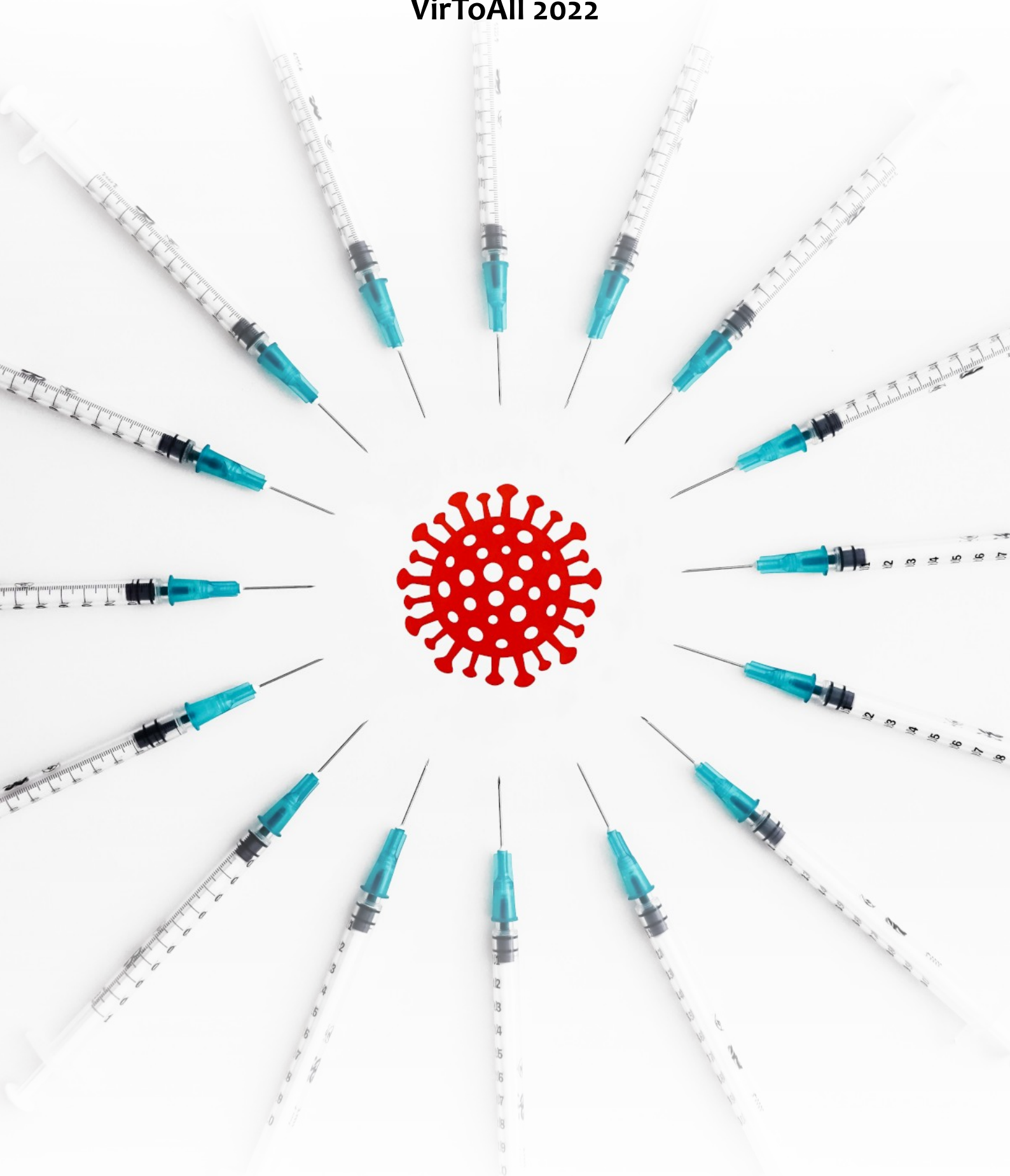


ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ — ОТ ДИАГНОСТИКИ К КЛИНИКЕ

VirToAll 2022



СБОРНИК ТЕЗИСОВ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ГРИППА
ИМЕНИ А. А. СМОРОДИНЦЕВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ



ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ – ОТ ДИАГНОСТИКИ К КЛИНИКЕ

Сборник тезисов
Всероссийской конференции молодых ученых,
посвященной 55-летию со дня основания
НИИ гриппа им. А. А. Смородинцева

Санкт-Петербург

15 апреля 2022 года



Санкт-Петербург
2022

УДК 578.7
ББК 28.3:52.63
В52

Вирусные инфекции – от диагностики к клинике : сборник тезисов Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 55-летию со дня основания НИИ гриппа им. А. А. Смородинцева, С.-Петербург, 15 апреля 2022 г. – СПб. : ПОЛИТЕХ-ПРЕСС, 2022. – 81 с.

Мероприятие проводится при поддержке Минобрнауки России в рамках реализации программы Научного центра мирового уровня по направлению «Передовые цифровые технологии», ФГБУ «НИИ гриппа им. А. А. Смородинцева» Минздрава России.

Оригинал-макет подготовлен в ФГБУ «НИИ гриппа им. А. А. Смородинцева»
Минздрава России.

ISBN 978-5-7422-7658-6

© Федеральное государственное
бюджетное учреждение
«Научно-исследовательский институт
гриппа имени А. А. Смородинцева»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации, 2022
© Jeremy Bezanger, Unsplash,
фото обложки, 2022
© Санкт-Петербургский политехнический
университет Петра Великого, 2022

55-летие со дня основания НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева



1 марта 2022 года ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России отметил свой 55-летний юбилей.

Ещё на этапе создания одним из основных направлений деятельности учреждения был определён надзор за гриппом и ОРВИ в стране. Активная деятельность НИИ гриппа при поддержке со стороны Министерства здравоохранения привела к его признанию на международном уровне и созданию на его базе Национального центра ВОЗ по гриппу (НЦГ) в 1971 году.

С помощью разработанной сотрудниками НИИ гриппа, одной из лучших в Европе информационно-аналитической системы для оперативного сбора информации по заболеваемости и госпитализации в режиме онлайн, определяются место и время начала эпидемий, вектор их распространения, интенсивность. Эта уникальная база ведётся свыше 40 лет. Существующая система надзора за гриппом позволяет достаточно быстро и эффективно реагировать на новые вызовы, что и было сделано в пандемию COVID-19.

Важным направлением работы Института является разработка средств диагностики, профилактики и терапии ОРВИ. Противовирусные препараты,

созданные или прошедшие клиническую апробацию в НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева, широко используются в практическом здравоохранении.

Особое место занимает разработка вакцин нового поколения, базирующаяся на двух платформах: конструирования рекомбинантных белков и создания химерных вирусов гриппа, выполняющих роль векторов. Успешно проходят доклинические и клинические испытания собственных вакцин против гриппа, туберкулеза, респираторно-синцитиальной вирусной инфекции и коронавирусной инфекции COVID-19.

Коллекционный фонд НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева хранит крупнейшую в России коллекцию вирусов гриппа и других ОРВИ – свыше 50 000 единиц хранения. Признанием авторитета и заслуг коллектива учреждения по созданию коллекционного фонда является приглашение в 2015 году к участию в международном проекте – Глобальный Европейский вирусный архив (EVAg) – одном из крупнейших в мире виртуальных вирусных репозитариев.

С 2009 года Институт является членом GISAID – Международного консорциума по обмену генетическими данными по гриппу и другим ОРВИ. В настоящее время надзор развивается с привлечением самых современных методов молекулярной диагностики, антигенного и филогенетического анализа, что даёт ценную информацию для понимания эволюции возбудителей гриппа и позволяет контролировать появление мутаций, ответственных за признак высокой патогенности для человека.

В 2020 году по инициативе НИИ гриппа создан Российский консорциум по секвенированию геномов коронавирусов. Цель проекта заключается в объединении усилий для секвенирования максимально большого количества полных геномов вирусов SARS-CoV-2 от больных COVID-19 из разных регионов России. Результатом колоссальной работы, которую проводит НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева с целью получения важных знаний для борьбы с пандемией COVID-19, послужило наделение Института статусом референс-лаборатории ВОЗ по коронавирусу.

Используя накопленный опыт и современные технологии, Институт остаётся ведущим учреждением, деятельность которого полностью направлена на изучение значимых вирусных инфекций современности.

ОГЛАВЛЕНИЕ

<i>Альшианик Л.П., Маслова Н.А., Афиногенова А.Г.</i> МОНИТОРИНГ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ И ВЛИЯНИЕ НОВОЙ КОРНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (2019-NCOV) НА ИХ ЦИРКУЛЯЦИЮ В СПб ГБУЗ ДБГ № 2 СВЯТОЙ МАРИИ МАГДАЛИНЫ В 2019-2021 ГОДАХ	9
<i>Аношко О.Н., Лапо Т.П., Кищенко Е.Н., Шмелёва Н.П.</i> ДОЗОРНОЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ СЛЕЖЕНИЕ ЗА ГРИППОМ И ИНФЕКЦИЕЙ COVID-19 В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ В 2019-2022 ГГ.	10
<i>Арипов В.С., Волкова Н.В., Таранин А.В., Мечетина Л.В., Чикаев Н.А., Несмеянова В.С., Исаева А.А., Меркульева Ю.А., Карпенко Л.И., Щербakov Д.Н., Ильичев А.А.</i> ПОИСК ОДНОДОМЕННЫХ АНТИТЕЛ СПЕЦИФИЧНЫХ К ЭПИТОПАМ RBD ПОВЕРХНОСТНОГО БЕЛКА SARS-COV-2	12
<i>Большакова М.В., Зайцева М.В., Шуклина М.А.</i> ВИРУС ЛЕЙКОЗА ПТИЦ RAV-2: ОСОБЕННОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ И МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ	13
<i>Венев Е.В., Лиознов Д.А., Комиссаров А.Б., Ведерникова А.В., Гусев Д.А.</i> КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЙ АНАЛИЗ ПОВТОРНЫХ СЛУЧАЕВ ЗАРАЖЕНИЯ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ, ВЫЗВАННОЙ SARS-COV2	15
<i>Горбунов А.А., Зуб П.Т., Ефремова Н.В., Иванов С.В.</i> ЛИХОРАДКА ЗАПАДНОГО НИЛА: ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕДАЧИ, ПРОЯВЛЕНИЯ И ПУТИ ПРОФИЛАКТИКИ	17
<i>Гудымо А.С., Данильченко Н.В., Евсеенко В.А., Святченко С.В., Иматдинов И.Р., Иматдинов А.Р., Рыжиков А.Б., Гаврилова Е.В., Максютов Р.А.</i> ВИРУСОВЫДЕЛЕНИЕ И ПРОТЕКТИВНОСТЬ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ЖИВОЙ ОСЛАБЛЕННОЙ ГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНЫ	19
<i>Давыденко В.С., Иванова А.Р., Останкова Ю.В.</i> СООТНОШЕНИЕ ГРУПП РИСКА У ПАЦИЕНТОВ С ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННОЙ ИНФЕКЦИЕЙ ВИЧ	21
<i>Дорош А.В.</i> РЕЗУЛЬТАТЫ СИГНАЛЬНОГО НАДЗОРА ЗА ГРИППОМ, ОРВИ И COVID- 19 В РОССИИ ПО ДАННЫМ НАЦИОНАЛЬНОГО ЦЕНТРА ВОЗ ЗА ПЕРИОД С 2016 ПО 2021 ГГ.	23
<i>Егоров И.А., Смирнова С.С., Мищенко В.А., Вялых И.В., Маркарян А.Ю., Семенов А.В.</i> ОЦЕНКА СТЕПЕНИ КОНТАМИНАЦИИ SARS-CoV-2 ОБЪЕКТОВ БОЛЬНИЧНОЙ СРЕДЫ ИНФЕКЦИОННОГО ГОСПИТАЛЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ COVID-19	25

<i>Елфимов К.А., Нефедова А.А., Нохова А.Р., Гашикова Н.М.</i> СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЦИТОПАТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ВИЧ-1 СУБТИПОВ А, В И CRF63_02A1 С ТРОПНОСТЬЮ К КЛЕТОЧНОМУ РЕЦЕПТОРУ CXCR4	27
<i>Ёлишин Н.Д., Комиссаров А.Б., Лиознов Д.А.</i> РАЗРАБОТКА ОТ-ПЦР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛИНЕЙНОСТИ SARS-COV-2 В УСЛОВИЯХ БЫСТРОЙ ЭВОЛЮЦИИ ВИРУСА	29
<i>Есьман А.С., Черкашина А.С., Голубева А.Г., Саламайкина С.А., Миронов К.О.</i> ПЦР-МЕТОДИКИ В МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ ГЕНОВАРИАНТА «ОМИКРОН» ВИРУСА SARS-COV-2	31
<i>Желтухина А.И., Сорокин Е.В., Царева Т.Р., Даниленко Д.М., Коновалова Н.И., Комиссаров А.Б., Комиссарова К.С., Иванова А.А.</i> ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ГЕТЕРОГЕННОСТИ СОВРЕМЕННЫХ ВИРУСОВ ГРИППА В ВИКТОРИАНСКОЙ ЛИНИИ	33
<i>Ибрагимова М.К., Цыганов М.М., Литвяков Н.В.</i> АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ АССОЦИАЦИИ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ОНКОПАТОЛОГИЙ РАЗЛИЧНЫХ ЛОКАЛИЗАЦИЙ	35
<i>Каа К.В., Казакова Е.В., Уйба С.В., Трухин В.П., Игнатъев Г.М.</i> ИНДИКАЦИЯ, ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ВЫДЕЛЕНИЕ ВИРУСОВ В КОМАРАХ РОДА Aedes spp. Culiseta spp., ОТЛОВЛЕННЫХ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ АМЕРИКЕ ОЦЕНКА СЕРОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В СЫВОРОТКАХ КРОВИ ЛЮДЕЙ И ДЕТЕКЦИЯ ПЕРЕНЕСЕННЫХ ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЕРЕДАЮЩИЕСЯ КОМАРАМИ	37
<i>Клабуков А.М., Галочкина А.В., Николаева Ю.В., Штро А.А.</i> ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭНИСАМИЯ ЙОДИДА И ЕГО МЕТАБОЛИТА В ОТНОШЕНИИ КОРОНАВИРУСА SARS-COV-2	39
<i>Косенко М.Н., Онхонова Г.С., Молчанова М.Л., Васильцова Н.Н., Марченко В.Ю., Рыжиков А.Б.</i> РЕЦЕПТОРНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ ШТАММОВ ВИРУСОВ ГРИППА ПТИЦ A/H5NX, ВЫДЕЛЕННЫХ ВО ВРЕМЯ ВСПЫШЕК В РОССИИ В 2021 Г.	40
<i>Ксенафонтов А.Д., Писарева М.М., Едер В.А., Мусаева Т.Д., Тимофеева М.М., Некрасов П.А., Фадеев А.В., Комиссарова К.С., Комиссаров А.Б., Киселева И.В.</i> ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ РИНОВИРУСОВ	41
<i>Ложков А.А., Плотникова М.А., Егорова М.А., Клотченко С.А., Васин А.В.</i> АКТИВАЦИЯ СИСТЕМЫ ЦИТОЗОЛЬНЫХ СЕНСОРОВ В КЛЕТКАХ A549 В ОТВЕТ НА СТИМУЛЯЦИЮ ИХ ЭКЗОГЕННЫМИ мРНК	43
<i>Мазанкова Л.Н., Горбунов С.Г., Самитова Э.Р., Османов И.М., Акимкин В.Г., Плоскирева А.А., Оськин А.Н., Мишкин А.А.</i> КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ДИАРЕИ ПРИ COVID-19 У ДЕТЕЙ	45

Мансур У., Писарева М.М., Фадеев А.В., Комиссарова К.С., Комиссаров А.Б., Потехин А.А. РАЗРАБОТКА, ИССЛЕДОВАНИЕ И ОЦЕНКА КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВЫХ НУКЛЕОЗИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРОТИВ SARS-COV-2	46
Марченко В.А., Зелинская И.А., Торопова Я.Г., Подъячева Е.Ю., Мартынов М.О., Жилинская И.Н. ВАЗОМОТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ КРЫС СТОКА WISTARC ОСТРОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГРИППОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ	48
Маслова Н.А., Бакулина Н.В., Альшаник Л.П., Афиногенова А.Г., Химица М.В., Прокопович А.В. НОЗОКОМИАЛЬНЫЕ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННЫЕ ACINETOBACTER BAUMANNII, STENOTROPOMONAS MALTORPHILIA, У ДЕТЕЙ С СОЧЕТАННОЙ ТРАВМОЙ	50
Меркульева Ю.А., Боргоякова М.Б., Исаева А.А., Несмеянова В.С., Волкова Н.В., Арипов В.С., Волосникова Е.А., Шаньшин Д.В., Беленькая С.В., Колосова Е.А., Зайковская А.В., Пьянков О.В., Щербаков Д.Н. ИММУНОГЕННОСТЬ РЕКОМБИНАНТНОГО RBD SARS-COV-2 НА РАЗНЫХ ЖИВОТНЫХ МОДЕЛЯХ	52
Миржасалов М.М. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ПОСТИНФЕКЦИОННЫХ МИОКАРДИТОВ У ДЕТЕЙ В ПЕРИОД ПАНДЕМИИ COVID-19	54
Михайлова К.В., Хусаинова А.К., Якупова Ф.М. СИНДРОМ ГЕПАТИТА В КЛИНИКЕ ГЕРПЕТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ	56
Монахов Н.Э., Сизова Н.В., Майорова С.О., Лиознов Д.А. АНАЛИЗ ПРОФИЛЯ МУТАЦИЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ВИЧ-1 У ПАЦИЕНТОВ С ОПЫТОМ АРТ	58
Мусаева Т.Д., Писарева М. М., Едер В.А., Ксенафонтов А.Д., Тимофеева М.М., Некрасов П.А., Фадеев А.В., Комиссарова К.С., Комиссаров А.Б., Киселева И.В. АНАЛИЗ ЦИРКУЛЯЦИИ СЕЗОННЫХ КОРОНАВИРУСОВ ЧЕЛОВЕКА В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ В ЭПИДЕМИЧЕСКИЕ СЕЗОНЫ 2017-2021 ГГ.	60
Нефедьева М.В., Титов И.А., Середа А.Д., Малоголовкин А.С. АЛЬФАКОРОНАВИРУС СВИНЕЙ ИНДУЦИРУЕТ ЭКСПРЕССИЮ IFN- γ В МАКРОФАГАХ ОТ COVID-19 ПАЦИЕНТОВ	62
Ожерельева О.О., Шуклина М.А., Степанова Л.А. ХАРАКТЕРИСТИКА РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ НА ОСНОВЕ САМОСОБИРАЮЩЕГОСЯ ПЕПТИДА И АНТИГЕНОВ ВИРУСА ГРИППА А	63

Онхонова Г.С., Косенко М.Н., Молчанова М.Л., Васильцова Н.Н., Марченко В.Ю., Tran Thi Nhai, Trinh Khac Sau, Кузнецов А.Н., Dang Hong Trien, Рыжиков А.Б. АНАЛИЗ РЕЦЕПТОРНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ ШТАММОВ ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ СОЦИАЛИСТИЧЕСКОЙ РЕСПУБЛИКИ ВЬЕТНАМ В 2020-21 ГГ.	65
Поромов А.А., Пшеничная Н.Ю. РЕЗУЛЬТАТЫ ФАРМАКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ РЕТРОСПЕКТИВНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ, ГРИППА И ДРУГИХ ОРВИ В ПЕРИОД ПАНДЕМИИ COVID-19	66
Пулькина А.А., Васильев К.А., Сергеева М.В., Романовская-Романько Е.А., Стукова М.А., Егоров А.Ю. ЗАЩИТНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГРИППОЗНЫХ ВЕКТОРОВ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ УЧАСТКИ F БЕЛКА РСВ, ЗАВИСИТ ОТ ФОРМИРОВАНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОГО TREG ИММУННОГО ОТВЕТА	68
Репин Т.М. ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКИ COVID-19 МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ В УСЛОВИЯХ ПАНДЕМИИ	70
Саламайкина С.А., Миронов К.О. ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ В ГЕНАХ ТОЛЛ-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ	72
Святченко С.В., Гудымо А.С, Данильченко Н.В., Евсеенко В.А., Иматдинов И.Р., Иматдинов А.Р., Рыжиков А.Б., Гаврилова Е.В., Максютов Р.А. ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ОТВЕТА НА ЧЕТЫРЕХВАЛЕНТНУЮ ЖИВУЮ ОСЛАБЛЕННУЮ РЕКОМБИНАНТНУЮ ГРИППОЗНУЮ ВАКЦИНУ ПРИ ИНТРАНАЗАЛЬНОЙ ИММУНИЗАЦИИ ХОРЬКОВ	73
Трещалина А.А., Постникова Ю.Н. АНАЛИЗ ВИРУСОВ ГРИППА ПТИЦ, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ВОДОЕМАХ Г. МОСКВЫ В 2008-2019 ГОДАХ	75
Федотова М.С., Филиппова А.Ю., Соболев И.А. ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КОРОНАВИРУСА SARS-COV-2, ВЫДЕЛЕННОГО ОТ ПАЦИЕНТА НА ТЕРРИТОРИИ НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ; ОЦЕНКА ПАТОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЗАРАЖЕНИИ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ МОДЕЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ	77
Черемискина А.А., Наумова О.В., Генералов В.М., Меркульева Ю.А., Буряк Г.А., Сафатов А.С. БИОСЕНСОР НА ОСНОВЕ КНИ-ТРАНЗИСТОРА ДЛЯ ЭКСПЕРСС-ИНДИКАЦИИ ВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ	79

МОНИТОРИНГ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ И ВЛИЯНИЕ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (2019-NCOV) НА ИХ ЦИРКУЛЯЦИЮ В СПБ ГБУЗ ДБГ № 2 СВЯТОЙ МАРИИ МАГДАЛИНЫ В 2019-2021 ГОДАХ

Альшаник Л.П.¹, Маслова Н.А.², Афиногенова А.Г.¹

¹ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург

²Детская городская больница №2 Святой Марии Магдалины, Санкт-Петербург

Цель исследования. Оценить влияние новой коронавирусной инфекции на циркуляцию и антибиотикоустойчивость патогенных микроорганизмов в многопрофильном детском стационаре.

Материалы и методы. Видовую идентификацию бактерий, оценку их этиологической значимости, определение чувствительности к антибактериальным препаратам проводили классическими бактериологическими методами и на баканализаторе Microscan AutoScan-4.

Результаты. Получены профили чувствительности для *Enterococcus faecium* устойчивых к ванкомицину; *Staphylococcus aureus* устойчивых к цефокситину; *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* устойчивых к меропенему, имепенему; *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* устойчивых к меропенему. У *S. aureus* за 2020 год снизилась высеваемость, но увеличилось количество устойчивых штаммов с 3% до 4,8%. Высеваемость *K. pneumoniae*, *E. coli* увеличилась с 30% до 37% при неизменных профилях чувствительности. Для *P. aeruginosa* в 2020 году отмечено снижение высеваемости при росте устойчивости к меропенему. В 2021 году отмечена тенденция к снижению высеваемости и устойчивости указанных патогенов к антибиотикам, но при этом наблюдали активный рост *A. baumannii* и усиление его устойчивости к карбапенемам.

