

Бюллетень
пленарного заседания
Проблемной комиссии РАМН
«Грипп и гриппоподобные инфекции»

Под редакцией
академика РАМН О.И. Киселева

Санкт-Петербург

2010

На пленарном заседании Проблемной комиссии 3 марта 2010 г. были подведены итоги эпидсезона 2009/2010 гг. в РФ. На основании представленных в докладах и выступлениях данных комиссия сделала вывод о возможности дальнейшего развития пандемического процесса, вероятнее всего, в период осень-зима 2010/2011 гг.. Клинические данные и всесторонний анализ материалов лабораторного, эпидемиологического контроля за гриппом в 49 Опорных базах ФЦГ и 2 Национальных центрах по гриппу ВОЗ (НИИ гриппа СЗО РАМН и НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН) показали о необходимость дальнейшего усиления мониторинга за гриппом в РФ и координации действий всех структур здравоохранения страны по защите населения от гриппа, в первую очередь, детей от 0 до 7 лет, а также беременных женщин.

Материалы заседания представлены в Бюллетене.

Тексты выступлений и докладов публикуются в авторской редакции.

НИИ гриппа СЗО РАМН
Санкт-Петербург, 2010г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Страницы

1. Ситуация по гриппу А(Н1N1)2009 в мире по состоянию на 10 неделю 2010 г. (01-07.03)
2. Пленарное заседание Проблемной комиссии по вопросу «Основные итоги эпидсезона 2009/2010»
 - 2.1. Повестка дня
 - 2.2. Протокол заседания
 - 2.3. Решение пленарного заседания
3. Приложения:
 - № 1 – Организация мероприятий по предупреждению распространения пандемического гриппа в Российской Федерации.
А.А. Мельникова – зам. начальника Управления эпидемиологического надзора Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.
 - №2 – Отчет о работе Проблемной комиссии за 2009 г.
 - № 3 – Характеристика первой волны пандемии гриппа А(Н1N1)v в России по материалам Референс-центра по мониторингу гриппа при НИИ гриппа. А.А. Соминина, Л.С. Карпова, Е.А. Смородинцева, М.Ю. Еропкин, М.П. Грудинин, О.И. Киселев
 - №4 – Активность Центра экологии и эпидемиологии гриппа в период развития пандемии 2009 г. Е.И. Бурцева, Д.К. Львов, Л.В. Колобухина, А.Г. Прилипов, Т.В. Гребенникова
 - №5 – Изучение иммуногенности новых гриппозных вакцин против А(Н1N1)v. И.В. Красильников
 - №6 – Генетические свойства пандемического вируса А(Н1N1)v.
О.И. Киселев
 - №7 – Моновалентные пандемические вакцины семейства «Гриппол».
Н.Г. Пучкова
 - №8 – Мониторинг гриппа и ОРВИ сезон 2008-2009, начало сезона 2009-2010. С.Б. Яцышина, А.Н. Миненко, М.Н. Прадед, З.А. Зверева, А.В. Кудрявцева, Р.В. Вартамян, Ю.В. Шевцова, С.С. Ким, Т.В. Спичак, Л.К. Катосова, И.В. Зубкова, Г.А. Шипулин, В.В. Малеев
 - №9 – Выступление Н.В. Каверина
4. Состав Проблемной комиссии

**Учреждение Российской академии медицинских наук
Научно-исследовательский институт гриппа
Северо-Западного отделения РАМН
Федеральный центр по гриппу и ОРЗ**

197376, Санкт-Петербург
ул. проф. Попова, 15/17

тел.(812)234-91-05
факс (812)234-62-00

E-mail: epidlab@influenza.spb.ru

10.03.2010г.

**Ситуация по гриппу в мире и России за 10-ю неделю 2010г.
(01-07.03.2010г.)**

Европа.

В течение недели 21.02.10-27.02.10 средний уровень заболеваемости гриппом был зарегистрирован в Греции. Низкая заболеваемость отмечалась в 24 странах (Австрия, Бельгия, Чехия, Дания, Эстония, Франция, Германия, Венгрия, Ирландия, Италия, Латвия, Литва, Люксембург, Мальта, Нидерланды, Норвегия, Польша, Португалия, Румыния, Словакия, Словения, Испания, Швеция, Великобритания).

Что касается географического распространения гриппа, региональный уровень отмечался в 3 странах (Австрия, Греция, Италия). Локальные вспышки отмечались в 2 странах (Мальта, Словакия). Спорадический уровень был зарегистрирован в 16 странах (Бельгия, Чехия, Дания, Эстония, Франция, Германия, Венгрия, Ирландия, Латвия, Литва, Люксембург, Нидерланды, Норвегия, Польша, Португалия, Великобритания). Отсутствие заболеваемости зарегистрировано в 4 странах (Румыния, Словения, Испания, Швеция).

При исследовании 449 материалов, взятых от больных в течение недели 21.02.10-27.02.10, в 26 (5.8%) случаях был выделен вирус гриппа; из них 25 вирусов относились к типу А, из них 18 вирусов относились к новому подтипу (H1N1) и в 7 случаях субтипирование не проводилось и в 1 случае выделен вирус типа В. Кроме того, зарегистрировано 138 положительных мазков из недозорных источников (например, мазки, взятые в диагностических целях в лечебных учреждениях) на следующие типы вируса гриппа: 131

– тип А (188– новый подтип (H1N1); 13 – подтип не определен (субтипирование не проводилось) и в 1 случае выделен вирус типа В.

Всего с октября 2009 года из дозорных источников выявлено 16863 вируса гриппа, из них 16794 вируса относились к типу А (16083 - новый подтип (H1N1), 8– подтип H3, 35– подтип H1, 13– подтип не определен, 655 - подтип не определен (субтипирование не проводилось) и 69–к типу В. Всего с октября 2009 года из недозорных источников выявлено 89770 вирусов гриппа, из них 89646 вирусов относились к типу А (78098- новый подтип (H1N1); 43 – подтип H3; 49 – подтип H1; 47 - подтип не определен, 11409– подтип не определен (субтипирование не проводилось) и 124 – к типу В.

Всего с октября 2009 года было изучено 1903 вируса гриппа. Из них 1872 вируса относились к новому штамму A/California/07/2009(H1N1), 5 вирусов были подобны A/Brisbane/10/2007(H3N2), 22 - были подобны A/Perth/16/2009 (H3N2) и 4 вируса относились к типу В/Brisbane/60/2008 (линия Виктория).

Северная Америка.

США

На неделе 21.02.10-27.02.10 заболеваемость гриппом и ОРВИ практически не изменилась по сравнению с предыдущей неделей.

Региональный уровень распространения гриппа был зарегистрирован в 4 штатах (Алабама, Джорджия, Миссисипи, Южная Каролина).

Локальные вспышки были зарегистрированы в 8 штатах (Коннектикут, Флорида, Гавайи, Луизиана, Мэн, Нью-Мексико, Северная Каролина, Оклахома) и в Пуэто-Рико.

Спорадический уровень распространения гриппа отмечался в 34 штатах (Аляска, Аризона, Арканзас, Калифорния, Колорадо, Делавэр, Иллинойс, Индиана, Айова, Канзас, Кентукки, Мериленд, Массачусетс, Мичиган, Миннесота, Миссури, Невада, Нью-Гемпшир, Нью-Джерси, Нью-Йорк, Северная Дакота, Огайо, Орегон, Пенсильвания, Род-Айленд, Южная Дакота, Теннесси, Техас, Юта, Вермонт, Вирджиния, Вашингтон, Висконсин, Вайоминг) и в районе Колумбия и на острове Гуам.

В 4 штатах (Айдахо, Монтана, Небраска, Западная Вирджиния) заболеваемость не зарегистрирована.

Лаборатории ВОЗ и NREVSS, расположенные во всех 50 штатах и в Вашингтоне изучили материалы (4128), взятые у больных на неделе 21.02.10-27.02.10, и из 263 (6.4%) образцов был выделен вирус гриппа; из них 262 (99.6%) относились к типу А (из них 66 (25.2%) относились к типу А несубтипированные (субтипирование не проводилось), 195 (74.4%) – к но-

вой разновидности подтипа А(Н1N1), в 1 (0.4%) случае выделен вирус подтипа А(Н3) и в 1 (0.4%) случае выделен вирус типа В.

Всего за сезон 2009-2010 при исследовании материалов, полученных от больных, выделено 33 вируса, относящихся к подтипу А(Н1); 62 вируса относились к подтипу А(Н3), 64355 – к новой разновидности подтипа А(Н1N1), в 21112 случаях субтипирование не проводилось, 294 вируса относились к подтипу А несубтипированные) и в 269 случаях был выделен вирус типа В.

С 1 сентября 2009 года были изучены 2115 вирусов гриппа. Выделены 1492 вируса новой разновидности подтипа А(Н1N1), из них 1487 (99.7%) вирусов относились к штамму А/California/07/2009(Н1N1). 1 вирус был подобен А/Brisbane/59/2007 (Н1N1), 11 вирусов были подобны А/Perth/16/2009 (Н3N2), 11 вирусов были подобны В/Brisbane/60/2008 (линия Виктория).

Канада.

В Канаде на неделе 21.02.10-27.02.10 заболеваемость гриппом практически не изменилась по сравнению с предыдущей неделей. В 14 регионах (провинции Альберта, Онтарио, Квебек, Новая Шотландия) определялся спорадический уровень распространения гриппа. В 39 регионах активность гриппа не зарегистрирована.

При исследовании 2646 материалов, взятых у больных в период 21.02.10-27.02.10, в 5 случаях выделен вирус новой разновидности подтипа А(Н1N1), в 1 случае субтипирование не проводилось и в 1 случае выделен вирус типа В.

Всего за сезон 30.08.2009-27.02.2010 выделены 39049 вирусов гриппа типа А (8 вирусов относились к подтипу А(Н1), 52 вируса относились к подтипу А(Н3), 5500 - к подтипу А несубтипированные, 33489 вирусов относились к новой разновидности подтипа А(Н1N1) и 15 - к типу В.

С 1 сентября 2009 года был изучен 851 вирус гриппа. 831 (99.5%) из 835 вирусов новой разновидности подтипа А(Н1N1) относились к штамму А/California/07/2009(Н1N1). 3 вируса были подобны А/Brisbane/59/2007(Н1N1), 2 - были подобны А/Brisbane/10/2007(Н3N2), 8 вирусов были подобны А/Perth/16/2009 (Н3N2), и 3 вируса относились к типу В.

Мексика.

На неделе 21.02.10-27.02.10 зарегистрирован спорадический уровень распространения гриппа.

Южная Америка.

На неделе 21.02.10-27.02.10 во всех странах Карибского бассейна, кроме Ямайки, регистрируется снижение заболеваемости гриппом или неизменный уровень заболеваемости. На Ямайке зарегистрирован рост заболеваемости. Что касается географического распространения гриппа, то зарегистрирован широко распространённый уровень на Ямайке, и региональный уровень на Багамах.

В странах Центральной Америки на неделе 21.02.10-27.02.10 отмечалось снижение заболеваемости гриппом или неизменный уровень, кроме Панама, где отмечался рост заболеваемости. Во всех странах Центральной Америки зарегистрирован низкий или средний уровень заболеваемости гриппом. Что касается географического распространения гриппа, то локальный уровень зарегистрирован в Гватемале, широко распространённый уровень - в Перу.

В южных странах Южной Америки на неделе 21.02.10-27.02.10 отмечалось снижение заболеваемости ОРВИ или неизменный уровень. Во всех странах зарегистрирован низкий или средний уровень заболеваемости гриппом. Что касается географического распространения гриппа, то широко распространённый уровень отмечен в Аргентине, региональный – в Бразилии.

Океания.

Австралия

Что касается географического распространения гриппа, то на неделе 21.02.10-27.02.10 зарегистрирован спорадический уровень.

С начала 2010 года по 17.02.2010 в Австралии зарегистрировано 77 лабораторно подтвержденных случаев заболевания новым вариантом гриппа А(Н1N1).

На неделе 21.02.10-27.02.10 в Новой Зеландии отмечался низкий уровень заболеваемости гриппом и ОРВИ. Доминирующим штаммом остаётся А/California/07/2009(Н1N1). Что касается географического распространения гриппа, то на неделе 21.02.10-27.02.10 зарегистрирован спорадический уровень.

Азия.

Китай.

На неделе 21.02.10-27.02.10 в Китае зарегистрирован спорадический уровень распространения гриппа. На неделе выделено 85 вирусов гриппа; из них 31 вирус относился к типу А, из них 19 вирусов относились к новому подтипу (Н1N1), в 1 случае выделен вирус подтипа А(Н3) и в 11 случаях субтипирование не проводилось, и в 54 случаях был выделен вирус типа В (40 вирусов относились к линии Виктория и 10 – к линии Ямагата, в 4 случаях линия не определена).

Индия.

На неделе 21.02.10-27.02.10 отмечалось снижение заболеваемости гриппом, зарегистрирован низкий уровень. Что касается географического распространения гриппа, то зарегистрирован региональный уровень.

Бангладеш.

На неделе 21.02.10-27.02.10 отмечался рост заболеваемости гриппом, зарегистрирован низкий уровень заболеваемости. Что касается географического распространения гриппа, то зарегистрирован локальный уровень.

Мальдивы.

На неделе 21.02.10-27.02.10 отмечалось снижение заболеваемости гриппом, зарегистрирован низкий уровень заболеваемости. Что касается географического распространения гриппа, то на неделе зарегистрирован региональный уровень.

Мьянмар.

На неделе 21.02.10-27.02.10 заболеваемость гриппом не изменилась, зарегистрирован низкий уровень заболеваемости. Что касается географического распространения гриппа, то на неделе зарегистрирован региональный уровень.

Непал.

На неделе 21.02.10-27.02.10 отмечалось снижение заболеваемости гриппом, зарегистрирован низкий уровень заболеваемости. Что касается географического распространения гриппа, то на неделе зарегистрирован локальный уровень.

Таиланд.

На неделе 21.02.10-27.02.10 отмечался рост заболеваемости гриппом, зарегистрирован низкий уровень заболеваемости. Что касается географического распространения гриппа, то на неделе зарегистрирован широко распространённый уровень.

Япония.

На неделе 21.02.10-27.02.10 в Японии зарегистрирован локальный уровень распространения гриппа. На неделе выделено 22 вируса гриппа; из них 20 вирусов относились к новому подтипу (H1N1) и 2 вируса относились к типу В (линия Виктория).

Всемирной Организацией Здравоохранения рекомендованы следующие штаммы для производства вакцины:

для стран Ю. Полушария на 2010:

- A/California/07/2009(H1N1)

- A/Perth/16/2009 (H3N2)

- В/Brisbane/60/2008

для стран С. Полушария на 2010-2011:

- A/California/07/2009(H1N1)

- A/Perth/16/2009 (H3N2)

- В/Brisbane/60/2008

Россия

В период с 01-07.03.10 в городах РФ сохранялась неэпидемическая ситуация по гриппу. Отмечался спорадический уровень заболеваемости гриппом и средний по интенсивности и стабильный уровень заболеваемости гриппом и ОРВИ в сумме. Заболеваемость в среднем по городам Российской Федерации снизилась на 5,2%, а в Южном округе - на 10,6%.

Однако, в 2 наблюдаемых ФЦГ городах пороги превышены: по населению в целом в Чите - на 142,8% и Якутске - на 12,1%. В Чите пороги превышены во всех возрастных группах населения: среди детей 0-2 лет – на 26,2%, 3-6 лет – на 206,1%, 7-14 лет – на 420,6% и среди лиц старше 15 лет – на 66,1%. В Якутске пороги превышены только среди детей дошкольного возраста на 23,5% и 29,3%. Но и в этих городах отмечена тенденция к снижению заболеваемости.

Кроме того, пороги превышены только среди детей 0-2 лет в 5 городах (Воронеж, Норильск, Петрозаводск, Саратов, Петропавловск) на 19,2% - 32,3% и детей 3-6 лет – Волгограде – на 25,6%, Н.Новгороде – на 50,0% и Уфе – на 53,1%.

На этой неделе поступили сообщения о 10 случаях смерти от лабораторно подтвержденного гриппа А(H1N1)v, осложненного пневмонией.

7 случаев смерти в ноябре-декабре 2009 в Ставрополе в возрасте от 21 года до 54 лет.

2 случая смерти в Краснодаре 19 и 20 января 2010г. мужчин в возрасте 51 года и 72 лет.

1 случай смерти в Смоленске 3 марта 2010г. мужчина в возрасте 58 лет.

3 марта 2010 г.
в 10⁰⁰
Программа
пленарного заседания
Проблемной комиссии РАМН
«Грипп и гриппоподобные инфекции»

Тема: Основные итоги эпидсезона 2009/2010гг.

Вступительное слово представителя Роспотребнадзора Альбины Андреевны Мельниковой «Противоэпидемические мероприятия в РФ, связанные с пандемией гриппа. Проблемы и задачи».

1. Отчет о работе Проблемной комиссии за 2009 г.
2. Пленарные доклады:
 - А.А. Соминина, Л.С.Карпова, М.Ю.Еропкин, М.П.Грудинин, Е.А.Смородинцева, И.Г. Маринич, О.И. Киселев «Характеристика первой волны пандемии гриппа А(Н1N1)у в России по материалам Референс-центра по мониторингу гриппа» (20 мин.).
 - Е.И. Бурцева и Д.К. Львов «Активность Центра экологии и эпидемиологии гриппа в период развития пандемии 2009 г.» (20 мин.)
 - И.В. Красильников «Изучение иммуногенности новых гриппозных вакцин против А(Н1N1)у» (20 мин.).
 - О.И. Киселев «Генетические свойства пандемического вируса А(Н1N1)у» (20 мин.).
 - Н.Г. Пучкова «Моновалентные пандемические вакцины семейства «Гриппол» (20мин.).
3. Обсуждение докладов, принятие решений.
4. Разное.

Протокол
Пленарного заседания Проблемной комиссии РАМН
«Грипп и гриппоподобные инфекции»

03 марта 2010 г.

НИИ гриппа СЗО РАМН
Санкт-Петербург

Присутствовали:

- члены Проблемной комиссии: О.И. Киселев, Н.В. Каверин, А.А. Соминина, Л.М. Цыбалова, Е.И. Бурцева, Н.Г. Пучкова, С.Б. Яцышина, М.К. Ерофеева, Т.В. Сологуб, М.Ю. Еропкин, И.В. Красильников, В.П. Дриневский

-приглашенные: А.А. Мельникова (Роспотребнадзор), Л.В. Осидак¹, М.П. Грудинин¹, В.В. Зарубаев¹, Л.С. Карпова¹, А.К. Сироткин¹, И.Н. Жилинская¹, Н.И. Львов¹, Н.В. Киселева², А.Н. Найхин², В.З. Кривицкая¹, Н.И. Конова-лова¹, Е.В. Образцова¹, Е.А. Дондурей¹, Е.В. Кузнецова¹, Е.М. Войцехов-ская¹, Е.А. Смородинцева¹, И.Ю. Никоноров¹, Т.И. Сысоева¹, В.М. Асмо-ловская¹, Т.Д. Смирнова¹.

