

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ НАДЗОР ЗА ГРИППОМ В ПЕРИОД ПАНДЕМИИ 2009–2010 ГГ.

Яцышина С.Б., Миненко А.Н., Прадед М.Н., Кудрявцева А.В., Волошина П.В., Браславская С.И., Шипулин Г.А., Малеев В.В., Покровский В.И.

ФГУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва.

Работа выполнена при участии сотрудников ФГУЗ ЦГиЭ и Территориальных Управлений Роспотребнадзора в субъектах РФ*.

Введение. По данным ВОЗ с февраля-марта 2009 г. в США и Мексике стали регистрироваться случаи гриппоподобного заболевания, число которых устойчиво возрастало, и к 23 апреля уже насчитывалось более 854 случаев заболевания, 59 из которых закончились летальным исходом. На основании данных молекулярно-генетического анализа возбудителя ВОЗ сообщила, что заболевание людей вызвано новым антигенным вариантом вируса гриппа А/Н1N1, который имел гемагглютинирующий свиного происхождения. Появление нового варианта вируса гриппа удалось своевременно обнаружить благодаря проведению активного мониторинга за гриппом в Калифорнии, включавшего скрининг и типирование обнаруженных вирусов гриппа, в том числе с использованием ПЦР, с обязательным секвенированием в референс-центрах нетипируемых образцов [1]. Характер эпидемического процесса свидетельствовал о том, что возбудитель способен легко передаваться от человека к человеку, и 11 июня 2009 г. ВОЗ объявила о начале пандемии гриппа, вызванного новым антигенным вариантом вируса гриппа А/Н1N1(*sw2009*), также именуемым А/Н1N1*swl* или А/Н1N1*v*. По данным на 15 июня 2009 г. 76 стран на разных континентах сообщили о 35828 случаях заболевания, включая 163 случая закончившихся летальным исходом.

Наряду с другими мерами эпидемиологического надзора эффективным и существенным звеном является лабораторная диагностика, способствующая раннему распознаванию случаев инфицирования. В ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора были своевременно разработаны наборы реагентов для выявления РНК вируса гриппа А и В, для типирования сезонных вирусов гриппа (А/Н1N1 и А/Н3N2) и нового варианта А/Н1N1(*sw2009*) методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией, что позволило быстро внедрить их в

* ФИО сотрудников ФГУЗ ЦГиЭ и Территориальных Управлений Роспотребнадзора в субъектах РФ, активно участвовавших в данной работе, упомянуты в разделе «Список авторов из ФГУЗ ЦГиЭ и ТУ Роспотребнадзора»

практику эпидемиологического надзора. С помощью разработанных наборов реагентов и методов молекулярно-генетического анализа были диагностированы случаи заболевания новым вариантом гриппа A/H1N1(sw2009) в России в 2009-2010 гг. и изучены особенности обнаруженных возбудителей.

Цель и задачи. Анализ результатов эпидемиологического надзора за гриппом на основе данных ПЦР-диагностики и изучение эпидемиологического потенциала возбудителя с помощью методов молекулярно-генетического анализа.

Материалы и методы.

Исследования по обнаружению вирусов гриппа A/B и идентификации субтипа A/H1N1(sw2009) в клиническом и посмертном материале осуществлялись в лабораториях Федеральных государственных учреждений здравоохранения – Центрах гигиены и эпидемиологии (ФГУЗ ЦГиЭ) субъектов РФ и в «Референс-центре по мониторингу за инфекциями верхних и нижних дыхательных путей» ФГУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии (ЦНИИЭ) Роспотребнадзора. Использовались разработанные в ЦНИИЭ наборы реагентов [2] на основе метода ПЦР с гибридной флуоресцентной детекцией «АмплиСенс Influenza virus A/B-FL», «АмплиСенс Influenza virus A-тип-FL» и «АмплиСенс Influenza virus A/H1-swine-FL», зарегистрированные в установленном порядке. Исследовались преимущественно мазки из рото- и носоглотки, а также мокрота, промывные воды бронхов, секционный материал.

