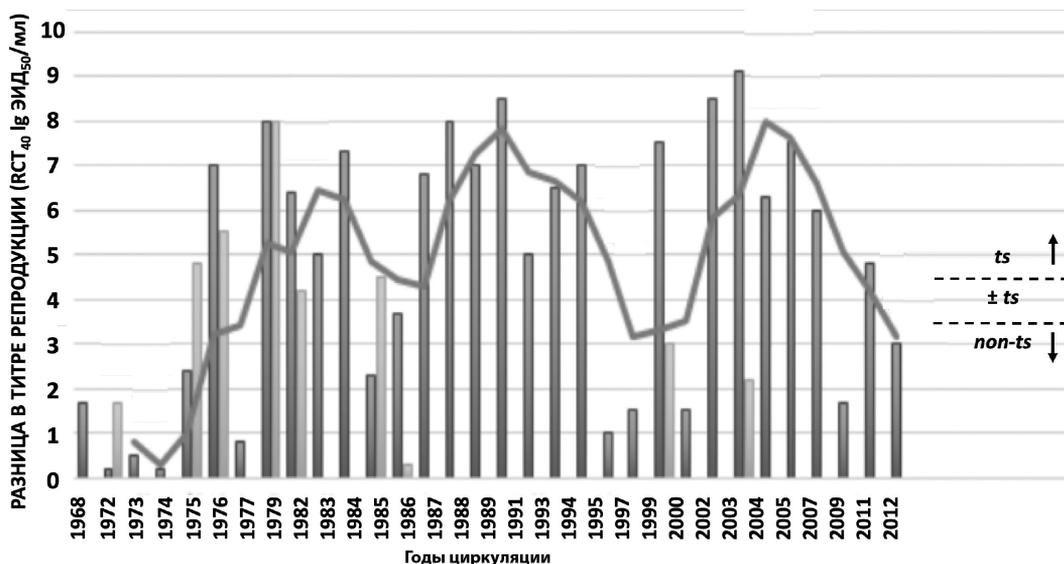


Рис. 1. Эволюция вирусов гриппа А (H3N2) по признаку температурочувствительности репродукции в развивающихся куриных эмбрионах/

По оси абсцисс – годы циркуляции возбудителя, по оси ординат – разница в инфекционных титрах репродукции вируса при 33 и 40 °С, выраженная в lg ЭИД<sub>50</sub>/мл (RСТ<sub>40</sub>). Кривая линия демонстрирует тенденцию к изменчивости исследуемого признака. Направление стрелки вверх – тенденция к усилению температурочувствительности вирусов, вниз – температуроустойчивости.

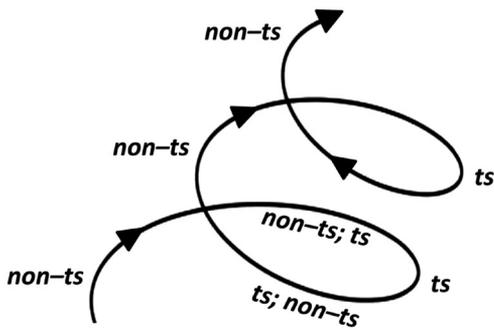


Рис. 2. Схематическое изображение циклической смены фенотипов циркулирующих вирусов гриппа А и В по признаку температурочувствительности репродукции.

вали вирусы, обладающие *ts*- и *non-ts*-фенотипом, можно рассматривать как переходный период от температурорезистентных к температурочувствительным вирусам.

Со временем варьирующие по чувствительности к температуре репродукции вирусы окончательно вытеснялись температурочувствительными (рис. 3, см. таблицу). Примечательно, что накануне пандемии А(Н1N1)рdm, с 2005 по 2009 г. включительно, циркулирующие штаммы сероподтипа А(Н3N2) так же, как вирусы гриппа В, характеризовались чувствительным к повышению температуры фенотипом. Такая же тенденция отмечена и для вирусов А(Н1N1), среди которых с 2006 г. выделялись исключительно температурочувствительные. Они циркулировали вплоть до 2009 г., когда их вытеснил стремительно распространившийся и вызвавший новую пандемию высоко-температуроустойчивый вирус А/Калифорния/07/09 (Н1N1)рdm.

Пандемический вирус А/Калифорния/07/09 (Н1N1)рdm открыл очередной цикл циркуляции *non-ts*-вирусов – он обладает высокой репродуктивностью при 40 °С ( $RCT_{40} = 1,2 \lg ЭИД_{50}/мл$ ). Антигенно близкородственные А(Н1N1)рdm09 вирусы, перейдя в разряд сезонных возбудителей, сохраняют температуроустойчивый фенотип по настоящее время.