¹НИИ гриппа СЗО РАМН

²НИИЭМ СЗО РАМН

Во вступительном слове зам. председателя Проблемной комиссии ака-демика РАМН Н.В. Каверина отмечены важность обсуждаемого вопроса «Основные итоги эпидсезона 2009/2010гг», возможность подведения итогов прошедшей первой волны эпидпроцесса и оценки степени подготовленности всех служб здравоохранения к возникновению второй волны пандемии.

Слово предоставлено А.А. Мельниковой – зам. начальника Управления эпидемиологического надзора Федеральной службы по надзору в сфере за-щиты прав потребителей и благополучия человека. В выступлении А.А. Мельниковой дана оценка эпидситуации по гриппу в связи с появлением пандемического вируса H1N1/2009 на территории РФ. Представлены сведе-ния о мероприятиях, принятых на уровне Правительства РФ по предупреж-дению завоза и распространения пандемического вируса, а также о срочных мерах по осуществлению качественного систематического мониторинга за его циркуляцией (см. прил. №1).

В докладе А.А. Сомининой представлены данные лабораторной и эпи-демиологической диагностики с включением методов молекулярно-генетического анализа вирусов гриппа A(H1N1)v, выделенных в 49 Опорных базах ФЦГ за период 2009/2010 (см. прил. №3).

В сообщении Е.И. Бурцевой о деятельности Национального Центра ВОЗ по экологическому и эпидемиологическому мониторингу за гриппом в

сезон 2009/2010 представлены данные из 10 официальных опорных баз Центра о развитии пандемии и ее особенностях. (см. прил. №4).

В докладе И.В.Красильникова представлены материалы по апробации и клиническим испытаниям новых живых и инактивированных вакцин для защиты детей и взрослых от гриппа (H5N1) и (H1N1)v. (см. прил. № 5)

В докладе О.И. Киселева дана развернутая картина генетической структуры пандемического вируса H1N1/2009 и особенности его происхождения в сравнении с другими вирусами гриппа А, вызывавшими в свое время развитие пандемий. Пандемия, вызванная указанным вирусом, прошла первую волну и неизбежно будет иметь вторую. Генетические особенности данного вируса потребуют изменить качественно оказание лечебной и профилактической помощи с целью предотвращения развития наиболее тяжелых последствий инфекции. (см. прил. №6).

В докладе Н.Г. Пучковой отмечена уникальная способность вируса гриппа изменять свои свойства и менять свою антигенную структуру. Появление нового пандемического штамма А(H1N1)v, получившего условное название «свиной» грипп по генетическому родству со штаммом вируса свиней А(H1N1), вызвало угрозу появления пандемии в РФ (см. прил.№7).

В прениях принимали участие:

- Е.И. Бурцева, А.А.Мельникова, Л.В.Осидак, О.И. Киселев.
- С.Б. Яцышина (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора), которая представила данные этиологического мониторинга за возбудителями гриппа и ОРЗ в сезон 2008/2009 и начала 2010 года (см. прил. №8).
- Н.В. Каверин (НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН) отметил несопоставимость сравнительных данных заболеваемости методом ПЦР и данных стат. анализа сезонных вспышек (см. прил. №9).

По материалам пленарных докладов и в процессе их обсуждения, единогласно принято решение.

РЕШЕНИЕ

Констатирующая часть

Проблемная комиссия констатирует, что первая волна пандемии гриппа А(Н1N1)v сопровождалась повышенной, в 1,6 раза по сравнению с сезонными эпидемиями заболеваемостью населения РФ, главным образом, за счет школьников и взрослого населения, а также увеличением смертности, основными причинами которой являлись пневмонии, развитие ОДН и ОРДС. В период пандемии показатели госпитализации больных гриппом и ОРВИ в разных возрастных группах в 3-5 раз превышали аналогичные показатели в сравнении с сезонными эпидемиями.

Пандемия гриппа была вызвана вирусом А(Н1N1)v, подобным А/Калифорния/04/2009, что подтверждено данными выделения вирусов и ПЦР диагностики. В феврале 2010 г., когда количество случаев пандемического гриппа резко снизилось, на Дальнем Востоке и в Сибири отмечено увеличение числа заболеваний, вызванных вирусом гриппа В.

Институт гриппа в сотрудничестве с другими учреждениями РАМН и Роспотребнадзора (Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского, Институт экспериментальной медицины, ЦНИИ эпидемиологии) внесли важный вклад в осуществление лабораторного и эпидемиологического надзора за гриппом путем создания новых диагностических тест-систем и специальной реагентки моноклонального типа. Провели клинические исследования безопасности и иммуногенной активности пандемических вакцин. Это позволило рекомендовать наиболее перспективные препараты для внедрения в практику здравоохранения.

Три отечественных производителя (ФГУП "НПО "Микроген" МЗиСР РФ, филиалы – Уфа, Иркутск; ООО ФК «ПЕТРОВАКС»; ФГУП СПбНИИВС ФМБА России) осуществили полный комплекс испытаний вакцинных препаратов различных типов. Были зарегистрированы и произведены пандемические вакцины в количествах, необходимых для выполнения Государственных контрактов по их производству и поставке во все субъекты РФ для массовой вакцинации приоритетных контингентов.

1. Учитывая относительно низкий уровень популяционного иммунитета и невысокую заболеваемость (по данным Опорных баз ФЦГ, около 8% населения), следует ожидать вторую эпидемию пандемического цикла гриппа А(Н1N1)v с возможным усилением патогенности возбудителя вследствие его адаптации к организму человека.

2. Данный прогноз требует дальнейшего усиления надзора за гриппом на территории России и расширения программ вакцинации населения. При этом основное внимание следует уделить защите детей от 0 до 7 лет, менее других вовлеченных в эпидемический процесс в период первой волны пандемии; рекомендовать продолжить вакцинацию детей моновакцинами вплоть до мая 2010г.

3. Учитывая высокий риск заболеваний пандемическим гриппом А(Н1N1)v и высокую летальность у беременных женщин, рекомендовать иммунизацию женщин детородного возраста сезонными гриппозными вакцинами с обязательным включением в их состав штамма А/Калифорния/07/09.

4. Считать приоритетными и требующими продолжения исследования по лабораторному надзору за гриппом в России, проводимые Референс-центрами на базе НИИ гриппа СЗО РАМН, НИИ вирусологии им. Д.И.Ивановского РАМН, ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора и НПО «Вектор» Роспотребнадзора.

5. Рекомендовать НИИ гриппа СЗО РАМН совместно с ГИСК им. Л.А.Тарасевича и производителями вакцин провести дополнительные испытания иммуногенности и безвредности новых живых гриппозных тривакцин, включающих пандемический вирус.

6. Считать вирус пандемического гриппа А(Н1N1)v относящимся к III группе патогенности на основании эпидемиологических и клинических данных и отсутствия у этого вируса генетических маркеров, ответственных за высокую патогенность.

7. Принять аббревиатуру А /Н1N1/2009 (ВОЗ) для обозначения штаммов пандемического вируса гриппа с указанием места взятия инфекционного материала. Пример: вирус, выделенный в г. Новосибирске из биосубстрата от больного из г. Красноярска, обозначен как А/Красноярск/ /09.

8. Поддерживать проведение исследований по получению реассортантных штаммов для ИГВ и поиску путей повышения их репродуктивности в НИИ гриппа СЗО РАМН и НИИ вирусологии им. Д.И.Ивановского РАМН.

9. Продолжить мониторинг чувствительности штаммов нового пандемического вируса гриппа А(Н1N1)2009 к химиопрепаратам со специфической противовирусной активностью.

10.С целью совершенствования национальной системы безопасности от пандемического гриппа в предстоящий сезон 2010-2011гг. представить в Минздравсоцразвития:

- прогноз по заболеваемости гриппом и ОРВИ для Российской Федерации на следующий эпидсезон с учетом данных анализа эпидситуации в текущем эпидсезоне и информации ВОЗ;

- рекомендовать провести мониторинг охвата приоритетных контингентов иммунизацией пандемическими вакцинами. При низких показателях охвата рекомендовать провести разъяснительную работу с региональными

структурами, ответственными за непосредственное осуществление программы иммунизации, и населением, возможно с участием СМИ;

- предложения по тактике иммунизации населения против гриппа в преддверие эпидсезона, в том числе, в отношении привитых против пандемического гриппа;

- методические рекомендации для субъектов Российской Федерации по организации изучения поствакцинального иммунитета у привитых разными видами вакцин для определения тактики иммунизации населения групп риска;

а также:

- рекомендовать восстановить работу по изоляции штаммов вируса гриппа в базовых вирусологических лабораториях ЦГиЭ в составе ФЦГ и ЦЭЭГ до уровня, не ниже предусмотренного приказом Роспотребнадзора № 373;

- рассмотреть вопрос об учреждении новых (дополнительных) опорных баз, сотрудничающих с Референс-центром на базе ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора;

- ускорить издание Приказа Роспотребнадзора по совершенствованию надзора за гриппом в России, где была бы предусмотрена подача данных по заболеваемости, госпитализации и смертности от гриппа и ОРВИ по дифференцированным группам взрослого населения. При подаче сведений о летальных исходах от гриппа и ОРВИ включать данные о наличии сопутствующих заболеваний.

- считать необходимым возвращение в практику ЛПУ постановку диагноза «грипп» по клиническим данным, без обязательного лабораторного подтверждения, так как это невыполнимо при наличии большого количества больных во время эпидемии.

- представить в Проблемную комиссию РАМН «Грипп и гриппоподобные инфекции» методические рекомендации по защите от гриппа беременных женщин.

11. При оформлении государственного заказа на производственный выпуск новых противогриппозных лекарственных и вакцинных препаратов учитывать рекомендации ученых НИИ, работающих по данной проблеме. Современные знания генетических особенностей строения пандемического вируса позволяют прогнозировать наиболее характерные для данного заболевания симптомы и тем самым выстраивать конкретную схему этиопатогенетического лечения.

12. Анализ смертности и летальности госпитализированных больных гриппом (пандемическим и сезонным) указывает на необходимость срочно усилить оснащение палат интенсивной терапии современным оборудованием и лекарственными средствами направленного действия.

Приложение №1

Организация мероприятий по предупреждению распространения пандемического гриппа в Российской Федерации

А.А.Мельникова – зам. начальника Управления эпидемиологического надзора Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

В текущем году ситуация по гриппу значительно осложнилась в связи с распространением пандемического вируса (H1N1) – 2009, и 11 июня ВОЗ объявила о достижении шестого уровня угрозы пандемии гриппа.

С момента ухудшения эпидситуации Роспотребнадзором подготовлены проекты документов Правительства Российской Федерации по борьбе с высокопатогенным гриппом, в том числе, о создании Комиссии Правительства Российской Федерации и ее составе, регулярно готовятся материалы к заседаниям Комиссии в соответствии с утвержденными планами.

Подготовлен проект распоряжения Правительства Российской Федерации (принят 5 августа 2009 г. № 1098-р) о плане мероприятий по предупреждению распространения заболеваний, вызванных высокопатогенным вирусом гриппа А (H1N1), основными мероприятиями которого явились организация и проведение работ по изучению высокопатогенного вируса гриппа типа А/H1N1, оснащение сети вирусологических лабораторий оборудованием и обеспечение диагностическими препаратами, усиление мер по санитарной охране территории и др.

В целях предотвращения завоза и распространения пандемического гриппа, минимизации последствий пандемии в субъектах Российской Федерации сформированы и функционируют оперативные комиссии (штабы), проведен расчет материально-технического и финансового обеспечения необходимых мероприятий по профилактике гриппа, утверждены комплексные планы по проведению противоэпидемических мероприятий с выделением финансовых средств для создания запасов противовирусных препаратов, средств индивидуальной защиты, налажен мониторинг за циркуляцией пандемического вируса и заболеваемостью населения.

Приняты постановления Главного государственного санитарного врача Российской Федерации №29 от 06.05.2009 и №53 от 07.08.2009, регламенти-

рующие мероприятия по предупреждению завоза и распространения пандемического гриппа на территории Российской Федерации.

В целях подготовки субъектов Российской Федерации к работе в условиях пандемии гриппа Роспотребнадзором организованы и проведены селекторные и выездные совещания в различные регионы страны.

В соответствии с протокольным решением Совета глав правительств СНГ от 22 мая 2009 года, в Роспотребнадзоре 9 июня 2009г. проведено совещание представителей государств – членов СНГ для выработки совместных мер по недопущению распространения вируса гриппа А(Н1N1) на территориях государств-участников СНГ.

В связи с осложнением эпидситуации по гриппу А/Н1N1/09 в мире в Российской Федерации приняты меры по организации лабораторной диагностики гриппа (Н1N1) 2009 в регионах.

В первые дни осложнения эпидситуации по гриппу А/Н1N1/09 на базе ФГУН «ЦНИИЭ» Роспотребнадзора организована разработка и производство наборов реагентов для идентификации вируса гриппа А/Н1 методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флюоресцентной детекцией «АмплиСенс®Influenza virus А/Н1-swine-Fl», которые были поставлены и в ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах Российской Федерации для первичных диагностических исследований.

В субъекты Российской Федерации направлены методические рекомендации по организации и проведению лабораторной диагностики заболеваний, вызванных вирусом гриппа А/Н1N1/09.

В целях осуществления качественного систематического мониторинга за циркуляцией пандемического гриппа продолжена модернизация лабораторной сети учреждений Роспотребнадзора.

В 2009г. продолжено оснащение лабораторий ФГУЗ современным диагностическим оборудованием: закуплено 11 комплектов лабораторий и 24 прибора для проведения ПЦР в режиме «реального времени». Дополнительно Роспотребнадзором в 2009 г. было приобретено 26 приборов для проведения ПЦР в режиме «реального времени» и 6 приборов для проведения автоматической экстракции нуклеиновых кислот.

В результате, 83 из 85 (97,6%) ФГУЗ ЦгиЭ в субъектах Российской Федерации и на железнодорожном транспорте имеют оборудование для проведения молекулярно – генетических исследований вируса гриппа А(Н1N1) 2009. Были организованы и проведены 7 циклов по лабораторной диагностике гриппа А (Н1N1)09, где прошли подготовку и усовершенствование специалисты из 76 (89%) ФГУЗ ЦгиЭ в субъектах Российской Федерации.

С целью оптимизации мониторинговых исследований, изучения генетической структуры вируса гриппа А/Н1N1/sw-09 для своевременного определения изменений возбудителя, в том числе по чувствительности к проти-

вовирусным препаратам, Роспотребнадзором организовано молекулярно-генетическое изучение вируса.

В 2009г. на базах ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» и ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора исследован материал более чем от 1,2тыс. пациентов, включая секционный материал от летальных случаев. Проведены молекулярно-генетические исследования 434-х вирусов гриппа А/Н1N1/sw-09, которые подтвердили отсутствие значительной антигенной вариабельности среди циркулирующих вирусов в Российской Федерации и в мире и устойчивости возбудителя к рекомендуемым в стране противовирусным средствам.

В период эпидемического неблагополучия в субъектах Российской Федерации проводился комплекс противоэпидемических мероприятий:

- приостановление учебного процесса в образовательных учреждениях;
- рейдовые внеплановые проверки по соблюдению санитарно-противоэпидемического режима в местах массового сосредоточения людей;
- запрещение массовых мероприятий (культурных и спортивных).

В рамках национального приоритетного проекта организована иммунизация населения против сезонного гриппа лиц из групп риска.

В преддверие эпидсезона гриппа и ОРВИ в 2009 году сезонной вакциной было привито свыше 34 млн. чел., в т.ч. около 7 млн. чел. – за счет средств, выделенных на закупку вакцины из других источников финансирования. Всего прививками охвачено свыше 24% от общей численности населения страны.

Указанные мероприятия позволили минимизировать последствия распространения пандемического гриппа на территории Российской Федерации.

В целях оперативного реагирования и своевременного проведения комплекса противоэпидемических мероприятий Роспотребнадзором усилен мониторинг за уровнем заболеваемости гриппом и острыми респираторными инфекциями и циркуляцией возбудителя пандемического гриппа.

Результаты мониторинга показали, что сезонный подъем заболеваемости ОРВИ в Российской Федерации отмечался в сентябре 2009г., что характерно для начала учебного года. При этом в этиологической структуре заболеваний доминировали вирусы негриппозной этиологии – парагриппа, аденовирусной и респираторно-синтициальной инфекций, но регистрировалось постепенное увеличение удельного веса пандемического гриппа (H1N1) 2009.

По данным лабораторного мониторинга, с 3-й декады октября пандемический грипп занял лидирующие позиции, составив к концу месяца в этиологической структуре обследованных больных 22,3%.

В ноябре эпидемия гриппа продолжала развиваться и регистрировалась на всей территории Российской Федерации. Пик заболеваемости пришелся на 47-49 недели 2009г. (вторая и третья декады ноября), когда превышение пороговых уровней заболеваемости было зарегистрировано практически во всех субъектах Российской Федерации, при этом удельный вес вируса А/Н1N1/-09 в этиологической структуре обследованных больных гриппом и ОРВИ достиг 30,4%.

Существенное снижение заболеваемости гриппом и ОРВИ и уменьшение удельного веса пандемического гриппа в структуре лабораторно обследованных больных гриппом и ОРВИ до 19,2% в целом на территории России отмечено со второй половины декабря 2009г.

По уровням превышения эпидемических порогов заболеваемости на пике эпидемии:

- наибольшее (в 5 и более раз) превышение зарегистрировано в 31 субъекте (большинстве субъектов Приволжского, Сибирского, Дальневосточного ФО, а также части территорий Южного, Северо-Западного и Уральского ФО);

- превышение от 2 до 4 раз – в 30 субъектах (половине территорий Южного, Сибирского и Северо-Западного ФО, части Приволжского и Уральского федеральных округов)

- превышение до 100% - в остальных территориях (преимущественно – в Центральном, Северо-Западном и Южном округах).

Средняя длительность эпиднеблагополучия в субъектах Российской Федерации составила 7-9 недель. Наибольшая продолжительность была отмечена в 2009г. в г. Красноярске (13 недель), г. Чите (13 недель), Чувашской Республике (10 недель).

По данным формы государственного статистического наблюдения № 1, за период эпидемии (октябрь-декабрь 2009г.) в Российской Федерации переболело гриппом и ОРВИ – 13,26 млн. человек, что на 5,82 млн. больше, чем за аналогичный период 2008г., когда эпидемия гриппа не была зарегистрирована. Указанную разницу в числе заболевших можно отнести на счет эпидемии гриппа. Таким образом, в стране переболело около 4,09% от общей численности населения.