При подтверждении первичного положительного результата в «Референс-центре по мониторингу за инфекциями верхних и нижних дыхательных путей» ЦНИИЭ выполнялось секвенирование фрагментов амплификации. Секвенированы фрагменты ПЦР генома вируса гриппа A/H1N1(sw2009) из образцов материала от 436 пациентов, из них 80 полных сегментов РНК кодирующих гемагглютинин и 29 полных сегментов кодирующих нейраминидазу. Получены последовательности двух полных геномов вирусов гриппа A/H1N1(sw2009), обнаруженных в мазках из носо- и ротоглотки у пациента, переболевшего в легкой форме в самом начале пандемии (клинический материал собран 21 мая 2009 г.) и в аутопсийном материале ткани легких у пациента 59 лет, скончавшегося от пневмонии в декабре 2009 г. Кроме того, секвенированы 2 полных генома вирусов гриппа A/H1N1(sw2009), выделенных в культуре МДСК специалистами ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Забайкальском Крае» из прижизненного материала мазков из носо- и ротоглотки от пациента, скончавшегося от пневмонии в конце октября 2009 г. на 52 году жизни, и специалистами ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Архангельской области» из

аутопсийного материала ткани легких от пациентки 35 лет, скончавшейся от пневмонии в конце ноября 2009 г.

Для секвенирования протяженных участков всех сегментов вируса гриппа A/H1N1(sw2009) были выбраны праймеры, образующие в процессе амплификации набор перекрывающихся фрагментов ПЦР. ПЦР проводили на приборах «Терцик» (ДНК-технология) с использованием реагентов производства ФГУН ЦНИИЭ. Секвенирование фрагментов амплификации выполняли методом "cycle sequence" с набором ABI PRISM Big Dye™ v.1.1 (Applied Biosystems, USA), согласно инструкции изготовителя с использованием капиллярного автоматического секвенатора ABI-3100 PRISM™ Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). Выравнивание нуклеотидных последовательностей выполнялось с использованием блока программ «DNASTAR» по алгоритму Clustal. Последовательности нуклеотидов депонированы в базу данных GenBank под номерами GQ184628-GQ184630, GQ246613-GQ246617, GQ255897-GQ255901, HM189309-HM189429. Филогенетический анализ проводился с помощью программы MEGA 3.1 методом Neighbor Joining по алгоритму Kimura 2-parameter с выполнением Bootstrap Test of Phylogeny (1000 повторов).

Основные результаты. С начала апреля, в соответствии с планом готовности к пандемии гриппа в РФ были предприняты противоэпидемические меры, направленные на сдерживание распространения возбудителя гриппа по территории страны. С этой целью все въезжающие в страну лица с симптомами ОРЗ, подозрительные на инфицирование пандемическим гриппом A/H1N1(sw2009), подвергались госпитализации и лабораторному исследованию методом ПЦР, а контактировавшие с ними наблюдались медицинскими работниками во время инкубационного периода, и обследовались лабораторно при появлении симптомов ОРЗ. Согласно МР «Организация и проведение лабораторной диагностики заболеваний, вызванных высокопатогенными штаммами вируса гриппа А (H1N1), у людей» и по распоряжениям Роспотребнадзора № 01/17159-9-32 от 14.11.2009 «О совершенствовании организации лабораторных исследований» и № 01/17862-9-32 от 26.11.2009 «Об оптимизации мониторинговых исследований» в Референс-центр по мониторингу за инфекциями верхних и нижних дыхательных путей на базе ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора направлялся биологический материал, в котором были обнаружены вирусы гриппа A/H1N1(sw2009), с целью подтверждения результатов исследования и изучения молекулярно-генетических свойств вирусов гриппа. При подтверждении положительного результата выполнялось секвенирование кДНК вирусов гриппа А, полученных в процессе исследования.