Заключение. В 2020-2021 годах по сравнению с 2019 годом отмечено влияние новой коронавирусной инфекции на снижение высеваемости изолятов многопрофильного детского стационара и усиление их устойчивости к антибиотикам. При этом наблюдали активное обнаружение изолятов *A. baumannii*, устойчивых к карбапенемам, что требует дальнейшего мониторинга.

ДОЗОРНОЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ СЛЕЖЕНИЕ ЗА ГРИППОМ И ИНФЕКЦИЕЙ COVID-19 В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ В 2019-2022 ГГ.

Аношко О.Н., Лапо Т.П., Кищенко Е.Н., Шмелёва Н.П.

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь

Введение: Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) вносят значительный вклад в заболеваемость населения во всем мире, причиняя серьезный ущерб, как общественному здоровью, так и всей системе здравоохранения в целом, что приводит к существенным экономическим потерям. В настоящее время именно вирус SARS-CoV-2 играет важную роль в респираторной патологии, однако сезонная циркуляция вирусов гриппа не потеряла своей актуальности.

Цель данного исследования – выявление и изучение частоты встречаемости гриппа и инфекции COVID-19 в Республике Беларусь (РБ) с 40 календарной недели (к.н.) 2019г. по 10 к.н. 2022г.

Материалы для исследования (назофарингеальные мазки) получены от пациентов в рамках дозорного эпидемиологического слежения за гриппом и ОРВИ. Поступающие образцы тестировали на наличие РНК вирусов гриппа А/В и SARS-CoV-2 методом ПЦР в режиме реального времени с использованием наборов реагентов «COVID-19-скрин» и «ФЛУ-ген» (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, РБ).

Для анализа заболеваемости использовали данные автоматизированной информационной системы (АИС) «Заболеваемость ОРИ» по РБ.

Результаты. В течение сезона 2019-2020гг. активная циркуляция вирусов гриппа в стране началась на 4 к.н. 2020г. и продолжалась 6 недель. Максимальное значение частоты встречаемости возбудителя отмечено на 8 к.н. – 21,3% (n=16/75). Динамика частоты выявления вирусов гриппа визуально отображена на рисунке 1.

Первый лабораторно подтвержденный случай заболевания COVID-19 в РБ зарегистрирован 27 февраля 2020г. В дальнейшем отмечался постепенный рост числа случаев инфицирования SARS-CoV-2. Согласно рисунку 1, наибольшая частота выявления нового коронавируса в период первой волны заболевания составила 7,7% (n=15/194) на 22 к.н. 2020г.

Осенний подъем заболеваемости ОРИ в эпидсезон 2020-2021гг. ассоциирован с активным распространением SARS-CoV-2 с максимальным значением частоты встречаемости на 49 к.н. 2020г. 24% (n=50/208). Со временем частота выявления возбудителя постепенно снижалась, а в межэпидемический период регистрировались относительно постоянные данные со средним значением 7,9% (n=276/3508).

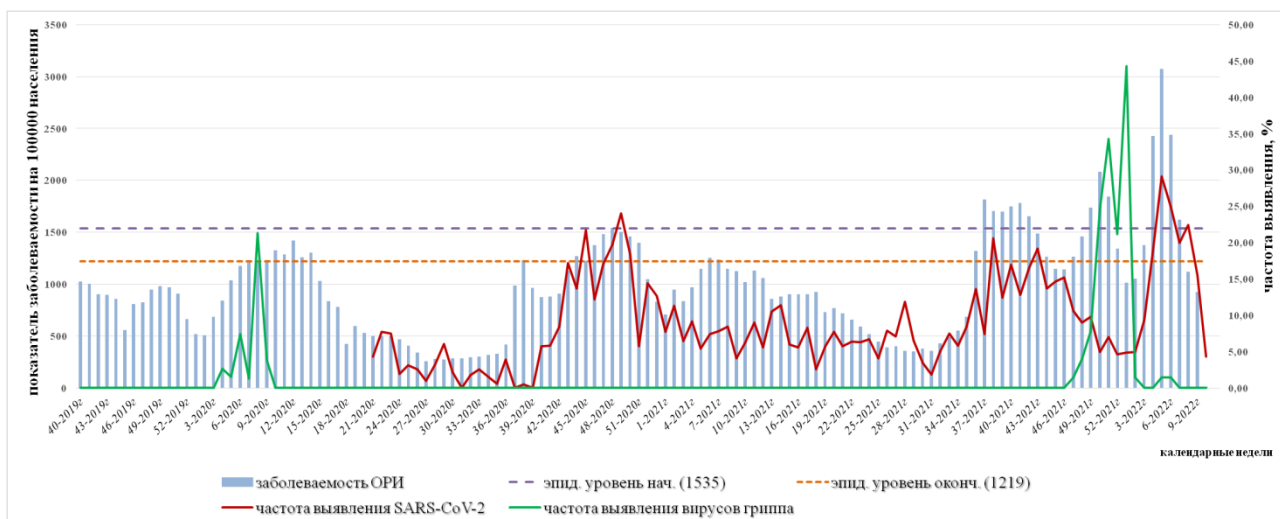


Рисунок 1. Динамика частоты выявления вирусов гриппа и SARS-CoV-2 в сочетании с заболеваемостью ОРВИ в РБ с 40 к.н. 2019г. по 10 к.н. 2022г.

Начало текущего сезона 2021-2022гг. отмечалось подъемом заболеваемости ОРВИ, связанным с инфицированием SARS-CoV-2, с наибольшей частотой выявления на 43 к.н. 19,1% (n=44/230). Начиная с 44 по 52 к.н. отмечалось снижение частоты встречаемости SARS-CoV-2, в то время как на 47 к.н. начала регистрироваться активная циркуляция вирусов гриппа, которая продолжалась до 6 к.н. с наибольшей частотой встречаемости на 1 к.н. 2022г. 38,8% (n=31/80). В дальнейшем с 3 к.н. наблюдалось повторное увеличение числа случаев инфицирования новым коронавирусом SARS-CoV-2 с максимальным значением частоты выявления на 5 к.н. 29,1% (n=57/196).

Сезон 2021-2022гг. характеризуется совместной циркуляцией возбудителей COVID-19 и гриппа, в то время как в предыдущем сезоне 2020-2021гг. лабораторно подтвержденных случаев гриппа выявлено не было.

Одновременного инфицирования вирусом гриппа и SARS-CoV-2 обнаружено не было.

Выводы: В течение всего периода наблюдения отмечалось несколько подъемов заболеваемости, ассоциированных как с вирусом гриппа, так и SARS-CoV-2. В сезоне 2019-2020гг. вирусы гриппа традиционно внесли вклад в заболеваемость ОРВИ, однако появление в 2020г. SARS-CoV-2 способствовало вытеснению из циркуляции сезонных вирусов гриппа вплоть до сезона 2021-2022гг. В сезон 2020-2021гг. активно циркулировал новый коронавирус, который регистрировался как в эпидемический, так и межэпидемический период. Сезон 2021-2022гг. ознаменовался возвращением в сезонную циркуляцию вирусов гриппа. Особенностью текущего сезона является совместная циркуляция возбудителей COVID-19 и гриппа.

ПОИСК ОДНОДОМЕННЫХ АНТИТЕЛ СПЕЦИФИЧНЫХ К ЭПИТОПАМ RBD ПОВЕРХНОСТНОГО БЕЛКА SARS-COV-2

Арипов В.С.¹, Волкова Н.В.¹, Таранин А.В.², Мечетина Л.В.², Чикаев Н.А.², Несмеянова В.С.¹, Исаева А.А.¹, Меркульева Ю.А.¹, Карпенко Л.И.¹, Щербаков Д.Н.¹, Ильичев А.А.¹

¹ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область

²Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск

Наноантитела (однодоменные антитела), размер которых не превышает вариabельные участки классических антител, несмотря на свою миниатюрность, являются полностью функциональными молекулами и способны распознавать и связывать участки антигенов недоступных классическим антителам. Однодоменные антитела более стабильны при высоких температурах, а также различных значениях pH. Малый размер, мономерная структура наноантител и отсутствие посттрансляционных модификаций позволяют эффективно нарабатывать их в бактериальных системах. Получение однодоменных антител, специфичных к конкретным патогенам, является перспективным направлением для решения многих практических задач, в том числе для создания терапевтических препаратов для борьбы с вызвавшим пандемию коронавирусом SARS-CoV-2.

Целью работы является поиск однодоменных антител, специфичных к эпитопам RBD поверхностного белка SARS-CoV-2.

Для создания фаговой библиотеки антител использовали сыворотки лам (*Lama glama*), полученных после иммунизации животных рекомбинантным белком RBD SARS-CoV-2. Для этого из В-лимфоцитов, содержащихся в крови иммунизированного животного, выделили тотальную РНК. При помощи метода обратной транскрипции и последующей ПЦР со специфичными праймерами амплифицировали последовательности, кодирующие разнообразие вариabельных фрагментов антител. Полученные ДНК последовательности клонировали в составе фагмидного вектора pComb3XSS. Для отбора индивидуальных фаговых клонов, из фаговой библиотеки экспонирующей на своей поверхности наноантитела, проводили 3 раунда аффинной селекции с использованием в качестве мишени рекомбинантных белков RBD трех штаммов вируса SARS-CoV-2 - Альфа (B.1.1.7), Бета (B.1.351), Дельта (B.1.617.2). После аффинного обогащения из фаговой библиотеки было отобрано 30 клонов для секвенирования ДНК последовательностей, кодирующих отобранные антитела. Из последовательностей ДНК, определенных в результате их секвенирования по Сенгеру были выведены соответствующие аминокислотные последовательности отобранных антител.

Таким образом в результате проделанной работы получена иммунная библиотека бактериофагов, экспонирующих в составе белка рIII, однодоменные антитела к белку RBD вируса SARS-CoV-2. Из библиотеки, с помощью аффинной селекции отобраны варианты однодоменных антител, специфичных к эпитопам белка RBD. В дальнейшем планируется получение штаммов-продуцентов этих антител в клетках *E.coli* и изучение их биологических свойств.

ВИРУС ЛЕЙКОЗА ПТИЦ RAV-2: ОСОБЕННОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ И МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ

Большакова М.В., Зайцева М.В., Шуклина М.А.

ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург

Введение. Вирусы лейкоза птиц (ВЛП) – РНК-содержащие вирусы семейства Retroviridae, которые вызывают опухолевые заболевания и поражение системы кроветворения птиц. На основе свойств гликопротеинов вирусной оболочки ВЛП выделяют шесть антигенных подгрупп: А, В (представитель RAV-2), С, D, Е и J. ВЛП вызывают слабое цитопатическое действие или вообще не проявляют его в инфицированных клетках эмбрионов цыплят, первичной культуре клеток фибробластов эмбрионов кур, DF-1. В соответствии с ФС.3.3.1.0028 (ГФ XIV) при производстве гриппозных вакцин процесс инактивации вирусов гриппа должен обеспечивать также инактивацию ВЛП. Для контроля инактивации ВЛП стандартными инактивирующими агентами требуется отработанный метод накопления вируса, эффективный метод его выявления для оценки динамики снижения вирусной нагрузки, что и было целью настоящего исследования.

Методы. Культивирование ВЛП RAV-2 проводили на первичной культуре клеток фибробластов эмбрионов кур (ФЭК), приготовленной из 12-ти суточных куриных эмбрионов (КЭ). Монослой ФЭК заражали вирусом RAV-2 1-м, 2-м и 3-м пассажем и инкубировали при 37°C. Забор вирусосодержащей культуральной жидкости проводили на 5-13 день.

Наличие вируса RAV-2 при культивировании на ФЭК определяли методом бляшкообразования (метод Moscovici et.al. 1976) и в ИФА по выявлению общего антигена р27 (тест-система Avian leukosis virus Antigen test kit (IDEXX)). Относительный уровень антигена в исследуемых пробах (ИП) определяли расчетом соотношения среднего значения оптической плотности исследуемых проб к среднему значению оптической плотности положительного контроля (ПК): $ИП/ПК = (ИП-ОК):(ПК-ОК)$. ОК – отрицательный контроль. Если ИП/ПК меньше или равно 0,20 - образец считался отрицательным, если больше - положительным.

Наличие антигена р27 определяли в сыворотках кур и КЭ двух пород (Русская белая и Амрокс) и в полупродуктах гриппозной вакцины.

Результаты. Бляшкообразования при культивировании вируса RAV-2 на первичной культуре клеток ФЭК не происходило, что видимо, связано со слабым цитопатическим действием вируса. В дальнейшем для обнаружения RAV-2 использовали ИФА.

В сыворотках кур обеих пород и в КЭ частота выявления р27 была практически одинакова (43% и 54% в сыворотках и в 20% аллантоисной и амниотической жидкости КЭ). Исследование полупродуктов гриппозной вакцины (ВАЖ, вирусный концентрат –ВК) показало, что 4 из 6-ти серий ВК были положительные по р27, в 3-х сериях ВАЖ антиген р27 не выявлялся.

Для отработки метода культивирования RAV-2 исследовались следующие параметры:

- время культивирования;
- пассаж RAV-2.

После заражения первичной культуры ФЭК 1-м пассажем RAV-2 значение ИП/ПК было максимальным (0,59) на 12-е сутки. Значение ИП/ПК при заражении ФЭК 2-м пассажем RAV-2 на 12-е сутки после заражения составило 0,27. Однако наибольшее значение ИП/ПК наблюдалось при заражении ФЭК 2-м пассажем RAV-2 на 7-е сутки (0,62). Заражение ФЭК 3-м пассажем RAV-2 не приводило к значительному накоплению вируса на 5-12-е сутки после заражения.

Выводы:

- общий антиген ВЛП (p27) выявляется как у взрослых кур, так и в КЭ, которые используются для производства вакцин, а также в полупродуктах гриппозной вакцины;
- оптимальными условиями культивирования RAV-2 на ФЭК являлись: - культивирование в течение 7-ми суток; заражение культуры клеток фибробластов 2-м пассажем RAV-2.

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЙ АНАЛИЗ ПОВТОРНЫХ СЛУЧАЕВ ЗАРАЖЕНИЯ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ, ВЫЗВАННОЙ SARS-COV2

Венев Е.В.^{1,2}, Лиознов Д.А.¹, Комиссаров А.Б.¹, Ведерникова А.В.², Гусев Д.А.²

¹ФГБУ «НИИ гриппа им. А. А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург

²СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина», Санкт-Петербург

Введение. Коронавирусная инфекция, вызванная SARS-CoV2, продолжает оставаться серьёзной проблемой для здравоохранения. За 2 года по всему миру переболело почти 500 млн человек, однако описывались лишь единичные случаи повторных заражений, так что их частота и тяжесть оставались мало изученными. С появлением штамма Omicron в ноябре 2019 г. в ЮАР ситуация изменилась. Приобретя мутации, способствующие ускользанию от иммунной защиты, новый штамм стал патогенен не только для вакцинированных, но и для ранее переболевших.

Цели этой работы: выявить клинико-лабораторные особенности повторных случаев заражения SARS-CoV2; оценить их тяжесть и длительность течения в сравнении с первичной инфекцией.

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе КИБ им. С. П. Боткина. В исследование включены пациенты, дважды госпитализированные в стационар в период с июня 2020 г. по февраль 2022 г. Критерием включения в исследование был положительный результат ПЦР-теста при обеих госпитализациях. Период между госпитализациями должен составлять не менее 90 дней. Среди включенных в исследование отсутствовали летальные исходы. Были исключены подростки до 18 лет, беременные и пациенты с хронической болезнью почек, получающие гемодиализ, так как, согласно Рекомендациям Министерства здравоохранения РФ, эти категории больных должны наблюдаться в стационаре при положительных результатах ПЦР-теста, вне зависимости от наличия клинических проявлений болезни. Кроме того, были исключены больные ВИЧ-инфекцией со стадией 4В, больные туберкулёзом МБТ+.

Результаты исследования. В исследование было включено 30 пациентов, повторно госпитализированных с клиническим симптомами и подтвержденным методом ПЦР с диагнозом COVID-19. В качестве контрольной группы были взяты 27 человек, болевших только один раз. Среди больных преобладали женщины (84 %), средний возраст составил 41.89 года. Заявил о наличии сопутствующих заболеваний — 31 человек (54,38 %). О регулярном курении – 20 (35 %). Два пациента (3,5 %) были вакцинированы перед первым случаем заболевания и 25 (83,3 %) — перед повторным заражением. Среднее время между двумя эпизодами составило от 8 до 10 мес. Длительность нахождения в стационаре была достоверно короче при повторном эпизоде и длилась в среднем 8 дней в сравнении с 13 днями при первичной госпитализации ($p = < 0.001$). При повторной госпитализации практически отсутствовали изменения в лёгких, только у двух человек развилась пневмония 1 ст. (7 %), в то время как в первую госпитализацию поражения легких выявились у 67 % больных.

Заключение. Описанные в данном исследовании результаты позволяют утверждать, что повторное заражение SARS-CoV2 протекает достоверно легче, не вызывает тяжелого поражения легких и не требует длительного лечения в условиях стационара. В то же время опасения вызывает тот факт, что подавляющее большинство пациентов были вакцинированы перед второй госпитализацией. Несмотря на наличие данных о наименовании вакцин, времени их введения и данных об исходе, проведение анализа эффективности вакцинации невозможно в связи с малой выборкой и доминированием использования вакцины «Спутник V».

ЛИХОРАДКА ЗАПАДНОГО НИЛА: ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕДАЧИ, ПРОЯВЛЕНИЯ И ПУТИ ПРОФИЛАКТИКИ

Горбунов А.А., Зуб П.Т., Ефремова Н.В., Иванов С.В.

Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского, Симферополь

Актуальность исследования. Лихорадка Западного Нила – высококонтагиозная арбовирусная инфекция, распространённая в 20 регионах России. Проблема появления и распространения арбовирусов актуальна в нашей стране вследствие ее огромного ландшафтного разнообразия, создающего благоприятные условия для распространения ЛЗН. Лихорадка набирает обороты и в Республике Крым.

Цель исследования. Анализ и обобщение информации об особенностях патогенеза, клинических проявлений, диагностики, лечения и профилактики лихорадки Западного Нила, зарегистрированной на территории Российской Федерации. Разработка методов профилактики Лихорадки с учетом патогенеза.

Материалы и методы. В качестве материала для исследования использовались статьи наукометрических баз eLibrary и PubMed и истории болезни пациентов с Лихорадкой на территории Республики Крым. Методами исследования являлся анализ с последующим синтезом полученной информации.

Результаты. Вирус Западного Нила (ВЗН) относится к семейству Flaviviridae, роду Flavivirus. Относится к II группе патогенности. Переносчиком вируса являются комары рода Culex (Cx.pipiens, Cx.modestus), Anopheles (Anopheles maculipennis). Дикие и некоторые домашние млекопитающие и птицы являются природным резервуаром: утки, гуси, овцы, свиньи и другие. Сами же животные при этом не заболевают. Механизм передачи вируса в большинстве случаев трансмиссивный. Однако имеются данные о воздушно-капельном (от больного человека) и трансплацентарном.

При инфицировании человека в 80 % случаев развиваются субклинические формы инфекции. При манифестном течении Лихорадки Западного Нила принято выделять Лихорадку без поражения ЦНС (гриппоподобная форма и гриппоподобная форма с нейротоксикозом), которая проявляется головной болью, тошнотой, повышением температуры до 39С⁰, кашель, возможное развитие пневмонии; Лихорадку Западного Нила с поражением ЦНС (менингеальная форма в виде серозного менингита и менингоэнцефалитическая форма): положительные симптомы менингизма, но без изменения в ликворе, менингококцемически подобная сыпь на теле, мигрени.

Лабораторная диагностика Лихорадки Западного Нила проводится с использованием серологического, молекулярно-генетического и вирусологического методов. Во всех методах необходимым является выявление самого вируса, либо антител к нему. В ликворе при менингеальной форме отсутствуют специфические изменения.

В противовирусной терапии для лечения Лихорадки Западного Нила положительный результат дает использование индукторов интерферона: Циклоферон, Тилорон, Тактивин.

Специфическая профилактика, на сегодняшний день, не разработана. Повсеместно используется неспецифическая профилактика, куда, в первую очередь, относится дезинсекция насекомых. Учитывая, что дикие и домашние животные и птицы являются резервуаром для вируса, то важным методом профилактики является своевременное повышение иммунитета у животных путем витаминизации, убой больного скота, а так же дезинсекция в вольерах.

Вывод. К сегодняшнему дню лихорадка Западного Нила является актуальной проблемой для международного здравоохранения, включая и Российскую Федерацию. Общие тренд изменения климата в сторону потепления приводит к постепенному изменению миграционных путей перелетных птиц — основного источника вируса лихорадки Западного Нила. В целом, следует ожидать дальнейшего выявления циркуляции вируса в объектах внешней среды и появления случаев заболевания людей на более северных территориях. Отсутствие специфического лечения и профилактики, а так же расширение ареала встречаемости лихорадки делает актуальным данную тему для Российской Федерации и Крыма в частности. Использование методов неспецифической профилактики поможет снизить количество потенциальных переносчиков вируса и снизить ареал встречаемости лихорадки Западного Нила.

ВИРУСОВЫДЕЛЕНИЕ И ПРОТЕКТИВНОСТЬ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ЖИВОЙ ОСЛАБЛЕННОЙ ГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНЫ

*Гудымо А.С., Данильченко Н.В., Евсеев В.А., Святченко С.В., Имамдинов И.Р.,
Имамдинов А.Р., Рыжиков А.Б., Гаврилова Е.В., Максютков Р.А.*

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область

Использование живых ослабленных гриппозных вакцин является важным подходом в специфической профилактике гриппа.

В ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора проводится исследование рекомбинантной квадριвалентной живой гриппозной вакцины, в состав которой входят четыре рекомбинантных реассортанта, полученных методами обратной генетики, в геноме которых сегменты гемагглютенина и нейраминидазы соответствуют одному из четырех штаммов, входивших в состав вакцины эпидемического сезона 2020-2021 в Северном полушарии (A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019 (H1N1pdm09), A/Hong Kong/2671/2019 (H3N2), B/Washington/02/2019 (B/Victoria) и B/Phuket/3073/2013 (B/Yamagata)), в то время как остальные шесть сегментов реассортантов типа А и В соответствуют холодоадаптированным штаммам A/Leningrad/134/17/57 и B/Russia/69 соответственно. Реассортанты были получены посредством трансфекции клеток MDCK плазмидными векторами для обратной генетики, полученными методом синтеза нуклеотидных последовательностей *de novo*.