Среди наиболее пораженных (6-9% заболевших от численности населения) – 11 субъектов: Забайкальский край, Тюменская, Магаданская, Амурская, Вологодская области, Республики Саха (Якутия), Алтай, Бурятия, Калмыкия, Чукотский и Ненецкий АО.

Средний уровень пораженности (от 4 до 6%) зарегистрирован в 38 субъектах Российской Федерации и наименьший (до 4% заболевших от численности населения) – в 34 субъектах Российской Федерации.

В возрастной структуре заболевших на долю взрослого населения приходится 60,5% случаев, причем наибольшее их количество пришлось на возрастную категорию 18-39 лет (44,2% от всех лабораторно подтвержденных случаев). Среди заболевших детей преобладали дети школьного возраста 7-14 лет (17,2%) и подростки 15-17 лет (8,7%).

По данным лабораторного мониторинга, в структуре обследованных больных ОРВИ и гриппом в настоящее время по-прежнему доминирует вирус пандемического гриппа А/Н1N1/09, удельный вес которого снизился и составляет 11,5%; доля других респираторных вирусов – 10,4% (парагриппа – 5,2%, аденовирусной инфекции – 2,7%, РС-инфекции – 2,5%), сезонных вирусов гриппа А/Н1N1, А /Н3N2 и В – 4,9%.

В настоящее время ситуация по заболеваемости гриппом и ОРВИ значительно улучшилась: уровень заболеваемости ниже порогового значения зарегистрирован в 80 субъектах Российской Федерации; незначительно превышен эпидпорог в 4 городах и 3 субъектах – республике Марий Эл, ХМАО, Костромской области и городах Томск, Чита, Якутск, Владивосток.

Организована иммунизация лиц из групп риска вакциной против пандемического гриппа. В соответствии с планами профилактических прививок планируется привить – 28,9 млн. человек. Для иммунизации используется 5 отечественных вакцин: **МоноГриппол** (производство Санкт-Петербургский НИИ вакцин и сывороток), **МоноГриппол плюс** и **МоноГриппол нео** (производства ООО ФК «Петровакс»), **ПандеФлю** (производства ФГУП НПО «Микроген», филиал в г. Уфа), **Инфлювир** (производства ФГУП НПО «Микроген», филиал в г. Иркутск).

По информации управлений Роспотребнадзора по субъектам Российской Федерации, по состоянию на 01.03.10 против пандемического гриппа всего поставлено 19 561 122 дозы вакцин. В настоящее время всего привито около 12 млн. чел..

Необходимо обратить внимание на ряд остающихся вопросов и проблем:

- в субъектах проводится работа по уточнению и расчету пороговых уровней заболеваемости гриппом и ОРВИ, в связи с чем необходима методическая помощь Федерального центра по надзору за гриппом по оценке заболеваемости;

- по результатам мониторинга, отмечена неоднозначность интенсивности эпидемического процесса в различных субъектах РФ – необходим анализ причин таких различий;

- необходимо определить тактику иммунизации населения на ближайший эпидсезон.

В связи с изложенным предлагается для Проблемной комиссии определить следующие задачи:

- оказывать методическую помощь в расчете пороговых уровней заболеваемости гриппом и ОРВИ субъектам Российской Федерации и оценке эпидситуации по гриппу и ОРВИ;

- подготовить прогноз эпидситуации по заболеваемости гриппом и ОРВИ для Российской Федерации на следующий эпидсезон с учетом данных анализа эпидситуации в текущем эпидсезоне и информации ВОЗ;

- подготовить проект методического письма для субъектов Российской Федерации по изучению популяционного иммунитета к вирусу пандемического гриппа;

- подготовить проект методических рекомендаций для субъектов Российской Федерации по организации изучения поствакцинального иммунитета у привитых разными видами вакцины для определения тактики иммунизации населения групп риска;

- подготовить предложения по тактике иммунизации населения против гриппа в преддверие эпидсезона, в том числе в отношении привитых против пандемического гриппа.

Кроме того, необходима доработка проекта национальной программы «Подготовка к пандемии гриппа», разработанного НИИ гриппа РАМН в 2008 году, с учетом полученных уроков пандемии в Российской Федерации и обновленных документов ВОЗ по проблеме борьбы с пандемией гриппа, а также дальнейшее совершенствование национальной системы надзора за гриппом и ОРВИ путем интегрирования в нее сигнального клинико-лабораторного эпидемиологического надзора.

**Отчет о работе Проблемной комиссии РАМН
"Грипп и гриппоподобные инфекции"
за 2009 год**

Научные исследования по проблеме РАМН "Грипп и гриппоподобные инфекции" в 2009 году выполнялись в 7 научно-исследовательских учреждениях: НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН – завершенных тем нет, 2 переходящие темы со сроком окончания в 2010 году; НИИВС им. И.И. Мечникова РАМН – завершенных тем нет, 2 переходящие темы, со сроками окончания в 2010, 2014 гг.; НИИ ЭМ СЗО РАМН – завершенных тем нет, 2 переходящие темы со сроком окончания в 2012 году; ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» – 7 переходящих тем со сроками окончания в 2010 году; НИИ ЭМ им. Н.Ф. Гамалеи – завершенных тем нет, 1 переходящая тема со сроком окончания в 2010 г.; ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора – 1 незавершенная тема; НИИ гриппа СЗО РАМН – завершено 6 тем, 10 переходящих со сроками окончания в 2010 -2012 годах. Общее количество тем, выполняемых в 2009 году, составило 31, из них завершенных – 6, переходящих – 25.

Основные итоги завершенных тем НИР

Продолжены фундаментальные исследования по направлению “Структура и функция биологических макромолекул и макромолекулярных комплексов”.

Тема №011 «Роль вирусов гриппа человека и птиц в патологии сердечно-сосудистой системы» (2007-2009 гг.). Руководитель – д.б.н. Жилинская И.Н.

Изучено воздействие отдельных белков вируса гриппа человека и птиц (А/Брисбен/10/07 (H3N2), А/Курган/5/05/NS1-81(H5N1) на сосудистую систему хозяина. Получены новые данные о вмешательстве вирусных белков NA, NA, PB1 в регуляцию системы гемостаза хозяина. Впервые показано, что белок PB1-F2 (фрагмент 65-85 ак.) вирусов гриппа человека и птиц, ответственный за развитие апоптоза клетки, проявляет фибринолитическую активность за счет неферментативного фибринолиза и активатора плазминогена в условиях *in vitro* и *in vivo*. Фибринолитическая активность белка PB1-F2

проявлялась в концентрации 0,1 мкг/мл, тогда как фибринолитическая активность НА и НА регистрировалась только в концентрации 1-10 мкг/мл.

НА проявлял фибринолитическую активность *in vitro* только за счет неферментативной фибринолитической активности, а *in vivo* его фибринолитическая активность была обусловлена значительной стимуляцией активатора плазминогена (почти в 5раз более сильной, по сравнению с контролем). Нейраминидаза (НА), в отличие от НА, *in vitro* и *in vivo* проявляла фибринолитическую активность как неферментативную, так и ферментативную, а также стимулировала активность активатора плазминогена, но в меньшей степени, чем НА. Антикоагулянтные свойства исследуемых белков проявлялись лишь в незначительной степени.

Показана способность исследуемых вирусов гриппа репродуцироваться в клетках эндотелия кровеносных сосудов (на модели клеточной культуры ECV-304). Характерной особенностью репродукции этих вирусов в эндотелиальных клетках была низкая инфекционная активность вирусов (до 4 Ig ЦПД₅₀), отсутствие гемагглютинирующей активности в культуральной жидкости, наличие единичных вирусных частиц в вакуолях при электронной микроскопии, что указывает на abortивный тип репродукции вирусов в эндотелиальных клетках. Тем не менее, воздействие отдельных белков исследуемых вирусов гриппа на эндотелиальные клетки вызывало повреждение этих клеток, судя по уровню активности, одного из маркеров повреждения эндотелия – тканевого активатора плазминогена. Так, в результате контакта эндотелиальных клеток с вирусными белками регистрировалось увеличение активности активатора плазминогена: при воздействии белка PB1-F2 в 2,5 раза, НА – в 3 раза, НА – почти в 7 раз. Полученные данные указывают на то, что белки исследуемых вирусов гриппа человека и птиц способны вызывать повреждение эндотелиальных клеток.

По итогам темы опубликованы 1 статья, 1 тезисы. Результаты исследования вошли в руководство для врачей.

Целью исследований по **теме №008 «Патоморфология сердечно-сосудистой системы животных под действием вирусов гриппа человека и птиц»** (2008 -2009 гг., руководитель к.б.н. Григорьев И.П.) было изучение ультраструктурных особенностей кровеносной системы куриного эмбриона и провизорного органа хориоаллантоиса, а также культуры эндотелиальных клеток человека ECV-304 в ответ на заражение вирусами гриппа А человека (H3N2) и птиц (H5N1).

Проведено сравнительное электронно-микроскопическое изучение состояния хориоаллантоиса, сердца, легких, тонкого кишечника и головного

мозга в нормальном курином эмбрионе, а также эндотелиальных клеток человека в культуре ECV-304 до и после заражения вирусом гриппа А (H3N2) и А(H5N1).

Показано, что реассортантный вирус A/Kurgan/5/05/NS 1-81/5:3(H5N1) в культуре клеток ECV-304 вызывает изменения ультраструктуры ядра и цитоплазматической мембраны, образование цитоплазматических вакуолей, содержащих вирусоподобные частицы, а также увеличение количества цитоплазматических вакуолей и цистерн аппарата Гольджи, что свидетельствует об активном процессе синтеза компонентов вирусных частиц.

Выявлено различие в локализации вирионов гриппа человека и птиц в эпителии кишечника: через 72 часа после заражения частицы вируса A/Wisconsin/67/05(H3N2) выявлены только у апикальной поверхности кишечных эпителиоцитов, а вируса A/duck/Kurgan/8/05/(H5N1) – также и в цитоплазматических вакуолях эпителиальных клеток.

Исследование показало, что изучаемые штаммы вируса гриппа человека и птиц оказывают выраженное патологическое действие на эндотелиальные клетки капилляров и эпителиальные клетки тонкого кишечника куриного эмбриона. Увеличение количества аутофагосом и ламинарных (миелиноподобных) телец в цитоплазме клеток свидетельствует об индукции в клетке патологических процессов, компенсация которых вызывает значительную активацию клеточных функций.

Сравнительный анализ состояния кишечного эпителия после заражения куриного эмбриона вирусами гриппа человека или птиц показал, что эпителиальные клетки поражаются в большей степени вирусом гриппа птиц, что соответствует имеющимся данным о повышенной тропности их к кишечному эпителию. Вместе с тем, в данном эксперименте не было выявлено почкующихся вирусных частиц.

По результатам исследования готовится к публикации 2 статьи.

В рамках критических технологий “Технологии биоинженерии” в 2009 г. завершены 2 темы НИР.

Тема №012 «Создание новых диагностических тест-систем индикации вирусов гриппа и других ОРЗ на основе моноклональных антител и новых конструктивных решений (биочипов)» (2005-2009 гг., руководитель – Соминина А.А.) продолжает традиционное для Института направление по разработке диагностических препаратов для гриппа и других вирусных инфекций. Была создана и всесторонне охарактеризована расширенная панель

разнонаправленных моноклональных антител (МКА) к вирусам гриппа А птиц и людей, в том числе к изменчивым сайтам в составе первой субъединицы молекулы гемагглютинина (НА1) и консервативным детерминантам в молекуле нуклеопротеина (NP), а также к НА1 и NP вирусов гриппа В.

Шесть новых МКА (**1G2, 3C5, 3H9, 4E5, 5A1 и 5F5**) к штамму NIBRG – 14 (H5N1) обладали широким спектром реагирования. При четкой направленности этих МКА к НА1 вируса гриппа H5N1, они обладали способностью взаимодействовать в ИФА с детерминантой, общей для разных представителей субтипа H5: H5N1, H5N2 и H5N3, что определило перспективность их использования в диагностических целях. Новые МКА **5F11** обладали уникальными свойствами: при их использовании впервые удалось распознать присутствие в молекуле НА сайта, общего для вирусов гриппа субтипов А(H1N1) и А(H5N1).

Некоторые из МКА к вирусу гриппа А(H7) взаимодействовали не только с гомологичным вирусом А(H7), но и с другими субтипами вируса гриппа А (H5, H15). Это еще раз указывает на наличие иммунодоминантных эпитопов разного уровня общности в составе молекул гемагглютинина вирусов гриппа различных субтипов. Полученные панели МКА могут быть использованы для изучения эволюционных связей среди 16 субтипов НА вирусов гриппа типа А.

МКА к NP (**6D11 и 4H1**) вирусов гриппа А обладали широким спектром реагирования и высокой активностью в отношении всех исследованных вирусов гриппа типа А человека и птиц: H1N1, H2N2, H3N2 и H5N1; Hsw1N1; H5N2, H5N3, H6N2, H6N5, H7N3, H8N4, H9N2, H11N9, H12N5, H14N5 и H15N8, что определило их перспективность для конструирования соответствующих тест-систем.

В ходе исследований по теме была существенно расширена панель МКА к вирусам гриппа типа В, относящимся к двум различным эволюционным линиям. Новые МКА к **НА1 (В/4Н1 и 5В7)** специфически взаимодействовали только со штаммами Викторианской эволюционной линии. Эти МКА обладали выраженной антигемагглютинирующей и вируснейтрализующей активностью. Характер взаимодействия МКА 5В7 с эталонными штаммами Викторианской эволюционной линии и российскими изолятами этой же линии 2005 – 2007 гг. выделения показал дивергенцию последних на две эволюционные сублинии. Одна из них включает штаммы, антигенно родственные референс-штаммам ранних (1987-1998гг) лет выделения, другая,

более многочисленная, имела характер реагирования, сходный с референс-штаммом В/Малайзия/2506/04.

Проведено сравнительное изучение свойств всей панели МКА, полученных в лаборатории, к NP вируса гриппа В/Beijing/184/93 (МКА 1/22, 2/3, 8/11), к NP вируса гриппа В/Victoria/2/87 (МКА 2B6 и 2B8) и к NP вируса гриппа В/Shandong/7/97 (МКА 2D8, 1D12 и 2G1).

Впервые удалось идентифицировать в составе молекулы NP вируса гриппа В пять различных эпитопов: 3 эпитопа, общие для всех исследованных штаммов, 1 эпитоп, специфичный только для штаммов Викторианской эволюционной линии, и 1 эпитоп, общий для штаммов Викторианской эволюционной линии и реликтовых штаммов.

В целях расширения репертуара МКА к вирусам ОРВИ получены новые МКА к вирусу парагриппа 3 типа (ВПГЗ).

Изучение спектра МКА к гексонному антигену (ГА) аденовируса (АВ) 6 серотипа реагирования в ИФА показало, что один из них (МКА 6) обладал выраженной специфической активностью в отношении гомологичного вируса, а также способностью к взаимодействию с другими (3 и 21) серотипами аденовирусов, что определяет их перспективность с диагностической точки зрения.

Разработан ряд новых диагностических препаратов на основе МКА. Приготовлены флуоресцирующие конъюгаты МКА к NP вируса гриппа типа А и NA вируса А(Н5). Завершена клинично-лабораторная апробация ФИТЦ-конъюгатов МКА 6. Показаны преимущества препарата перед ранее разработанными поликлональными антителами с точки зрения выявления большего числа циркулирующих серотипов аденовирусов и более выраженной яркости специфической флуоресценции. Показано соответствие полученных МКА зарубежным аналогам.

Усовершенствованы иммуноферментные тест-системы для ранней диагностики гриппа. Peroксидазные конъюгаты новых МКА к NP гриппа А (4Н1, 6D11) и гриппа В - 2/3 были использованы для конструирования и последующего производства диагностических гриппозных иммуноферментных тест-систем моноклонального типа («Гриппвиротест»).

Показано, что чувствительность тест-систем - «Грипп-виротест тип А» и «Грипп-виротест тип В» была выше (2,5 нг/мл и 0,1 ГАЕ/0,1мл, соответственно) при сравнении с быстрыми тестами производства корпорации «ТермоЭлектрон» (США), предназначенных для быстрой диагностики гриппа и основанных на использовании оптико-сенсорного иммунного анализа.

Разработана модификация реакции микронейтрализации (МН) с анализом результатов тестирования в ИФА. В реакции используется апатогенный штамм вируса гриппа Н5, пероксидазный конъюгат МКА 4Н1 к NP вируса

гриппа А, разработанный в лаборатории, и неканцерогенный субстрат ТМБ. При оценке эффективности различных вариантов Н5-вакцин, титры АТ были выше в МН, чем в РТГА в 1,2-2,2 раза. Частота выявления сероконверсий при определении «ранних» антител (после первичной вакцинации) в МН была намного выше. В дополнение к РТГА и МН впервые определены методические условия постановки реакции радиального гемолиза (РРГ) для детекции АТ к вирусу гриппа А(Н5).

В целом, по итогам НИР сотрудниками лаборатории по теме № 012 опубликовано 78 научных работ, в том числе 28 статей в отечественных журналах и монографиях, 4 статьи в зарубежных изданиях.

Подготовлена заявка на патент № 2009116698/15, дата приоритета 30.04.2009: «Способ экспресс-диагностики ротавирусной инфекции в материалах из верхних дыхательных путей. Иммуноглобулин флуоресцирующий сухой для его осуществления». В стадии написания - 2 патента на гибридомы - продуценты моноклональных антител.

Четыре штамма гибридом депонированы во Всероссийской коллекции клеточных культур при Институте цитологии РАН.

Подготовлены, отконтролированы в ГИСК им. Тарасевича и внедрены в производство 11 гриппозных диагностических штаммов, утверждены семь ТУ на диагностические препараты. Утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей трое Методических рекомендаций.

Флуоресцирующие конъюгаты МКА 3Н9 и 4Н1 были включены в Госзаказ (2006 г.) Министерства здравоохранения и социального развития РФ (Роспотребнадзор) в связи с распространением эпизоотий на территории РФ. Осуществлен производственный выпуск и целевая рассылка этих препаратов в целях надзора за циркуляцией вируса гриппа А (Н5Н1) среди людей в 59 регионах России.

Цели и задачи второй темы данного направления №010 «Развитие технологии производства и практического применения диагностических биочипов» (2007-2009 гг., руководитель – акад. РАМН Киселев О.И.) заключались в создании диагностической системы для выявления вирусных инфекций на основе как олигонуклеотидных, так и белковых микрочипов. В рамках темы был спроектирован и создан лабораторный образец диагностического микрочипа для выявления вируса гриппа А/Н5Н1 человека. Была отработана система получения флуоресцентно меченой кДНК из анализируемых вирусов гриппа. Тотальную РНК выделяли из вирусов, выращенных в культуре клеток MDCK. В работе использовали вирусные штаммы А/Hong Kong/213/03(Н5Н1) и А/Indonesia/5/05(Н5Н1). Данный подход позволяет проводить субтипирование вирусов гриппа А, однако для определения

штаммов внутри подтипа требуется проводить дальнейшую оптимизацию протоколов.