Начиная с 28 апреля 2009г. и до середины сентября 2009 г., в «Референс-центре» был исследован клинический материал, поступивший из лабораторий ФГУЗ ЦГиЭ 32 субъектов РФ. Подтверждено наличие РНК вируса гриппа *A/H1N1(sw2009)* у 295 лиц. Первый случай гриппа, вызванного вирусом *A/H1N1(sw2009)*, был лабораторно подтвержден в ЦНИИЭ 21 мая 2009 г. Больной прибыл 18 мая из США. На основании анализа сведений о пациентах, клинический материал от которых поступил в «Референс-центр», случаи инфицирования на территории России на сентябрь 2009 г. составили 6,8% от общего числа лабораторно-подтвержденных образцов. В подавляющем большинстве случаев (93,2%) отмечалось недавнее возвращение заболевших из-за рубежа. Зарегистрирован завоз из 25 стран, преимущественно из Болгарии, Великобритании, Испании. В возрастной структуре заболевших на тот момент преобладали лица в возрасте от 15 до 29 лет – 59%, 24% составили дети в возрасте от 5 до 14 лет, и 14% – в возрасте 30–64 лет. Следует отметить, что типичная клиническая картина гриппа с лихорадкой выше 38°C, регистрировалась только в 19% случаев, в 72% случаев заболевание протекало со стертой клинической картиной гриппа или как ОРВИ. Осложнения бронхит и пневмония наблюдались в 4% лабораторно-подтвержденных случаев гриппа *A/H1N1(sw2009)*.

По мере развития эпидемического процесса с середины октября по РФ в целом, и с начала октября – в Москве и Дальневосточном регионе, стали появляться и исследоваться преимущественно летальные случаи, тем не менее, продолжались лабораторные исследования и изучение вирусов гриппа, обнаруженных при выборочном мониторинге ОРЗ. На пике эпидемии в РФ (ноябрь–середина декабря) лаборатории ФГУЗ ЦГиЭ в совокупности проводили исследования методом ПЦР до 6 тыс. образцов биологического материала в неделю. Вирус гриппа *A/H1N1(sw2009)* обнаруживался в 40–46% исследованных методом ПЦР образцов клинического материала.

В возрастной структуре заболевших, обнаруженных при мониторинге, продолжали преобладать лица в возрасте от 15 до 29 лет (48,5%) (см. Рис. 1).

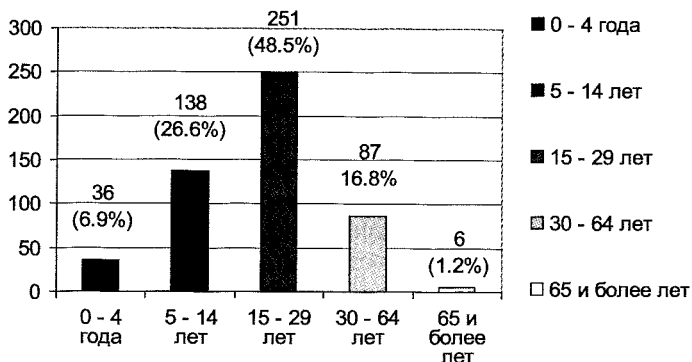


Рис. 1. Возрастная структура заболевших гриппом *A/H1N1(sw2009)* с легким и среднетяжелым течением.

За ноябрь-декабрь 2009г. в Референс-Центр поступило для подтверждения наибольшее количество образцов посмертного материала. Летальный исход регистрировался у лиц в возрасте от 4 мес. до 72 лет, тем не менее, в возрастной структуре летальных случаев преобладали лица в возрасте от 30 до 64 лет (65,9%) (см. Рис. 2).

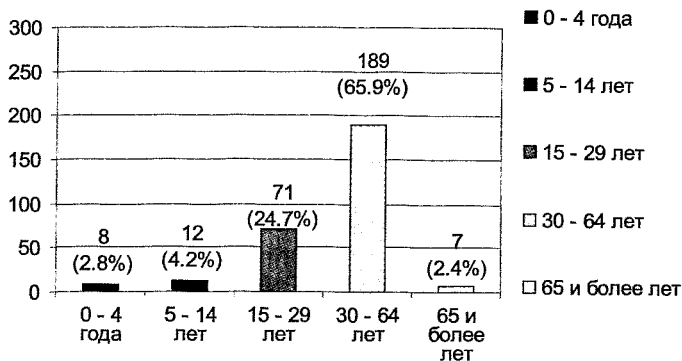


Рис. 2. Возрастная структура летальных случаев лабораторно-подтвержденного гриппа *A/H1N1(sw2009)*.