Для формирования представлений о длительности репродукции исследуемых реассортантов в слизистой оболочке верхних дыхательных путей при интраназальной иммунизации было проведено исследование на животной модели хорьков. Были сформированы 5 экспериментальных групп по 4 особи в каждой. Четыре группы хорьков были иммунизированы моновалентными препаратами, содержащими по 1 из вышеописанных реассортантов в дозе 6 lg ТЦИД₅₀. Хорьки из пятой группы были иммунизированы поливалентным препаратом, содержащим комбинацию из всех 4 реассортантов. На третий и шестой день после иммунизации у хорьков брали назальные смывы, которые анализировали в ОТ-ПЦР на наличие РНК соответствующих вирусов гриппа.

Анализ показал, что при моновалентной иммунизации РНК реассортантов детектируется в носоглоточных смывах как через 3, так и через 6 суток после вакцинации. В смывах, взятых в группе хорьков, иммунизированных смесью четырех реассортантов, РНК реассортантов вирусов гриппа A(H1N1)pdm09 и вируса гриппа В также детектировалось на 3 и 6-ой дни после иммунизации. При этом РНК реассортанта подтипа A(H3N2) на третий день выявлялась на пределе детекции, а на 6-ой день не выявлялась вовсе. По-видимому, при единовременном коинфицировании хорьков 4 реассортантами под влиянием интерференции одни реассортанты получают преимущество в репродукции, тогда как продукция реассортанта A(H3N2) угнетается.

В целях дальнейшего исследования, на 14-ый день после первой иммунизации проводилась повторная иммунизация хорьков тем же препаратом, что использовался при первоначальной вакцинации, в зависимости от экспериментальной группы. ОТ-ПЦР анализ назальных смывов, полученных через 3 и 6 дней после повторной иммунизации, не выявил в них наличия РНК вирусов гриппа. Это может быть связано с тем, что иммунный ответ, сформированный после первой иммунизации, ингибировал репродукцию реассортантов при повторной вакцинации.

Для оценки протективности сформированного поствакцинального иммунитета на 36-ой день после первой вакцинации проводилось заражение хорьков сезонными вирусами гриппа соответствующих подтипов, выделенными от людей (A/Khakassia/8V/2020 (A(H1N1)pdm09), A/Khabarovsk/48V/2020 (A(H3N2)), B/Novosibirsk/4V/2019 (B/Victoria) и B/Stavropol/11V/2018 (B/Yamagata)). Группа хорьков, иммунизированная квадριвалентным препаратом, заражалась штаммом B/Novosibirsk/4V/2019 (B/Victoria). После заражения у хорьков брали назальные смывы через каждые 2 дня в течение 10 суток. ОТ-ПЦР анализ показал, что в группах, вакцинированных моновалентными реассортантами H1N1pdm09 и H3N2, РНК соответствующих вирусов гриппа детектировалось только на 2 сутки. В группах, вакцинированных реассортантом B/Yamagata и квадριвалентным препаратом, РНК вирусов, использовавшихся для проверки протективности, выявлялась на 2 и 4 сутки. В группе, вакцинированной реассортантом B/Victoria, РНК соответствующего вируса не выявлялась уже на вторые сутки.

СООТНОШЕНИЕ ГРУПП РИСКА У ПАЦИЕНТОВ С ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННОЙ ИНФЕКЦИЕЙ ВИЧ

Давыденко В. С., Иванова А.Р., Останкова Ю.В.

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Введение. По данным на 2021 год, в мире насчитывается 37,7 миллионов человек с диагнозом ВИЧ-инфекция. Показана тенденция изменения вклада в распространение ВИЧ у разных групп риска. Смена групп риска приводит к модификации в развитии вируса и появлению особенностей, влияющих на течение заболевания, например, приобретению мутаций лекарственной устойчивости. Это связано с тем, что, попадая в новые условия, вирус постепенно приспосабливается к ним. Кроме этого, пониженное внимание к группам, менее подверженным инфицированию ВИЧ, является одним из существенных факторов распространения заболевания. Причина в замедленном реагировании и поиске источника инфекции, приводящего к появлению новых случаев заражения. Поэтому необходимо тщательно анализировать потенциальные пути передачи ВИЧ-инфекции.

Цель исследования. Оценка потенциальных путей распространения вируса у лиц с впервые выявленной ВИЧ-инфекцией.

Материалы и методы. В работе было использовано 2565 образцов плазмы крови от лиц с предварительными позитивными показателями первичного теста. Образцы исследовали методами иммуноферментного анализа (ИФА), хемилюминесцентного иммуноанализа (ХЛИА), методом Вестерн-блот. Согласно инструкции набора, ссылающейся на Консорциум стандартизации серологии ретровирусов (CRSS), требующих для вывода о положительном результате ВИЧ выявления следующих групп антигенов: 1ENV + 1GAG или 1POL. При отсутствии указанных маркеров и наличии других маркеров результат фиксируется как неопределенный. Обезличенные данные пациентов с результатами исследований, были систематизированы и загружены в базу данных с использованием программного обеспечения Excel для дальнейшего анализа и статистической обработки.

Результаты. Средний возраст обследуемой группы оценен в 36,14 года и был представлен пациентами от 3х месяцев до 92 лет. В выборке наблюдалось преобладание представителей мужского пола 54,35% по сравнению с женским полом 45,65%.

Среди полученных образцов 2076 показали неотрицательный результат. Преобладающей группой в данной выборке являлись лица, обследованные по клиническим показателям с подозрением на ВИЧ-инфекцию - 24,9% ($p < 0,05$, 95% ДИ: 23,06-26,82). Вторая по величине группа представлена реципиентами крови, жидкостей и органов от ВИЧ-инфицированного донора – 23,89% ($p < 0,05$, 95% ДИ: 22,07-25,79). Третья группа состояла из пациентов, обследуемых добровольно по собственной инициативе (без наличия других причин обследования на ВИЧ) – 21,29% ($p < 0,05$, 95% ДИ: 19,55-23,12).

В порядке убывания доли представленности в общей выборке следуют: пациенты, имеющие другой вид контакта с ВИЧ-инфицированным, отличающегося от указанных в

перечне, при котором имелся риск заражения ВИЧ (8,82%); лица, обследованные в плановом порядке (3,42%); потребители инъекционных наркотиков (2,55%); иностранцы (1,97%).

Менее одного процента в выборке представлено беременными женщинами (0,92%); лицами, призываемыми на военную службу (0,1%); медицинским персоналом, работающим с больными ВИЧ-инфекцией или инфицированным ВИЧ материалом (0,1%).

В 11,71% анкет не была указана группа, от которой поступили образцы.

Выводы. В рамках исследования проведен анализ предполагаемых путей передачи вируса у лиц с впервые выявленной инфекцией. Наличие большой доли реципиентов, получивших материал от доноров с ВИЧ-инфекцией, указывает на необходимость усиления мер контроля клинического материала от доноров.

Полученные результаты, свидетельствующие о том, что в группе 21,29% лиц представлены пациентами, прошедшими обследование по собственному желанию и не обладающими симптомами ВИЧ-инфекции, вызывают опасения в связи с затруднением поиска источника инфекции или его намеренного сокрытия. Возможной причиной служит недостаточное информирование тестируемых о рисках инфицирования, возможностях анонимной сдачи анализов на вирус, а также о современных методах лечения ВИЧ-инфекции.

Особую значимость приобретают исследования, направленные на анализ эволюционного процесса и особенностей ВИЧ, характерных для отдельных групп риска или связанных с путями передачи.

РЕЗУЛЬТАТЫ СИГНАЛЬНОГО НАДЗОРА ЗА ГРИППОМ, ОРВИ И COVID-19 В РОССИИ ПО ДАННЫМ НАЦИОНАЛЬНОГО ЦЕНТРА ВОЗ ЗА ПЕРИОД С 2016 ПО 2021 ГГ.

Дорош А.В.

ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург

Сигнальный надзор (СН) за гриппом был введен в РФ по рекомендации ВОЗ с 2010 года. СН проводится на основе индивидуальных карт больных, используется стандартное определение случая тяжелой острой респираторной инфекции (ТОРИ) у госпитализированных, гриппоподобного заболевания и острой респираторной инфекции (ГПЗ/ОРИ) - у амбулаторных больных (ЕвроВОЗ 2011 г.).

Цель исследования. Определение факторов риска тяжелого течения гриппа, ОРВИ, COVID-19.

Материалы и методы. В 2016-2019 гг. в СН участвовало 19 больниц и 14 поликлиник в 10 городах России, в 2019-2021 гг. – 18 больниц и 13 поликлиник в 8 городах. Использовались данные 12 398 ИК больных ТОРИ и 12 744 ГПЗ/ОРИ. Детекция вирусов гриппа и ОРВИ (парагрипп, аденовирус, респираторно-синцитиальный вирус, риновирус, коронавирус, метапневмовирус, бокавирус) проводилась методом rRT-PCR. Риск развития ТОРИ при гриппе оценивали по возрасту, наличию сопутствующих соматических заболеваний, беременности и вакцинации в эпидсезоны (с 20 по 40 неделю) 2016-17, 2017-18, 2018-19 гг. Данные о эпидемии гриппа в эпидсезон 2019-20 года не использовались из-за недостатка данных в 2020 году. Эффективность вакцинации рассчитывали методом Case Control Study (Test Negative Design). Факторы риска при COVID-19 оценивали с 14 недели 2020 по 52 неделю 2021 года.

Результаты. Частота детекции гриппа в эпидсезон составила 29.1%, 20.8%, 17.1% в 2016-17, 2017-18 и 2018-19 гг., соответственно, у больных ТОРИ и была ниже (24.1%, 16.1%, 13.5%) у больных ГПЗ/ОРИ. На пике эпидемии частота детекции достигала 77.5%, 59.0%, 52.9% при ТОРИ и 65.4%, 45.6%, 42.4% при ГПЗ/ОРИ. Грипп чаще регистрировали у лиц возрастной группы 65 лет и старше (30.4%, 27.3%, 19.0% при ТОРИ и 37.2%, 41.8%, 16.7% при ГПЗ/ОРИ). У пациентов ТОРИ сопутствующие соматические заболевания определены в 18.4%, 30.3%, 36.6%, соответственно. Беременность была выявлена в 75.0%, 74.1%, 49.3%, соответственно, от числа женщин возраста 12-55 лет.

У детей 0-14 лет частота выявления вирусов ОРВИ составила при ГПЗ/ОРИ 32.6%, 34.2%, 32.8% и была ниже при ТОРИ – 19.6%, 20.2%, 27.0%. Респираторно-синцитиальную инфекцию чаще выявляли у детей до 1 года: ГПЗ/ОРИ – 5.0%, 25.5%, 9.5%; ТОРИ – 9.4%, 9.7%, 13.1%, соответственно.

Эффективность вакцинации от гриппа у больных ГПЗ/ОРИ достигала 32.0%, 61.0%, 67.0%.

С марта 2020 г. зарегистрировано распространение вируса SARS-CoV-2, COVID-19 был зарегистрирован с 14 недели 2020 по 52 неделю 2021 гг. Частота регистрации SARS-

СоV-2 у больных ТОРИ была выше, чем у больных ГПЗ/ОРИ (30.9% и 13.9%), на пиках эпидемии у больных ТОРИ она достигала 80% весной-летом 2020 и 58% осенью 2021 года.



Рисунок 1. Доля пациентов ТОРИ с сопутствующими соматическими заболеваниями достигала 88.8%, ведущим фактором риска оказались СС заболевания 58.2%.

Выводы. СН позволяет выявить факторы риска развития при гриппе, ОРВИ, COVID-19. Показана значительная роль вирусов гриппа в этиологии ТОРИ и ГПЗ/ОРИ у пациентов старше 65 лет, вирусов ОРВИ - в этиологии ГПЗ/ОРИ у детей 0-14 лет, ведущая роль РС-вируса у детей до 1 года. Выявлено неблагоприятное влияние сопутствующих соматических заболеваний в развитии ТОРИ при гриппе и COVID-19, на первом месте при гриппе - беременность, при COVID-19 - СС заболевания. Показана эффективность вакцинации от гриппа в профилактике ГПЗ/ОРИ.

ОЦЕНКА СТЕПЕНИ КОНТАМИНАЦИИ SARS-CoV-2 ОБЪЕКТОВ БОЛЬНИЧНОЙ СРЕДЫ ИНФЕКЦИОННОГО ГОСПИТАЛЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ COVID-19

Егоров И.А.¹, Смирнова С.С.^{1,2}, Мищенко В.А.¹, Вялых И.В.¹, Маркарян А.Ю.¹, Семенов А.В.¹

¹ЕНИИВИ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Екатеринбург

²ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург

Внутрибольничная среда любой медицинской организации, независимо от профиля деятельности, представляет собой сложную искусственно созданную экосистему, в которой циркулируют микроорганизмы, в том числе вирусной природы.

В условиях пандемии COVID-19 создалась объективная необходимость в развертывании медицинских организаций особо профиля – инфекционных госпиталей для лечения больных, инфицированных SARS-CoV-2. Специфика их функционирования сопровождается нарушением отработанных технологий профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, и способствует формированию своеобразного искусственного биоконтекста, в котором длительно пребывают пациенты и персонал. Все это создает условия для массивной контаминации внешней среды инфекционного госпиталя, что повышает риски внутрибольничного распространения SARS-CoV-2.

Проведено исследование по обнаружению РНК SARS-CoV-2 в смывах с объектов больничной среды реанимационного отделения инфекционного госпиталя для лечения больных COVID-19 методом ОТ-ПЦР с последующим секвенированием положительных образцов по Сэнгеру. Отбор проб смывов проводили каждые 4 часа в процессе плановой работы госпиталя в течение трех суток по 20-ти унифицированным точкам: в зоне пребывания пациентов, общепольничной зоне, а также с наружной поверхности средств индивидуальной защиты (СИЗ) медицинского персонала (комбинезоны, верхняя пара перчаток). Всего исследовано 343 пробы.

Средний уровень вирусной контаминации объектов больничной среды реанимационного отделения SARS-CoV-2 составил 11,1% (38 проб). Максимальный уровень контаминации был отмечен в первый день исследования и составил 17,5% проб, содержащих РНК SARS-CoV-2. В ходе исследования также установлена суточная вариабельность уровня вирусной контаминации объектов больничной среды. Так наиболее часто выделение РНК SARS-CoV-2 было отмечено в пробах, отобранных в ночное (02:00) – 16,7%, вечернее (18:00) – 15,0%, дневное (14:00) время – 13,3%, наименьше – в утренние часы (06:00), что могло быть связано с особенностями проведения дезинфекционных мероприятий.

Уровень контаминации SARS-CoV-2 объектов в зоне нахождения пациента составил 10,6%. При ранжировании объектов больничной среды установлено, что наиболее контаминированными SARS-CoV-2 точками в зоне нахождения пациента были наружные поверхности электроотсоса (22,2%), аппарата искусственной вентиляции легких (16,7%) и шприцевого дозатора (11,1%).

Уровень контаминации объектов общебольничной среды составил 11,3% и варьировал от 5,9% (выключатели электроосвещения) до 11,1% (дверные ручки, дозаторы для жидкого мыла и кожного антисептика). Отмечен высокий уровень вирусной контаминации рабочих мест врачей (столы, клавиатуры компьютеров, мыши) – 16,7%.

Более значительный уровень вирусной контаминации был выявлен при исследовании комплектов СИЗ персонала. Так, наружные поверхности комбинезонов уборщиков помещений и медицинских сестер были контаминированы SARS-CoV-2 в 22,2% и 21,1% случаев. Наибольшая контаминация верхней пары перчаток была выявлена у уборщиков помещений (22,2%), в меньшей степени – у врачей (11,1%) и медицинских сестер (5,3%).

По результатам секвенирования РНК SARS-CoV-2 в пробах, полученных с наружной поверхности электроотсоса и наружной поверхности комбинезона медицинской сестры, был выявлен генетический вариант SARS-CoV-2 линии Delta, B.1.617.1 («Индийский.2»), что соответствовало эпидемиологической ситуации на момент проведения исследования.

Таким образом, максимальный уровень контаминации РНК SARS-CoV-2 объектов больничной среды инфекционного госпиталя был отмечен в первый день исследования, а в течение суток – в ночное время. Наиболее контаминированными были объекты больничной среды в зоне нахождения пациента с COVID-19 и наружная поверхность СИЗ персонала госпиталя. Мы полагаем, что первоначальными источниками контаминации объектов больничной среды инфекционного госпиталя SARS-CoV-2 были пациенты. Дальнейшая контаминация объектов вирусом происходила при непосредственном участии персонала инфекционного госпиталя, что необходимо учитывать при организации инфекционного контроля в медицинских организациях данного профиля.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЦИТОПАТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ВИЧ-1 СУБТИПОВ А, В И CRF63_02A1 С ТРОПНОСТЬЮ К КЛЕТОЧНОМУ РЕЦЕПТОРУ CXCR4

Елфимов К.А.^{1,2}, Нефедова А.А.¹, Нохова А.Р.², Гашикова Н.М.¹

¹ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область

²Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск

В мире циркулирует генетически гетерогенная популяция ВИЧ-1. Изучение биологических свойств отдельных геновариантов ВИЧ-1 является актуальной задачей. Целью этого исследования было сравнение цитопатического действия современных вариантов ВИЧ-1, распространяющихся в России.

ВИЧ-1 культивировали на лимфоидной культуре клеток человека МТ-4, имеющей рецептор для ВИЧ-1 – CXCR4. В работе использовали лабораторные штаммы ВИЧ-1 субтипа А6 (штамм ВИЧ-1/MTZn) и CRF63_02A1 (ВИЧ-1/MTBs) из коллекции нашей лаборатории, штаммы субтипа В (4046, Bru), полученные из Государственной коллекции возбудителей вирусных инфекций ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». Для оценки цитопатического эффекта при инфекции разными геновариантами ВИЧ-1 клетки МТ-4 инфицировали одинаковой дозой ВИЧ-1, нормированной по концентрации вирусного белка р24 ВИЧ-1. Оценивали следующие параметры: процент клеток в стадии апоптоза; процент жизнеспособных клеток; концентрацию р24 ВИЧ-1 в культуральной жидкости.

На 3 и 5 сутки культивирования штаммов ВИЧ-1 (Рисунок 1) регистрировали следующие количества клеток МТ-4 в стадии апоптоза: для ВИЧ-1/4046 – 10,33% и 35,65%; для ВИЧ-1/Bru – 2,39% и 3,26%; для ВИЧ-1/MTZn – 30,17% и 59,45%; для ВИЧ-1/MTBs – 29,07% и 59,77%. Только к 7-м суткам этот показатель для ВИЧ-1/4046 достиг значений апоптоза, близких к таковым для вирусов субтипа А6 и CRF63_02A1. Процент жизнеспособности клеток при культивировании ВИЧ-1 субтипа А6 и CRF63_02A1 уже к 3-м суткам снизился до 50%, а на 7 сутки живых клеток не регистрировалось. Для ВИЧ-1 субтипа В процент жизнеспособных клеток был значимо выше. Для ВИЧ-1/4046 и для ВИЧ-1/Bru на 7 сутки культивирования более 60% клеток сохраняли жизнеспособность (Рис.1).

Данные по накоплению белка р24 ВИЧ-1, характеризующие уровень репликации вирусов, показали, что на 3 и 5 сутки культивирования ВИЧ-1 субтипа В имели существенные различия по скорости репликации (Рис.1), при этом выраженность цитопатического эффекта на клетки для данных ВИЧ была значимо ниже, чем для ВИЧ-1/MTZn и ВИЧ-1/MTBs. Цифры по накоплению белка р24 для ВИЧ-1/MTZn и ВИЧ-1/MTBs к 5-м суткам были на уровне таковых для ВИЧ-1/Bru, при последующем культивировании этих ВИЧ-1 концентрация р24 в культуральной жидкости не росла, что, вероятно, было связано с отсутствием живых клеток (добавления клеток МТ-4 при культивировании ВИЧ-1 не проводилось).

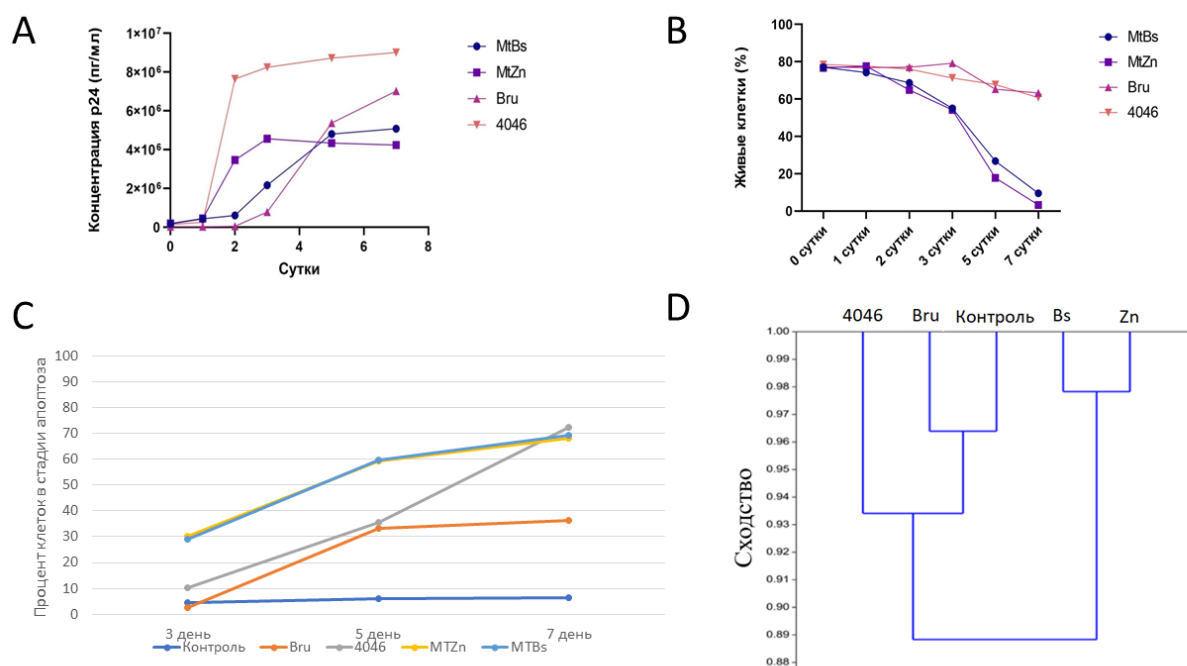


Рисунок 1. Динамика параметров, определяющих цитопатический эффект штаммов ВИЧ-1. А: график накопления белка р24 ВИЧ-1 в культуральной жидкости при культивировании ВИЧ-1; В: график динамики жизнеспособности культуры клеток при ВИЧ-инфекции; С: динамика количества клеток в стадии апоптоза при ВИЧ-инфекции и в неинфицированных клетках МТ-4; D: кластеризация геновариантов ВИЧ-1 с учетом комплекса параметров (% клеток в стадии апоптоза, % жизнеспособных клеток, концентрация р24 ВИЧ-1), полученная с использованием метода К-средних

Эксперимент показал, что уровень цитопатического эффекта ВИЧ-1 на клетки не коррелирует со скоростью репликации ВИЧ-1. Штаммы ВИЧ-1 субтипа А6 и CRF63_02A1 имеют достоверно более высокий уровень цитопатического эффекта на клетки по сравнению с ВИЧ-1 субтипа В.

