

## ИЗУЧЕНИЕ ЦИРКУЛЯЦИИ ВИРУСА ГРИППА С У БОЛЬНЫХ ОРЗ В Г. МОСКВЕ

Кудрявцева А.В., Яцышина С.Б.

*ФГУН «ЦНИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия.*

**Введение.** Вирус гриппа С, традиционно упоминаемый в ряду возбудителей ОРВИ, связывают с легкими заболеваниями верхних дыхательных путей, но вирус также может вызывать бронхиты и пневмонии. Считается, что вирус гриппа С не способен вызывать эпидемии, однако регистрируются вспышки, вызванные этим вирусом, особенно в закрытых учреждениях - госпиталях, детских домах, воинских частях. Геном вируса гриппа С состоит из 7 сегментов РНК, в отличие от вирусов гриппа А и В, в составе которых 8 сегментов. К настоящему времени Японские исследователи выделяют 6 генетических или антигенных групп вируса, которые могут циркулировать одновременно с образованием реассортантов. Показано, что геномный состав вируса гриппа С влияет на его способность к распространению в популяции, и некоторые реассортанты имеют эпидемиологические преимущества перед своими родительскими вирусами и начинают циркулировать как превалярующий штамм. Вирус гриппа С может инфицировать свиней и собак, а генетическое сходство некоторых изолятов вируса от людей и свиней доказывает его способность к преодолению межвидовых барьеров. Информация об эпидемиологии гриппа С скудна по сравнению с гриппом А и гриппом В. Серозидемиологические исследования показывают, что грипп С широко распространен в мире, но случаи заболевания, вызванные этим вирусом, сообщаются редко, а вирус изолируется лишь в единичных случаях. В России грипп С практически не изучается, отсутствует информация о возбудителе, заболеваемости, сезонности инфекции и возрастном составе заболевших. Невысокая вирусная нагрузка в клетках эпителия человека осложняет выделение вируса в культуре и его выявление другими методами. Создание современной диагностической системы позволило нам на основе коллекции образцов, собранных в 2006-2010 годах провести ретроспективное исследование по оценке распространенности гриппа С в г. Москве.

### **Цель и задачи.**

Целью исследований являлась разработка набора реагентов на основе ПЦР в режиме реального времени для выявления РНК вируса гриппа С, определение доли инфицированных детей среди госпитализированных в стационары г. Москвы, а также у взрослых обратившихся в поликлинику по поводу ОРЗ.

**Материал и методы.** В работе были использованы архивные образцы, собиравшиеся с сентября по июнь в 2006-2009гг в стационарах г. Москвы, и в одной из поликлиник г. Москвы весной 2010 г. Обследовано 1868 образцов от детей в возрасте преимущественно от 1 мес. до 5 лет и 31 образец от взрослых, в возрасте от 25 до 60 лет. Контрольная группа сформирована из 106 образцов от детей без симптомов ОРЗ, посещавших детские дошкольные или школьные учреждения. Клинический материал – мазки из носоглотки – собирался в первые сутки при поступлении в стационар или при обращении в поликлинику и хранился при температуре  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Все образцы были исследованы ранее с помощью наборов реагентов для ПЦР производства ФГУН ЦНИИЭ на наличие основных возбудителей ОРВИ – вирусы гриппа А различных субтипов, вирус гриппа В, вирусы парагриппа 1, 2, 3, и 4 типов, риновирусы, корона-вирусы, бокавирусы, респираторно-синцитиальный вирус, аденовирусы, энтеровирусы, метапневмовирусы, а также на наличие ДНК *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydomphila pneumoniae*.

Для экстракции РНК с последующей реакцией обратной транскрипции использовали наборы «Рибо-преп» и «Реверта-Л» (ФГУН ЦНИИЭ). ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) проводили на приборе Rotor-Gene-3000 (Corbett Research).

Проведено секвенирование гена НЕГ, кодирующего гемагглютини-н-эстеразу гриппа С в образцах с высокой вирусной нагрузкой.

**Результаты.** В качестве мишени для обнаружения вируса гриппа С методом ПЦР с детекцией в режиме реального времени выбран ген М, кодирующий белок М1; в этой же реакции в формате мультиплек-сной ПЦР проводится детекция внутреннего контрольного образца. Аналитическая специфичность разработанного набора реагентов оце-нивалась на панели штаммов вирусов гриппа: 26 штаммов вирусов гриппа А субтипа Н1N1, 23 штамма вирусов гриппа А субтипа Н3N2 выделенных с 1977 по 2008 г. в РФ, Украине и Республике Беларусь, А/Ленинград/549/80(Н2N2), А/Киев/3304/84 (Н0N1), А/Гонконг/03 (Н5N1), А/Гонконг/1073/99 (Н9N2), штаммов вирусов гриппа В: В/Токио/53/2000, В/Moscow/18/07 (Ямагата), В/Moscow/15/07 (Виктория), штаммов и изолятов, вызывающих вирусные и бактери-альные инфекции респираторного тракта, а также при использовании клинического материала контрольной группы. Результаты тестирова-ния не выявили перекрестных или неспецифических реакций.

Предел детекции гена-мишени, определенный с использованием оригинального метода на основе количественной ПЦР, разработанного в лаборатории, составил  $5 \cdot 10^3$  геномных эквивалентов в 1 мл исследу-емого образца.

У госпитализированных детей вирусы гриппа С обнаруживались ежегодно со среднегодовой частотой от 1 до 5 %. С наибольшей частотой вирус гриппа С выявлялся в сентябре 2005 г., январе и феврале 2006 г., апреле и октябре 2008 г. и (в 8,3%, 11,6%, 14,6%, 18,2% и 9,6% от исследованных образцов), при этом в 50 % случаев помимо вируса гриппа С в тех же образцах были обнаружены и другие возбудители ОРВИ (респираторно-синцитиальный вирус, вирусы парагриппа, риновирусы и др.). Среди нозологических форм у детей инфицированных вирусом гриппа С без ассоциации с другими искомыми возбудителями ОРВИ преобладали ларинготрахеиты; в 2-х случаях регистрировалась пневмония.

РНК вируса гриппа С была обнаружена также в респираторном образце, полученном от пациентки 47 лет, имевшей характерную для гриппа симптоматику (лихорадка 2-е суток, боль в области лба и глазных яблок, сухой кашель, диарея).

Из 106 образцов группы контроля РНК вируса гриппа С была обнаружена только в одном образце, что составило 0,9%. Следует отметить, что этот образец был собран в детском саду в октябре 2008 г., то есть в период повышенной частоты обнаружения данного вируса у госпитализированных детей.

Результаты секвенирования гена гемагглютинин-эстеразы вируса гриппа С в 7 образцах показали, что в Москве в 2005, 2006, 2008 и 2010 г. циркулировали вирусы принадлежащие к двум генетическим группам, при этом в 2008 г. одновременно выделялись вирусы, относящиеся к разным группам.

**Заключение.** Разработанный набор реагентов продемонстрировал высокие аналитические характеристики. Показано, что вирус гриппа С ежегодно циркулирует в г. Москве. Частота обнаружения данного возбудителя ОРВИ не высока, однако связи с тем, что он способен вызывать инфекции нижних дыхательных путей и преодолевать межвидовые барьеры, не стоит недооценивать его значимость при проведении этиологической диагностики спорадических случаев и во время расщифровки вспышек ОРЗ.