В общей сложности за период с 28 апреля 2009 г. по апрель 2010 г. на базе Референс-центра ФГУН ЦНИИЭ исследован биологический материал от 874 человек, в том числе образцы посмертного материала

от 284 человек, поступавший из 52 лабораторий ФГУЗ ЦГиЭ субъектов РФ. Положительные результаты при исследовании образцов клинического материала (мазков из носо- и ротоглотки) были подтверждены в 96,1% и при исследовании образцов аутопсийного материала в 93% случаев, что свидетельствует о высокой квалификации специалистов ЦГиЭ и воспроизводимости работы наборов реагентов для ПЦР. Не подтверждались положительные результаты в единичных образцах, содержавших при первоначальном исследовании низкое количество вирусной РНК, которая разрушалась далее в процессе хранения, транспортирования и повторного замораживания/размораживания.

Содержание вируса в респираторных мазках инфицированных новым вариантом вируса гриппа А/Н1N1(sw2009) в первые дни заболевания, как правило, было выше, чем при эпидемическом гриппе (10^{*7} - 10^{*9} геномных эквивалентов в 1 мл транспортной среды (гэ/мл) по сравнению с 10^{*5} - 10^{*7} гэ/мл), но быстро снижалось на 1,5 – 2 порядка при легкой форме заболевания даже без применения противовирусной терапии к 4–5 дню заболевания у взрослых. У детей РНК вируса выделялась более длительно (до 2-х недель от начала заболевания). При появлении осложнений (заболевание нижних дыхательных путей) содержание вируса в верхних дыхательных путях снижалось, и в этом случае целесообразно было исследовать мокроту, аспираты из трахеи или промывные воды бронхов. В образцах посмертного материала – ткани легких и бронхов в большинстве случаев вирус гриппа содержался в низкой нагрузке, однако в ряде случаев РНК вируса обнаруживалась с высоким содержанием не только в ткани легких, но и в веществе мозга, и селезенке.

В группе лиц старше 65 лет наблюдался наименьший процент заболевших и умерших, что не было характерно для предыдущих эпидемий гриппа. Данные отличия можно объяснить тем, что у 14% – 77% населения старше 65 лет регистрируются антитела против вируса пандемического гриппа А/Н1N1(sw2009), а также, отмечается наиболее высокий средний геометрический титр перекрестных антител, в то время как у лиц до 18 лет антитела практически отсутствуют [3]. Вирус гриппа А/Н1N1(sw2009) имеет только 17% аминокислотных различий по гемагглюнину с вирусом пандемического гриппа А/Н1N1 1918 года [3]. Вызвав пандемию в 1918 г., вирус гриппа А/Н1N1 регистрировался среди эпидемических вирусов гриппа до конца 1950-ых годов, периодически вызывая серьезные эпидемии, например, в 1950-1951 г., и эволюционировал со скоростью около 1% аминокислотных замен в гемагглютинине в год. В 1957 году этот субтип вирусов гриппа был вытеснен субтипом А/Н2N2, и вновь появился в 1977 году,

продолжая циркулировать по настоящее время [4]. Таким образом, в связи с отсутствием субтипа А/Н1N1 в циркуляции с 1954 г. по 1977 годы, у людей в возрасте от 32 до 55 лет уровень антител к эпидемическим вирусам данного субтипа низок, и достигает протективных значений не более чем у 10% представителей данной возрастной группы. Причиной отсутствия протективного уровня антител к вирусу гриппа А/Н1N1(*sw2009*) у лиц младше 18 лет являются низкая доля субтипа А/Н1N1 в структуре эпидемических вирусов гриппа, регистрировавшихся за последние 20 лет и отличия их антигенной структуры от А/Н1N1(*sw2009*).