РАЗРАБОТКА ОТ-ПЦР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛИНЕЙНОСТИ SARS-COV-2 В УСЛОВИЯХ БЫСТРОЙ ЭВОЛЮЦИИ ВИРУСА

Ёлиин Н.Д., Комиссаров А.Б., Лиознов Д.А.

ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург

Через несколько месяцев после обнаружения нового коронавируса SARS-CoV-2 начали появляться варианты, которые по количеству мутаций можно было выделить в новые линии. Появление некоторых новых вариантов вируса становилось заметным для всего населения планеты, вызывая новые волны пандемии. Более успешный вариант вируса примерно в течение месяца вытеснял предыдущий: доминирование линии Альфа быстро закончилось с приходом варианта Дельта, который, в свою очередь, исчез с появлением более контагиозного варианта Омикрон.

Для исследования распространения новых вариантов SARS-CoV-2, исследования особенностей клинического течения коронавирусной инфекции, вызванной разными вариантами и для приоритетного отбора на секвенирование новых вариантов необходима разработка ОТ-ПЦР, позволяющих детектировать ту или иную линию.

Работа по разработке тест-систем для дифференцировки линий SARS-CoV-2 начиналась с биоинформатического анализа мутаций последовательностей нового варианта и выявления специфичных для него мутаций еще до попадания его на территорию РФ. Наилучшим способом детекции SARS-CoV-2 определенной линии является ОТ-ПЦР, нацеленная на уникальную инсерцию или делецию, присутствующую у данной линии и отсутствующую у всех остальных вариантов SARS-CoV-2. Фактически детектируется конкретная мутация в одном гене, но при должной теоретической и практической специфичности, можно заявлять именно о детекции вируса с конкретным геномом.

Так, за последний год пандемии нами были разработаны ОТ-ПЦР тест-системы для детекции линии Альфа по делеции в гене ORF1ab (11288–11296, SGF3675del), линии AT.1 по инсерции в S гене (insN679, Spike 679 insertion), линии Дельта по делеции в S гене (22029–22034 delAGTTCA), линии Омикрон субварианта BA.1 по инсерции в S гене (Ins214EPE), линии Омикрон (все субварианты) по делеции в N гене (ERS31del).

Главной особенностью такой работы является необходимость быстрой разработки и апробации тест-системы, проверки специфичности на панели вирусов других линий и других возбудителей ОРВИ. Все это было проделано для всех тест-систем, также были разработаны мультиплексные ОТ-ПЦР системы для скрининга первичных образцов, включающих детекцию SARS-CoV-2 любой линейности и ВКО. Эффективность всех тест-систем составила около 100%, чувствительность сравнима с коммерческими тестами. Каждая тест-система была использована в НИИ гриппа для эпидемиологического мониторинга, в том числе ретроспективного, тест-система для детекции линии Омикрон нашла коммерческое применение.

Таким образом, нами был разработан ряд тест-систем на основе ОТ-ПЦР, позволивших своевременно охарактеризовать распространение новых линий SARS-CoV-2 на территории РФ.

ПЦР-МЕТОДИКИ В МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ ГЕНОВАРИАНТА «ОМИКРОН» ВИРУСА SARS-COV-2

Есьман А.С., Черкашина А.С., Голубева А.Г., Саламайкина С.А., Миронов К.О.

ФБУН «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва

На данный момент является актуальным молекулярно-генетический мониторинг циркулирующих геновариантов вируса SARS-CoV-2 и выявление новых геновариантов, обозначенных ВОЗ как VOIs (Variants of Interest) и VOCs (Variants of Concern). Для этого используются методы полногеномного и фрагментного секвенирования, а также, для ускорения работы и увеличения исследуемых объемов требуется создание высокопропускных лабораторных методов, позволяющих в сжатые сроки проводить характеристику изолятов, вовлеченных в эпидемический процесс.

Многолетний опыт разработок тест-систем и наборов реагентов, основанных на ПЦР в режиме реального времени и пиросеквенировании, позволил в короткие сроки создать надежные методики определения геновариантов вируса SARS-CoV-2. Все подобные системы включают в себя три праймера: два для амплификации фрагмента (один из которых биотинилирован), один для пиросеквенирования и зонд для гибридационно-флуоресцентной детекции целевого фрагмента (мутации). Что позволяет оперативно подтверждать аналитическую специфичность работы зонда для ПЦР в режиме реального времени.

Данный подход позволяет использовать оптимальное количество олигонуклеотидов и сокращать время, требуемое на разработку. Для определения геновариантов «омикрон» и «дельта» вируса SARS-CoV-2 в Центральном НИИ Эпидемиологии разработана лабораторная методика в формате ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-PPV). В основе – детекция четырех мутаций S-белка линии B.1.1.529: delHV69-70, N501Y, delVYY143-145, ins214EPF и двух мутаций линии B.1.617.2: L452R и P681R.

Методика апробирована на более чем 2500 образцах, положительных при качественном тестировании на присутствие РНК SARS-CoV-2 с использованием набора реагентов «АмплиСенс® COVID-19-FL» (Россия). Выявлено 2100 образцов геноварианта «омикрон», 421 – геноварианта «дельта»; из которых для 21 образца определен сомнительный результат и для 9 образцов выявлена только одна мутация геноварианта «омикрон». Аналитическая специфичность методики составила 100%, что подтверждено при исследовании 208 случайных образцов методами секвенирования.

Реагенты для лабораторной методики поставлены в субъекты Российской Федерации. Проведены обучающие семинары в формате zoom-конференций по правилам использования лабораторной методики. Оказана методическая и консультативная поддержка специалистам региональных Центров гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора.

Лабораторная методика позволяет увеличивать долю определенных геновариантов в SARS-CoV-2-положительных образцах за счет использования технологии ПЦР-PPV и включения в исследование образцов, непригодных для секвенирования. С целью

уменьшения времени и увеличения количества исследований, методика может быть модифицирована до 4 реакций для определения мутаций L452R, delHV69-70, Ins214EPE и N501Y. В связи с тем, что выявлена группа геновариантов «омикрон» BA.2, не содержащая delHV69-70, delVYY143-145 и Ins214EPE, определение мутации N501Y необходимо во всех постановках.

Применение методики позволяет быстро и оперативно получить результат с принадлежностью вируса к линии «дельта» или «омикрон», а также предположить появление нового геноварианта, что является в совокупности с секвенированием выборочных проб важным элементом мониторинга, осуществляемого в рамках эпидемиологического надзора за новой коронавирусной инфекцией.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ГЕТЕРОГЕННОСТИ СОВРЕМЕННЫХ ВИРУСОВ ГРИППА В ВИКТОРИАНСКОЙ ЛИНИИ

***Желтухина А.И., Сорокин Е.В., Царева Т.Р., Даниленко Д.М., Коновалова Н.И.,
Комиссаров А.Б., Комиссарова К.С., Иванова А.А.***

ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург

В последние годы наблюдается увеличение гетерогенности среди вирусов гриппа В Викторианской линии, что существенно влияет на выбор кандидатов в состав противогриппозных вакцин по данному компоненту. В докладе представлены результаты антигенного анализа вирусов гриппа В Викторианской линии, выявленных в России за последние 7 лет, с применением моноклональных антител.

Антигенная характеристика вирусов гриппа В была изучена в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) с использованием широкой панели поликлональных хорьковых и крысиных антисывороток. Однако в последние годы увеличивается антигенное разнообразие среди вирусов гриппа В Викторианской линии в виду появления делеционных вариантов, внутри которых происходит формирование различных генетических групп, что свидетельствует о растущей гетерогенности внутри данной разновидности вирусов гриппа В. При этом антигенный анализ с использованием поликлональных сывороток позволяет дать лишь общую оценку по принципу соответствия/несоответствия штаммам, к которым была получена сыворотка, что в очередной раз подтверждает необходимость поиска новых более совершенных и чувствительных методов для характеристики антигенных групп современных вирусов гриппа В. Одним из таких методов является антигенный анализ с применением моноклональных антител (МКА), которые направлены к конкретному эпитопу в молекуле гемагглютинина. Данная особенность МКА позволяет сделать вывод о том, в каких конкретно антигенных сайтах молекулы гемагглютинина (НА) могли произойти изменения, влияющие на антигенные свойства.

Получены данные о том, что некоторые МКА способны отличать вирусы генетической группы V1A от вирусов с делециями, относящихся к генетическим группам V1A.1 и V1A.3. Также было обнаружено, что МКА 10B6 и 10D9, полученные к штамму В/Брисбен/46/2015, способны выявлять консервативные участки в молекуле НА, с которыми связываются данные МКА. Некоторые МКА по-разному взаимодействовали с изолятами, выделенными на куриных эмбрионах и клетках MDCK, но это не было общим правилом. Для МКА 7G9, 10F1 и 7C8 оказалось характерным отсутствие значительных расхождений в результатах, что можно объяснить тем, что данные МКА направлены к 120 петле, которая является наиболее консервативным участком в молекуле НА по сравнению с другими антигенными сайтами, хотя данная область также подвержена изменениям, особенно у вирусов гриппа В Викторианской разновидности. Также представляют интерес штаммы, которые по-разному взаимодействовали с МКА 10B6 и 7H8 – выявлено, что большинство штаммов чаще взаимодействовало с МКА 10B6, чем с МКА 7H8, при этом данные МКА

направлены к близко располагающимся друг к другу участкам (положения 200 и 206 соответственно) – полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что положение 200 является более консервативным по сравнению с положением 206. Следует отметить, что положение 206 линейно располагается близко к 190 спирали, но в то же время данный участок пространственно близко располагается к петле 160. В связи с этим, особый интерес представляют штаммы, для которых было отмечено разное взаимодействие с МКА 6E11 и 7H8, что может быть связано с наличием дополнительных аминокислотных замен в близко находящихся участках.

Таким образом, полученные МКА с изученной эпитопной направленностью позволяют оценивать эволюционную изменчивость новых изолятов по конкретным антигенным сайтам, что недоступно ни одним другим методом, кроме секвенирования.

АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ АССОЦИИ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ОНКОПАТОЛОГИЙ РАЗЛИЧНЫХ ЛОКАЛИЗАЦИЙ

Ибрагимова М.К., Цыганов М.М., Литвяков Н.В.

*Научно-исследовательский институт онкологии ФГБНУ «Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской Академии наук», Томск*

Актуальность работы: Проблема ВПЧ-ассоциированных заболеваний крайне актуальна в настоящее время, она носит не только индивидуальный характер, но и прежде всего популяционный. Основной эпидемиологической особенностью данной инфекции является широкое распространение. На протяжении всей жизни 8 из 10 человек инфицируются ВПЧ, и у 2-5% из них ВПЧ-инфекция персистирует, приводя к онкологическим заболеваниям. При этом в настоящее время, данный вирус все более активно рассматривается в качестве этиологического фактора не только рака шейки матки, но и опухолей других локализаций. **Целью** данной работы является анализ мировых литературных данных распространенности ВПЧ у больных с наличием ЗНО 6-ти локализаций (колоректальный рак (КРР), опухоли головы и шеи (ОГШ), рак молочной железы (РМЖ), легкого (РЛ), яичника (РЯ) и эндометрия (РЭ)).

Материалы и методы: Был проведен поиск на глубину 26 лет по базам данных PubMed и Web of Science. Проведен мета-анализ распространенности ВПЧ при помощи программы Comprehensive Meta-Analysis 3.0. Критерием включения исследования в мета-анализ были определение ВПЧ в опухоли методом ПЦР и наличие контроля в виде нормальной ткани. В качестве исследуемых образцов использовались парафиновые блоки и замороженная ткань. В мета-анализ по КРР было включено 19 публикаций (2049/830 образцов опухолей/нормальной ткани). Для ОГШ был проведен анализ 28 публикаций (4381 больных). Мета-анализ для РМЖ включал 29 исследований (2446/144 образцов опухолей/нормальной ткани). Мета-анализ для РЛ включал 30 публикаций – 2916/1487 образцов опухолей/нормальной ткани, для РЯ – 29 работ – 2173/872 образцов опухолей/нормальной ткани, для РЭ – 18 публикаций – 785/297 образцов опухолей/нормальной ткани.

Результаты исследования. Частота инфицированности ВПЧ в опухоли при КРР составила 16%, в нормальной ткани – 3%. В результате мета-анализа установлен статистически значимый уровень распространенности ВПЧ в опухолевой ткани, результирующий относительный риск (RR) развития КРР при ВПЧ инфекции составил $RR(95\%CI)=2.97(1.42-6.22)$ при $p = 0.0039$.

Также показана высокая частота инфицированности ВПЧ карцином головы и шеи – 40,8% (1,6%-100%). При анализе полученных данных было показано, что чаще всего вирус обнаруживался при раке полости рта (54%), гортани (50%) и ротоглотки (39%) (данные не представлены).

Распространенность ВПЧ в опухолевой ткани молочной железы составила 25% при показателе инфицированности 4,5% в нормальной ткани. Показатель относительного риска развития РМЖ при ВПЧ инфекции составил $RR(95\%CI)=3.6(2.3-5.6)$, при $p = 2.82 \times 10^{-8}$.

При этом, результирующий относительный риск развития РЛ при любом типе ВПЧ составил $RR (95\%CI)=3.49(2.43-5.01)$ при $p=0.000001$. Распространенность ВПЧ в опухолевой ткани при РЛ составила 28,7% при показателе инфицированности 7,3% в нормальной ткани легкого.

Распространенность ВПЧ в опухолевой ткани яичника составила 22,1% при показателе инфицированности 8,2% в нормальной ткани ($RR (95\%CI)= 2,68 (1,97-3,64)$, $p=5.41 \times 10^{-12}$). При этом, распространенность ВПЧ в опухолевой ткани эндометрия составила 12,5% при показателе инфицированности 8,8% в нормальной ткани ($RR (95\%CI)=1,07(0,48-2,38)$, $p=0,031$).

Выводы. Показан значительный относительный риск развития представленных ЗНО при наличии инфицирования ВПЧ. Что еще раз доказывает важность своевременного мониторинга папилломавирусной инфекции и подчеркивает необходимость дальнейшего включения ВПЧ-вакцинации в Национальный календарь профилактических прививок.

Работа поддержана РФФИ 20-015-00023 А.

ИНДИКАЦИЯ, ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ВЫДЕЛЕНИЕ ВИРУСОВ В КОМАРАХ РОДА *Aedes spp. Culiseta spp.*, ОТЛОВЛЕННЫХ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ АМЕРИКЕ ОЦЕНКА СЕРОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В СЫВОРОТКАХ КРОВИ ЛЮДЕЙ И ДЕТЕКЦИЯ ПЕРЕНЕСЕННЫХ ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЕРЕДАЮЩИЕСЯ КОМАРАМИ

Каа К.В.¹, Казакова Е.В.², Уйба С.В.³, Трухин В.П.¹, Игнатьев Г.М.¹

¹ФГУП «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток и предприятие по производству бактериальных препаратов» ФМБА России, Санкт-Петербург

²Центр исследований и разработки филиала СПбНИИВС ФМБА России в Республике Никарагуа, Республика Никарагуа, Манагуа

³Латиноамериканский институт биотехнологий Mechnikov, Республика Никарагуа, Манагуа

Комары различных родов являются переносчиками целого ряда возбудителей вирусных заболеваний, прежде всего относящихся к семействам *Flaviviridae* (род *Flavivirus*), и *Togaviridae* (род *Alfavirus*) (Флави- и альфавирусы). Представителями этих родов являются вирусы, вызывающие у людей заболевания - лихорадки Денге, Зика, желтая лихорадка, Чикунгунья, Венесуэльский энцефаломиелит лошадей (ВЭЛ), Синдбис. Данные вирусы передаются комарами родов *Aedes spp.*, *Culiseta spp.* Ареал распространения комаров этих видов распространяется на Центральную Америку, включая Никарагуа. Мониторинг за распространением комаров-переносчиков и оценка их инфицированности может дать информацию о возможности появления новых заболеваний или увеличения случаев уже регистрируемых. С этим связана необходимость разработки или совершенствования методов диагностики и профилактики заболеваний вызываемых Альфа- и Флавивирусами. Отлов проводился в сухой сезон, в лесной зоне с координатами 12.325527N 85.974662W и 12.323326 N 85.974275W – департамент Типитапа, и 11.9344N 85.9560W и 11.9035N 85.9387W - департамент Гранада. Были отловлены комары видов *Aedes albopictus*, *Aedes aegypti*, *Culiseta spp.*, *Culex spp.*

В гомогенатах комаров рода *Aedes spp* методом ОТ-ПЦР были детектированы РНК вирусов Денге (тип 1 и 2) и Чикунгунья. В комарах рода *Culex spp* методом ОТ- ПЦР была детектирована РНК вируса Синдбис. Выделение этих вирусов позволяет проводить работы по их дальнейшему изучению. На клетках С6/36 были выделены вирусы Чикунгунья и Синдбис. Были проведены исследования по подбору культуры клеток наиболее чувствительной к вирусу Чикунгунья. В работе использовали клетки Vero, MRC-5, ФЭК, 4647. Наиболее чувствительными оказались клетки 4647 и Vero. Оценку чувствительности клеток и накопление вируса определяли методом титрования по Керберу и выражали в $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$. В результате титр накопления вируса в клетках Vero равен $10^{-7,6} \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$, в клетках 4647 $10^{-7,8} \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$. Остальные культуры показали менее выраженную чувствительность. На клетках MRC-5 появление вирусного ЦПД наступало через 72 часа после заражения, титр вируса был равен $10^{-3,2} \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$. На клетках ФЭК появление вирусного ЦПД не наступило, титр вируса был равен $10^{-1,2} \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$. Полное описание

исследования по подбору культуры клеток и способу культивирования для наработки вируса Чикунгунья будет описано в отдельной статье

В 200-х сыворотках, которые были использованы для исследования иммуноглобулинов IgG к вирусам Денге (ДЕНВ), Зика (ЗИВК), Чикунгунья (ЧИКВ), желтой лихорадки (ЖЛВ) и синдбис (СИНВ). Для проведения всех исследований использовали наборы:

- БиоСкрин-Чикунгунья (IgG) - для определения IgG к вирусу Чикунгунья (E-1645);
- БиоСкрин-Денге (IgG) – для определения IgG к вирусу Денге (E-1545);
- БиоСкрин-Синдбис (IgG) – для определения IgG к вирусу Синдбис (E-1945);
- Желтая лихорадка MyBioSource MBS 3801924. Human YFV-IgG;
- EUROIMMUNE – Anti-Zika Virus ELISA (IgG) (EI 2668-9601 G) – набор реагентов для определения IgG к вирусу Зика.

Необходимо отметить, что часть сывороток содержала антитела к нескольким вирусам. Из 200 сывороток 42% содержали антитела хотя бы к одному из исследуемых вирусов. Абсолютное большинство сывороток содержали антитела либо к вирусу Денге, либо к Чикунгунья. Отмечается высокий серологический перекрест к Флавивирусам Денге, Желтой лихорадке, Зика. При исследовании авидности сывороток содержащих антитела к флавивирусам установлено, что абсолютное большинство содержит антитела к вирусу Денге.

Таким образом, результаты оценки серологических маркеров в сыворотках крови людей и детекции вирусов в комарах свидетельствуют о том, наиболее в Республике Никарагуа циркулируют вирусы Денге (типов 1 и 2) и Чикунгунья. Следует отметить встречаемость вируса Синдбис, незначительное присутствие вируса Зика.

ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭНИСАМИЯ ЙОДИДА И ЕГО МЕТАБОЛИТА В ОТНОШЕНИИ КОРОНАВИРУСА SARS-COV-2

Клабуков А.М., Галочкина А.В., Николаева Ю.В., Штро А.А.

ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург

Новая коронавирусная инфекция, вызванная SARS-CoV-2, является серьезной угрозой для здоровья большого количества людей. В условиях глобальной пандемии чрезвычайно необходимо находить новые методы борьбы с вирусом, в частности, заниматься разработкой этиотропных методов лечения.

В рамках данного исследования изучался препарат энисамия йодид (производное изоникотиновой кислоты) и его метаболит VR17-04. В экспериментальных работах исследуемый препарат показывал противовирусную активность в отношении широкого спектра вирусов гриппа и ОРВИ, предположительно, за счет подавления активности синтеза рНк-зависимой рНк-полимеразы. Противовирусная активность изучалась на культуре клеток Vero E6 и модифицированной культуры клеток A549 с рецептором ACE2 методом ингибирования бляшкообразования.

На культуре клеток Vero E6 в концентрации 150мкг/мл препарат продемонстрировал противовирусную активность при полном отсутствии токсичности. Количество вирусных бляшек снизилось, а их размер существенно сократился.

Оценка противовирусной активности энисамия йодида и его метаболита в более высоких дозировках и на второй культуре клеток проводится в настоящее время.

РЕЦЕПТОРНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ ШТАММОВ ВИРУСОВ ГРИППА ПТИЦ А/Н5NХ, ВЫДЕЛЕННЫХ ВО ВРЕМЯ ВСПЫШЕК В РОССИИ В 2021 Г.

***Косенко М.Н., Онхонова Г.С., Молчанова М.Л., Васильцова Н.Н., Марченко В.Ю.,
Рыжиков А.Б.***

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область

Вирусы гриппа птиц представляют особый интерес в связи с возможностью эффективного преодоления межвидового барьера путем рецепторной адаптации к человеку. Ввиду активной циркуляции вирусов гриппа птиц в мире и тесному контакту человека с домашней и перелетной птицей, фиксируются периодические случаи передачи высокопатогенных штаммов не только между птицей и человеком, но и от человека к человеку. ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора в сотрудничестве с Центрами гигиены и эпидемиологии осуществляет мониторинг птичьего гриппа на территории Российской Федерации.

В течение эпидемического сезона 2021 года на территории РФ были отобраны и проанализированы биоматериалы от домашней и дикой птицы. Всего для измерения рецепторной специфичности методом биослойной интерферометрии был отобран двадцать один штамм: двадцать штаммов А/Н5N1 и один А/Н5N5. Для всех исследуемых штаммов доминирующим является рецептор $\alpha 2-3$ с равновесными константами диссоциации в диапазоне 0,001 – 0,06 μM . При этом ни один из отобранных штаммов не продемонстрировал специфичности к «человеческим» рецепторам $\alpha 2-6$. Таким образом, по результатам исследования в период эпидемического сезона 2021 года не выявлено штаммов вирусов птичьего гриппа с зоонозным потенциалом.

Работа выполнена в рамках ГЗ-13-21.