Был проведен дизайн олигонуклеотидного микрочипа для выявления мРНК IFN γ , IL2, IL4, IL10 и TNF- α . Для отработки методов подготовки пробы и проверки специфичности разработанного микрочипа использовали лейкоциты человека, выделенные в градиенте плотности фиколл-урографин по стандартной методике. Созданы лабораторные образцы олигонуклеотидных биочипов для выявления IFN γ , IL2, IL4, IL10 и TNF- α человека, отработана методика получения меченой кДНК методом ОТ- ПЦР и проверена специфичность разработанного биочипа.

Совместно с Российским НИИ гематологии и трансфузиологии (г.Санкт-Петербург) и ЦНИИ эпидемиологии (г.Москва) были подобраны олигонуклеотидные зонды и праймеры, специфически выявляющие гены ДНК-полимераз 8 видов герпес вирусов, циркулирующих в человеческой популяции. Проверена их специфичность с использованием программы BLAST. Были созданы лабораторные образцы олигонуклеотидных биочипов для выявления вирусов герпеса.

Одной из задач темы было сравнение различных типов подложек, используемых для печати белковых микрочипов, и отработка методики проведения анализа с применением белковых микрочипов на примере цитокинового биочипа. Для исследования были выбраны наиболее широко используемые типы 2D (поли-L-лизиновая, аminosилановая и эпоксидная) и 3D (агарозная и гидрогелевая) подложек. При этом использовались как коммерческие подложки, так и приготовленные самостоятельно в лабораторных условиях. Показано, что наилучшими характеристиками поверхности обладают 3D подложки, в первую очередь гидрогелевая. Были изготовлены тестовые партии белковых биочипов для определения уровня цитокинов с применением разных типов подложек и проведена проверка их специфичности. Выбраны оптимальные типы подложек, которые детектировали самый высокий сигнал интенсивностей флуоресценции. Для агарозной, поли-L-лизиновой и эпоксидной подложек интенсивности флуоресценции находились на примерно одинаковом уровне.

По результатам исследования опубликовано 5 тезисов в сборниках материалов международных конференций.

В рамках изучения особенностей распространения возбудителей вирусных инфекций на территории Российской Федерации (РФ) выполнялась тема №009.

Тема №009 «Генетическое разнообразие и молекулярно-биологические особенности вирусов гриппа А и В. Молекулярная эволюция вирусов гриппа А и В» (2007-2009 гг., руководитель – акад. РАМН Киселев О.И.). Были проанализированы 201 штамм вирусов гриппа А и В, выделенные в эпидемические сезоны 2006 - 2009 гг., и 10 пандемических вирусов гриппа А субтипа H1N1v 2009 года выделения.

С помощью программ Vector NTI8 и MEGA2.1 предсказаны первичные аминокислотные последовательности гемагглютинаина, нейраминидазы и М2-белка, построены филогенетические деревья и элайнменты вирусов гриппа А двух субтипов (H1N1, H3N2) и вируса гриппа В, циркулировавших на территории России в 2007-2009 гг.

В последние годы наблюдалась активизация вирусов гриппа А субтипа H1N1. Доля этих вирусов увеличилась с 12% в 2005-2006 гг. до 60% в 2007-2008 гг. от общего количества выделенных штаммов. Активизация была связана с появлением на эпидемической арене вирусов новой антигеной разновидности.

Для вирусов гриппа А субтипа H1N1 2006 и 2007 годов выделения было показано увеличение гетерогенности популяции. Вирусы гриппа А (H1N1), выделенные в 2006 году, подразделялись на две группы: вирусы подобные штамму А/Н.Каледония/20/99 (клайд 1) и вирусы, отличающиеся как от референс-штамма А/Н.Каледония/20/99, так и от референс-штамма 2007 года А/Соломоновы острова/3/06 (клайд 2а). Эти штаммы образовали клайд 2d. Вирусы 2007 года выделения содержали замены, характерные как для штаммов 2006 года (S36N, T82K, R145K, V165A), так и оригинальные (E169K, N183T, R188S, A189T).

Штаммы вируса гриппа А подтипа H1N1 2007-2008 гг. выделения по молекулярно-генетическим характеристикам были родственны штамму вируса гриппа А/Брисбен/59/07 (клайд 2В), рекомендованному ВОЗ для производства гриппозных вакцин. Большинство изолятов 2008 г. кластеризовались в отличную от изолятов 2006-2007 гг. выделения эволюционную группу. У них были выявлены отличия по шести аминокислотным позициям от вакцинного штамма А/Новая Каледония/20/99, по пяти позициям от вакцинного

штамма А/Соломоновы Острова/3/06 и по восьми аминокислотным позициям от российских изолятов 2006-2007 гг. выделения.

Часть штаммов вируса гриппа А подтипа Н1N1, выделенных в сезоне 2008-2009 гг., по молекулярно-генетическим характеристикам была родственна вакцинному штамму вируса гриппа А/Брисбен/59/07 (клайд 2В), а часть штаммов – штамму вируса гриппа А/Москва/5/08, выделенному в эпидемический период 2007-2008 гг. (клайд 2С) и отличалась по 6 аминокислотным позициям в молекуле гемагглютинина от штамма вируса гриппа А/Брисбен/59/073.

Согласно предсказанным аминокислотным последовательностям **НА** пандемического вируса – штамма А/Санкт-Петербург/04/2009v содержит в 83 положении сериновый остаток, также как и референс-штамм А/Техас/05/2009. Вместе с тем, выявлены отличия санкт-петербургского штамма от прототипных штаммов – две замены аминокислотных остатков I189L и T203S. Все проанализированные штаммы (8 штаммов) содержали в нейраминидазе аминокислотную замену остатка валина на изолейцин в 136 позиции (так же, как и штамм А/Москва/01/2009v). Кроме того, штамм А/Санкт-Петербург/01/2009v содержит замену D128A, а штаммы А/Санкт-Петербург/02/2009v и А/Санкт-Петербург/04/2009v - D248N по сравнению с прототипными штаммами. Таким образом, согласно анализу предсказанных аминокислотных последовательностей белков пандемические штаммы вируса гриппа А/Н1N1v, выделенные в Санкт-Петербурге, родственны штаммам А/Техас/05/2009 и А/Калифорния/07/2009.

Штаммы вируса гриппа А Н3N2, выделенные в 2007 и 2008 гг., по результатам филогенетического анализа и предсказанной первичной аминокислотной последовательности гемагглютинина можно было разделить на три группы, эволюционно близкие к вакцинному штамму А/Висконсин/67/2005 (Н3N2) (2007 г.) и штамму вируса гриппа А/Брисбен/10/07 (Н3N2), рекомендованному ВОЗ для производства гриппозных вакцин (2008 г.). Большинство изолятов 2008 г. кластеризовались в отличную от изолятов 2006-2007 гг. выделения эволюционную группу с двумя аминокислотными заменами в НА1.

Штаммы вируса гриппа А подтипа Н3N2 2008–2009 гг. выделения по молекулярно-генетическим характеристикам родственны вакцинному штамму А/Брисбен/10/07 (Н3N2) и являются эволюционным продолжением штаммов предыдущего эпидемического периода. Они сохранили замены, характерные для штамма А/Брисбен/10/07 E50G в антигене сайте С.

Филогенетический анализ штаммов вирусов гриппа В, циркулировавших в эпидемические сезоны 2006–2009 гг., показал, что данные штаммы относились к двум линиям: Викторианской и Ямагатской. В 2006-2007 годах циркулировали преимущественно вирусы гриппа В, относящиеся к Викторианской линии. В 2008 году, согласно филогенетическому анализу, все проанализированные российские изоляты (15 штаммов) относились к Ямагатской линии. Большинство штаммов (94%) вируса гриппа В 2008–2009 гг. выделения (32 штамма) по молекулярно-генетическим характеристикам относятся к Викторианской линии.

Проведен анализ мутаций, определяющих устойчивость вирусов гриппа А к ремантадину. Установлено, что у 23,0% вирусов гриппа А подтипа H1N1 и 100% штаммов подтипа H3N2 в 31 положении M2-белка находится аспарагин, что может свидетельствовать об устойчивости этих штаммов к ремантадину. По данным секвенирования показано отсутствие штаммов вируса гриппа А подтипа H1N1, устойчивых к ремантадину и озельтамивиру одновременно.

Проведен анализ устойчивости изолятов вируса гриппа А субтипа H1N1 2007-2009 гг. выделения к озельтамивиру методами RFLP (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) и секвенирования фрагмента гена NA. Показано, что 80,5-91,4% изолятов имели замену гистидина на серин в гене NA в положении 275, что определяло их устойчивость к озельтамивиру. Все проанализированные штаммы А H1N1v не имели подобной мутации.

У проанализированных штаммов А H1N1v показано отсутствие аминокислотных замен в белках M2 и NS2 по сравнению со штаммами вируса гриппа А/Техас/05/2009 и А/Калифорния/07/2009. Штаммы из Санкт-Петербурга, так же, как и прототипные штаммы, имели мутацию в белке M2, ответственную за устойчивость к ремантадину.

По итогам выполнения опубликованы 4 статьи (3 из них в иностранных изданиях), 3 тезисов в материалах международных конференций, сделано 14 докладов на Российских и зарубежных конференциях и съездах.

Цель исследования клинической **темы НИР №019 «Особенности современных острых вирусных и вирусно-бактериальных инфекций у госпитализированных больных с учетом преморбидного фона»** (2006-2009 гг., руководитель – Щерба Ю.В.) – изучение этиологии и клиники острых инфекционных заболеваний респираторного тракта с учетом преморбидного фона. Проанализированы особенности клинической симптоматики гриппа и

ОРЗ, в том числе, тяжести течения и уровня поражения респираторного тракта у лиц различного возраста, имеющих различный преморбидный фон. Было обследовано 247 больных с неосложненным течением гриппа и 40 больных, у которых грипп осложнился пневмонией. Самыми частыми осложнениями гриппа были пневмонии и поражение ЛОР-органов.

В этиологии неосложненных форм заболеваний вирусы гриппа А(Н3N2) обуславливали – 45,3% случаев (112 больных), осложненных – 30% (12 больных).

Наличие осложненного преморбидного фона, особенно бронхолегочной и сердечно-сосудистой патологии, способствует развитию более выраженных и продолжительных симптомов интоксикации и более длительному течению заболевания.

Установлено, что у больных, имеющих в анамнезе сахарный диабет, грипп и ОРЗ имеют более длительное течение и высокую частоту осложнений за счет развития микроангиопатий легких, что создает предпосылки для частых пневмоний.

Показано, что наличие осложненного преморбидного фона угнетает интерферонпродуцирующую активность иммунокомпетентных клеток больных гриппом и ОРЗ, что нередко коррелирует с их сниженной антиоксидантной активностью. При наличии длительной интоксикации, независимо от отсутствия или наличия осложнений, было выявлено достаточно низкое сывороточное содержание ИФН- α ($70,8 \pm 4,16$ и $71,4 \pm 5,52$ пг/мл соответственно).

Изучена эффективность применения препарата осельтамивира при различных этиологических формах гриппа у молодых людей. Подтверждено, что препарат был эффективен только при условии назначения в первые двое суток от начала заболевания. Препарат имеет хорошую переносимость, достоверно уменьшает число осложнений, имеет клиническую эффективность – укорачивает длительность катарального и интоксикационного синдромов.

Материалы исследований отражены в 2 журнальных и 5 электронных статьях.

Научно-организационная работа.

19 февраля 2009 г. состоялось совместное заседание Проблемной комиссии «Грипп и гриппоподобные инфекции» (ПК) и Межведомственной комиссии по гриппозным и вакцинным диагностическим штаммам (КВШ). В решения отражены рекомендации по составу гриппозных вакцин на сезон 2009-2010 г.г., одобрен Протокол 2-ой фазы клинического исследования вакцины АВИФЛЮ.

6 и 19 мая 2009 г. НИИ гриппа СЗО РАМН были проведены внеочередные заседания ПК и КВШ, на которых была дана оценка эпидситуации по гриппу А/Н1N1/v, отмечена реальная опасность заноса и распространения вируса в РФ, и намечен комплекс оперативных мер, необходимых в условиях эпидемии. По материалам заседаний опубликован экспресс – бюллетень, который был разослан в учреждения, работающие по Проблеме.

18 августа 2009 г. на заседании КВШ были выработаны рекомендации, касающиеся пандемических вакцинных и диагностических штаммов, тактики вакцинации против пандемического гриппа.

В соответствии с планом научно-организационных мероприятий 2009 г., были организованы:

- 7-я Российско-Итальянская конференция «Актуальные вопросы социально-значимых инфекций» (14-16 мая 2009 г., Великий Новгород, 250 участников).
- Межрегиональное рабочее совещание специалистов (вирусологов и эпидемиологов) Опорных баз ФЦГ и ЦЭЭГ и Международная научно-практическая конференция «Актуальные аспекты надзора за гриппом и подготовка к пандемии гриппа в России» (26-27 октября 2009 г., Санкт-Петербург). В мероприятиях приняли участие специалисты из 59 территориальных баз РФ, всего более 200 человек. В рамках Совещания было организовано 2 семинара для вирусологов и эпидемиологов Опорных баз.
- Международная научная конференция «Противогриппозные вакцины нового поколения» (28-29 октября 2009 г., Санкт-Петербург), в работе конференции участвовали более 70 специалистов из НИИ РАМН Москвы, Санкт-Петербурга, НИИ Республики Казахстан, Компании «Авир Грин Хиллз биотехнологии» (Австрия), компаний-производителей противогриппозных вакцин.

На сертификационном цикле по специальности «вирусология» на базе НИИ гриппа СЗО РАМН прошли подготовку 27 человек из 7 городов России.

В отчетном году в лабораториях НИИ гриппа СЗО РАМН на рабочих местах обучались трое сотрудников Ханойского института военной гигиены и эпидемиологии, трое сотрудников НИИ Республики Казахстан, сотрудник Института птицеводства; проходили практику студенты 6 курса Санкт-Петербургских университетов.

Для разъяснительной работы среди населения в условиях пандемии гриппа была открыта горячая телефонная линия, напечатаны плакаты и листовки с рекомендациями по профилактике и лечению гриппа.

Приложение №3

Характеристика первой волны пандемии гриппа А(Н1N1)v в России по материалам Референс-центра по мониторингу гриппа при НИИ гриппа

А.А. Соминина, Л.С.Карпова, Е.А. Смородинцева, М.Ю.Еропкин, М.П. Грудинин, О.И.Киселев

1. Введение

Лабораторный надзор за гриппом с включением методов молекулярно-генетического анализа возбудителя приобрел особую значимость в связи с развитием пандемических событий, вызванных новым вирусом гриппа А(Н1N1)v. Основными методами, рекомендованными ВОЗ для распознавания пандемического гриппа (ПГ), были: выделение инфекционного вируса, RT-PCR (ПЦР) и серодиагностика.

Раннее распознавание появления нового антигенного варианта на разных территориях страны по обнаружению отдельных случаев и локальных эпидемических вспышек, вызванных новым вирусом гриппа А(Н1N1)v, представляло существенную важность с точки зрения организации противоэпидемических мероприятий в целях сдерживания темпов распространения пандемии, а также раннего назначения этиотропной терапии. Увеличение объемов исследований в региональных базовых лабораториях (БЛ), в том числе по изоляции и идентификации вирусов, ПЦР-диагностике, молекулярно-генетического анализа возбудителей с интеграцией данных заболеваемости и лабораторной диагностики, явились важным достижением в области совершенствования надзора за гриппом.

2. Ситуация в мире по состоянию на 14 февраля 2009 г.

Пандемия гриппа, вызванная новым вариантом вируса гриппа А(Н1N1)v - тройным реассортантом возбудителей классического гриппа свиней (НА, NP, NS гены) гриппа свиней Евразийской линии (М ген), гриппа птиц (PB2 и PA гены) и человека (PB1) стартовала в небольшом мексиканском городе La Gloria, Veracruz в середине февраля 2009 г. и быстро распространилась по стране, вызывая вспышки заболеваний неясной этиологии, осложняющиеся пневмониями, в части случаев заканчивающиеся летальными исходами. Это

побудило мексиканские органы здравоохранения в начале апреля информировать РАНО (региональный офис ВОЗ для Америки) о распространении в стране респираторной заболеваемости неясной этиологии. В середине апреля в Южной Калифорнии специалистами CDC были выделены и идентифицированы первые вирусы, получившие в последующие 2 месяца быстрое глобальное распространение, что побудило ВОЗ 11 июня 2009 г. объявить о переходе к 6 фазе развития пандемии.

Во многих странах заболеваемость в период первой волны пандемии была выше, чем в сезонные эпидемии, что видно на примере США, где пик пандемической заболеваемости был весьма высоким (рис. 1).

Рост количества лабораторно подтвержденных случаев ПГ наметился уже с 24 недели, что было связано с распространением вируса в странах Северной Америки с последующим присоединением других регионов мира. Число случаев диагностирования ПГ в мире достигло максимума на 43-47 неделях с последующим снижением (рис.2).

Пик частоты диагностирования ПГ с сопутствующим ростом заболеваемости в осенний период в странах Северного полушария был зарегистрирован в США на 41-43 неделях, в Канаде – на 43-45 неделях, в странах Европы – на 46-48 неделях, в Японии – на 44-48 неделе (рис. 3-6).

Практически во всех странах, за исключением Китая, первая пандемическая волна осени 2009 г. имела моноэтиологичный характер, участие других возбудителей гриппа не регистрировалось или было крайне низким. По данным ВОЗ на 26 февраля, единичные случаи выделения сезонного гриппа А(Н1N1) зарегистрированы в Канаде и Китае, Н3N2 – в Китае, гриппа В – в США, Европе, Китае и Японии (рис 7).

В Китае, однако, наряду с возбудителем ПГ, летом циркулировали и другие субтипы вируса гриппа– А(Н1N1) и А (Н3N2), но их удельный вес стал снижаться, начиная с 41 недели. С 52 недели 2009 г. в Китае отмечен рост частоты диагностирования гриппа В, который стал доминировать в структуре заболеваемости на 1-7 неделях 2010 г. (рис 8).

Что касается смертности от пандемического гриппа, то, по состоянию на 14.02.2010г., в мире зарегистрировано 16 226 смертельных исходов от лабораторно подтвержденных случаев пандемического гриппа. Эта статистика, безусловно, носит неполный характер, поскольку далеко не все случаи заболеваний обследовались лабораторно. Наиболее высокие показатели смертно-

сти зарегистрированы в странах Северной Америки и Европы с хорошо налаженной лабораторной службой, тогда как в странах Африки эти показатели были минимальны (табл.1).