Температуроустойчивые вирусы вновь появились и среди вирусов А(Н3N2), начиная с А/Виктория/361/11, и среди вирусов гриппа В: В/Массачусетс/2/12 (линия В/Ямагата), В/Техас/02/13 (линия В/Виктория).

Нами отмечены также случаи циркуляции эпидемических вирусов А и В, обладающих устойчивостью к пониженной до 25 °С температуре инкубации ( $RCT_{25} \leq 3,5 \lg ЭИД_{50}/мл$ ). Такой характеристикой обладали, например, вирусы А/Пекин/262/95 (Н1N1), А/Перт/13/95(Н1N1), А/Иоханнесбург/82/96 (Н1N1), А/Панама/2007/99 (Н3N2), В/Джиллин/20/03, В/Техас/06/11.

### Обсуждение

Потенциальная способность вирусов гриппа А человека к репродукции при повышенной до 39–40 °С температуре, вероятно, обусловлена происхождением по крайней

мя, позволяет более детально проследить эволюцию *ts*-признака, и так же, как у вирусов гриппа А, отметить существование цикличности. Так, вирусы, выделенные в 1940–1970-х годах, в подавляющем большинстве представляли собой температуроустойчивые варианты, на смену им пришли варьирующие по *ts*-фенотипу штаммы линии В/Виктория, их сменили тоже варьирующие по температурочувствительности вирусы линии В/Ямагата.

После 2002 г. все циркулирующие В/Ямагата-подобные вирусы были температурочувствительными. Также температурочувствительностью характеризовались все циркулировавшие с 2005 г. вирусы линии В/Виктория. Промежуток времени, когда одновременно циркулиро-

### Эволюция антигенных линий вирусов гриппа В по признаку температуроустойчивости репродукции (по данным определения инфекционной активности в развивающихся куриных эмбрионах)

<i>non-ts</i> -фенотип при 38 °С	<i>non-ts</i> фенотип при 37 °С
100% «ранних» вирусов гриппа В	100% «ранних» вирусов гриппа В
50% эталонных вирусов В/Виктория/2/87	71% эталонных вирусов В/Виктория/2/87
22% эталонных вирусов В/Ямагата/16/88	44% эталонных вирусов В/Ямагата/16/88
(± <i>ts</i> -фенотип – 22% эталонных вирусов В/Ямагата/16/88)	

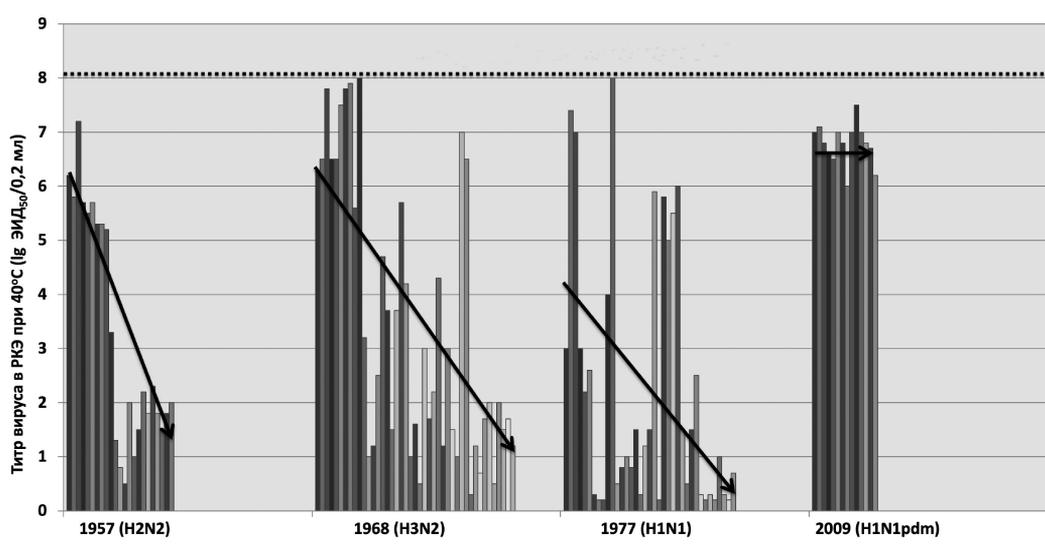


Рис. 3. Эволюция вирусов гриппа А разных пандемических циклов по признаку чувствительности к повышению температуры репродукции.

Стрелка демонстрирует тенденцию к изменению фенотипа вирусов по признаку температурочувствительности.