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ РИНОВИРУСОВ

**Ксенафонтов А.Д.¹, Писарева М.М.¹, Едер В.А.¹, Мусаева Т.Д.¹, Тимофеева М.М.¹,
Некрасов П.А.¹, Фадеев А.В.¹, Комиссарова К.С.¹, Комиссаров А.Б.¹, Киселева И.В.²**

¹ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург

²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

Риновирусы, являются наиболее распространёнными респираторными вирусами и главной причиной ОРВИ. Риновирусы относятся к семейству *Picornoviridae*, роду *Enterovirus* и делятся на три вида – А, В, и С. Сам по себе, риновирус является безоболочечным, сферическим вирусом, диаметр которого составляет около 30 нм. Капсид икосаэдрический и состоит из четырёх капсидных протеинов. VP1, VP2, VP3 представлены на клеточной поверхности, в то время как VP4 располагается под капсидом. Геном представлен одноцепочечной РНК + 7,2 kb. От 5' конца вирусный геном состоит из 5'VPg, далее идёт нетранслируемая последовательность 5'UTR, затем следует длинная открытая рамка считывания, кодирующая полипротеин, потом 3'UTR и затем 3' poly-A хвост. Также, в зависимости от рецепторной специфичности, риновирусы подразделяются на основные (рецептор ICAM-1) и второстепенные (рецептор LDLR).

Генетическое разнообразие риновирусов слабо изучено в связи с его высокой вариабельностью – на три вида приходится более 150 типов.

Исследования проводились на базе лаборатории молекулярной вирусологии ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» МЗ РФ. Образцы (мазки из носо- и ротоглотки) из поступали из СПб ГБУЗ КИБ им. С. П. Боткина, СПб ГБУЗ «ДГБ Св. Ольги», ДГКБ №5 им. Н. Ф. Филатова, Санкт-Петербург. Детекция риновирусов осуществлялась методом ПЦР в режиме реального времени при помощи коммерческих наборов «АмплиСенс® ОРВИ-скрин-FL» (производство ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва) в соответствии с инструкцией производителя. Исследование генетического разнообразия риновирусов осуществлялось путём секвенирования по методу Сэнгера с использованием праймеров, разработанных da Costa Souza *et al.* (2021).

Согласно полученным данным, риновирус является вторым по распространённости вирусом негриппозной этиологии (после респираторно-синцитиального вируса), за исключением сезона 2019-2020 годов, где циркуляция риновируса незначительно превосходила респираторно-синцитиальный вирус. Его распространённость была примерно равномерной в течение сезонов с небольшим возрастанием в феврале, марте или апреле. Также риновирус был абсолютным лидером в первый пандемический сезон (2020-2021) среди всех респираторных вирусов (уступая лишь SARS-CoV-2).

За период с декабря 2020 года по октябрь 2021 года было субтипировано 70 риновирусов. Среди них наиболее распространённым был HRV-A (38 риновирусов, 54%). HRV-C и HRV-B было детектировано в равном количестве (по 16 риновирусов, 23% каждый). Среди субтипов практически не встречалось повторений, за редким исключением. Среди HRV-A было обнаружено 21 субтип, наиболее распространённым был HRV-A46 (9

риновирусов, 24%), среди HRV-B – 8 субтипов, самый распространённый – HRV-B06 (4 риновируса, 33%), а среди HRV-C – 8 субтипов, самые распространённые – HRV-C11, HRV-C32 и HRV-C15 (по 3 риновируса каждый, по 19%).

Как видно из полученных данных, генетическое разнообразие риновирусов очень высоко, что существенно затрудняет как глубокие генетические исследования, так и создание риновирусной вакцины. Однако исследовать риновирусы необходимо, поскольку они могут приводить к таким серьёзным последствиям, как астма. Кроме того, их активная циркуляция в период пандемии COVID-19, когда выделяемость многих других респираторных вирусов значительно снижена, заставляет полагать, что их роль в эпидемиологической ситуации не дооценивается.

АКТИВАЦИЯ СИСТЕМЫ ЦИТОЗОЛЬНЫХ СЕНСОРОВ В КЛЕТКАХ A549 В ОТВЕТ НА СТИМУЛЯЦИЮ ИХ ЭКЗОГЕННЫМИ мРНК

Ложков А.А.¹, Плотникова М.А.², Егорова М.А.², Клотченко С.А.², Васин А.В.^{1,2}

¹Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург

²ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург

Введение. Мировые исследования последних лет подчеркивают огромный потенциал использования мРНК в качестве терапевтического или вакцинного препарата. Основной проблемой широкого использования мРНК в терапии является её иммуногенность.

Цитозольные сенсоры RIG-1 и MDA5 играют ключевую роль в узнавании экзогенных синтетических мРНК, следствием чего является активация системы интерферонов и экспрессия сотен интерферон-стимулируемых генов (ISGs). Одним из важнейших ISGs является IFIT-1 (ISG-56). Одновременная оценка уровня экспрессии MDA5, RIG-1 и IFIT-1 позволяет определить степень активации врожденной иммунной системы.

Методы. В работе использованы клетки A549 (CCL-185). Праймеры и зонды, содержащие флуоресцентный краситель на 5'-конце и гаситель на 3'-конце, были разработаны нами и синтезированы компанией Евроген (Россия). Мультиплексную qPCR проводили в объеме 25 мкл, содержащем 12,5 мкл смеси BioMaster HS-qPCR (2×) (Биолабмикс, Россия) и 2 мкл кДНК. Реакционные смеси содержали: по 200 нМ каждого праймера и зонда для RIG-1 и IFIT-1; и 750 нМ каждого праймера и 250 нМ зонда для MDA5. Условия ПЦР: 95 °С в течение 5 мин с последующими 40 циклами амплификации (95 °С в течение 15 с, 61,3 °С в течение 30 с).

Результаты. Концентрации праймеров и температурные условия были оптимизированы для амплификации всех специфических продуктов ПЦР с высокой эффективностью. Рассчитанные значения эффективности для мультиплексной qPCR составили 98% (для RIG-1 и MDA5) и 97% (для IFIT-1).

Была проведена оценка экспрессии генов в ответ на стимуляцию клеток A549 различными агонистами: синтетическими агонистами TLR (высокомолекулярной и низкомолекулярной поли(I:C) дцРНК); полученной методом *in vitro* транскрипции РНК GFP (IVT-РНК-GFP); полученной методом *in vitro* транскрипции самоамплифицирующейся РНК GFP (IVT-саРНК-GFP); молекулами нативной РНК (тотальная РНК, мРНК и микроРНК, которые были выделены из интактных клеток A549). Трансфекция клеток A549 IVT-РНК-GFP и IVT-саРНК-GFP приводила к стабильной трансляции GFP через 24 часа. Как IVT-РНК-GFP, так и IVT-саРНК-GFP стимулировали синтез мРНК IFN I типа, IFN-λ и ISGs (рисунок а, б). Было обнаружено, что IVT-РНК-GFP и IVT-саРНК-GFP являются еще более мощными индукторами мРНК IFN, чем контрольные поли(I:C) дцРНК.

Используя разработанную нами qPCR-систему для мультиплексного анализа, мы оценили уровни мРНК генов RIG-1, MDA5 и IFIT-1 (рисунок б, с). Только стимуляция синтетическими молекулами РНК приводила к сильному увеличению экспрессии этих генов. Чтобы исключить возможность инактивации нативной РНК в ходе ее выделения, мы

оценили уровень экспрессии RIG-1, MDA5 и IFIT-1 в клетках, стимулированных вирусной РНК. Было показано, что как тотальная РНК из инфицированных ВГА клеток, так и выделенная из вирионов ВГА РНК способны значительно усилить экспрессию RIG-1, MDA5 и IFIT-1. Тотальная РНК из интактных клеток A549 не влияла ни на экспрессию IFN, ни на экспрессию генов RIG-1, MDA5 и IFIT-1.

Заключение. Разработанная нами мультиплексная ПЦР-система подходит для оценки активации интерферон-зависимого иммунного ответа при трансфекции клеток молекулами экзогенной РНК. Предложенная тест-система может также быть применима для оценки иммуногенности препаратов на основе мРНК. Полученные данные еще раз подчеркивают необходимость использования модифицированных оснований и высокие требования к очистке при производстве мРНК-препаратов.

Работа выполнена в рамках Государственного задания на проведение фундаментальных исследований 0784-2020-0023.

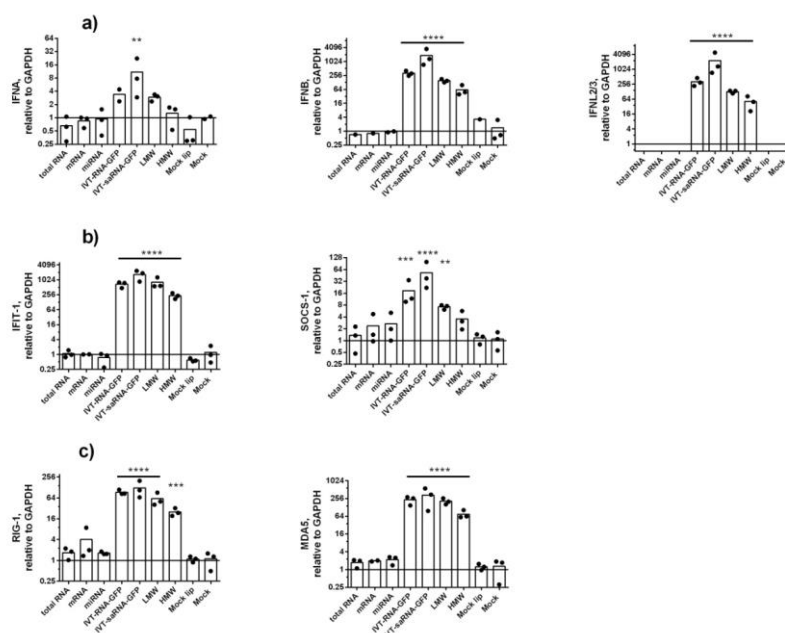


Рисунок (а) Оценка уровня экспрессии интерферонов (IFN-α, IFN-β, IFN-λ); (б) интерферон-стимулируемых генов (ISGs); (с) цитозольных сенсоров — при стимуляции клеток A549 различными агонистами. Mock — интактные клетки, **** — P < 0,0001 по сравнению с контролем; *** — P < 0,001; ** — P < 0,01; * — P < 0,05 по сравнению с контролем (Mock)

КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ДИАРЕИ ПРИ COVID-19 У ДЕТЕЙ

*Мазанкова Л.Н.¹, Горбунов С.Г.¹, Самитова Э.Р.^{1,2}, Османов И.М.², Акимкин В.Г.³,
Плоскирева А.А.³, Оськин А.Н.¹, Мишкин А.А.³*

¹Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва

²Детская городская клиническая больница им. З.А. Бахляевой Департамента
здравоохранения города Москвы

³ФБУН «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва

Цель. Показать клинико-эпидемиологическую значимость диареи и выделения SARS-CoV-2 с фекалиями у больных COVID-19 детей.

Пациенты и методы. Проанализированы 42 истории болезни детей с COVID-19, госпитализированных в стационар и обследованных методом полимеразной цепной реакции на РНК SARS-CoV-2 в мазках из носа и ротоглотки, а также в кале.

Результаты. Показано, что водянистая диарея отмечалась у 2,4% детей с верифицированным COVID-19, рвота и боли в животе - у 4,8%. В анализе крови при этом преобладал лимфоцитоз. У всех обследованных пациентов РНК SARS-CoV-2 была обнаружена не только в мазках из носа и ротоглотки, но также в кале, при этом у 4,8% детей выделение вируса с фекалиями наблюдалось более продолжительное время по сравнению с респираторным трактом. В эпидемиологическом анамнезе у 100% пациентов не было указаний на контакт с больным острой диареей.

Заключение. Указанные факты свидетельствуют о том, что, несмотря на нечасто регистрируемую диарею при COVID-19 в детском возрасте, обнаружение у значительного количества таких пациентов в кале РНК SARS-CoV-2 может иметь важное клинико-эпидемиологическое значение, способствуя фекально-оральной передаче этой инфекции, что требует дополнительного изучения в виду малочисленности и противоречивости известных к настоящему времени данных.

РАЗРАБОТКА, ИССЛЕДОВАНИЕ И ОЦЕНКА КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВЫХ НУКЛЕОЗИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРОТИВ SARS-COV-2

*Мансур У.^{1,2}, Писарева М.М.², Фадеев А.В., Комиссарова К.С.²,
Комиссаров А.Б.², Потехин А.А.¹*

¹СПбГУ «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

²ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург

Появляющийся COVID-19, вызванный вирусом SARS-CoV-2, получил приоритетный статус ВОЗ и государственных органов для поиска эффективных средств профилактики и лечения этой инфекции. Хотя проводится множество клинических испытаний, среднее время разработки нового препарата от этапа лабораторных исследований до регистрации составляет около 12 лет. Одним из путей решения проблемы является репозиционирование уже известных фармпрепаратов.

Для достижения селективного ингибирования, вирусные потенциальные мишени должны включать генные продукты, которые широко консервативны и не существуют в клетке-хозяине или которые достаточно структурно и функционально отличаются от клеточных гомологичных. Для вируса SARS-CoV-2 РНК-зависимая РНК-полимераза является мишенью выбора для профилактики и лечения из-за ее решающей роли в синтезе РНК, отсутствия гомолога-хозяина и высокой консервативности последовательности и структуры. Аналоги нуклеозидов представляют собой многообещающий класс противовирусных препаратов, которые ингибируют RdRp посредством множества механизмов действия. Эти агенты широко используются для лечения многих вирусных инфекций (например, ВГС, гриппа, вируса Эбола). Однако наличие корректирующей 3'-5'-экзорибонуклеазы делает коронавирусы особенно сложным случаем для разработки противовирусных препаратов, поскольку она способна удалять встроенные аналоги нуклеозидов в РНК, сводя на нет эффективность этих препаратов в разной степени, в зависимости от типа химии аналога нуклеозида.

2'-дезоксидезокси-2'-β-фтор-4'-азидоцитидин (FNC или Азвудин) представляет собой новый нуклеозидный ингибитор обратной транскриптазы с противовирусной активностью в отношении вируса иммунодефицита человека, вирусов гепатитов В и С. Исследования *in vitro* выявили сильную и длительную эффективность подавления.

Настоящее исследование направлено на оценку репликации вируса SARS-CoV-2 и его генетической изменчивости при лечении пациентов с COVID-19 аналогом нуклеозида азвудином. Это исследование является проспективным, двойным слепым, сравнительным, рандомизированным, плацебо-контролируемым клиническим исследованием. Мазки из носоглотки собирали в дни 0 (до приема препарата или плацебо), дни 3, 5 и 7 исследования. В Российской Федерации это клиническое исследование должно было проводиться в пяти исследовательских центрах. На сегодняшний день к нам поступил материал от 10 пациентов, принимавших участие в клиническом исследовании в Городской больнице № 40 Курортного района Санкт-Петербурга. 30 назофарингеальных мазков от 10 пациентов были

протестированы методом ПЦР на обнаружение РНК SARS-CoV-2. 19 пациентов были положительными на SARS-CoV-2. Из них у 3 пациентов была обнаружена РНК SARS-CoV-2 в дни 0 и 3; у 3 больных - на 0, 3 и 5 сутки; и один в дни 0, 3, 5 и 7. Затем все положительные образцы подвергали полногеномной амплификации РНК вируса SARS-CoV-2 для дальнейшего секвенирования.

По результатам секвенирования были получены последовательности генома SARS-CoV-2 из 11 образцов (7 пациентов). Все проанализированные вирусы относились к генетической линии AY.122 по классификации PANGO (Delta-like по классификации ВОЗ). В настоящее время проводится сбор дополнительных образцов для исследования изменения генетической гетерогенности популяции SARS-CoV-2 под действием 2'-дезоксид-2'-β-фтор-4'-азидоцитидина.

ВАЗОМОТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ КРЫС СТОКА WISTARC ОСТРОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГРИППОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

*Марченко В.А.^{1,3}, Зелинская И.А.², Торопова Я.Г.², Подъячева Е.Ю.²,
Мартынов М.О.², Жилинская И.Н.^{1,3}*

¹ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург

²ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург

³ФГБОУ «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Актуальность: известно, что с окончанием эпидемии гриппа наблюдается избыточная (дополнительная) смертность в группах риска: у больных с острой и хронической патологией сердечно-сосудистой системы. Однако данные по изучению функциональной и вазомоторной активности кровеносных сосудов в экспериментальной модели гриппа с сопутствующей сердечно-сосудистой патологией отсутствуют.

Цель исследования: изучить вазомоторную активность кровеносных сосудов брыжейки крыс стока Wistarс острой кардиомиопатией, инфицированных вирусом гриппа.

Материалы и методы: крысы с острой кардиомиопатией были интраназально инфицированы адаптированным вирусом гриппа А(Н1N1)pdm09. Через 24 и 96 ч проводили наркотизацию и некропсию крыс с последующим выделением брыжейки. Исследованию подвергали по 3 сосуда от каждого животного (артерии 3-го порядка). Определение вазомоторной активности кровеносных сосудов брыжейки крыс проводили на миографе DMT 620M (Danish Myo Technology, Дания). Для исследования сократительной функции использовали протокол кумулятивного дозозависимого ответа на вазоконстриктор фенилэфрин (ФЭ). Для исследования эндотелий-зависимого расслабления осуществляли предварительное сокращение сосуда вазоконстриктором на 60% от максимального. Затем производили инкубацию с вазодилататором ацетилхолином (АХ) по аналогичной сократительному ответу схеме. Регистрация данных производилась программой LabChart 8. В качестве контроля использовали 3 группы: 1) здоровые крысы, которым вводили интраназально α -МЕМ; 2) крысы с острой кардиомиопатией, которым вводили интраназально α -МЕМ, после чего проводили некропсию через 24 ч; 3) крысы с острой кардиомиопатией, которым вводили интраназально α -МЕМ, после чего проводили некропсию через 96 ч.

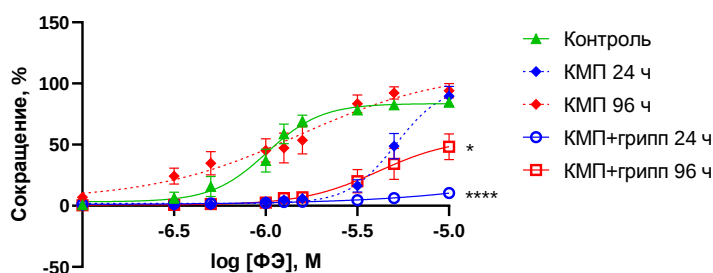
Результаты: вазомоторная активность артерий брыжейки крыс с острой кардиомиопатией к вазоконстриктору (фенилэфрину) и вазодилататору (ацетилхолину) значительно изменялась через 24 и 96 ч после инфицирования вирусом гриппа (рис. 1). Так, интенсивность сокращения артерий брыжейки крыс с острой кардиомиопатией через 24 ч после инфицирования снижалась в 8,62 раза (10,62%) по сравнению с неинфицированными крысами с острой кардиомиопатией – 89,54% ($p < 0,0001$), а также снижалась в 8,15 раз по сравнению со здоровыми крысами – 84,66% ($p < 0,0001$). Через 96 ч после инфицирования

интенсивность сокращения артерий брыжейки крыс с острой кардиомиопатией снижалась почти в 2 раза и составляла 48,20% по сравнению с неинфицированными крысами с острой кардиомиопатией – 94,02% ($p < 0,05$) и снижалась в 1,75 раза по сравнению со здоровыми крысами – 84,66% ($p < 0,05$).

В свою очередь, интенсивность расслабления артерий брыжейки крыс с острой кардиомиопатией через 24 ч после инфицирования резко снижалась до отрицательных значений – -50,52% по сравнению неинфицированными крысами с острой кардиомиопатией – 86,02% ($p < 0,05$) и еще сильнее снижалась по сравнению со здоровыми крысами – 100,98% ($p < 0,05$). Через 96 ч после инфицирования интенсивность расслабления артерий брыжейки крыс с острой кардиомиопатией была несколько снижена и составляла 78,03% по сравнению с неинфицированными крысами с острой кардиомиопатией – 86,50% и снижалась в 1,29 раза по сравнению со здоровыми крысами – 100,98% ($p < 0,05$).

Выводы: вирус гриппа A(H1N1)pdm09 значительно усиливает патологический ответ кровеносных сосудов при изучении вазомоторной активности у крыс с острой кардиомиопатией, инфицированных вирусом гриппа A(H1N1)pdm09 на протяжении всего исследуемого периода.

А



В

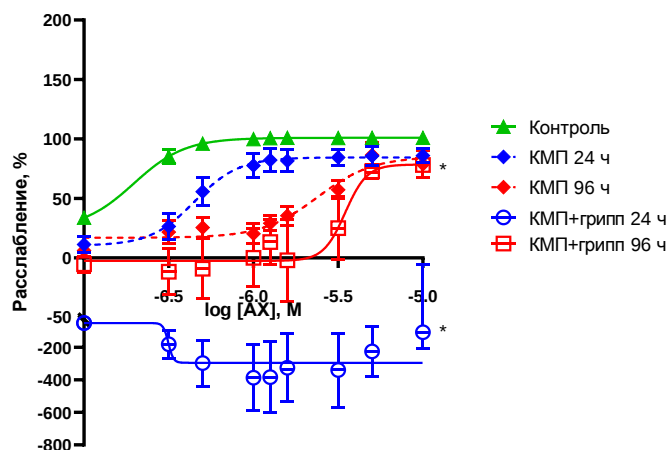


Рисунок 1. Дозозависимые кривые «концентрация-ответ» артерий брыжейки крыс стока Wistar с острой кардиомиопатией, инфицированных адаптированным вирусом гриппа А/Санкт-Петербург/48/16 (H1N1)pdm09, на: А – фенилэфрин, В – ацетилхолин.

Данные представлены как среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего; $n=15$.

Указаны достоверные отличия между группами (критерий Брауна-Форсайта): * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

НОЗОКОМИАЛЬНЫЕ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННЫЕ ACINETOBACTER BAUMANNII, STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA, У ДЕТЕЙ С СОЧЕТАННОЙ ТРАВМОЙ

Маслова Н.А.^{1,2}, Бакулина Н.В.², Альшаник Л.П.^{1,4}, Афиногенова А.Г.⁴, Хими́на М.В.³,
Прокопович А.В.¹

¹СПб ГБУЗ «Детская городская больница №2 святой Марии Магдалины», Санкт-Петербург

²ФГБОУ «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России

³ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург

⁴ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Актуальность: Известно, что инфекции возникают у 5%-15% госпитализированных пациентов; в отделениях интенсивной терапии - у 9%-37% больных с индексом летальности 12%-80%. Серьезные жизнеугрожающие инфекции вызываются группой резистентных микроорганизмов «ESKAPE». Среди них особое место занимают неферментирующие грамотрицательные бактерии (НГОБ): *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Stenotrophomonas maltophilia*. Это связано с тем, что они относятся к бактериям с плохо контролируемой устойчивостью к антибактериальным препаратам. В настоящее время *Acinetobacter* spp. стал возбудителем №2 нозокомиальных инфекций в реанимационных отделениях РФ, а *Stenotrophomonas maltophilia*, несмотря на то, что является оппортунистическим патогеном, стала вносить ощутимый вклад в развитие нозокомиальных инфекций.