Развитие пандемии гриппа в России

Первые признаки роста заболеваемости гриппом с превышением эпидемических порогов были зарегистрированы на Дальнем Востоке в Южно-Сахалинске на 40-41 неделе 2009г. , хотя случаи заболеваний, связанных с заносом вируса гриппа А/Калифорния/07/09 из пораженных стран, были зарегистрированы на 21-23 неделе (г. Москва, затем – Санкт-Петербург). Кроме того, небольшое повышение заболеваемости на 41- 42 неделе было отмечено также в Калининграде. Таким образом, период от первичной интродукции вируса до развития пандемических событий составил около 4.5 месяцев. Последующее быстрое распространение пандемического вируса (42 - 43 недели) привело к росту заболеваемости в других городах Дальнего Востока (Хабаровск) и затем - в Сибири (Чита) (рис. 9).

Начиная с 44-45 недели, значительное превышение эпидемических порогов было зарегистрировано в большинстве городов Дальнего Востока, Сибири и некоторых городах Европейской части России и Урала. К 46-47 неделям большая часть территории России была охвачена пандемией. Снижение интенсивности заболеваемости началось с 49 недели, и на последних неделях года эпидемические пороги были превышены только в отдельных городах. Средняя продолжительность пандемии составила 4,6 недель, но со значительным разбросом между отдельными городами. Наиболее продолжительный эпидемический период был зарегистрирован в Чите (12 недель), тогда как в большинстве других городов он составлял 5-6 недель. В Краснодаре, Якутске, Норильске, Перми продолжительность эпидемии, например, была короткой и составила 4 недели.

Анализ динамики заболеваемости по Федеральным округам показал, что наиболее высокие показатели заболеваемости регистрировались в Уральском, Приволжском и Сибирском округах при относительно невысоких показателях в Южном Федеральном округе (рис. 10).

Показатели госпитализации на пике пандемии превышали обычно регистрируемые в период сезонных эпидемий значения в 3-5 раз, в зависимости от возрастных групп населения (рис.11).

За период пандемии с 40 по 52 неделю переболело около 8,3% населения страны, в т. ч. 26,9% детей в возрастной группе до 2 лет, 33,9% 3-6 летнего возраста, 28,5% школьников в возрасте 7-14 лет и 4,2% взрослого населения (15 лет и старше). По сравнению с сезонными эпидемиями значительное (в 1.5-1.6 раза) увеличение заболеваемости зарегистрировано в возрастной группе 7-14 лет, среди взрослых и для всего населения в целом. Заболеваемость детей младшего возраста была несколько ниже, чем в период сезонных эпидемий (табл.2).

За период пандемии в Референс-центр поступили сообщения о 520 подтвержденных смертельных случаях пандемического гриппа с пиком диагностирования на 48 неделе, на две недели отстающим от пика заболеваемости (рис.12).

В НИИ гриппа были проанализированы клинические материалы от 950 больных гриппоподобными заболеваниями и от 308 умерших пациентов, поступившие в период с мая по декабрь 2009г. Возрастной состав (по данным преимущественного ПЦР- диагностирования гриппа) больных и умерших отличался. Лабораторный диагноз пандемического гриппа был подтвержден прижизненно у 35,7% больных с наибольшей частотой диагностирования в возрастной группе до 14 лет (58%). Частота диагностирования пандемического гриппа среди умерших больных была выше и составила 53%, чаще всего грипп среди умерших диагностировался среди лиц в возрасте от 15 до 64 лет (89,9%). Средний возраст умерших был выше, чем у выживших пациентов (39 лет и 15.7 лет, соответственно) (табл. 3). В пандемию, умирали, в основном, люди молодого возраста. Главными причинами смертности были пневмонии, острая дыхательная недостаточность, ОРДС, реже – инфекционно-токсический шок. С наибольшей частотой вирус выявлялся в легочной ткани и трахее и не обнаруживался в мозгу умерших больных, что свидетельствует о его преимущественном тропизме к клеткам респираторного тракта (табл. 4).

Мониторинг пандемического гриппа по результатам ПЦР- диагностики

ПЦР- диагностика в реальном времени явилась одним из основных методов, успешно использованных для детекции РНК пандемического гриппа как в Референс-центре, так и в его базовых лабораториях, который позволил отследить появление первых спорадических случаев заболевания и последующее развитие пандемии на различных территориях (рис.13) . Всего за период пандемии силами Референс-центра совместно с БЛ было протестировано около 20 тысяч образцов. Средняя частота диагностирования пандемического

гриппа за период с 40 по 52 недели составила 36,4%, тогда как сезонных вирусов гриппа А (H1N1), А (H3N2) и В - только 1,4%, 0,2% и 0,2 % соответственно (рис.14).. Пандемический грипп был диагностирован практически во всех городах, участвующих в надзоре, с частотой, варьирующей от 22,5% (Новосибирск) до 51,3% (Улан-Удэ).

Динамика процесса

Регулярное ПЦР- тестирование образцов на наличие пандемического вируса гриппа началось с 27 недели 2009г. Первые позитивные результаты были выявлены на 29 неделе, когда частота диагностирования среди лиц, прибывших из пораженных стран, достигла 55%. Рост заболеваемости среди населения, наблюдаемый в ряде городов, начиная с 41-42 недели, сопровождался ростом частоты диагностирования пандемического гриппа с пиком на 44-47 неделях и последующим снижением.

Результаты анализа данных по округам показали наиболее высокую частоту ПЦР-диагностирования ПГ на ранних сроках развития пандемии (41-42 недели) в Сибирском ФО и затем городах Дальневосточного и Центрального округов или относительно низких значений частоты диагностирования в Южном ФО и на Урале. Наибольшее число ПЦР-подтвержденных случаев ПГ было зарегистрировано в Сибири и в Приволжском ФО (рис.15). Хотя ПЦР редко обнаруживала сезонные вирусы гриппа H1 и H3, данные ИФ и серодиагностики свидетельствовали о спорадических случаях заболеваний, связанных с этими возбудителями в отдельных городах России. Всеми методами зарегистрирована нарастающая частота диагностирования гриппа В в феврале-марте 2010, в первую очередь, на Дальнем Востоке и в Сибири (см. рис.13).

Популяционный иммунитет

В ряде БЛ ФЦГ проанализирован уровень популяционного иммунитета населения путем серологического исследования сывороток от здоровых доноров. Во всех городах, за исключением Смоленска, процент лиц с защитным уровнем иммунитета был крайне низким (от 0 до 14%), а СГТ антител варьировал от 0 до 1/16, что определило возможность быстрого и беспрепятственного распространения возбудителя по территории России (табл.5).

Изоляция вирусов гриппа

За период пандемии в НИИ гриппа и некоторых БЛ (Хабаровск, Астрахань, Калининград, Чита) было выделено 348 вирусов гриппа А(H1N1)v. Основная

масса вирусов (208 штаммов) была выделена в Институте гриппа (табл.6). Отдельные изоляты были выделены на 31 – 35 неделях от пациентов, прибывших из пораженных стран. Начиная с 43 недели, вирусы стали регулярно выделять от госпитализированных больных (рис.16).

В антигенном отношении вирусы резко отличались от возбудителей сезонных эпидемий, но имели признаки родства с вирусами классического гриппа свиней и штаммом А/НьюДжерси/8/76 (табл.7). Они представляли собой гомогенную группу возбудителей, и за редким исключением (А/СПб/170/09), реагировали с референс – сывороткой ВОЗ и новыми моноклональными антителами (МКА 9с3) к гемагглютинирующему пандемическому гриппу до 1/2 -1/4 титра (табл.8).

Молекулярно-генетический анализ выделенных вирусов

Структура генов НА и NA у проанализированных вирусов имела выраженное сходство с исходным возбудителем пандемии – референс-штаммом А/Калифорния/07/09 (рис. 17 и 18). Ряд штаммов имел мутацию D222G, ответственную за расширение рецепторной специфичности, что позволяет вирусу связываться не только с α 2-6 рецепторами, типичными для клеток эпителиальной выстилки верхних дыхательных путей, но и с α 2-3 рецепторами, локализованными в клетках нижнего отдела респираторного тракта. Мутация D222G была обнаружена как в молекуле НА вируса А/Белгород/6/2009, изолированного от выздоровевшего больного, так и в двух изолятах – А/Нижний Новгород/1/2009 и А/Псков/2/2009, выделенных из секционных материалов от умерших больных. В составе фрагмента М2 гена всех проанализированных пандемических вирусов А (Н1N1)v, выделенных в России, выявлена мутация S31N, ответственная за признак устойчивости к ремантадину, типичная для циркулирующих в мире вирусов А(Н1N1)v.

Новые препараты

Получены новые МКА к вирусам гриппа А(Н1N1)v, направленные к эпитопу в составе молекулы НА1 вируса гриппа, имеют титр в ИФА 10^{-5} и специфически реагируют в ИФА только с вирусами гриппа «свиного» происхождения (рис. 19). Их титр в РТГА составляет 1:20 000. Показана возможность использования полученных МКА для конструирования субтипоспецифических ИФТС, предназначенных для детекции ПГ в клинических материалах, а также для идентификации новых изолятов ПГ и изучения их антигенной изменчивости.

Осуществлен производственный выпуск гриппозных диагностикумов для диагностики пандемического гриппа, изучения иммуногенности новых вакцин и оценки уровня популяционного иммунитета населения.

Выпущены серии антисывороток для идентификации пандемического вируса в базовых лабораториях Референс-центра.

ВЫВОДЫ

1. Пандемия гриппа в России началась осенью 2009 г. в городах Дальнего Востока - через 4.5 месяца после регистрации в начале лета первых случаев завозного гриппа А(Н1N1)*v* в двух мегаполисах России (Москве и Санкт-Петербурге). В октябре-ноябре 2009 г. пандемия распространилась по городам Сибири, Урала и Европейской части России.

2. Показатели заболеваемости, госпитализации и смертности в период первой волны пандемии были существенно выше, чем в сезонные эпидемии гриппа.

3. Уровень заболеваемости был наиболее высоким в Сибирском, Приволжском и Уральском Федеральных округах.

4. Средняя продолжительность пандемии составила 4.6 недель. За период пандемии переболело 8.6% населения, в т.ч. около 30% детей и 4.2% взрослого населения.

5. По результатам ПЦР-диагностики, на пике эпидемии частота распознавания пандемического гриппа достигала 45 - 49% от числа обследованных больных

6. Анализ клинических материалов от умерших больных показал, что около 53% смертельных случаев вызвано пандемическим вирусом гриппа, при этом в основном умирали люди в возрасте 15 - 64 лет от пневмоний и ОРДС.

7. Российские изоляты пандемического гриппа в антигенном и генетическом отношении были близко родственными родоначальнику пандемии – вирусу гриппа А/Калифорния/07/09. Структура генов НА и NA у проанализированных вирусов имела выраженное сходство с исходным возбудителем пандемии – референс-штаммом А/Калифорния/07/09. Ряд штаммов имел мутацию D222G, ответственную за расширение рецепторной специфичности с α 2-6 и с α 2-3 рецепторами. Мутация D222G была обнаружена в молекуле НА вирусов, выделенных от больных и умерших людей.

8. В составе фрагмента M2 гена выделенных в России вирусов гриппа А (H1N1)v, выявлена мутация S31N, ответственная за признак устойчивости к ремантадину.

9. В НИИ гриппа СЗО РАМН разработаны новые МКА к пандемическому вирусу гриппа с высокой специфической активностью в РТГА и ИФА, которые могут быть использованы для идентификации и антигенного анализа вирусов, а также для конструирования диагностических тест-систем.

10. На базе НИИ гриппа осуществлен производственный выпуск гриппозных диагностикумов для диагностики пандемического гриппа, изучения иммуногенности новых вакцин и оценки уровня популяционного иммунитета населения.

Выпущены серии антисывороток для идентификации пандемического вируса в базовых лабораториях Референс-центра.

Основные исполнители работ – сотрудники отдела биотехнологии, лаборатории эволюционной изменчивости, лаборатории общей эпидемиологии, лаборатории молекулярной вирусологии и генной инженерии, клиники ОРЗ детей.

Исследования выполнялись под руководством директора НИИ гриппа СЗО РАМН академика РАМН Киселева О.И.

Приложение №4

**Активность Центра экологии и эпидемиологии гриппа (ЦЭЭГ) в период развития пандемии 2009 года.
Предварительные итоги сезона 2009-2010 гг.**

Е.И. Бурцева, Д.К. Львов, Л.В. Колобухина, А.Г. Прилипов, Т.В. Гребенникова

Учреждение Российской академии медицинских наук
НИИ вирусологии им. Д.И.Ивановского РАМН, Москва

12 апреля 2009 г. Мексика среагировала на запрос ВОЗ по поводу вспышки в небольшом сообществе Ла Глория в Веракузе (сведения о кластерах быстро прогрессирующей тяжелой пневмонии). Усиление эпиднадзора позволило подтвердить инфекцию новым вирусом гриппа у ряда пациентов 22-24 апреля. 15 апреля и 17 апреля 2009 г. сотрудники CDC&P, Атланта, США диагностировали два случая инфицирования детей в Калифорнии и Техасе новым вирусом гриппа А(H1N1)v, генетический состав которого ра-

нее не регистрировали среди вирусов гриппа свиней и людей (А/Калифорния/07/2009). 24 апреля ВОЗ, в соответствии с ММСП, объявила о чрезвычайной ситуации с рекомендациями по усилению эпиднадзора за необычными вспышками ОРВИ и тяжелой пневмонии. 27 апреля после выявления стойкой передачи нового вируса на уровне местных сообществ ВОЗ объявила о 4 фазе пандемии гриппа. 29 апреля зафиксирована инфекция новым вирусом гриппа в 2-х странах, ВОЗ объявила о 5 фазе пандемии. 11 июня, в связи с устойчивой передачей вируса в нескольких странах мира, ВОЗ объявила о 6 фазе пандемии.

21 мая 2009 г. в НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН методом ПЦР в реальном времени (CDC&P, Атланта, США) детектирован 1-ый случай заболевания в РФ у пациента, вернувшегося из США, 24 мая выделен 1-ый штамм пандемического гриппа на клетках культуры ткани MDCK, 25 мая – на куриных эмбрионах.

Развитие пандемии в РФ имело 2 периода: май-август 2009 г., в течение которого регистрировали в основном «завозные случаи» пандемического гриппа А(Н1N1)v, и с сентября 2009 г. - период активного распространения вируса с вовлечением всех возрастных групп и регистрируемой заболеваемостью, превышающей эпидемические пороги заболеваемости гриппом и ОРВИ.

К началу марта 2010 г. были определены некоторые особенности развития новой пандемии. Это стало возможным благодаря активному сотрудничеству с территориями 10 официальных опорных баз ЦЭЭГ.

Анализ динамики показателей заболеваемости в период 40 недели 2009 г. – 6 недели 2010 г. показал, что наиболее ранними, вовлеченными в пандемию, оказались города Дальнего Востока и Сибири, где максимальные показатели заболеваемости (на 10 тыс. населения) регистрировали на 42 неделе (Биробиджан – 252,0) и 45 неделе – Владивосток и Томск (116,0 и 240,0 соответственно). На 46 неделе максимальные показатели заболеваемости гриппом и ОРВИ регистрировали в Челябинске и Липецке (216,0 и 213, 0 соответственно); на 47 неделе во Владимире и Пензе (251,0 и 124,0 соответственно); на 48 неделе в В.Новгороде, Оренбурге и Ярославле (260,0, 214,0 и 174,0 соответственно). Снижение показателей до сезонных уровней было отмечено к концу декабря 2009 г.

Выявлены возрастные различия показателей заболеваемости гриппом и ОРВИ: наиболее высокие в период 42-47 недель 2009 г. у детей 3-6 лет и 48 недели 2009 г. – 6 недели 2010 г. – у детей 0-2 лет. Среди госпитализирован-

ных пациентов (2720 чел) наибольшее число диагностированных случаев инфекции А(Н1N1)v отмечено в группе 15-65 лет (54,0% от числа обследованных), среди детей 0-2 лет (2,0%), 3-6 лет (1,0%), 7-14 лет (4,0%) и ни одного диагностированного случая у лиц 65 лет и старше. Не выявлено различий по частоте диагностирования гриппа А(Н1N1)v среди госпитализированных (32,0%) и амбулаторных пациентов (36,0%).

Объединенные данные лабораторных методов диагностики гриппа и ОРВИ (МФА, ПЦР и выделение) представлены на рис.1. Результаты подтверждают высокую активность пандемического вируса гриппа А(Н1N1)v в период с 42 недели 2009 г., максимальным его долевым участием в период 46-49 недель, снижением активности к 6 неделе 2010 г. При этом была отмечена низкая частота выявления сезонных штаммов вирусов гриппа А и В и некоторый ее рост с 7 недели 2010 г., обусловленный активизацией вируса гриппа В на Дальнем Востоке.

В период с 40 недели 2009 г. до 7 недели 2010 г. в ЦЭЭГ и вирусологических лабораториях опорных баз гг. Владивостока и Оренбурга было изолировано 317 штаммов пандемического вируса гриппа А(Н1N1)v и 5 штаммов вируса гриппа В. Подавляющее большинство штаммов А(Н1N1)v были подобны референс-штамму А/California/07/2009 (Н1N1), штаммы вируса гриппа В - эталону В/Brisbane/60/2008. Однако, выявлены отдельные штаммы пандемического вируса гриппа А(Н1N1)v, реагирующие с эталонной сывороткой только до $\frac{1}{4}$ гомологичного титра и менее (5,0%), что выявляет начало антигенного дрейфа этого вируса.

В ЦЭЭГ были изучены материалы от 81 пациента с летальной пневмонией, 10 из которых были получены от беременных на разных сроках (табл.1). Наибольшая частота случаев отмечена среди лиц в возрасте 20-50 лет, при средней продолжительности заболевания до летального исхода $8,1 \pm 4,8$ дней. Такой разброс связан с разными сроками поступления тяжелых больных в стационары. Особенно важным является факт высокой частоты выявления мутаций (ggt (D-G), aat (D-E)) в сайте 222 белка HA1 в секционном материале от этих пациентов (69,0%). В тоже время, в материалах более 150 пациентов (изоляты, носоглоточные смывы), у которых инфекция А(Н1N1)v закончилась выздоровлением, не было найдено таких мутаций. Полученные данные «приближают» штаммы нового пандемического вируса гриппа к вирусу гриппа «испанки» 1918 г. и объясняют изменение его тропности к рецепторам клеток верхних (преимущественно $\alpha 2$ -6 рецепторы) и

нижних (преимущественно $\alpha 2$ -3 рецепторы) отделов респираторного тракта в сторону последних, что приводит к утяжелению течения инфекции.

В ЦЭЭГ проведены исследования по изучению чувствительности штаммов вирусов гриппа А к этиотропным препаратам (табл.2). Как было показано ранее, популяция штаммов сезонного вируса гриппа А гетерогенна по чувствительности к ремантадину и озельтамивиру: большая часть штаммов вируса гриппа А(Н1N1) резистентна к озельтамивиру, А(Н3N2) – к ремантадину. Штаммы нового пандемического вируса гриппа А(Н1N1)v оказались резистентными к ремантадину и чувствительными к озельтамивиру. Все штаммы сезонного и пандемического вируса гриппа А были чувствительны к арбидолу, занамивиру и ингавируну (средняя активность).