мере двух из трёх генов температурозависимого полимеразного комплекса от вирусов гриппа животных (птиц, свиней), у которых более высокая физиологическая температура тела (40–42 °С). При адаптации к человеку, вероятно, постепенно перенастраивается и температурный диапазон репродукции патогена. У вирусов гриппа В, имеющих антропонозный тропизм, максимально допустимая температура репродукции ниже (38 °С), хотя также подвержена циклическим изменениям.

Эпидемический потенциал вирусов, несомненно, обусловлен новизной для иммунной системы человека. Однако с ростом популяционного иммунитета к циркулирующим вирусам в их среде, вероятно, происходит эволюционный отбор в пользу обладающих более высоким потенциалом вирулентности. Эволюция антигенных и биологических свойств вирусов гриппа, по-видимому, взаимосвязанные процессы, при этом складывается мнение, что темпы эволюции температурочувствительности могут опережать антигенную изменчивость. Такую картину мы наблюдали при изучении биологических характеристик изолятов антигенно однородных вирусов (данные не представлены).

Если температурочувствительность циркулирующих вирусов гриппа опосредованно указывает на снижение вирулентности, а вместе с ростом в обществе иммунной прослойки снижает их эпидемические потенции, то факт стабильной циркуляции в течение нескольких лет температурочувствительных вирусов можно рассматривать как предпосылку появления кардинально нового антигенного варианта – шифтового или антигенно отдалённого от прежде циркулирующих вирусов дрейфового. Это предположение подтверждается длительной социркуляцией температурочувствительных вирусов гриппа А (H1N1), А(H3N2) и В перед началом пандемии 2009 г.

Роль выявленной нами холодоустойчивости некоторых природных изолятов и даже эталонных вирусов гриппа не исследована, однако сопоставление с селективно полученными *ts/ca*-донорами аттенуации А и В для живой гриппозной вакцины [8] даёт основания полагать, что *ca*-фенотип «диких» вирусов, особенно в сочетании с температурочувствительностью, является опосредованным указанием на их естественную аттенуацию (на снижение их вирулентности).

## Заключение

Эволюцию вируса гриппа следует рассматривать не только с позиции новизны поверхностных антигенов, но и принимать во внимание изменение его биологических признаков, таких как температурочувствительность репродукции. Есть основания полагать, что с учетом *ts*-фенотипа циркулирующих вирусов гриппа можно точнее оценивать эпидемические потенциалы вновь появляющихся штаммов, заблаговременно формировать более обоснованный прогноз ожидаемой заболеваемости гриппом и даже прогнозировать возможность появления антигенно обновленного возбудителя.

Анализ изменчивости биологических свойств вирусов гриппа приближает нас к пониманию возможных путей их эволюции, что способствует разработке рациональных методов предупреждения распространения вирусов и вызываемой ими заболеваемости.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА (п.п. 5-7, 10-12, 14, 15 см. REFERENCES)

1. Ермаченко Т.А., Горев Н.Е., Медведева Т.Е. Характеристика реассортантов вируса гриппа А, полученных при скрещивании эпидемических вирусов гриппа А (H3N2) 1985-86 годов с холодоадаптированным донором аттенуации А/Ленинград/134/57/17 (H2N2). В кн.: Киселев О.И., ред. *Генетическая инженерия иммуномодуляторов и вакцинных препаратов*. Ленинград; 1989: 114-27.
2. Медведева Т.Е., Иванова Н.А. Анализ температурочувствительных мутаций в геноме эпидемических штаммов вируса гриппа А. В кн.: Смородинцев А.А., ред. *Новое в эпидемиологии и профилактике вирусных инфекций*. Ленинград; 1986: 34-43.
3. Подчерняева Р.Я., Блинова В.К., Соколова Н.Н. *Изучение генетических признаков и генного состава у рекомбинантов вирусов гриппа. Молекулярная биология вируса гриппа и гепатита*. М.; 1982.
4. Полежаев Ф.И., Смородинцев А.А. Роль температурочувствительных мутантов в естественной эволюции вируса гриппа. *Вопросы вирусологии*. 1986; 31(2): 148-52.
8. Александрова Г.И., Климов А.И. *Живая вакцина против гриппа*. СПб.: Наука; 1994.
9. Смородинцев А.А. *Грипп и его профилактика*. Ленинград: Медицина; 1984.
13. Полежаев Ф.И., Александрова Г.И. Выделение температурочувствительных штаммов вируса гриппа в эпидемию, вызванную вирусом А/Виктория в 1975-1976 гг. *Вопросы вирусологии*. 1979; 24(4): 430.
16. Гринбаум Е.Б., Гордон М.А., Литвинова О.М. Этиологический надзор за гриппом в системе Всесоюзного центра по гриппу и ОРЗ. В кн.: Карпучин Г.И., ред. *Этиология и диагностика гриппа и ОРЗ*. Ленинград; 1986: 23-8.