Цель: Продемонстрировать клинические случаи лечения нозокомиальных пневмоний, вызванных НГОБ, у детей с сочетанной травмой в 2021г.

Методы и пациенты: Пациентка Д., 11 лет, поступила в ОАРИТ ДГБ№2 с диагнозом: Автотравма. Сочетанная травма. ЗЧМТ. Ушиб головного мозга тяжелой степени с поражением обоих полушарий и ствола на мезенцефало-бульбарном уровне; кровоизлияния в область базальных ядер; субарахноидальное кровоизлияние, разрыв печени, разрыв селезенки. Догоспитально отмечалась утрата сознания, интубирована, начата ИВЛ. В ОАРИТ ДГБ№2 проводилась стартовая АБТ (Амикацин, Цефтриаксон), интенсивная терапия, ИВЛ. На 10-е сутки от поступления у пациентки появилась фебрильная лихорадка, выросла параклиническая активность (лейкоцитоз, повышение СРБ, фибриногена). Проводились КТ ОГК, ВБС; выявлена нозокомиальная правосторонняя пневмония. В посевах промывных вод бронхов определялся рост полирезистентного *Acinetobacter baumannii* (чувствительного к полимиксину, левофлоксацину), *Stenotrophomonas maltophilia* (чувствительной к левофлоксацину, устойчивой к ко-тримоксазолу). При динамическом контроле посевов промывных вод бронхов определялся рост полирезистентного *Acinetobacter baumannii* с прежней чувствительностью, *Stenotrophomonas maltophilia* (чувствительной к ко-тримоксазолу, промежуточной чувствительностью к левофлоксацину). Проводилась антибактериальная терапия Полимиксином, Левофлоксацином (решением врачебной комиссии, с согласия законного представителя), Ко-тримоксазолом в течение 21 дня. Проводилась ноотропная, метаболическая терапия; для коррекции нарушения

вигильности в посткоматозном состоянии применялся Амантадин (решением врачебной комиссии, с согласия законного представителя). На фоне терапии состояние пациентки со значимой положительной клинико-лабораторной динамикой: пациентка в сознании, прекращена ИВЛ, выздоровление от нозокомиальной пневмонии. В удовлетворительном состоянии пациентка переведена на второй этап нейрореабилитации.

Пациентка С., 2 лет 5 месяцев, поступила в ОАРИТ ДГБ№2 переводом из ГБУ РО ОДКБ с диагнозом: Автотравма. ЗЧМТ. Ушиб головного мозга тяжелой степени. Массивное травматическое субарахноидальное кровоизлияние. Контузионные очаги ушиба II типа в левой лобной доле и подкорковых ядрах слева. Линейный перелом левой теменной кости. Ушиб легких, сердца. В ОДКБ проводилась интенсивная терапия, ИВЛ, вазопрессорная, АБТ (Фосфомицин, Линезолид, Ципрофлоксацин). В связи с рисками роста нозокомиальной микрофлоры в ОАРИТ ДГБ№2 проводилась АБТ Амикацином, Ципрофлоксацином (решением врачебной комиссии, с согласия законного представителя), Ко-тримоксазолом. Пациентка лихорадила фебрильно. Лабораторно: лейкоцитоз, повышение СРБ, прокальцитонина. Выявлена нозокомиальная двусторонняя пневмония. В посеве отделяемого из трахеобронхиального дерева определялся рост полирезистентного *Acinetobacter baumannii* (промежуточная чувствительность к амикацину, чувствительный к полимиксину), полирезистентного *Achromobacter xylosoxidans* (чувствительного к ципрофлоксацину), *Stenotrophomonas maltophilia* (чувствительной к ко-тримоксазолу). Проведена деэскалация АБТ - отменен Амикацин, назначен Полимиксин, продолжены Ципрофлоксацин, Ко-тримоксазол. На фоне данной терапии в течение 21 дня – выздоровление от нозокомиальной пневмонии. В удовлетворительном состоянии пациентка переведена на второй этап нейрореабилитации.

Вывод: Лечение нозокомиальных инфекций, вызванных мультирезистентной грамотрицательной микрофлорой, является длительным, трудоемким, высокочувствительным процессом; требует длительной жизнеспасающей антибактериальной терапии препаратами резерва, в том числе фторхинолонами (в РФ назначение их в педиатрической практике Off-label, требует решения врачебной комиссии, согласия законного представителя).

ИММУНОГЕННОСТЬ РЕКОМБИНАНТНОГО RBD SARS-COV-2 НА РАЗНЫХ ЖИВОТНЫХ МОДЕЛЯХ

Меркульева Ю.А.^{1}, Боргоякова М.Б.¹, Исаева А.А.¹, Несмеянова В.С.¹, Волкова Н.В.¹,
Арипов В.С.¹, Волосникова Е.А.¹, Шаньшин Д.В.¹, Беленькая С.В.¹, Колосова Е.А.²,
Зайковская А.В.¹, Пьянков О.В.¹, Щербаков Д.Н.¹*

¹ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Центр геномных исследований мирового уровня по обеспечению биологической безопасности и технологической независимости в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий, р.п. Кольцово, Новосибирская область

²ФГБОУ ВПО «Алтайский государственный университет», Российско-американский противораковый центр, Барнаул, Россия

Рецептор связывающий домен (RBD) S-белка SARS-CoV-2 играет ключевую роль в связывании клеточного рецептора ACE2, и последующем проникновении вируса в клетки-мишени. Учитывая, что большинство нейтрализующих антител, вырабатываемых при естественном заражении, нацелены на RBD, привлекательно выглядит его использование как компонента субъединичных вакцин. Опубликовано множество исследований с использованием различных моделей животных для прогнозирования иммуногенности вакцин на основе RBD. Однако, на сегодняшний день не существует оптимальной модели, поскольку из-за различий в иммунных системах прогностическая ценность этих моделей часто отличается. Эта задача, вероятно, может быть решена с помощью сравнительных исследований различных животных моделей.

Целью данной работы была сравнительная оценка иммуногенности RBD S-белка SARS-CoV-2 в экспериментах на моделях мышей, хомяков, хорьков, кроликов и кур.

Белок RBD (308V–542N) получали с помощью клеток CHO-K1 и очищали методом аффинной и ионообменной хроматографии.

Мышей линии BALB/c (n=8), Сирийских хомячков (n=10), кроликов породы Шиншилла (n=6) и хорьков (n=6) иммунизировали внутримышечно 50 мкг RBD в фосфатно-солевом буфере (ФСБ) в комбинации с гидроокисью алюминия с интервалом в две недели. Контрольные группы получали инъекцию ФСБ. Через 2 недели после бустерной иммунизации получали сыворотки крови животных и исследовали титры специфических антител в ИФА с использованием RBD, тримеров S-белка и лизата коронавируса Victoria/1/2020 SARS-CoV-2 в качестве иммуносорбента. В группе хомяков наблюдали широкий диапазон титров RBD-специфических IgG (405–32 805), а при использовании вирусного лизата титры были самыми низкими относительно других групп. Средний геометрический титр (geometric mean titer, GMT) RBD-специфических IgG у хорьков был равен 0.97×10^4 . Напротив, мыши, кролики и хорьки имели сравнительный высокий GMT (2.9×10^6 , 0.4×10^6 и 0.1×10^6 соответственно).

Титры нейтрализующих антител в сыворотках крови определяли в реакции ингибирования цитопатического действия коронавируса Victoria/1/2020 SARS-CoV-2 на

культуре клеток Vero *in vitro*. Результаты теста Краскела-Уоллиса не выявили достоверных различий между титрами нейтрализующих антител у мышей (GMT = 640 (160–2560)), кроликов (GMT=1016 (320–2560)) и хорьков (GMT = 640 (160–1280)). Притом, только у 3 из 10 хомяков сыворотки крови обладали вируснейтрализующей активностью (титр>1:10).

Затем в отдельном эксперименте мы исследовали влияние дозы RBD на гуморальный иммунный ответ у хомяков. Животные (n=4) получали 10, 50 или 250 мкг RBD с гидроокисью алюминия двукратно с интервалом в 2 недели. Доза 250 мкг RBD приводила к усилению гуморального иммунного ответа у хомяков, а у животных, иммунизированных дозой 10 мкг белка, RBD-специфические IgG не были обнаружены. Наши результаты согласуются с данными, опубликованного препринта статьи Y. Wu с соавторами.

Мы также исследовали гуморальный иммунный ответ на RBD у кур. Кур породы белый Леггорн (n=2) иммунизировали 50 мкг RBD с гидроокисью алюминия. Затем каждые 3 недели куры получали 6 бустерных инъекций иммуногена. Для оценки гуморального иммунного ответа исследовали IgY антитела, выделенные из желтка куриных яиц. Однако, специфический ответ у кур развивался слабо, достигая максимума на 26 неделе после первой инъекции.

Несмотря на то, что ВОЗ определяет хорьков, хомяков и приматов как наиболее подходящие модели для исследования вакцин против COVID-19, полученные данные дают основания полагать, что хомяки являются менее подходящей моделью для исследования иммуногенности вакцин на основе RBD, что важно учитывать при выборе животной модели для изучения подобных вакцин.

Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2019-1665).

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ПОСТИНФЕКЦИОННЫХ МИОКАРДИТОВ У ДЕТЕЙ В ПЕРИОД ПАНДЕМИИ COVID-19

Миржалолов М.М.

ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань

Введение. Миокардиты представляют из себя гетерогенную группу воспалительных заболеваний, поражающих сердце. Миокардиты имеют различную этиологию, начиная от инфекционных, заканчивая миокардитами, вызванными иммунными нарушениями. За последние три года были неоднократно представлены данные об увеличении случаев возникновения миокардитов в группах детей, перенесших коронавирусную инфекцию SARS-CoV-2.

Цель исследования. Выявить диагностические критерии постковидных миокардитов у детей.

Материалы и методы. Мы использовали данные пациентов с диагностированными миокардитами на базе ДРКБ г. Казани за 2021 и 2022 г. Всего за 2021 - 2022 г. Выявлено 7 детей с миокардитами, из них 4 девочки, 3 мальчика. Средний возраст детей составил 12.28 ± 6.31 лет. Подтверждённая коронавирусная инфекция была выявлена у 7 (100%) детей, при помощи ПЦР у 3 (42.8%), при помощи тестов на иммуноглобулины IgM у 1 (28.5%), тестов на иммуноглобулины IgG у 3 (42.8%). У 2 была диагностирована постинфекционная кардиомиопатия, у 5 острый миокардит.

Результаты. При поступлении у 3 были симптомы ОРВИ, повышение температуры было у 2 (28.5%) детей, боль в грудной клетке у 2 (28.5%), артериальной гипертензия у 1 (28.5%), артериальная гипотензия у 1 (28.5%), одышка у 4 детей. Изменения лабораторных показателей были выявлены у 5 детей. Из них у 3 (42.8%) были повышены маркеры воспаления (СРБ, лейкоцитоз), у 2 (28.5%) были увеличены показатели NT-proBNP (2356 пг/мл, 26392 пг/мл). Нарушения коагуляции были выявлены у 2 (28.5%) детей, у одного пациента была гиперкоагуляция, у другого гипокоагуляция на фоне получения антикоагулянтной терапии в связи с тяжелым течением вирусной пневмонии. сTn-I был повышен у 2 (28.5%) детей.

На ЭКГ патологические изменения были выявлены у 5 детей, изменения варьировали от случая к случаю. Наблюдались нарушения реполяризации у 5 детей (элевация или депрессия сегмента ST, изменения зубца T), тахикардия у 2 детей, брадикардия у 1 ребенка, нарушения проведения у 4 детей (НБПНПГ, АВ-блокада 1 степени, нарушения внутрижелудочкового проведения, впервые выявленная блокада левой ножки пучка Гиса). На Эхо КГ изменения были выявлены у 3 (42.8%) детей: у троих было снижение сократительной функции миокарда левого желудочка ниже 30%, у одного обоих желудочков, у двоих пациентов была выявлена дилатация камер сердца. У 2 детей была выявлена недостаточность атриовентрикулярных клапанов различной степени.

МРТ сердца с контрастным усилением была проведена 4 детям. У 2 были выявлены нарушения сократительной функции миокарда, расширение камер сердца, из них у 1 обоих желудочков, у 1 только левого желудочка. У 4 было выявлено позднее накопление контраста в тканях миокарда. У 2 пациентов были выявлены очаги отёка миокарда.

1 ребенку потребовалось применение ЭКМО СЛР (ECPR) в связи с выраженной острой сердечной недостаточностью и последующей асистолией. Двое детей были переведены в НМИЦ трансплантологии им. Академика В.И. Шумакова, из которых 1 ребенку потребовалась имплантация левожелудочкового вспомогательного устройства, 1 ребенку потребовалась имплантация левожелудочкового обхода.

Выводы. Из общих характеристик пациентов можно отметить преобладание детей школьной возрастной группы, наличие характерных изменений на МРТ сердца. Изменения на Эхо КГ были выявлены менее чем у половины детей, помимо этого найденные изменения не являются специфичными для миокардитов. Оценка уровня NT-proBNP хоть и является информативным методом, но применим в первую очередь при наличии сердечной недостаточности. В целом, общие закономерности и диагностические критерии миокардитов у детей, перенесших коронавирусную инфекцию, остаются неясными.

СИНДРОМ ГЕПАТИТА В КЛИНИКЕ ГЕРПЕТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ

Михайлова К.В.¹, Хусаинова А.К.², Якупова Ф.М.^{1,2}

¹*Институт фундаментальной медицины и биологии, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань*

²*ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань*

Цель работы: определение клинико-лабораторных показателей синдрома гепатита у пациентов с острой герпетической инфекцией (ГИ), вызванной цитомегаловирусом (ЦМВ), вирусами Эпштейна-Барр (ВЭБ), герпеса 6 типа (ВГЧ-6) или их сочетанием.

Методы: проведен анализ историй болезни 161 пациента, госпитализированных в РКИБ им. А.Ф. Агафонова в период с 19.01-21.06.2021 года с диагнозами острая ГИ, верифицированная выявлением в крови ДНК ВЭБ, ЦМВ, ВГЧ-6 методом ПЦР. Пациентов разделили на 2 группы: 1 группу (n=115) составили больные с острой ГИ, инфекционным мононуклеозом (ИМН), вторую - пациенты с ГИ, ИМН и клинико-лабораторными синдромами гепатита (n=46). Обработка данных проводилась в программе Microsoft Excel 2019, данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25-й и 75-й процентиля) вида Me ($X_{0,25}$; $X_{0,75}$).

Результаты: В 1 группе медиана возраста составила 3 года (1 год 3 месяца; 5 лет 9 месяцев), мальчики – 65,2% (75 человек), во 2 группе средний возраст 7 лет (2;14) с преобладанием девочек -55,3%. Синдром интоксикации отмечали у 93,9% первой и у 85% больных второй группы, с преобладанием в 1 группе пиретической и фебрильной лихорадки (62,6% и 33% соответственно), во второй группе преобладала субфебрильная (40%) и фебрильная (36%). Лимфаденопатию выявили у 80,9% больных первой и у 76,1% второй группы, аденоидит (затруднение носового дыхания, храпящее дыхание) у 72,2% и 45% соответственно. Проявления тонзиллита в 1 группе: боль в горле у 70,4% и наложения на миндалины у 72,2%, во второй - у 79% и 82,6% пациентов соответственно. Редко отмечалась пятнисто-папулезная сыпь (в 1 группе 13,9%, во 2-й – 21%). В клинико-лабораторные синдромы гепатита традиционно включили желтуху, увеличение размеров печени, синдромы цитолиза (уровень АЛТ более 2х верхних границ нормы, ВГН=20 Ед/л) и холестаза. Желтуху выявили у одного пациента 2 группы, уровень общего/прямого билирубина 75/42 мкмоль/л. Увеличение печени (перкуторно и по данным УЗИ) зарегистрировали у 32,2% пациентов 1 группы и у 47,8% 2 группы. В 1 группе повышения уровня АЛТ не отмечали, медиана значения АЛТ=14,7 (11,4;19,3). Во второй группе у всех пациентов определяли синдром цитолиза: медиана АЛТ=82,5 (58; 127) Ед/л у пациентов без увеличения печени (n=25) и 87,6 (59,8; 298,3) Ед/л с увеличением размеров печени (n=21) (p=0,2). В общей группе пациентов значимое влияние на уровень АЛТ оказала этиология ГИ, при ВЭБ-инфекции (n=70) медиана АЛТ=31 (13,4; 89,8); ЦМВ (n=6) - 52 (19,4;71); ВГЧ-6 (n=48) - 15,1 (11,7; 22,3); ВЭБ+ЦМВ (n=13) 27,1 (14;47); ВЭБ+ВГЧ-6 (n=21) 15,5 (12,5;24,5) p=0,04. В группе пациентов с гепатитом цитолиз не зависел от этиологии ГИ: при ВЭБ

(n=29) АЛТ=105 (69; 233) ; ЦМВ (n=3) - 71 (61,5;73); ВГЧ-6 (n=3) - 75 (64,5;197,5); ВЭБ+ЦМВ (n=6) - 51,6 (41,75; 75,925); ВЭБ+ВГЧ-6 (n=4) - 139,2 (89,6; 284,6) p=0,47. Значимого влияния возраста на уровень АЛТ не отмечено.

Выводы: при острых ГИ у 28,6% пациентов выявлен синдром гепатита, основным проявлением которого был цитолиз. Возраст, наличие/отсутствие увеличения печени не влиял на уровень АЛТ. В общей группе уровень АЛТ значимо зависел от этиологии ГИ, был выше при ЦМВИ, во 2 группе при инфекции ВЭБ+ВГЧ-6.

АНАЛИЗ ПРОФИЛЯ МУТАЦИЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ВИЧ-1 У ПАЦИЕНТОВ С ОПЫТОМ АРТ

Монахов Н.Э.^{1,2}, Сизова Н.В.¹, Майорова С.О.¹, Лиознов Д.А.²

¹ СПб ГБУЗ «Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», Санкт-Петербург

² ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург

Цель: анализ приобретенной лекарственной устойчивости вируса иммунодефицита человека 1-го типа у пациентов, получающих антиретровирусную терапию.

Методы. Проведено ретроспективное обсервационное исследование клинико-лабораторных данных 256 больных ВИЧ-инфекцией, у которых выявлена лекарственная устойчивость возбудителя (ЛУ) к АРТ 1 линии, наблюдавшихся в СПб ГБУЗ "Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями" в 2018 г.

Всем пациентам выполнен генотипический анализ ВИЧ. Проведен у всех пациентов по причине вирусологического неуспеха АРТ. Распределение генетических вариантов ВИЧ, а также оценка мутаций ЛУ к отдельным АРП осуществлялись с помощью базы данных Стэнфордского университета HIVDB Algorithm Version 8.9-1.

Результаты. Мужчины составили 66,7% пациентов, средний возраст больных 38,5±8,1 лет (от 19 до 79 лет) (). У 50% обследованных установлен инъекционный (ПИН) путь инфицирования ВИЧ в, половой - в 48% случаев, вертикальной передача – 2%.

У всех больных диагностирована стадия вторичных заболеваний – 4В (46,5%), 4А (32%), 4Б (21,5%).

У 111 пациентов (44%) ЛУ выявлена уже на стартовом режиме АРТ, из них у 62% (69 чел.) длительность приема препаратов была менее 12 месяцев.

Показатель вирусной нагрузки ВИЧ на момент проведения генотипирования ВИЧ составил от 214 до 11735210 коп/мл (медиана – 17308,5), уровень CD4-лимфоцитов колебался от 4 до 1427 кл/мкл (медиана – 245,5).

Схема первой линии АРТ включала два нуклеозидных ингибитора обратной транскриптазы (НИОТ) в сочетании с одним ненуклеозидным ингибитором обратной транскриптазы (ННИОТ) или одним ингибитором протеазы (ИП). Реже применялись схемы с ингибиторами интегразы (ИИ) или нестандартные режимы (НР).

Мутации лекарственной устойчивости регистрировали чаще на режимах АРТ с низким генетическим барьером – 2НИОТ+ННИОТ 1-го поколения (68%). На втором месте были сочетания 2НИОТ+ИП (26,2%), значительно реже на других режимах терапии - 2НИОТ+ННИОТ 2-го поколения (2,7%), 2НИОТ+ИИ (2,3%) НР (0,78%).

На основании филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей ВИЧ установлено, что преобладал субтип А – 92,2%, в меньшей степени определялись субтипы В – 5,5% и G – 0,4%. Среди образцов встретились и циркулирующие рекомбинантные формы ВИЧ (2%), по 2 случая CRF06_cpx, A+CRF02_AG и 1 случай CRF02_AG.

По результатам генотипирования области гена *pol*, кодирующей обратную транскриптазу и протеазу, резистентность определялась одновременно к НИОТ и ННИОТ в 84,5% случаев, ЛУ нескольких препаратов из трех групп АРТ в 5,2% случаев.

У большинства пациентов (96%) регистрировали мутации ЛУ в гене фермента обратной транскриптазы (НИОТ) – M184V/I (80,8%), K65R (31,2%), A62V (20,3%) и L74V/I (11,7%). Распространенная мутация M184V/I, снижает восприимчивость к 3ТС/ФТС более чем в 100 раз, а комбинация L74V + M184V – является наиболее распространенной у пациентов, получавших АВС+3ТС. Мутация A62V широко распространена среди вирусов подтипа А, и обычно формируется в сочетании с мутацией K65R, которая в свою очередь повышает чувствительность к АЗТ и снижает эффективность других представителей класса НИОТ.

Доля пациентов, имеющих мутации ЛУ к ННИОТ, составила – 78,5%. Наиболее часто встречались в этой группе мутации – G190S (44,2%), K101E (32,4%), Y181C (21,5%), K103N (17,2%), E138A (11,8%), связанные с развитием резистентности ко всем ННИОТ.

К ингибиторам протеазы мутации формировались значительно реже, устойчивость к отдельным представителям группы составила всего – 10,2%. Причем из 26 пациентов с мутацией в гене к ИП только у 23 человек (8,9%) развилась ЛУ, хотя бы к одному из препаратов данной группы. Это объясняется наличием у части вирусов только одной добавочной мутации L89T, неспособной самостоятельно привести к резистентности. Определены основные мутации к классу ИП – M46I (3,5%), L33F (2,4%) и добавочная L89T (2,3%), ответственные за развитие ЛУ ко всем ИП в сочетании с другими заменами нуклеотидной последовательности.

Выводы. Своевременное проведение молекулярно-генетического анализа позволяет клиницистам наиболее точно выбрать режим противовирусной терапии, исходя из оценки мутаций к отдельным антиретровирусным препаратам, достичь полного подавления размножения ВИЧ, а также снизить риски развития новых мутаций у пациентов с вирусологической неэффективностью.

АНАЛИЗ ЦИРКУЛЯЦИИ СЕЗОННЫХ КОРОНАВИРУСОВ ЧЕЛОВЕКА В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ В ЭПИДЕМИЧЕСКИЕ СЕЗОНЫ 2017-2021 ГГ.