Таким образом, развитие пандемии 2009 г. в России имело 2 периода: летний, который связан с заносом штаммов из других стран мира, и осенний – с высокой частотой передачи вируса внутри страны. Пик заболеваемости регистрировали в период 45-48 недель 2009 г., который был связан с активным распространением пандемического вируса гриппа А(Н1N1)v, что подтвердили данные лабораторных методов диагностики. Случаи выявления сезонных штаммов были редкими. Интенсивность пандемии различалась по отдельным территориям РФ и возрастным группам. Частота выявления инфекции, вызванной пандемическим вирусом гриппа А(Н1N1)v, была практически одинаковой, как среди госпитализированных, так и амбулаторных пациентов. Наиболее часто инфекцию А(Н1N1)v выявляли у лиц 15-65 лет. В октябре-декабре 2009 г. наиболее вовлеченными в процесс были дети 3-6 лет, с конца декабря до начала февраля – дети 0-2 лет. Летальные случаи регистрировали более часто среди лиц в возрасте 20-50 лет, при средней продолжительности заболевания $8,1 \pm 4,8$ дней. Из секционного материала (в основном ткани легкого) выделены вирусы с измененной чувствительностью к специфическим рецепторам клеток эпителия верхних и нижних отделов респираторного тракта, что свидетельствует об эволюционной изменчивости вируса, приводящей к утяжелению течения заболевания. По антигенным свойствам выделенные штаммы А(Н1N1)v в подавляющем большинстве были подобны эталону А/California/07/2009, штаммы вируса гриппа В – эталону В/Brisbane/60/2008, входящему в состав вакцины для сезона 2009-2010 гг. Эти данные определили изменения состава гриппозных вакцин на 2010-2011 гг. Определена гетерогенность популяции вирусов гриппа по чувствительности к химиопрепаратам со специфической активностью: А(Н1N1) резистентны к озельтамивиру, А(Н3N2) и А(Н1N1)v резистентны к ремантадину. От-

мечена высокая чувствительность вирусов гриппа в культуре клеток MDCK к арбидолу, при средних показателях – к ингавирину.

Снижение активности циркуляции штаммов нового пандемического вируса гриппа А(Н1N1)v в начале 2010 г. не дает основания для ослабления мониторинга и, кроме того, определяет актуальность дальнейшего изучения свойств этого вируса и направление его эволюционной изменчивости.

Приложение №5

Иммуногенность вакцин против препандемических и пандемических вирусов гриппа

И.В. Красильников

ФГУП «НПО Микроген» МЗ и СР РФ

Изменчивость вируса гриппа приводит к высокому риску возникновения пандемии. Исследования последних лет показали, что для предотвращения пандемий наиболее эффективным средством остаются вакцины против пандемического вируса. Причем в зависимости от технологии получения вакцины зависят ее безопасность, реактогенность и протективные свойства.

События последних лет, связанные с распространением «птичьего» А/Н5N1 и «свиного» А/Н1N1/v вирусов гриппа, показали, что только объединив свои усилия человечество сможет противостоять пандемиям. Для этого необходимо увеличивать мощности производства гриппозных вакцин и совершенствовать их технологию, начиная от субстрата, способного синтезировать вирус или его антигены, и завершая составом вакцины (содержание адъювантов и отдельных вирусных эпитопов).

В целях профилактики от новых вирусов гриппа А/Н1N1/v и А/Н5N1 был разработан ряд новых гриппозных вакцин: «Авифлю», «Орнифлю» и «Ультрагривак» против А/Н5N1 вирусов и «Пандефлю» и «Инфлювир».

Результаты доклинических испытаний на животных показали, что против А/Н5N1 вирусов наиболее иммуногенной вакциной оказалась сплит-виросомальная «Авифлю» вакцина. Живая аттенуированная вакцина «Ультрагривак» также полностью защищала животных от вирулентного штамма, но проявляла более высокую реактогенность.

Клинические испытания перечисленных вакцин подтвердили результаты, полученные на животных. Наиболее высокий процент специфических

антител с титрами, обеспечивающими защиту от вируса, отмечается у добровольцев при использовании инактивированной вакцины, содержащей гидроокись алюминия в качестве адъюванта (70% после двухкратного введения). Живая аттенуированная вакцина «Ультрагривак» после двух введений с интервалом 21 день обеспечивала высокий уровень антител у 52% волонтеров и вызывала местные реакции у половины привитых.

Доклинические исследования на животных вакцин против A/H1N1/v вируса гриппа также показали их безопасность и эффективность. Инактивированная субъединичная вакцина с гидроокисью алюминия «Пандефлю», содержащая 15 мкг НА в дозе, и живая аттенуированная вакцина «Инфлювир» полностью защищали хорьков от инфекции. Клинические испытания показали, что вакцина «Пандефлю» при умеренной реактогенности (21% местных реакций и 14% системных) после двух вакцинаций формирует протективный уровень антител у 67% привитых. Вакцина «Инфлювир» оказалась более реактогенной (33% местных реакций) и после двукратной интраназальной вакцинации вызывала синтез протективных антител у 33% взрослых волонтеров (18-60 лет) и у 100% детей. Последние данные показывают, что живая аттенуированная вакцина особенно эффективна при иммунизации детских коллективов против пандемического вируса гриппа.

Исследования иммуногенности различного типа вакцин показали также, что критерий уровня протективных антител приемлем для инактивированных вакцин, а живые аттенуированные вакцины следует оценивать по кумулятивному уровню – специфические антитела класса А плюс уровень гуморальных специфических антител.

Приложение №6

Генетические свойства пандемического вируса A(H1N1)v

О.И. Киселев

Несмотря на значительный прогресс в области понимания происхождения и структуры пандемических вирусов, точное прогнозирование пандемий и появление возбудителя с пандемическими потенциями остается недостижимой задачей эпидемиологического и этиологического надзора за гриппом. При этом нельзя утверждать, что данная пандемия явилась полной неожиданностью для специалистов, широкой медицинской общественности и руководителей здравоохранения. Предпандемический период был декларирован ВОЗ не только на основании мониторинга эпидемий «птичьего» гриппа в мире, но также на общей совокупности научных и практических наблюдений за циркуляцией и изменчивостью вирусов гриппа типа А. В этот период

специалисты Института предполагали появление вирусов H1N1 с новыми свойствами. Кроме этого, нельзя было исключить возврат в активную циркуляцию среди людей вирусов H2N2, вызвавших в 1957 году пандемию Азиатского гриппа.

Пандемия гриппа /H1N1/2009 вызвана вирусом смешанного происхождения, включающего гены вирусов птиц, свиней и человека. По данным геномного анализа, данный вирус идентифицирован как тройной реассортант, в котором только один ген (PB1) происходит от вирусов H3N2, циркулирующих длительное время в популяции людей.

Рис. 1. Геном вирусов гриппа А включает 8 фрагментов РНК с отрицательной полярностью. Вирусный геном кодирует 11 генов, 2 гена представляют собой сплайсирующиеся рамки считывания. К ним относится ген, кодирующий белок М2 (фрагмент 7), проявляющий в форме гомотетрамера функции протонного насоса. Ген NS 2 экспрессируется в виде сплайсирующейся м РНК- транскрипта 8 фрагмента генома. Фрагмент генома 2 кодирует белок PB1-компонент полимеразного комплекса вируса. В 2002 году в этом гене идентифицирована новая дополнительная рамка считывания PB1 – F2, кодирующая относительно короткий полипептид, длиной 87 аминокислотных остатков, отличающийся выраженной амфифильностью и содержащий сигнал митохондриальной локализации. Транслокация белка PB1-F2 в митохондрии является сигналом апоптоза и приводит к массовой гибели макрофагов.

Рис.2-3. Особенности строения вирусного генома и патогенность у животных (экспериментальные модели) и человека позволяют отнести данный агент к умереннопатогенным вирусам. В частности, гемагглютинин вируса H1N1/v не содержит сайтов протеолиза, свойственных высокопатогенным вирусам H5N1.

Сайт протеолиза HA пандемического вируса полностью идентичен вирусу H1N1/1918 года:

PSIQSRGLFGAI- 2009г.

PSIQSRGLFGAI -1918г.

Это свидетельствует о принципиально других механизмах активации вируса при заражении клеток.

Рис. 4-5. Во втором фрагменте генома, кодирующем белок PB1 и дополнительный белок PB1-F2, напоминающий по своей структуре бактериальные токсины, рамка считывания для белка PB1-F2 трижды прерывается стоп-кодонами, что приводит к отсутствию его синтеза в инфицированных клетках. Отсутствие этого белка как важнейшего фактора патогенности является основанием для определения вируса гриппа H1N1/v как умеренно пато-

генного. Более того, именно этот генетический признак является принципиальным отличием современного пандемического вируса от вируса H1N1/1918 года, вызвавшего пандемию «Испанки» (рис. 6-7).

Вирус пандемического гриппа является дефектным по белку NS1- антагонисту интерферонов 1-ого и 2-ого типов (рис. 8).

В белке NS1 изолятов с Северо-Американского континента и РФ обнаружена С-концевая делеция важного регуляторного участка, играющего ключевую роль в активации сигнальных систем клетки, обеспечивающих контроль над противовирусным ответом клеток организма: делеция так называемого PDZ- связывающего домена (Рис. 9). Вероятно с этой делецией связана повышенная чувствительность пандемического вируса H1N1/v к интерферонам, особенно, к интерферону – гамма.

Структура гена PB1-F2 играет принципиальную роль в поражении макрофагов, поэтому отсутствие важного сигнального домена в белке NS1 пандемического вируса свидетельствует о его пониженной патогенности.

В активацию сигнальных систем клеток вовлечены также SH (SARC- homology) домены. Из приведенной выше (рис. 8) последовательности белка NS1 видно, что в пределах первичной структуры этого белка SH домены в положениях 89-93 и 164-167 имеют неизменную структуру, однако, в положениях 212-216 сильно отличаются (рис. 10). Функциональная важность доменов белка NS1, связывающихся SH2 и SH3- доменами регуляторной субъединицы P1-3- киназы установлена путем сайт- специфического мутагенеза.

Проведенный анализ функциональных доменов белков вируса гриппа H1N1/v показал, что современные пандемические вирусы гриппа характеризуются следующими дефектами:

- На сайт протеолиза - PSIQSR/GLFGAI является субстратом для мембранной сериновой протеазы TMP/SST.
- Три стоп-кодона в PB1- F2.
- COOH- концевая делеция PDZ- связывающего домена NS1.

К этим генетическим дефектам следует добавить, что пандемические вирусы характеризуются также следующими дополнительными свойствами:

- сезонные вирусы H1N1 часто проявляют резистентность к Тамифлю, что также характерно для пандемического вируса,
- HA и NA – кооперативные особенности протеолиза и индукция цитокинового шторма,

- NS1 и NS2 противостояние системе интерферона и иммуносуппрессия- наличие консенсус- последовательностей Эбола- подобного иммуносупрессивного домена.

Нельзя не обратить внимание на наличие иммуносупрессивного домена в составе белка NS1 вируса H1N1/v. Иммуносупрессия и признаки молниеносного течения заболевания у беременных женщин могут быть напрямую связаны с функциями этого домена. Расшифровка механизмов иммуносупрессии, вызванной вирусом гриппа у беременных женщин, представляет собою одну из важнейших фундаментальных проблем.

Анализ клинической картины и осложнений гриппозной инфекции, вызванной пандемическим вирусом 2009 года, свидетельствует о том, что данный штамм вируса обладает способностью к индукции «цитокинового шторма», что является опасным фоном для дальнейшего развития наиболее тяжелых последствий инфекции. Поэтому противовоспалительная терапия призвана уже в первые дни заболевания снизить опасность развития таких осложнений, как системное поражение органов. Недопущение этого перехода и составляет основную цель комплексной терапии пандемического гриппа. На рисунке 11 и 12 представлены типичное течение заболевания пандемическим гриппом и описание комплексного применения лекарственных препаратов для лечения современного гриппа:

1. Раннее применение противовирусных препаратов для осуществления блокады репликации вируса до начала генерализации инфекционного процесса и развития устойчивой виремии.
2. Применение доступных противовоспалительных средств (антигистаминные препараты и ингибиторы циклооксигеназ 1 и 2) – подавление развития «цитокинового шторма» и профилактика развития системного поражения органов.
3. Применение антибиотиков начинается при появлении признаков вторичной бактериальной инфекции или угрозе ее присоединения.
4. Препараты интерферонов альфа и гамма способствуют локализации процесса в верхних дыхательных путях, в острой стадии процесса – снижают выделение и распространение вируса в нижних отделах легких, что облегчает течение заболевания и снижает вероятность развития тяжелых осложнений (бронхиолиты, пневмония, отек легких).
5. Инфузионные растворы следует применять в умеренных количествах, в связи с повышенной склонностью к развитию отеков в локусах воспаления, вызванных инфекцией, и при первых признаках пневмонии и бронхиолита.
6. Капилляротоксикоз и угроза развития отека легких требуют применения средств стабилизации проницаемости сосудов и осмотически активных препаратов.

7. Применение ингибиторов эластазы является одним из путей предупреждения развития патологического процесса в легких, приводящего к obstructивным процессам и распаду легочной ткани.

Описанный алгоритм использования современных этиотропных средств и средств патогенетической терапии является научно-обоснованным и наиболее целесообразным.

В соответствии с анализом предшествующих пандемий вслед за 1ой волной, которая пришлась на сезон 2009/2010 гг., начало 2-ой волны пандемии ожидается в осенне-зимний период 2010/2011 гг. Чрезвычайно важным фактором сдерживания распространения 2-ой волны является иммунизация пандемической вакциной. Кроме того, необходимо провести тщательный анализ итогов первой волны пандемии и вести постоянный мониторинг за генетическими изменениями вируса с целью своевременной идентификации вариантов пандемического вируса H1N1 с признаками возрастающей патогенности.

Приложение №7

Резюме доклада Н.Г. Пучковой (ООО ФК «ПЕТРОВАКС») на проблемной комиссии 3 марта 2010 г., Санкт-Петербург

Вирус гриппа отличается от других респираторных вирусов своей уникальной способностью быстро меняться, уходя от иммунной защиты организма. Помимо ежегодных эпидемий, в которые заболевает от 5 до 15% населения, периодически возникают пандемии, заболеваемость при которых в разы выше. Пандемии гриппа, как правило, случаются раз в 30-40 лет, когда появляется вирус со значительно измененными свойствами, который не узнает иммунная система. При этом антитела для защиты у подавляющего большинства людей отсутствуют, т.е. население оказывается иммунонаивным.

В 2000 году экспертами Всемирной Организации Здравоохранения на основании анализа ситуации последних лет и опыта пандемий 20 века был разработан Глобальный План подготовки к пандемии, который последовательно реализуется усилиями органов здравоохранения многих стран мира, включая Россию. В рамках этого плана партнерскими лабораториями ВОЗ осуществляется контроль вспышек эпизоотий птиц и животных и заболеваний людей, проводится сбор образцов контагиозных штаммов, их идентификация, подготовка диагностических панелей, органы здравоохранения, в соответствии с национальными приоритетами, организуют работу по мобили-

зации государственных, научных и производственных ресурсов для своевременной подготовки к пандемии.

В апреле 2009 года в США зарегистрирован новый высоко контагиозный штамм А/Н1N1/ν, получивший условное название «свиного» гриппа, так как имеет генетическое родство со штаммом вируса гриппа свиней А/Н1N1/. Летом 2009 Всемирная Организация Здравоохранения объявила VI уровень угрозы, что характеризовало ситуацию как начало пандемии.

В РФ была создана правительственная комиссия по предупреждению завоза и распространения на территории Российской Федерации заболеваний, вызванных высокопатогенным вирусом гриппа, под руководством вице-премьера В.А.Зубкова, ответственная за реализацию Национальной программы подготовки к пандемии. Экспертно-координационный совет, организованный Росздравнадзором по распоряжению Министра здравоохранения, включил представителей всех структур, ответственных за непосредственную разработку и практическую реализацию мероприятий, направленных на снижение заболеваемости и смертности, а также социально-экономического ущерба от гриппа в период пандемии. В число задач совета входила, в частности, экспертиза, регистрация и внедрение гриппозных вакцин против пандемического штамма вируса гриппа А(Н1N1)ν. Каждый этап подготовки кандидатных вакцин (разработка, доклиническая оценка, клинические испытания, технология и организация производства) следовало выполнить в полном объеме, однако, учитывая жесткие временные рамки, необходимо было сделать по ускоренной схеме регистрации. Организация работы выглядела следующим образом:

- ♦ Промежуточные отчеты подаются в координационный совет по мере завершения исследований;
- ♦ Совет принимает решение о начале следующих этапов испытаний на основании анализа промежуточных данных экспертными организациями: после экспертизы результатов доклинических исследований – получение разрешения на проведение клинических испытаний с участием взрослых, после регистрации и рекомендаций медицинского применения у взрослых – проведение исследований с участием детей.
- ♦ Все исследования должны быть выполнены в полном объеме; все финальные отчеты направляются в Росздравнадзор;
- ♦ Производство вакцин может быть начато после сертификации производства при наличии регистрационного удостоверения, однако, разрешение

на медицинское применение может быть получено только после анализа и одобрения результатов клинических испытаний.

Известно, что для защиты против сезонного гриппа производители изготавливают вакцины, антигенный состав которых изменяется ежегодно в соответствии с рекомендациями ВОЗ и Национальной комиссии по штаммам. При этом технологии получения антигенов и производства ежегодно в целом остаются неизменными. Известно также, что производство вакцин из нового штамма требует несколько месяцев с момента выделения возбудителя до наработки антигенов для вакцин. К моменту доклинической оценки кандидатных вакцинных препаратов была накоплена информация об особенностях вируса А(Н1N1)Калифорния/09, о патогенезе заболевания у различных контингентов. Таким образом, при выборе стратегии разработки пандемических вакцин принимались во внимание следующие факторы:

- Более низкая по сравнению с ожидаемой патогенность вируса;
- Более высокая по сравнению с ожидаемой иммуногенность вируса А/Н1N1/Калифорния/7/2009;
- Приоритетные контингенты, подлежащие первоочередной вакцинации, - группы высокого риска инфицирования и тяжелых форм гриппа – дети, беременные;
- Отсутствие титров антител у большинства населения;
- Ограничения возможностей производства – необходимость следования антиген-сберегающей стратегии, предложенной ВОЗ.

Необходимость 2-кратной иммунизации, по крайней мере для определенных контингентов, была очевидна так же, как и необходимость создания максимально безопасной вакцины.