## REFERENCES

1. Ermachenko T.A., Gorev N.E., Medvedeva T.E. Characterization of the reassortants of influenza A virus obtained by crossing the epidemic influenza A(H3N2) viruses of 1985-86 with a cold-adapted attenuation donor A/Leningrad/134/57/17 (H2N2). In: Kiselev O.I., ed. *Genetic Engineering of Immunomodulators and Vaccines [Geneticheskaya inzheneriya immunomodulyatorov i vaksinnnykh preparatov]*. Leningrad; 1989: 114-27. (in Russian)
2. Medvedeva T.E., Ivanova N.A. Analysis of temperature-sensitive mutations in the genome of epidemic strains of influenza A. In: Smorodintsev A.A., ed. *New in the Epidemiology and Prevention of Viral Infections [Novoe v epidemiologii i profilaktike virusnykh infektsiy]*. Leningrad; 1986: 34-43. (in Russian)
3. Podchernyaeva R.Ya., Blinova V.K., Sokolova N.N. *The Study of Genetic Traits and Gene Composition in Recombinants of Influenza Viruses. Molecular Biology of Influenza Virus and Hepatitis [Izuchenie geneticheskikh znakov i gennogo sostava u rekombinantov virusov grippa. Molekulyarnaya biologiya virusa grippa i gepatita]*. Moscow; 1982. (in Russian)
4. Polezhaev F.I., Smorodintsev A.A. The role of temperature-sensitive mutants in the natural evolution of the influenza virus. *Voprosy virusologii*. 1986; 31(2): 148-52. (in Russian)
5. Herlocher M.L., Maassab H.F., Webster R.G. Molecular and biological changes in the cold-adapted "master strain" A/AA/6/60 (H2N2) influenza virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1993; 90(13): 6032-6. Doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.90.13.6032>
6. Reeve P., Almond J.W., Felsenreich V., Pibermann M., Maassab H.F. Studies with a cold-recombinant A/Victoria/3/75 (H3N2) virus. I. biologic, genetic, and biochemical characterization. *J. Infect. Dis*. 1980; 142(6): 850-6. Doi: <https://doi.org/10.1093/infdis/142.6.850>
7. Oxford J.S., Öberg B. *Conquest of Viral Disease: A Topical Review of Drug and Vaccines. Volume 1*. Amsterdam: Elsevier; 1985.
8. Aleksandrova G.I., Klimov A.I. *Live Influenza Vaccine [Zhivaya vaksina protiv grippa]*. St. Petersburg: Nauka; 1994. (in Russian)
9. Smorodintsev A.A. *Influenza and its Prevention [Gripp i ego profilaktika]*. Leningrad: Meditsina; 1984. (in Russian)
10. Maassab H. F., DeBorde D.C. Development and characterization of cold-adapted viruses for use as live virus vaccines. *Vaccine*. 1985; 3(5): 355-69. Doi: [https://doi.org/10.1016/0264-410x\(85\)90124-0](https://doi.org/10.1016/0264-410x(85)90124-0)

11. Martínez-Sobrido L., Peersen O., Nogales A. Temperature sensitive mutations in influenza A viral ribonucleoprotein complex responsible for the attenuation of the live attenuated influenza vaccine. *Viruses*. 2018; 10(560): 2-29. Doi: <https://doi.org/10.3390/v10100560>
12. Chu C.M., Tian S.F., Ren G.F., Zhang Y.M., Zhang L.X., Liu G.Q. Occurrence of temperature-sensitive influenza A viruses in nature. *J. Virol.* 1982; 41(2): 353-9.
13. Polezhaev F.I., Aleksandrova G.I. Isolation of temperature-sensitive strains of the influenza virus in the epidemic caused by the A/Victoria virus in 1975-1976. *Voprosy virusologii*. 1979; 24(4): 430. (in Russian)
14. Oxford J.S., Corcoran T., Schild G.C. Naturally occurring temperature-sensitive influenza A viruses of the H1N1 and H3N2 subtypes. *J. Gen. Virol.* 1980; 48(Pt. 2): 383-9. Doi: <https://doi.org/10.1099/0022-1317-48-2-383>
15. Reed L.J., Muench H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *Am. J. Epidemiol.* 1938; 27(3): 493-7.
16. Grinbaum, E.B., Gordon M.A., Litvinova O.M. Etiological surveillance of influenza in the system of the All-Union Center for Influenza and ARI. In: Karpukhin G.I., ed. *Etiology and Diagnosis of Influenza and Acute Respiratory Infections [Etiologiya i diagnostika grippa i ORZ]*. Leningrad; 1986: 23-8. (in Russian)

Поступила 21.11.18

Принята в печать 12.03.19