Мусаева Т.Д.¹, Писарева М. М.¹, Едер В.А.¹, Ксенафонтов А.Д.¹, Тимофеева М.М.¹, Некрасов П.А.¹, Фадеев А.В.¹, Комиссарова К.С.¹, Комиссаров А.Б.¹, Киселева И.В.²

¹ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург

²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

Коронавирусы человека (HCoV) вызывают инфекции верхних и нижних дыхательных путей. HCoV распространены по всему миру, и преобладающие виды могут варьироваться в зависимости от региона или года. Среди эпидемических коронавирусов человека в настоящее время выделяют 4 вида: HCoV-OC43, HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-NKU1. HCoV-229E (род *Alphacoronavirus*, подрод *Duvinacovirus*) и HCoV-OC43 (род *Betacoronavirus*, подрод *Embecovirus*) известны с середины 1960-х гг. HCoV-NL63 (род *Alphacoronavirus*, подрод *Setracovirus*) и HCoV-NKU1 (род *Betacoronavirus*, подрод *Embecovirus*) были открыты в 2004 и 2005 гг. соответственно.

Геном коронавирусов представлен однонитевой линейной молекулой РНК положительной полярности размером 27–32 тыс. нуклеотидов и является самым протяжённым среди всех РНК-содержащих вирусов. В результате рекомбинации РНК коронавирусов разных видов могут появляться новые варианты, приобретающие нехарактерный тканевый тропизм, более высокую вирулентность и способность преодолевать межвидовой барьер.

Целью данной работы являлось ретроспективное исследование распространённости эпидемических коронавирусов человека в Санкт-Петербурге, циркулировавших в эпидемические сезоны с 2017-2021 гг.

Для скрининга использовали мазки из носо- и ротоглотки 20178 пациентов с симптомами ОРВИ, собранные с октября 2017 г. по октябрь 2021 г. в Санкт-Петербурге. Возраст больных варьировал от 10 дней до 99 лет, 70,14% обследованных составили взрослые, 29,86% - дети.

РНК HCoVs обнаруживали с помощью наборов реагентов «АмплиСенс ОРВИ-скрин-FL» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзор) в соответствии с инструкцией производителя на приборах для ПЦР с детекцией в режиме реального времени. Видовую принадлежность определяли с помощью праймеров и зондов, полученных из CDC (США, Атланта).

Проведённое ретроспективное исследование позволило оценить распространённость и выявить особенности циркуляции HCoVs в Санкт-Петербурге за последние 5 лет (с 2017 по 2021 гг.). Циркуляция сезонных коронавирусов характеризовалась сменой доминант в зависимости от сезона. В результате исследования были получены следующие данные: в эпидемический сезон 2017-2018 гг. среди сезонных коронавирусов доминировал вид NL63 (68,89%), реже – NKU1 (17,78%) и OC43 (11,11%), HCoV-229E не обнаружен. В эпидемический сезон 2018-2019 гг. с большей частотой циркулировали 229E (45,76%) и OC43 (42,37%), реже – NL63 (10,17%), NKU1 составил 1,69% от общего числа

положительных проб. В 2019-2020 гг., так же, как и в 2017-2018 гг., с большей долей преобладал NL63 (71,25%), HKU1 составил 18,75% от общего числа положительных образцов. Реже регистрировались 229E (7,50%) и OC43 (2,50%). В пандемический сезон 2020-2021 гг. преобладал OC43 (53,66%), 229E (44,51%), реже регистрировался NL63 (1,22%), HKU1 не детектировался.

В возрастной структуре заболевших, коронавирусы чаще регистрировали у детей до года жизни, реже – у взрослых.

Циркуляция сезонных коронавирусов наблюдалась с ноября по май, с декабря по апрель и с сентября по май в зависимости от сезона. Отмечена выраженная зимне- весенняя сезонность.

Таким образом, в 2017-2018 гг., 2019-2020 гг. доминировал представитель рода *Alphacoronavirus* – HCoV-NL63, в 2018-2019 гг. – практически в равной степени циркулировали представители двух видов разных родов - HCoV-OC43 и HCoV-229E, но преобладал *Alphacoronavirus* HCoV-229E. В пандемический сезон по SARS-CoV-2 доминировал представитель рода *Betacoronavirus* HCoV-OC43. Факторы, связанные с ежегодными различиями в активности видов HCoV, в настоящее время неизвестны.

АЛЬФАКОРОНАВИРУС СВИНЕЙ ИНДУЦИРУЕТ ЭКСПРЕССИЮ IFN- γ В МАКРОФАГАХ ОТ COVID-19 ПАЦИЕНТОВ

Нефедьева М.В., Титов И.А., Серeda А.Д., Малоголовкин А.С.

*ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии»,
пос. Вольгинский, Владимирская обл.*

Пандемия SARS-CoV-2 стимулировала активные исследования в биологии и патогенезе коронавирусных инфекций животных, как потенциальных вирусных инфекциях с непредсказуемым зоонозным потенциалом. В настоящее время известно большое количество представителей семейства *Coronaviridae*, патогенных для сельскохозяйственных животных и наносящих существенный ущерб сельскому хозяйству. Наиболее известными из них являются близкородственные вирусы трансмиссивного гастроэнтерита (ТГС) и эпизоотической диареи свиней (ЭДС). Инфекции близкородственными вирусами могут приводить к развитию антитело-зависимого усиления инфекции (ADE) и феномену антигенного импринтинга (феномен Ходкинса), что значительно осложняет течение болезни и приводит к иммунно-опосредованной патологии. Роль ADE и антигенного импринтинга в модуляции патогенности COVID-19 остается не известной.

В рамках проекта изучена возможность моделирования феномена антигенного импринтинга с участием коронавирусов животных.

В работе были использованы образцы сыворотки крови и макрофаги от 21 пациента, перенесших COVID-19 в 2020 – 2021 гг. (SARS-CoV-2 (D614G), линия B1). Информация о возрасте, поле, группе крови, титре IgG и IgM антител к SARS-CoV-2, времени инфицирования была собрана от пациентов с их согласия. Макрофаги от пациентов с наивысшими титрами IgG антител ($>1:800$) к SARS-CoV-2 были использованы для постановки ТиграТест® SARS-CoV-2 (Россия) Enzyme-Linked SPOT analysis). Дополнительно было проведено типирование генов гистосовместимости (МНС II) в образцах макрофагов с использованием ПЦР (DRB1, DQA1, DQB1) (ДНК-Технология, Россия).

ТиграТест® SARS-CoV-2 основан на высвобождении интерферона Т-лимфоцитами при взаимодействии с пулом пептидов SARS-CoV-2 (S и N белки вируса). Среди исследованных образцов в 45.5% случаев отмечали положительный Т-клеточный ответ после стимуляции макрофагов пептидами S белка SARS-CoV-2 и в 22.7% в ответ на пул пептидов N белка SARS-CoV-2. Интересно, что заражение макрофагов человека вирусом ТГС вызывало экспрессию интерферона-гамма в 31.8 % случаев.

Полученные данные свидетельствуют о распознавании макрофагами от переболевших COVID-19 близких антигенных детерминант родственных коронавирусов и индукции иммунного ответа.

Работа выполнена при поддержке РФФИ проект №20-04-60028/21.

ХАРАКТЕРИСТИКА РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ НА ОСНОВЕ САМОСОБИРАЮЩЕГОСЯ ПЕПТИДА И АНТИГЕНОВ ВИРУСА ГРИППА А

Ожерельева О.О., Шуклина М.А., Степанова Л.А.

ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург

Актуальность: Универсальная вакцина против гриппа должна формировать широкий перекрестный иммунитет. Одна из платформ для создания универсальной вакцины - рекомбинантные белки, включающие консервативные антигены вируса гриппа А, в том числе внешний домен М2 белка, вторая субъединица HA2-2, NP, NA. Для повышения иммуногенности консервативных эпитопов может быть использован пептид SAP (self-assembling peptide), способствующий самосборке белка *in vitro* в сферические частицы размером 30-50 нм.

Цель исследования: сравнить физико-химические и иммунологические свойства химерных рекомбинантных белков на основе SAP, несущих 4 копии эктодомена белка М2 и 2 копии фрагмента гемаггютина (ак 76-130) с включением дополнительного эпитопа белка NP вируса гриппа А (консенсус ак 255-275).

Материалы и методы: Рекомбинантные белки были получены в Федеральном исследовательском центре «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук (руководитель работ д.б.н. Н.В. Равин).

Гидродинамический диаметр частиц определяли при помощи метода динамического светорассеяния. Исследование иммуногенности проводилось на самках мышей линии Balb/c. Мышей иммунизировали трехкратно интраназально в дозе 20 мкг/мышь (объем вводимого препарата 20 мкл) с промежутком в 2 недели. Для проведения эксперимента были взяты 3 группы по 5 мышей: группа NP+: *his-19S_NP255_SAP_Sp_2*((GS)_HA2)_4M2eh*; группа NP-: *19S_SAP_Sp_(GS)_HA2_(GS)_HA2_4M2eh*; плацебо – *физиологический раствор*. Для определения уровня специфических антител и Т-клеточного ответа через две недели после третьей иммунизации у мышей проводили забор крови и легких. Титры IgG определяли к пептиду М2е и вирусу гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2) в иммуноферментном анализе (ИФА). Методом проточной цитофлюорометрии в клетках легких мышей определяли антиген-специфические (М2е, NP ак 255-275, A/Aichi/2/68) эффекторные CD4+, CD8+ Т-клетки памяти продуцирующие цитокины IFN γ , IL-2, TNF α .

Результаты. Гидродинамический диаметр частиц белка на основе Sap без NP составил ≈ 40 нм, а на основе Sap с включением NP ≈ 60 нм.

Иммунизация животных исследуемыми белками индуцировала формирование анти-М2е и анти-H3N2 IgG в сыворотках. Однако уровень анти-М2е IgG в группе NP- был достоверно выше, чем в группе NP+ ($p < 0,01$) (Рис. 1).

Исследование Т-клеточного ответа в легких показало формирование М2е-специфических CD4+ эффекторных клеток памяти, экспрессирующих TNF α в группе NP+, в группе NP- наблюдались двойные продуценты TNF α +IL-2. К вирусу и NP-пептиду ответа выявлено не было.

Заключение. Оба исследуемых рекомбинантных белка формируют наночастицы. Однако включение дополнительного эпитопа NP белка снижало антительный ответ к M2e. Это может быть связано с изменением пространственной конфигурации частиц. По предварительным данным введение дополнительного эпитопа не усилило формирование Т-клеточного ответа у мышей линии Balb/c. Белки на основе Sap являются новыми перспективными носителями для слабоиммуногенных антигенов и требуют дальнейших исследований.

Работы были частично выполнены в рамках гранта РФФИ № 21-34-70038.

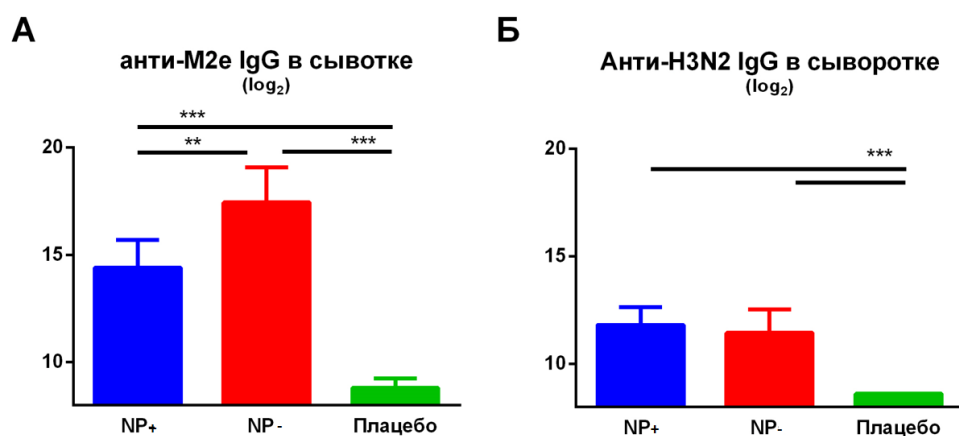


Рисунок 1. Уровень выработки антител в сыворотках крови лабораторных животных после третьей иммунизации: А) анти-M2e- IgG ; Б) анти-H3N2 IgG. ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$

АНАЛИЗ РЕЦЕПТОРНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ ШТАММОВ ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ СОЦИАЛИСТИЧЕСКОЙ РЕСПУБЛИКИ ВЬЕТНАМ В 2020-21 ГГ.

***Онхонова Г.С.¹, Косенко М.Н.¹, Молчанова М.Л.¹, Васильцова Н.Н.¹, Марченко В.Ю.¹,
Tran Thi Nhai², Trinh Khac Sau², Кузнецов А.Н.², Dang Hong Trien², Рыжиков А.Б.¹***

¹*ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область*

²*Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр, Вьетнам*

Вирус гриппа представляет серьёзную проблему для мирового здравоохранения и экономики. Ежегодно поражая до 15% населения Земли, он приводит к десяткам тысяч смертельных случаев по всему миру. Серьёзную угрозу представляют высокопатогенные штаммы вирусов гриппа птиц, которые уже преодолели видовой барьер и способны передаваться от птиц к человеку. На сегодняшний день зафиксированы лишь спорадические случаи передачи таких штаммов от человека к человеку при тесном контакте, но нельзя исключать появления таких высокопатогенных штаммов с пандемическим потенциалом в будущем. С 2017 года ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора в сотрудничестве с Российско-Вьетнамским Тропическим научно-исследовательским и технологическим центром (Ханой, Вьетнам) и ветеринарными лабораториями Министерства сельского хозяйства и развития сельских районов Вьетнама осуществляет эпиднадзор за птичьим гриппом во Вьетнаме.

Для оценки рецепторной специфичности были отобраны десять штаммов A/H5N6 и один штамм A/H9N2, выделенных из образцов домашней и дикой птицы из восьми провинций Вьетнама. Измерения проводились с помощью метода биослойной интерферометрии. В результате исследования было показано, что все штаммы вируса гриппа A/H5N6 имеют доминирующую специфичность к «птичьему» типу рецепторов $\alpha 2$ -3. При этом несколько штаммов демонстрируют связывание с «человеческим» типом рецепторов $\alpha 2$ -6, а также регистрируется наличие антител в сыворотках людей, проживающих на территории провинций. Штамм вируса гриппа A/H9N2 показал значительное связывание с аналогом «человеческого» рецептора, что также согласуется с результатами исследования сывороток людей. Полученные результаты могут быть использованы при анализе общей картины специфичности вируса гриппа птиц по отношению к рецепторам клеток верхнего дыхательного тракта человека для дальнейшего проведения необходимых противоэпидемических мероприятий.

Работа выполнена в рамках распоряжения Правительства Российской Федерации от 13.07.2019 № 1536-р.

РЕЗУЛЬТАТЫ ФАРМАКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ РЕТРОСПЕКТИВНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ, ГРИППА И ДРУГИХ ОРВИ В ПЕРИОД ПАНДЕМИИ COVID-19

Поромов¹ А.А., Пшеничная Н.Ю.²

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва

²ФБУН «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва

Клиническая картина легких и средне-тяжелых форм COVID-19 схожа с таковой у сезонных ОРВИ, а особенно гриппа. Поэтому актуально проведение эпидемиологических исследований всей группы «респираторных» заболеваний совместно, необходимо изучение факторов, влияющих на риск утяжеления болезни. Также актуальным остается оценка эффективности различных схем терапии по данным реальной клинической практики.

С февраля по ноябрь 2020 г. собрано 2416 историй болезней госпитализированных пациентов с диагнозом – COVID-19, грипп или ОРВИ в клинических центрах 17 регионов РФ. Для дальнейшего анализа из общей выборки были исключены пациенты поступившие в тяжелом состоянии, и пациенты у которых зациен диагноз не был подтвержден лабораторно.

С лабораторно подтвержденным COVID-19 легкой или среднетяжелой степени тяжести в анализ включены 1082 истории болезней, среди которых 524 (48,5%) мужчины и 535 (49,5%) женщин [для 23 (2%) человек пол не указан]. Средний возраст $48,6 \pm 18,1$ лет. Среднетяжелая форма COVID-19 (85% пациентов) по сравнению с легкой (15%) характеризовалась большим возрастом пациентов (медиана – 54 vs 21 года; $p < 0,001$), индексом массы тела (27 vs 23 ; $p < 0,001$), частотой хронических заболеваний в анамнезе ($75,3\%$ vs $8,5\%$; $p < 0,001$), в основном заболевания системы кровообращения ($37,8\%$). Клиническая картина среднетяжелой формы COVID-19 отличалась более длительной продолжительностью симптомов интоксикации ($10,8 \pm 6,1$ vs $4,2 \pm 2,7$ дня; $p < 0,001$), катаральных симптомов ($10,2 \pm 5,4$ vs $6,1 \pm 4,1$ дня; $p < 0,001$).

Во время лечения в стационаре 92% пациентов получали противовирусную терапию (ПВТ), 77% – антибактериальные препараты, 16% – кортикостероиды (дексаметазон). Терапия умифеновиром (УМФ) приводила к значимому снижению продолжительности интоксикационного ($8,7 \pm 5,5$ vs $11,7 \pm 5,5$ дня; $p < 0,001$) и катарального ($8,8 \pm 5,1$ vs $12,0 \pm 4,9$ дня; $p < 0,001$) синдромов в сравнении с группой без ПВТ. Включение интерферона в схемы ПВТ приводило к ускорению разрешения симптомов.

Анализируемые популяции пациентов с лабораторно подтвержденным гриппом А и В составили 361 человек и 287 для ОРВИ, среди которых большую было больше женщин. Средний возраст госпитализированных пациентов составил $33,19 \pm 15,7$ и $52,15 \pm 15,9$ соответственно. Пациенты госпитализировались в течение двух дней после начала заболевания, с лихорадкой ($>38^{\circ}\text{C}$). Пациенты с гриппом получали в основном УМФ (28%) и осельтамивир (52%), значительно меньшее количество пациентов получали имидазолилэтанамид пентандиовой кислотой (7%). Различий в продолжительности

симптомов интоксикации или катаральных проявлений в группах пациентов, получавших УМФ и осельтамивир не выявлено. Среди пациентов с ОРВИ 84% получали УМФ.

Среди пациентов с легкой и средней тяжестью течения респираторного заболевания выявление факторов риска является более сложной задачей, в связи с отсутствием «жестких» конечных точек таких гибель или развитие осложнений (госпитализация в ОРИТ). Для изучаемой выборки, такие пациенты были крайне редкими, однако факторы, влияющие на более тяжелое течение в этой группе, представляют интерес. Поэтому для анализа рисков (OR) выбраны «суррогатные» конечные точки значимые для пациента. Для COVID-19 это сохранение симптомов интоксикации более 8 дней и положительный ПЦР тест после 14 дня от начала заболевания. Факторами риска для пациентов с длительным сохранением выше указанных признаков стали возраст старше 50 лет ($p < 0.0001$), пол (женский, $p < 0.0002$), ожирение ($p < 0.007$), наличие некоторых хорионических заболеваний, с другой стороны вакцинация от гриппа в анамнезе наоборот являлась фактором ассоциированным с более коротким течением COVID-19 ($p < 0.0001$).

ЗАЩИТНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГРИППОЗНЫХ ВЕКТОРОВ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ УЧАСТКИ F БЕЛКА РСВ, ЗАВИСИТ ОТ ФОРМИРОВАНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОГО TREG ИММУННОГО ОТВЕТА

***Пулькина А.А., Васильев К.А., Сергеева М.В., Романовская-Романько Е.А.,
Стукова М.А., Егоров А.Ю.***

ФГБУ «НИИ гриппа им. А. А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург

Респираторно-синцитиальный вирус (РСВ) является одной из основных причин тяжелых инфекций нижних дыхательных путей у младенцев, пожилых и людей с ослабленным иммунитетом. РСВ-инфекция (РСВИ) является ведущей причиной госпитализации детей младше двух лет, может вызывать тяжелую заболеваемость и смертность среди недоношенных детей, и детей с хроническими заболеваниями. Несмотря на огромную социальную и экономическую значимость, лицензированной вакцины против РСВ до сих пор нет, а единственным зарегистрированным терапевтическим средством для профилактики РСВИ является препарат Синагис (Паливизумаб). Одной из перспективных платформ для разработки вакцины против РСВ является использование гриппозного вектора для доставки антигена РСВ. Использование вируса гриппа в качестве вектора делает возможной интраназальную иммунизацию, которая обеспечивает формирование Т-клеточного иммунного ответа в респираторном тракте.

Нами были сконструированы два гриппозных вектора, экспрессирующих кассету из двух участков белка F РСВ. Первый вектор PR8-NS-F был создан для экспрессии трансгена РСВ в составе укороченного неструктурного белка NS1 и его цитоплазматической аккумуляции. Второй вектор PR8-sF-NS был дополнен сигнальным пептидом IgK, обеспечивающим секрецию трансгена во внеклеточное пространство. Безопасность штаммов была обусловлена укорочением белка NS1, которое нарушало функцию ингибирования системы интерферона. Оба сконструированных вектора были в равной степени аттенуированы для мышей, имели схожий уровень репликации в легких, но обладали различной протективной активностью при контрольном заражении мышей РСВ. Интраназальная иммунизация мышей вектором PR8-sF-NS приводила к снижению репликативной активности РСВ в легких в среднем на 1,4 lg БОЕ/мл, и предотвращала формирование патологических изменений в легких после РСВИ. Вектор PR8-NS-F не влиял на репликацию РСВ и оказывал незначительное влияние на формирование поражений в легочной ткани. Антительный ответ на белок F РСВ у иммунизированных мышей обнаружить не удалось. Оба вектора индуцировали существенный, но сходный специфический CD8⁺ Т-клеточный ответ в легких как на 10 день после иммунизации, так и на 6 день после контрольного заражения. Различия были обнаружены в формировании CD4⁺ Т-клеточного ответа. У мышей, иммунизированных вектором PR8-sF-NS, на 6 день после РСВИ был обнаружен более высокий специфический ответ Treg клеток, которые играют роль в поддержании иммунологического равновесия и подавлении чрезмерной иммунной реакции, которая может приводить к повреждению тканей. Наши результаты показывают,

что формирование специфического Treg иммунного ответа к РСВ антигену может определять протективную эффективность гриппозных вакцинных векторов, экспрессирующих участки F белка РСВ.

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКИ COVID-19 МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ В УСЛОВИЯХ ПАНДЕМИИ

Репин Т.М.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Минздрава России, Пермь

В условиях пандемии, вызванной вирусом SARS-CoV-2, медицинские работники рассматриваются как основная группа риска инфицирования и подлежат приоритетной вакцинации. Массовая иммунизация населения отечественными иммунобиологическими препаратами с учетом риск ориентированного подхода позволила изменить тенденции развития эпидемии. Между тем данные о профилактической эффективности используемых вакцин весьма малочисленны и противоречивы.