Для борьбы с новым вирусом гриппа А/Н1N1/ Фармацевтическая Компания «ПЕТРОВАКС» разработала и производит вакцины МоноГриппол Нео и МоноГриппол плюс, а также, совместно с Санкт-Петербургским НИИВС, - МоноГриппол.

Данные вакцины являются моновалентными аналогами сезонных препаратов Гриппол Нео, Гриппол плюс и Гриппол. Эффективности и безопасности применения вакцин Гриппол и Гриппол плюс посвящены многочисленные исследования. Иммунизация вакцинами, содержащими адъювант Полиоксидоний, обеспечивает более выраженный и более быстрый иммунный ответ после вакцинации низкой дозировкой антигена. Гриппол Нео (ЛСР-006029/29 от 23.07.2009) – новая вакцина, которая также характеризу-

ется сниженным содержанием антигенов и наличием иммуноадьюванта Полиоксидония, производится без консерванта в шприц-дозах. Антигены для вакцины «Гриппол® Нео» получают без использования куриных эмбрионов. Технология выращивания вируса использует культуру клеток MDCK, что позволяет производить вакцину, не содержащую следов антибиотиков, и снимает основное противопоказание к вакцинации против гриппа – аллергию на белок куриного яйца.

Пандемические моновалентные вакцины семейства Гриппол включают антигены только одного из подтипов вируса гриппа А, рекомендованного в качестве пандемического штамма. Вирусная компонента в моновалентном препарате представлена антигенами только одного подтипа вируса гриппа типа А вместо трех, а сезонный штамм заменен пандемическим. В прививочной дозе 0,5 мл содержится не менее 5 мкг гемагглютинина рекомендованного пандемического штамма вируса гриппа и 500 мкг Полиоксидония в качестве иммуноадьюванта. Такой подход отвечает рекомендациям ВОЗ по повышению безопасности и эффективности вакцинации, реализации антиген-сберегающей стратегии, при которой в условиях дефицита антигена может быть произведено большее количество доз.

Так же, как и сезонные вакцины ФК «ПЕТРОВАКС», МоноГриппол Нео и МоноГриппол плюс производятся без добавления антибиотиков и консервантов на новом заводе, расположенном в Московской области. Производство осуществляется по GMP стандарту в помещениях, классифицированных по классу чистоты, и включает участок приготовления вакцины, современную линию розлива с барьерной технологией, линию упаковки, автоматизированный инспекционный контроль. Каждый этап производственного процесса строго контролируется в соответствии с утвержденными производственными правилами.

В доклинических исследованиях каждого из трех препаратов изучена общебиологическая и иммунологическая безопасность вакцин на разных видах животных (мыши, крысы, кролики). При исследовании острой и хронической токсичности на половозрелых и молодых грызунах показано отсутствие токсических и местнораздражающих свойств, в реакциях гиперчувствительности немедленного и замедленного типа не обнаружено алергизирующего действия. Охарактеризовано влияние вакцинации на основные интегральные реакции иммунной системы (гуморальный, клеточный иммунный ответ, систему фагоцитов). Дополнительное исследование проведено на новорожденных животных. По результатам доклинических испытаний сделан вывод о том, что вакцины МоноГриппол, МоноГриппол Нео и Мо-

ноГриппол плюс в дозах, многократно превышающих человеческую, являются безопасными препаратами.

Клинические испытания препаратов с участием взрослых (по дизайну двойные слепые плацебо, контролируемые в параллельных группах) проведены после получения разрешения по утвержденным протоколам на базе НИИ Детских инфекций и Санкт-Петербургского Государственного Медицинского Университета имени И.П. Павлова в соответствии с правилами надлежащей клинической практики (GCP). Вакцины показали высокую безопасность и эффективность. Отмеченные в единичных случаях общие (головная боль, недомогание, субфебрильная температура) и местные реакции (покраснение, болезненность в месте инъекции) относились к реакциям слабой силы, не вызывали дискомфорта у привитых и проходили самостоятельно в течение 1-2 дней. Оценка иммуногенности МоноВакцин, проведенная экспертными лабораториями, непосредственно не принимающими участия в исследовании, позволила сделать вывод о том, что привитые хорошо отвечают на вакцинацию: однократной иммунизации достаточно для формирования выраженного иммунного ответа по общепринятым международным критериям – по показателям серопротекций, сероконверсий и кратности прироста защитных антител.

Исследования с участием детей разных возрастных групп проводили после получения регистрационных удостоверений и одобрения медицинского применения у взрослых. Открытые проспективные исследования (группа плацебо не была предусмотрена протоколом исследования по этическим соображениям), проведенные в Санкт-Петербурге и Екатеринбурге (МУЗ ДГБ №8) с последовательным включением детей трех возрастных групп (12-17 лет, 7-11 лет и 3-6 лет, для МоноГриппол плюс дополнительная четвертая возрастная группа – 6-35 мес.), показали, что все три препарата безопасны при вакцинации детей.

Таким образом, результаты государственных испытаний с участием взрослых и детей различных возрастных групп свидетельствуют о высокой безопасности и эффективности моновакцин Гриппол. Инструкции по применению вакцин МоноГриппол, МоноГриппол Нео и МоноГриппол плюс разработаны на основании результатов клинических исследований, а также мировой практики по схеме вакцинации от гриппа иммунонаивного населения. Согласно утвержденным инструкциям по применению:

- МоноГриппол плюс – с 6 месяцев и без ограничения возраста;
- МоноГриппол и МоноГриппол Нео – с 3х лет.

При этом рекомендованы следующие схемы вакцинации:

- Для взрослых контингентов и детей от 7 лет однократная иммунизация;
- Для детей младше 7 лет – двукратная с интервалом не менее 21 дня.

В реализации государственной программы по защите приоритетных контингентов населения от пандемического гриппа участвуют несколько производителей. Массовая вакцинация проводится в Российской Федерации с ноября 2009 года.

Приложение №8

Мониторинг гриппа и ОРВИ: сезон 2008-2009, начало сезона 2009-2010

С.Б.Яцышина¹, А.Н.Миненко¹, М.Н.Прадед¹, З.А.Зверева¹, А.В. Кудрявцева¹, Р.В. Вартанян³, Ю.В. Шевцова², С.С. Ким⁵, Т.В.Спичак⁴, Л.К. Катосова⁴, И.В. Зубкова⁴, Г.А.Шипулин³, В.В.Малеев¹

1. ФГУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора», Москва,
2. Инфекционная клиническая больница №1, Москва,
3. НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН, Москва,
4. Научный центр здоровья детей РАМН, Москва,
5. ДГП №138, Москва.

С целью оптимизации эпидемиологического надзора за ОРВИ и, в частности, этиологического мониторинга за возбудителями ОРЗ в ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора разработан ряд тест-систем на основе ПЦР в формате мультипрайм с гибридационно-флуоресцентной детекцией для обнаружения основных возбудителей острых респираторных заболеваний. Набор реагентов «ОРВИ-скрин-FL» позволяет выявить и дифференцировать 13 видов основных возбудителей ОРВИ: вирусы Парагриппа 1-4 (Piv), Коронавирусы (Cov), Респираторно-синцитиальный вирус (RSv), Риновирусы (Rv), Бокавирус (Bov), Аденовирусы (Av), Метапневмовирус (Mpv). Набор реагентов «АмплиСенс Mycoplasma pneumoniae /Chlamydomphila pneumoniae -FL» обнаруживает ДНК Mycoplasma pneumoniae и Chlamydomphila pneumoniae.

Вышеупомянутые наборы реагентов, а также разработанные ранее наборы «АмплиСенс *Influenza virus A/B-FL*» и «АмплиСенс *Enterovirus-FL*» использовались для проведения мониторинга гриппа и ОРВИ/ОРЗ у госпитализированных в стационар детей при спорадической заболеваемости.

За сезон 2008-2009 гг. этиологический мониторинг ОРВИ/ОРЗ проводился на базе ИКБ№1 и в ДИБ№5 г. Москвы. В исследование были включены пациенты, госпитализированные с сентября 2008 г. по июнь 2009 г., не позднее 7-го дня после появления симптомов ОРЗ. Клинический материал (объединенный мазок из носоглотки и ротоглотки) был собран в течение первых суток госпитализации и хранился до исследования в замороженном виде.

Исследования проведены на группе 846 детей в возрасте от 1 месяца до 14 лет, из них: 135 пациентов в возрасте от 1 мес. до 1 г. включительно, 440 пациентов старше 1 года и до 3-х лет включительно, 245 детей от 3-х до 7 лет включительно и 26 детей старше 7 лет. Искомые возбудители были обнаружены у 644 пациентов (76,1%). В этиологической структуре ОРВИ возрастной группы до 1 г. преобладали вирусы парагриппа (Piv=12,6% от исследованных образцов), с преобладанием типов 2, 3 и 4 с частотой 4,4%, 3,7% и 3,0% соответственно. Кроме того, в порядке убывания частоты были обнаружены: коронавирусы (Cov=11,1%), респираторно-синцитиальный вирус (RS=10,4%), риновирусы (Rh=8,9%), бокавирусы (Bov=5,9%), метапневмовирусы (Mpv=4,4%), грипп А (InfA=3%), энтеровирусы (Ev=1,5%). Дети, инфицированные Piv, Cov и Rh, имели клинический диагноз круп и ларинготрахеит, среди детей, инфицированных RS, чаще встречались острый или обструктивный бронхит и пневмония. Совместное инфицирование двумя и более вирусными агентами наблюдалось в 28,1% случаев, среди различных нозологических форм, с преобладанием сочетания Cov и Bov. В возрастной группе 1-3г. в порядке убывания частоты были обнаружены Piv (12%, Piv3=5%, Piv1=4%), Rh (11%), Bov (9%), RS (8%), Cov (6%), InfA(4%), Mpv (3%), аденовирус (Ad=1%). В данной возрастной группе у детей, инфицированных Piv, Rh, Bov и Cov, был поставлен диагноз круп или ларингит, а дети с RS и Mpv имели заболевание верхних и нижних дыхательных путей с одинаковой частотой; у четверти детей, инфицированных Bov, отмечалось заболевание нижних дыхательных путей. Сочетанная инфекция регистрировалась в 27 % случаев при разных нозологических формах, с преобладанием Rh и Bov в различных сочетаниях с другими вирусами. В этиологической структуре ОРВИ возрастной группы 3-7лет чаще были представлены Piv (10%, Piv3=6%), Rh (9%) и RS (7%), с меньшей частотой обнаружены InfA (6%), Bov (4%), Mpv (3%), Cov (2%), Ev (2%) и Ad (1%). В этой группе дети, инфи-

цированные Piv, Voc, Mpv, чаще болели крупом и ларингитом, а дети, инфицированные RS, InfA, Rh и Cov, имели заболевание верхних и нижних дыхательных путей с одинаковой частотой. Сочетанная инфекция наблюдалась в 17% случаев с преобладанием Rh и Voc в сочетании друг с другом или с другими вирусами. У детей старше 7 лет чаще обнаруживались Rh (23%), с меньшей частотой – Piv (8%, Piv2=4%, Piv3=4%), InfA (8%) и RS (8%), Mpv (4%), InfB (4%), Voc (4%). Сочетанная инфекция разными вирусами обнаружена в 15% случаев. Таким образом, показано, что рассматриваемые вирусы вызывают ОРВИ у детей всех возрастных групп, однако, их доля в этиологической структуре в зависимости от возраста варьируется. С увеличением возраста отмечается тенденция к снижению доли в этиологической структуре респираторно-синцитиального и коронавируса, увеличение доли риновирусов и вирусов гриппа, а также снижение частоты случаев сочетанного инфицирования двумя и более вирусными агентами. В возрастной группе от 1 до 3-х лет наблюдается наибольшая частота обнаружения бокавируса. Частота обнаружения вирусов парагриппа не претерпевает значительных колебаний в зависимости от возраста. Все вирусные агенты могут обнаруживаться при заболевании нижних отделов дыхательных путей, и наиболее часто – респираторно-синцитиальный вирус независимо от возраста. Для большинства вирусов заболеваемость характеризуется выраженной сезонностью с одним пиком подъема. Для респираторно-синцитиального вируса характерно чередование осенне-зимнего и зимне-весеннего подъема заболеваемости, регистрирующихся через год, при этом наибольшая эпидемическая активность RS-вирусной инфекции наблюдается в годы с осенне-зимним пиком подъема заболеваемости. Для риновирусов ежегодно отмечается наличие двух пиков увеличения частоты их обнаружения - осенью и весной.

Обследование контрольной группы 72-х детей без симптомов ОРЗ в возрасте от 1 мес. до 10 лет (83% - до 6 лет) за июль 2008 г – январь 2009 г показало, что носительство вышеупомянутых возбудителей ОРЗ отсутствует или является редким явлением. В данной выборке были обнаружены риновирусы у 3-х детей, энтеро- и аденовирусы по 1 случаю каждый. В осенние месяцы у одного ребенка были одновременно обнаружены *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydomphila pneumoniae*, у двух детей обнаружены вирусы парагриппа тип 2.

Совместно с Научным центром здоровья детей РАМН и детской городской поликлиникой №138 г. Москвы была проведена работа по изучению этиологической структуры внебольничной пневмонии у детей. С этой целью с января по октябрь 2008 г. было обследовано 17 детей в возрасте от 1 до 16

лет с рентгенологически подтвержденной ВП. ПЦР – диагностика проводилась с применением разработанных в ЦНИИЭ наборов реагентов на основе ПЦР для обнаружения *Mycoplasma pneumoniae* (M.pn.) и *Chlamydomphila pneumoniae* (C.pn.), респираторно-синцитиального вируса (RS), вирусов гриппа типов А и В, вирусов парагриппа (с идентификацией 1-4 типов), коронавируса (229Е, ОС43, NL63, HKU), риновирусов, аденовирусов, энтеровирусов, метапневмовируса (Mpv) и бокавируса человека в аспиратах из трахеи и мазков из ротоглотки. В парных сыворотках методом Elisa выявлялись IgM, IgA и IgG АТ к M.pn. и C.pn. (Savyon Diagnostics, Израиль), проведено бактериологическое исследование аспиратов из трахеи.

Mycoplasma pneumoniae обнаружена методом ПЦР у 8 пациентов (в одном случае в ассоциации с S.pn. и аденовирусом, обнаруженном в аспирате и вирусом парагриппа тип 2 в мазке, и в одном случае в ассоциации с энтеровирусом, обнаруженном в аспирате). Результаты ИФА сывороток этих пациентов также показали появление IgG, либо значимое нарастание IgM к M.pn. в динамике. *Streptococcus pneumoniae* (S.pn.) был обнаружен у 7 больных (в одном случае в ассоциации с M.pn. и в 5 случаях – с вирусами). Следует отметить, что у 6 пациентов были обнаружены вирусы из семейства Paramyxoviridae, подсемейства Pneumovirinae (RS и Mpv), причем с большей нагрузкой в трахеальных аспиратах, чем в мазках, либо только в трахеальных аспиратах. Так RS вирус обнаружен у трех пациентов (в одном случае в ассоциации с S.pn), Mpv – у трех (в 2 случаях в ассоциации с S.pn). У одного пациента обнаружен вирус гриппа А с большим содержанием в мазке нежели в аспирате (в ассоциации с S.pn. и аденовирусом). В одном случае зарегистрирована ассоциация S.pn и риновируса в аспирате из трахеи. Продемонстрировано 100% совпадение результатов диагностики M.pn. с помощью набора реагентов «АмплиСенс® *Mycoplasma pneumoniae* / *Chlamydomphila pneumoniae* -FL» (ЦНИИЭ, Москва) с данными серологических исследований. Показано, что трахеальные аспираты являются более информативным материалом для молекулярной диагностики ВП, в частности, вызванной M.pn. В случае использования мазков из ротоглотки ДНК M.pn. была зарегистрирована только в 5 из 8 образцов, положительных по результатам тестирования аспиратов. Высокий процент обнаружения вирусов-представителей подсемейства Pneumovirinae у пациентов с ВП свидетельствует о необходимости изучения роли этих возбудителей и их ассоциаций с бактериальными агентами в этиопатогенезе пневмоний. Таким образом, в совокупности использованных методов инфекционные агенты обнаружены у 100% пациентов. Высокий процент обнаружения микоплазменных пневмоний можно объяснить тем, что, по-

видимому, в Москве в сентябре – октябре 2008 г. наблюдалась повышенная эпидемическая активность данного возбудителя, которая носила характер вспышки, так как 6 из 8 пациентов заболели именно в это время.

Интенсивная миграция населения в сочетании с активной эволюцией вирусов гриппа создают предпосылки для возникновения новых антигенных вариантов вирусов гриппа и их быстрого глобального распространения. По данным ВОЗ, с марта 2009 г. в Мехико в рамках эпиднадзора стали регистрироваться случаи гриппоподобного заболевания, число которых устойчиво возрастало, и на 23 апреля было зарегистрировано уже более 854 случаев заболевания, 59 из которых закончились смертельным исходом. К 24 апреля 2009 г., когда правительство Соединенных Штатов Америки сообщило о семи случаях заболевания людей в США гриппом (пять в Калифорнии и два в Техасе), стало очевидным, что заболевание вышло за пределы одной страны и вызвано новым вариантом вируса гриппа А/Н1N1 с гемагглютинином свиного происхождения. Вследствие вовлечения в эпидемический процесс нескольких стран, 11 июня 2009 г. эксперты ВОЗ объявили о начале пандемии (6 фаза пандемического процесса).

В начале пандемического процесса, наряду с другими мерами, эффективным и существенным является раннее распознавание случаев инфицирования, в связи с чем, в ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора были разработаны наборы реагентов для обнаружения вирусов гриппа, в том числе нового пандемического варианта А/Н1N1. Набор реагентов «АмплиСенс *Influenza virus A/B-FL*» обнаруживает РНК вирусов гриппа А всех субтипов и вирусов гриппа В, относящихся к линиям Ямагата и Виктория. Набор реагентов для ПЦР «АмплиСенс *Influenza virus A-тип-FL*» позволяет идентифицировать в мультипраймерном формате из двух реакционных пробирок (Н1N1 и Н3N2) гемагглютинин субтипов Н1 и Н3 и нейраминидазы субтипов N1 и N2 последовательностей изолятов, выделявшихся в мире во время ежегодных эпидемий последних 30 лет. Набор реагентов для ПЦР «АмплиСенс *Influenza virus A/H1-swine-FL*» разработан с целью идентификации последовательности гена гемагглютинина вирусов гриппа А линии Classical swine, которые антигенно отличаются от вирусов сезонного гриппа А/Н1. Сконструированные флуоресцентные зонды позволяют проводить детекцию как в режиме FRT, так и FEP. Наборы реагентов могут быть использованы при тестировании клинического материала от человека (мазки из респираторного тракта, мокрота и аспираты из трахеи, секционный материал) и культуральной жидкости, полученной при вирусологических исследованиях.

Исследования по оценке аналитических и диагностических характеристик «АмплиСенс *Influenza virus A/B-FL*» и «АмплиСенс *Influenza virus A-тип-FL*» были проведены совместно с сотрудниками лаборатории экологии и эпидемиологии гриппа НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН. Диагностическая чувствительность оценивалась путем сравнительных исследований методом ПЦР и выделения вирусов гриппа на клетках ткани MDCK из клинического материала, собранного во время эпидемического сезона гриппа 2007-2008 гг. на базе первой клинической инфекционной больницы г. Москвы. Для изоляции вируса в культуре использовали носоглоточные смывы в вирусологической транспортной среде и для ПЦР – мазки в транспортной среде для респираторных мазков, собранные от каждого пациента из разных носовых пазух. Было исследовано 74 образца от детей в возрасте от 4 мес. до 11 лет. Процент обнаружения вирусов разными методами практически совпадал. Эффективность работы набора реагентов для идентификации гемагглютиниона Н1 свиного происхождения дополнительно оценивалась с использованием изолятов A/California/04/2009(H1N1) и A/California/07/2009(H1N1), предоставленных CDC и изолятов эпидемического гриппа субтипа Н1 с высокой вирусной нагрузкой (порядка 10^8 геномных эквивалентов в 1 мл ВСЖ). Ложно-положительные либо сомнительные результаты отсутствовали. Показано, что набор реагентов «АмплиСенс *Influenza virus A-тип-FL*» идентифицирует штаммы A/California/04/2009(H1N1) и A/California/07/2009(H1N1) по гемагглютинину тип 1 как положительный и по нейраминидазе тип 1 как отрицательный. Проведены Государственные испытания и получены регистрационные удостоверения на изделия медицинского назначения для данных наборов реагентов.

С помощью новых и разработанных ранее наборов реагентов и методов молекулярно-генетического анализа были обнаружены и изучены первые случаи заболевания новым вариантом гриппа А/Н1N1v в России.

За период с 28 апреля 2009 г. по настоящее время (март 2010 г) на базе Референс-центра по мониторингу за инфекциями верхних и нижних дыхательных путей ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора исследован клинический материал, в котором при проведении мониторинговых исследований на базах ФГУЗ ЦгиЭ регионов РФ был обнаружен вирус гриппа А/Н1N1(sw2009 или А/Н1N1v) с целью изучения изменений в геноме вирусов, а также клинический и посмертный материал, поступавший из ФГУЗ ЦгиЭ регионов РФ с целью подтверждения наличия РНК вируса гриппа А субтип Н1 свиного происхождения (А/Н1N1(sw2009) или А/Н1N1v). За это время был исследо-

ван материал из 52 регионов РФ от 730 человек, в том числе, образцы посмертного материала от 290 человек.

В Референс-Центре ФГУН ЦНИИЭ положительные результаты исследований, проведенных в лабораториях ЦГиЭ, в 91 % случаев были подтверждены, что свидетельствует о высоком качестве как работы лабораторий ЦГиЭ, так и наборов реагентов для ПЦР. Не подтвержденными оказались образцы, первоначально содержавшие вирус гриппа в низкой нагрузке. Специфичность положительных результатов ПЦР дополнительно подтверждалась в Референс-Центре ФГУН ЦНИИЭ методом секвенирования фрагментов ПЦР вируса гриппа A/H1N1v, полученных непосредственно из клинического или секционного материала от 400 пациентов. Результаты секвенирования показали, что амплифицированные фрагменты принадлежат вирусу гриппа А субтипа H1N1, имеющему высокую гомологию (не менее 99,3% по гену гемагглютинина и не менее 99,4% по гену нейраминидаза) с изолятом A/California/04/2009(H1N1).

Эпидемиологический анализ показал, что до конца сентября в РФ преобладали завозные случаи заболевания (93,2%). Зарегистрирован завоз из 25 стран, преимущественно из Болгарии, Великобритании, Испании. В возрастной структуре заболевших на тот момент преобладали лица в возрасте от 15 до 29 лет (58,64%). В 72,2% случаев заболевание протекало с симптомами ОРВИ, клиническая картина гриппа регистрировалась в 17,97% случаев, осложнения (бронхит и пневмония) наблюдались в 4% случаев. По мере развития эпидемического процесса (подъем с середины октября в РФ и с начала октября в Москве) каждый случай, подозрительный на пандемический грипп уже не подтверждался лабораторными методами, стали регистрироваться случаи летального исхода заболевания. На пике эпидемии (ноябрь-середина декабря) вирус гриппа A/H1N1v обнаруживался в 40-46% исследованных методом ПЦР образцов клинического материала, наибольшее количество летальных случаев также регистрировалось в эти месяцы. В возрастной структуре заболевших продолжали преобладать лица в возрасте от 15 до 29 лет (51,64%). Летальный исход регистрировался у лиц в возрасте от 4 мес. до 72 лет, в структуре летальности преобладал возраст от 30 до 64 лет (60%), лица в возрасте от 15 до 29 лет составили 28% летальных случаев.

Принято считать, что грипп осложняется пневмонией вследствие присоединения вторичной бактериальной инфекции, преимущественно пневмококка и гемофильной палочки тип В (Hib). Мы провели исследование образцов секционного материала от 231 умершего человека, по результатам

вскрытия у которых регистрировалась пневмония, респираторный дистресс-синдром, отек легких, на наличие РНК вируса гриппа А/Н1N1v, ДНК *S.pneumoniae* и *Hib*. Результаты исследования показали, что в большинстве случаев (75%) в секционном материале (фрагменты легких) присутствовала только РНК вируса гриппа А/Н1N1v (ДНК данных бактериальных агентов не была обнаружена). В 20% случаев помимо РНК вируса гриппа А/Н1N1v в секционном материале присутствовала ДНК *S.pneumoniae*, в 3% случаев помимо РНК вируса гриппа А/Н1N1v в секционном материале присутствовала ДНК *Hib*, в 2% в секционном материале помимо РНК вируса гриппа А/Н1N1v одновременно присутствовали ДНК *S.pneumoniae* и ДНК *Hib*.

Детальное молекулярно-генетическое изучение вирусов гриппа А/Н1N1v показало, что обнаруженные в РФ вирусы группируются в кластер последовательностей вируса гриппа Н1 Классической (Северо-Американской) линии вируса гриппа свиней. При этом последовательности гена нейраминидазы группируются в кластер вирусов гриппа Евразийской линии вируса гриппа свиней. Таким образом, можно заключить, что новый вирус представляет собой реассортант как минимум двух антигенных линий вирусов гриппа свиней, длительно эволюционировавших в организмах свиней (ранее в составе вирусов гриппа птиц, а один из сегментов – в составе эпидемических вирусов гриппа человека) и сильно отличающихся (не имеющих близкого родства) от сезонных вирусов человека. Было показано, что последовательности Российских изолятов вируса гриппа имеют сайт протеолиза гемагглютинаина PSIQSR/GL, как и большинство изолятов нового варианта А/Н1N1, представленных в GeneBank, за исключением изолята А/Guangdong/03/2009(Н1N1), имеющего сайт PSILSR/GL. Таким образом, все последовательности сайта протеолиза гемагглютинаина, содержат только одну основную аминокислоту, что свидетельствует о низком индексе патогенности вируса, тогда как наличие от 4 до 6 основных аминокислот ассоциировано с высоким индексом патогенности для птиц отряда куриных и млекопитающих. Однако изоляты отличаются от сезонных Н1, для которых характерна последовательность – PSIQYR/GL.

Проведено секвенирование полноразмерных сегментов, кодирующих гемагглютинин вируса гриппа, обнаруженного в образцах клинического и посмертного (секционного) материала от 47 человек, полноразмерных сегментов, кодирующих нейраминидазу вируса гриппа, обнаруженного в образцах клинического и посмертного материала от 34 человек и полноразмерных сегментов кодирующих NS1 и NS2 белки вируса гриппа обнаруженного в образцах клинического и посмертного материала от 37 человек, что позволило

оценить уровень генетического разнообразия циркулирующих на территории РФ вариантов вируса пандемического гриппа А/Н1N1(sw2009). Показано, что исследованные изоляты вирусов гриппа А/Н1N1 характеризуются высокой гомологией по наиболее вариабельным генам НА (в пределах 99,3%-100%) и NA (в пределах 99,4%-100%).

Исследование области связывания гемагглютинина с сиаловыми рецепторами, характеризующей видовую приспособленность, показало, что у всех Российских изолятов вируса в четырех позициях (158, 159, 190, 227) представлены аминокислоты, характерные для вирусов гриппа свиней, способные также связываться с сиаловыми рецепторами верхних отделов респираторного тракта человека. В ключевых положениях (226 и 228) представлены аминокислоты, имеющие высокое сродство к рецепторам птиц и низкое сродство к рецепторам верхнего респираторного тракта человека. Вместе с тем, в популяции вирусов представлены изоляты, имеющие несколько вариантов аминокислот в позиции 225 (222 при нумерации по НА тип 1: D – характерная для вирусов гриппа свиней, N и G – характерные как для вирусов гриппа свиней, так и птиц, и E – характерная для вирусов гриппа человека). Среди исследованных нами Российских изолятов встречаются варианты, несущие аминокислоту D, аминокислоту E, N, G. В наших исследованиях аминокислота D (характерная для вирусов гриппа свиней) обнаружена в группе с заболеванием в легкой или средней тяжести в 66% и у пациентов с летальным исходом заболевания в 44% случаев (данные секвенирования непосредственно из секционного материала); аминокислота E (характерная для вирусов сезонного гриппа) встречалась в 29% только в группе с течением заболевания в легкой и средней степени тяжести. В ряде изолятов вируса гриппа А/Н1N1v в данном положении (225) представлена аминокислота G, значимость которой обсуждается в последнее время международным сообществом. По данным GeneBank, такие изоляты были выделены еще в апреле 2009 г. в США, то есть, нельзя называть эту мутацию «новая». Данная аминокислота характерна для вирусов гриппа свиней и птиц и не характерна для вирусов гриппа человека. В нашей выборке подобная аминокислота G обнаружена в группе с заболеванием в легкой или средней степени тяжести в 2% случаев из 45 исследованных образцов и у пациентов с летальным исходом заболевания в 16% случаев (данные секвенирования непосредственно из секционного материала). Дополнительно в ряде случаев в этом положении наблюдался начинающийся мутационный процесс (имелись варианты D/G/N и D/N/G), что составляет 2% пациентов, заболевание которых протекало в форме средней тяжести и закончилось выздоровлением, и 32% пациентов, заболевание кото-

рых закончилось летальным исходом. Установленный факт может свидетельствовать о генетической неоднородности циркулирующих вирусов и неоднородности по их эпидемической значимости, например, о различиях по трансмиссивности. Однако четкая зависимость между тяжестью заболевания и конкретной аминокислотой пока не доказана. Для этого необходимы, например, исследования по изучению сродства всех вариантов гемагглютини-на к рецепторам разных отделов респираторного тракта человека.

Молекулярно-генетический анализ маркеров резистентности к противовирусным препаратам показал, что у всех изолятов имеются маркеры резистентности к ремантадину. Маркеры резистентности к озельтамивиру (Тамифлю) у вирусов гриппа, обнаруженных в образцах от 70 обследованных пациентов, обнаружено не было.

Таким образом, молекулярно-генетический анализ циркулировавших к настоящему времени на территории РФ вирусов гриппа А/Н1N1v не выявил маркеров высокой патогенности вируса для млекопитающих, обнаруженных ранее в геноме высокопатогенных вирусов гриппа птиц А/Н5N1. По данным ВОЗ, в госпитализации нуждаются до 9% пациентов, инфицированных вирусом гриппа А/Н1N1v с лабораторно-подтвержденным диагнозом, летальность в среднем в мире не превышает 1%. Однако не стоит забывать о способности вирусов гриппа к реассортации и высокой скорости мутационного процесса. В связи с этим, целесообразно продолжать эпиднадзор за гриппоподобными заболеваниями, ОРЗ и пневмониями.

Приложение №9

**Выступление Н. В. Каверина на заседании Проблемной комиссии
«Грипп и гриппоподобные инфекции» 03.03.2010.**

Пандемия гриппа 2009 г. – первая из известных нам пандемий, вызванная вирусом того же подтипа, который находился в циркуляции в период, непосредственно предшествующий пандемии. Все предыдущие пандемии XX столетия были вызваны вирусами тех подтипов, которые длительное время в циркуляции отсутствовали. Вирус подтипа Н1 перед пандемией 1918 года отсутствовал, по меньшей мере, 29 лет, вирус Н2, вызвавший пандемию 1957 года – 58 лет, вирус Н3 перед пандемией 1968 года отсутствовал 50 лет. Необычная ситуация, возникшая в 2009 году, потребовала точной дифференциации между новым вирусом Н1N1 и прежним вирусом этого подтипа

(дрейфовым вариантом). Возможность такой дифференциации дает применение полимеразной цепной реакции (ПЦР). Поэтому с самого начала пандемии ВОЗ начала публиковать данные о количестве случаев гриппа, вызванных новым вирусом, по данным ПЦР. В самом начале пандемии эти цифры были близки к действительному количеству случаев пандемического гриппа. Однако с распространением вируса, естественно, все большая и большая доля случаев оказывалась вне пределов, охватываемых лабораториями, оснащенными приборами и реактивами для ПЦР. Между тем в средствах массовой информации и даже в некоторых специальных изданиях стали появляться сопоставления заболеваемости при пандемии 2009 года с заболеваемостью при сезонных вспышках. При этом в качестве показателя заболеваемости при пандемии использовали количество лабораторно подтвержденных (посредством ПЦР) случаев, а в качестве показателя заболеваемости при сезонных вспышках – результаты статистического анализа обращаемости больных с острыми респираторными инфекциями в период вспышки. Разумеется, такое сопоставление совершенно неправомерно. ПЦР-диагностика охватывает лишь небольшую долю заболевших, разную в разных странах, и эти цифры заведомо намного ниже, чем те цифры, которые будут получены статистическим анализом после окончания пандемии. При этом такое неправомерное сравнение создало у широкой общественности впечатление, что заболеваемость при пандемии намного ниже, чем при сезонных вспышках, а отсюда последовало заключение о том, что угроза, исходящая от пандемического вируса, искусственно раздута и что вообще никакой пандемии нет. Естественно, на самом деле нет ни малейших оснований для такого вывода. Пандемия 2009 года по ряду параметров похожа на пандемию 1977 года, которая тоже была вызвана вирусом H1N1 (хотя иного происхождения). В 1977 году не было полимеразной цепной реакции, не было поэтому почвы для неправомерных сопоставлений числа случаев, подтвержденных ПЦР, с заболеваемостью при сезонных вспышках и, естественно, не было утверждений, что пандемии нет. Надо сказать, что упорные попытки «отменить» пандемию заставляют подозревать, что в этом могут быть заинтересованы правительственные круги тех стран, где утвержденные ВОЗ противопандемические планы были провалены. А провалены, или, по меньшей мере, выполнены лишь в малой степени, они были почти везде. Исключение составляют США и Канада, где удалось вовремя провакцинировать значительные контингенты населения. Надо сказать, что выполнить противопандемические планы оказалось очень трудно не только в связи с нерасторопностью тех или иных инстанций, но и в связи с особенностями пандемического вируса. Не только сам этот вирус, но и его реассортанты с высокоурожайным вирусом A/Puerto/Rico/8/34,

используемые для наработки материала для инактивированных и субъединичных вакцин, имеют относительно низкую продуктивность. Она в несколько раз ниже, чем продуктивность аналогичных штаммов, используемых для производства вакцин против сезонных вирусов. Повышение продуктивности реассортантных штаммов, пригодных для производства вакцин против пандемического вируса, является актуальной задачей. В НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского РАМН ведется работа, направленная на решение этой проблемы.

ПРОБЛЕМНАЯ КОМИССИЯ РАМН

«Грипп и гриппоподобные инфекции»

Бюро Проблемной комиссии:

Киселев Олег Иванович (председатель)	академик РАМН, профессор, доктор биологических наук, директор НИИ гриппа СЗО РАМН, Санкт-Петербург
Каверин Николай Вениаминович (зам. председателя)	академик РАМН, профессор, доктор медицинских наук, зав. лабораторией НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН, Москва
Соминина Анна Адольфовна (зам. председателя)	профессор, доктор медицинских наук, зав. отдела НИИ гриппа СЗО РАМН, руководитель референс-центра по мониторингу гриппа на базе НИИ гриппа СЗО РАМН, Санкт-Петербург
Лобова Тамара Геннадьевна (ученый секретарь)	кандидат медицинских наук, ученый секретарь НИИ гриппа СЗО РАМН, Санкт-Петербург

Члены Проблемной комиссии:

Бурцева Елена Ивановна	доктор медицинских наук, зав. лабораторией НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН, Москва
Власов Николай Анатольевич	доктор биологических наук, профессор, главный Государственный ветеринарный инспектор РФ, зам. Руководителя Россельхознадзора, Москва
Дроздов Илья Геннадьевич	профессор, директор ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор», Новосибирск
Еропкин Михаил Юрьевич	доктор биологических наук, зав. лабораторией НИИ гриппа СЗО РАМН, Санкт-Петербург
Ершов Феликс Иванович	академик РАМН, профессор, доктор медицинских наук, руководитель отдела НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, Москва
Красильников Игорь Викторович	профессор, доктор биологических наук, начальник управления науки и инновационного развития ФГУП НПО «Микроген», Москва

Лонская Наталья Ивановна	кандидат медицинских наук, зав. лабораторией ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича, Москва
Пучкова Наталья Григорьевна	профессор, зам. генерального директора фармацевтической компании «Петровакс», Москва
Руденко Лариса Георгиевна	профессор, доктор медицинских наук, зав. отдела НИИ ЭМ СЗО РАМН, Санкт-Петербург
Цыбалова Людмила Марковна	доктор медицинских наук, зам. директора НИИ гриппа СЗО РАМН по научной работе, Санкт-Петербург
Яцышина Светлана Борисовна	кандидат биологических наук, старший научный сотрудник ФГУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва

Экспертный совет:

Бичурина Маина Александровна	доктор медицинских наук, зав. лабораторией ФГУН СПб НИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург
Боев Борис Васильевич	профессор, доктор технических наук, рук. лаборатории эпидемиологической кибернетики НИИ ЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, Москва
Ерофеева Мариана Константиновна	доктор медицинских наук, зав. лабораторией НИИ гриппа СЗО РАМН, Санкт-Петербург
Дринецкий Владимир Павлович	профессор, доктор медицинских наук, руководитель отделения НИИ гриппа СЗО РАМН, Санкт-Петербург
Сологуб Тамара Васильевна	профессор, доктор медицинских наук, зав. кафедрой инфекционных болезней с курсом тропической медицины СПб ГМА им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург
Шестопалов Александр Михайлович	кандидат биологических наук, зав. отделом зоонозных инфекций и гриппа ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор», Новосибирск