Целью настоящего исследования явилась оценка профилактической эффективности отечественных вакцин против Covid-19 при иммунизации медицинских работников.

Материалы и методы. Профилактическая эффективность отечественных вакцин изучена в 2020-2021 гг. в когортном проспективном аналитическом исследовании с участием 853 медицинских работников из различных амбулаторно-поликлинических медицинских организаций. Группу наблюдения составили – 592 привитых медицинских работника, в том числе 459 привитых вакциной «Гам-Ковид-Вак», 16 - вакциной «Ковивак», 50 - вакциной «Эпи-Вак-Корона» и 67 – вакциной «Спутник Лайт», однократно. Группа сравнения представлена – 261 медицинским работником, не привитым от Covid-19. Статистическая обработка результатов проведена с использованием параметрических и непараметрических методов.

Результаты и обсуждение. Анализ заболеваемости COVID-19 медицинских работников города Перми по данным официальной статистики обозначил медицинских работников как одну из основных групп риска: заболеваемость их в период пандемии (2020-2021) годы в 5,9 раз превысила заболеваемость среди взрослого населения в целом. Массовая иммунизация населения, осуществляемая на территории с января 2021 года, выявила существенное снижение заболеваемости, как среди взрослого населения в целом, так и среди медицинских работников: 4864,09 и 15807,4 на 100тыс. соответствующего контингента до иммунизации против 3716,0 и 4537,03 на фоне массовой иммунизации. В условиях проспективного когортного исследования установлено, что заболеваемость медицинских работников, не привитых против Covid-19, в 6 раз превышала заболеваемость привитых: 593,86 и 101,35 на 100 тыс., соответственно ($\chi^2=122,6$; $p=0,0002$). Показатели заболеваемости среди привитых различными вакцинами составили: при «Спутник V»-124,18, при «Ковивак» - 62,5, при «Эпивак-Корона»-80, и при однократном введении «Спутник - Лайт»-164,17 ($p > 0,005$).

Доля пациентов с легким течением заболевания среди привитых медицинских работников составила 81,6% против 59,6% среди непривитых (RR=1,6 [1,32-1,95]; OR= 4,29 [2,07-8,86]; ($\chi^2=46,2$; $p=0,0049$)). Доля лиц со средне-тяжелым течением заболевания среди

привитых и не привитых медицинских работников составила 18,3% и 41,2 %, соответственно (RR=2,3 [1,47-3,45]; OR=3,13 [1,51-6,49]; ($\chi^2=8,8$ $p=0,0032$). Доля лиц с тяжелым клиническим течением составила 7,74% среди не привитых, среди привитых тяжелого клинического течения не зарегистрировано. (Односторонний тест Фишера=0,017; $\chi^2=4,92$).

Доля госпитализированных среди привитых медицинских работников составила 15,0% против 31,6% среди не привитых (RR=2,1 [1,0-4,6]; OR=2,6 [1,2-5,7]; ($\chi^2=67,862$; $p=0,0001$).

Таким образом, вакцинация медицинских работников характеризуется высокой профилактической эффективностью, предупреждая не только развитие тяжелых клинических форм, но и инфицирование вирусом SARS-COV-2 в условиях профессиональной деятельности.

ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ В ГЕНАХ ТОЛЛ-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Саламайкина С.А., Миронов К.О.

ФБУН «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва

Семейство толл-подобных рецепторов (TLR) представляет собой группу трансмембранных рецепторов, которые индуцируют ключевые провоспалительные факторы. TLR являются основными компонентами врожденной иммунной системы. TLR1 распознаёт патоген-связанные молекулярные структуры грамположительных бактерий. Широко распространены публикации о связи TLR2 с туберкулезом. Исследования гена TLR3 показывают ассоциацию его вариантов с ВИЧ-1. TLR4 связан с тяжелым течением внутрибольничных инфекций, что показано на большом количестве популяций. TLR6 играет фундаментальную роль в распознавании патогенов и активации врожденного иммунитета. TLR7 распознает РНК вирусов в эндосомах плазмцитоподобных дендритных клеток и В-клеток.

Однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) могут быть связаны с изменением первичной структуры белков и влиять на их функцию. Определение SNP, ассоциированных с течением инфекций может быть использовано при выявлении предрасположенных лиц и для своевременного назначения диагностических и профилактических мероприятий. Основная часть исследований о связи SNP в генах TLR с инфекционными заболеваниями, как уже было показано ранее, посвящена ассоциациям с туберкулезом и пневмониями.

Цель данного исследования заключается в выборе SNP в генах TLR, являющихся перспективными генетическими маркерами для изучения предрасположенности к инфекционным заболеваниям, и разработке соответствующих методик генотипирования.

В настоящее время в качестве возможных рецепторов, способных распознавать инфекцию SARS-CoV-2, были предложены TLR7, TLR8 и TLR9. Эти гены распознают микробные компоненты, участвующие как в инициации врожденных реакций против инфекции SARS-CoV-2, так и в гиперовоспалительном фенотипе COVID-19.

Для определения аллелей SNP rs5743551 (TLR1), rs5743708 (TLR2), rs4986790 и rs4986791 (TLR4) разработаны методики на основе ПЦР в режиме реального времени и пиросеквенирования. Проведено исследование в выборках больных бактериальными пневмониями и больных новой коронавирусной инфекцией в сопоставлении с контрольной группой. Выявлена ассоциация аллеля rs5743551-G (TLR1) с повышенным риском возникновения сепсиса у больных бактериальной пневмонией. Другим актуальным направлением является поиск ассоциации rs5743708 (TLR2) и rs4986791 (TLR4) с риском развития туберкулеза у больных с ВИЧ-инфекцией. В настоящее время проводятся набор пациентов и совершенствование методик для определения генетических полиморфизмов в генах TLR.

Перспективным направлением разработок является создание методик для определения аллелей SNP rs179008 и rs179009 (TLR7), которые могут определять функциональные особенности иммунного ответа на возбудителей острых респираторных синдромов различной этиологии, в частности MERS и SARS.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ОТВЕТА НА ЧЕТЫРЕХВАЛЕНТНУЮ ЖИВУЮ ОСЛАБЛЕННУЮ РЕКОМБИНАНТНУЮ ГРИППОЗНУЮ ВАКЦИНУ ПРИ ИНТРАНАЗАЛЬНОЙ ИММУНИЗАЦИИ ХОРЬКОВ

***Святченко С.В., Гудымо А.С, Данильченко Н.В., Евсеев В.А., Иматдинов И.Р.,
Иматдинов А.Р., Рыжиков А.Б., Гаврилова Е.В., Максютков Р.А.***

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область

Наиболее широко применяемые в настоящее время гриппозные инактивированные вакцины, производимые на развивающихся куриных эмбрионах, характеризуются ограниченной эффективностью. Для ряда групп населения, в частности, детей, применение живых ослабленных гриппозных вакцин может иметь преимущество. Применение данного вида вакцин позволяет моделировать естественный процесс заражения вирусами гриппа, избегая проявления значимых клинических симптомов заболевания и формируя при этом местный иммунный ответ в слизистой верхних дыхательных путей.

Целью данной работы явилось исследование на животной модели хорьков иммунологической эффективности четырехвалентной живой аттенуированной вакцины для профилактики сезонного гриппа, разработанной в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. В состав экспериментальной вакцины входили 4 рекомбинантных реассортанта, имевшие гемагглютинин и нейраминидазу одного из 4 штаммов, рекомендованных ВОЗ для включения в состав гриппозных вакцин в эпидемическом сезоне 2020-2021 в Северном полушарии (A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019 (H1N1pdm09), A/Hong Kong/2671/2019 (H3N2), B/Washington/02/2019 (B/Victoria) и B/Phuket/3073/2013 (B/Yamagata)). Остальные 6 сегментов для реассортантов подтипов А и В были взяты из холодоадаптированных штаммов A/Leningrad/134/17/57 и B/Russia/69 соответственно.

Для оценки иммунологического ответа на интраназальную вакцинацию исследуемыми живыми препаратами были сформированы 5 экспериментальных групп по четыре хорька в каждой. Сыворотки крови животных предварительно исследовались в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) со стандартными антигенами вакцинных вирусов сезона 2020-2021 (H1N1pdm09, H3N2, B/Victoria и B/Yamagata, производство ООО «ППДП»), чтобы убедиться в отсутствии у животных предсуществующих антител к вирусам гриппа. Четыре экспериментальные группы вакцинировали монопрепаратом, содержащим лишь 1 из 4 описанных выше реассортантов. Пятую группу животных иммунизировали четырехвалентным препаратом, содержащим все 4 реассортанта. Животных наркотизировали, после чего в каждую ноздрю вводили по 6 lg ТЦИД₅₀ моновалентного реассортанта или смеси вирусов в объеме 200 мкл. Через 13 дней после вакцинации проводили забор крови для анализа полученных сывороток крови в РТГА со стандартными антигенами вакцинных штаммов сезона 2020-2021.

Во всех 4 экспериментальных группах, иммунизовавшихся моновалентными препаратами, была выявлена сероконверсия в отношении стандартных вакцинных антигенов сезона 2020-2021 соответствующих подтипов. Максимальный прирост антител в РТГА наблюдался при моновакцинации реассортантом подтипа A(H1N1)pdm09: средний геометрический титр (СГТ) сывороток крови на 13 день после вакцинации в данной группе составил 1:3620. При моновакцинации реассортантами других подтипов и линий (H3N2, B/Victoria и B/Yamagata) также наблюдался прирост антител, превышавший четырехкратный порог: СГТ на 13-ые сутки составили 1:226, 1:190 и 1:190 соответственно.

Серологический ответ в группе, иммунизированной квадριвалентным живым препаратом, был неоднороден в отношении разных подтипов и линий вирусов гриппа в составе вакцины. Наиболее выраженный прирост антител на 13-ый день, как и в случае моновалентных препаратов, наблюдался для подтипа H1N1pdm09 (СГТ 1:1280). Для антигенов вирусов гриппа В СГТ составил 1:56. Сероконверсии в отношении антигена подтипа H3N2 при иммунизации смесью реассортантов в РТГА выявлено не было.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о том, что моновалентная иммунизация хорьков полученными рекомбинантными холодоадаптированными реассортантами позволяет индуцировать продукцию антител, регистрируемых методом РТГА. При иммунизации квадριвалентным препаратом формирование ответа на разные компоненты происходит неоднородно: тогда как ответ на одни компоненты может быть расценен как значимый или достаточный (H1N1pdm09 и грипп В), ответа на компонент H3N2 выявлено не было. Полученный результат может быть обусловлен конкуренцией антигенов при иммунизации поливалентными вакцинами. Одним из путей решения данной проблемы может быть подбор оптимальных соотношений количеств антигенов в составе вакцины, который позволил бы сформировать ответ на каждый из вводимых компонентов.

АНАЛИЗ ВИРУСОВ ГРИППА ПТИЦ, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ВОДОЕМАХ Г. МОСКВЫ В 2008-2019 ГОДАХ

Трещалина А.А.¹, Постникова Ю.Н.²

¹*Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита), Москва*

²*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра вирусологии, Москва*

Основными хозяевами вирусов гриппа типа А являются водоплавающие птицы. В них вирусы гриппа размножаются в нижнем отделе кишечника и распространяются с фекалиями, попадающими в воду. Во время осенних миграций диким водоплавающим птицам принадлежит главная роль в распространении вирусов гриппа птиц по континенту. Также существует риск передачи вирусов синантропным видам птиц. Во время пролета на прудах г. Москвы останавливаются представители вида Кряква (*Anas platyrhynchos*), являющегося наиболее многочисленным видом водоплавающих птиц Евразии и, следовательно, основным переносчиков вируса гриппа птиц.

Из образцов фекалий кряквы, собранных в осенние периоды с 2008-2019 года на водоемах г. Москвы, изолировали вирусы гриппа на куриных эмбрионах. Положительные в реакции гемагглютинации образцы тестировали в реакции гибридизации со специфическими зондами и в реакции ПЦР со специфическими праймерами. Провели полное секвенирование генома 37 изолятов и их последующий анализ.

Определили группы, к которым принадлежат сегменты генома изолятов на филогенетическом дереве вирусов гриппа типа А. Большинство исследуемых вирусов относятся к эволюционным ветвям, циркулирующих в диких утках, но есть несколько исключений. Так ген PA трёх изолятов 2009 года близкородственен соответствующему гену вирусов чаек, а ген NP изолятов 2014, 2018 и 2019 годов относится к эволюционной ветке, включающей большой процент куриных вирусов.

Оценка родственных связей московских изолятов с другими вирусами гриппа по географическому признаку проводилась отдельно для каждого сегмента генома. У большинства генов наиболее близкие родственники обнаружались в западной части Европы и на Скандинавском полуострове, но в то же время есть случаи, когда ближайшие родственники принадлежат азиатскому пулу. При этом не обнаружено ни одного вируса, имеющего близких родственников в Азии по всем восьми сегментам генома. Также выявлены родственные связи вирусов, выделенных на одном пруду, между собой и отмечены случаи реассортации среди исследуемых изолятов.

С целью проверки потенциальной опасности выделенных изолятов, ими заражали мышей породы Balb/c и цыплят разного возраста. Исследуемые вирусы стимулировали выработку специфических антител, не вызывая у зараженных животных симптомов заболевания.

Отмечено снижение разнообразия выделенных вирусов от более ранних к поздним годам. Это касается сероподтипов, количества выделенных вирусов за один сезон, и их разнообразия внутри одного сероподтипа. Так, в 2011 году из 385 собранных образцов выделили 17 вирусов, принадлежащих трем сероподтипам с редким близкородственным совпадением по разным сегментам генома, а в 2019 году из 341 образца выделено только три вируса гриппа двух сероподтипов, два из которых имеют очень высокое сходство по всем сегментам генома.

ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КОРОНАВИРУСА SARS-COV-2, ВЫДЕЛЕННОГО ОТ ПАЦИЕНТА НА ТЕРРИТОРИИ НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ; ОЦЕНКА ПАТОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЗАРАЖЕНИИ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ МОДЕЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

Федотова М.С.^{1,2}, Филиппова А.Ю.^{1,2}, Соболев И.А.²

¹*Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,
Новосибирск*

²*Федеральный Исследовательский Центр Фундаментальной и Трансляционной Медицины,
Новосибирск*

SARS-Cov-2 – вирус, способный вызывать тяжелую острую респираторную инфекцию и являющийся одной из самых актуальных проблем на сегодняшний день. В рамках данного исследования были изучены молекулярно-биологические свойства штамма коронавируса hCoV-19/Russia/Nsk-FRCFTM-1/2020 и оценено течение инфекции с использованием чувствительной модели.

Изучаемый штамм коронавируса был изолирован на культуре клеток Vero в апреле 2020 г., согласно филогенетическому исследованию и анализу посредством системы классификации генетических вариантов SARS-CoV-2 (PANGO) принадлежит к генетической линии B.1.1. По классификации GISAID штамм hCoV-19/Russia/Nsk-FRCFTM-1/2020 относится к кладе GR, входящей в кладу G. Преимущественно, генетические варианты SARS-CoV-2, схожие с hCoV-19/Russia/Nsk-FRCFTM-1/2020, циркулировали по всему миру с марта по май 2020 г. Данный штамм характеризуется наличием в различных белках пяти аминокислотных замен относительно прототипного штамма hCoV-19/Wuhan/WIV04/2019: P323L в белке NSP12, M153T и D614G в Spike-белке, а также R203K и G204R в белке N.

Определение титра вируса в культуральной жидкости проводили методом бляшек под полужидким агаром на культуре клеток Vero E6, стандартно используемой для определения инфекционного титра SARS-CoV-2. Согласно расчетам, титр вируса составил 5x10⁶ БОЕ/мл.

Течение патогенеза изучено на модели сирийских хомяков, экспериментально инфицированных штаммом hCoV-19/Russia/Nsk-FRCFTM-1/2020. Вируссодержащую культуральную жидкость вводили хомякам интраназально. Для светооптического исследования отбирали фрагменты легких на 3, 6, 10, 14 и 21 сутки. На 3 сутки после инфицирования зафиксирован умеренный периваскулярный отёк и выраженная перибронхиальная лейкоцитарная инфильтрация. Пик инфекции наблюдается на 6 сутки; визуализируются множественные геморрагии, сладж эритроцитов, в просвете бронхиального дерева определяется детрит, характерна обширная площадь ателектаза, значительная инфильтрация лейкоцитов, преимущественно лимфоцитарно-моноцитарного генеза, в интерстиций. В динамике, на 10, 14 и 21 сутки после инфицирования, наблюдается постепенное улучшение состояния легочной ткани. Уменьшается объемная плотность ателектазов, местами сохраняется небольшое утолщение стенок альвеол.

Благодарность

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-24-00199,
<https://rscf.ru/project/22-24-00199/>*

Научные руководители – канд. мед. наук Кононова Ю. В.

д-р биол. наук, проф. Шестопалов А. М.

канд. биол. наук, доц. Гуляева М. А.

БИОСЕНСОР НА ОСНОВЕ КНИ-ТРАНЗИСТОРА ДЛЯ ЭКСПЕРСС-ИНДИКАЦИИ ВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ

*Черемискина А.А.¹, Наумова О.В.², Генералов В.М.¹, Меркульева Ю.А.¹,
Буряк Г.А.¹, Сафатов А.С.¹*

¹ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область

²Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова, Новосибирск

Вирусы – частая причина заболеваний живых организмов, способная вызывать эпидемии и пандемии. Снизить их негативное влияние на жизнедеятельность людей помогает своевременная и точная диагностика. Однако, ситуация, связанная с коронавирусной инфекцией, показала необходимость создания простых экспресс-методов детекции вирусов.

Перспективным направлением в этой области является использование биосенсоров на основе КНИ-транзисторов. Их основные достоинства заключаются в высокой селективности, чувствительности и проведении индикации в режиме реального времени.

Структура биосенсора включает в себя кремниевую подложку, два электрода – исток и сток, и кремниевую нанопроволоку между контактными областями. На поверхности сенсора иммобилизуется рецепторный слой. Наличие вируса в пробе определяется за счет специфической реакции «антитело-антиген» на нанопроволоке. В результате происходит модуляция проводимости сенсор.

Один из этапов создания биосенсора заключается в иммобилизации рецепторного слоя на поверхности подложки. При этом важно получить однородный монослой рецепторов с сохранением их биологической активности.

Цель работы заключалась в сравнении двух методов иммобилизации антител путем индикации вирусных частиц с помощью КНИ-сенсора.

Перед проведением экспериментов с поверхности биосенсора удаляли загрязнения с помощью жидкостной химической очистки. Далее проводили иммобилизацию антител методом физической сорбции или ковалентного связывания. Физическая сорбция заключалась в адсорбции антител на очищенную поверхность КНИ-транзистора. Ковалентное связывание состояло из нескольких этапов: создание слоя кросс-линкера, прикрепление антител к молекулам кросс-линкера.

Однородность полученных слоев определяли методом атомно-силовой микроскопии. Определение биологической активности полученных рецепторных слоев проводили путем детекции вирусных частиц с концентрацией 10^{-15} - 10^{-13} М. Результаты индикации представлены на рис. 1.

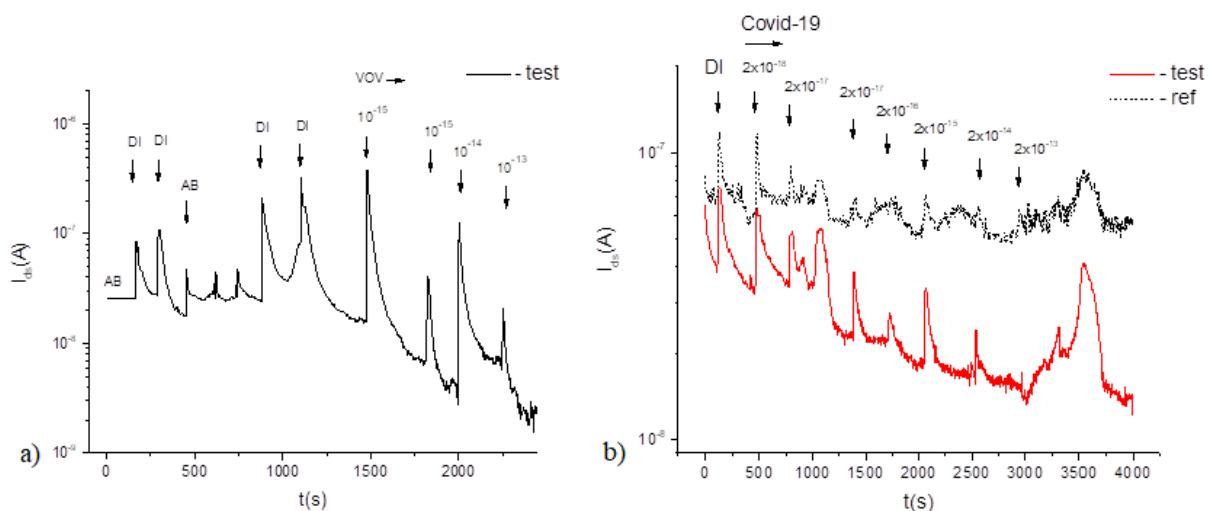


Рисунок 1. а) $I_{ds}(t)$ зависимость биосенсора p-типа проводимости, полученная при последовательном добавлении деионизованной воды (DI), антител (AB) и вируса осповакцины (VOV) при $V_{bg} = 54$ В; б) $I_{ds}(t)$ зависимость биосенсора p-типа проводимости, полученная при последовательном добавлении деионизованной воды (DI) и вирусоподобных частиц коронавируса (Covid-19) при $V_{bg} = 60$ В

В результате экспериментов выявлено, что несмотря на то, что при физической сорбции образуется неконтролируемый слой антител, он не уступает по эффективности ковалентному связыванию. Изменение временной зависимости тока позволило установить знак заряда антител, вирусных частиц и комплекса «антитело-вирусная частица». Эффективное время индикации вирусных частиц составляет 200-300 сек.

Работа выполнена при поддержке Государственного задания Роспотребнадзора.

Изготовление сенсоров и индикация вирусов выполнены в ИФП СО РАН при поддержке проекта РФФИ № 18-29-02091.

ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ – ОТ ДИАГНОСТИКИ К КЛИНИКЕ

Сборник тезисов
Всероссийской конференции молодых ученых,
посвященной 55-летию со дня основания
НИИ гриппа им. А. А. Смородинцева

Санкт-Петербург

15 апреля 2022 года

Налоговая льгота – Общероссийский классификатор продукции
ОК 005-93, т. 2; 95 3004 – научная и производственная литература

Подписано в печать 07.04.2022. Формат 60×84/8. Печать цифровая.
Усл. печ. л. 10,25. Тираж 30. Заказ 1516.

Отпечатано с готового оригинал-макета,
предоставленного ФГБУ «НИИ гриппа им. А. А. Смородинцева» Минздрава России,
в Издательско-полиграфическом центре Политехнического университета.
195251, Санкт-Петербург, Политехническая ул., 29.
Тел.: (812) 552-77-17; 550-40-14.