В 73% летальных исходов отмечались сопутствующие заболевания или отягчающие состояния. В 10% случаев регистрировалась беременность, 13% страдали ожирением, у 21% отмечалась патология сердечно-сосудистой системы, 9% страдали сахарным диабетом, у 3% отмечалась бронхиальная астма, у 4% хроническая бронхо-легочная патология. Среди сопутствующей патологии регистрировались также в единичных случаях: пиелонефрит, хронический гепатит, множественные пороки развития. Тем не менее, у 27% сопутствующая патология не отмечалась. Продолжительность болезни до смерти варьировала от 2 суток до 1 месяца, но чаще всего составляла 6–9 дней (медиана 8 суток). Картина вскрытия отражала наличие пневмонии, респираторного дистресс-синдрома, отека мозга, в ряде случаев полиорганной недостаточности. С деталями клинической картины и патоморфологическими особенностями можно ознакомиться в принятой в печать статье [5].

Принято считать, что пневмония при гриппе часто развивается вследствие присоединения вторичной бактериальной инфекции, преимущественно пневмококка и гемофильной палочки. Ряд авторов полагают, что большинство смертельных случаев во время пандемии 1918 г. произошли именно вследствие бактериальной пневмонии [6]. С целью прояснения данного вопроса относительно событий 2009–2010гг в «Референс-Центре» было проведено исследование образцов аутопсийного материала ткани легких 222 человек с лабораторно-подтвержденным диагнозом грипп А/Н1N1(*sw2009*), методом ПЦР на наличие наличие ДНК *S.pneumoniae* и *Haemophilus Influenzae*. В 70% образцов секционного материала ДНК данных бактериальных агентов не была обнаружена. В 27% в секционном материале присутствовала ДНК *S.pneumoniae*, в 1% - ДНК *Haemophilus Influenzae* (bex+), в 2% - одновременно ДНК *S.pneumoniae* и ДНК *Haemophilus Influenzae* (bex+). По результатам бактериологического исследования в лабораториях ЛПУ посмертного материала от 68 пациентов с лабораторно-подтвержденным диагнозом грипп А/Н1N1(*sw2009*),

получавших антибиотики с первого дня поступления в стационар, бактериальные агенты были выделены только в 7 случаях: в 2 случаях *P.aeruginosa*, в 1 случае *Kl.pneumoniae*, в 1 случае *Str.viridans*, в 4х – бактериальные сочетания *St.aureus*, *Str.viridans*, *Kl.pneumoniae*, *Kl.Oxytoca*, *Enterococcus Faecalis*. Таким образом, в большинстве случаев летальных исходов при пандемическом гриппе А/Н1N1(sw2009) развивалась первичная вирусная пневмония.

Все образцы, содержавшие РНК вируса гриппа в достаточном для секвенирования количестве, подвергались дальнейшему молекулярно-генетическому исследованию. Получение полных геномов вирусов гриппа без их культивирования было возможно только в образцах с высокой вирусной нагрузкой. Фрагменты ПЦР гена гемагглютинина и/или нейраминидазы вируса гриппа А/Н1N1(sw2009) секвенированы в образцах материала от 436 пациентов. Результаты секвенирования фрагментов генов гемагглютинина и нейраминидазы показали их принадлежность вирусу гриппа А субтипа Н1N1, с высокой гомологией (99,3 % – 100 % по гену гемагглютинина и 99,3 % – 100 % по гену нейраминидазы) с изолятом А/California/04/2009(Н1N1).

Молекулярно-генетические исследования позволили оценить уровень генетического разнообразия циркулирующих на территории РФ вариантов вируса гриппа А/Н1N1(sw2009), определить их эпидемический потенциал по наличию факторов патогенности и чувствительность вирусов к специфическим лекарственным препаратам. С подробными результатами исследований можно ознакомиться в принятой в печать статье [7]. Обнаруженные в России с мая 2009 г. по апрель 2010 г вирусы пандемического гриппа имели высокую гомологию между собой и с зарубежными изолятами, в том числе California/04/2009. Уровень различий даже по наиболее варибельным белкам – гемагглютинину и нейраминидазе не превышал 1,3% и 1,4% соответственно. Высокая гомология вирусов гриппа и соответственно низкий уровень антигенных различий, доказывают потенциальную эффективность вакцинных препаратов, изготовленных на основе изолятов, выделенных в начале пандемии. Обнаружена небольшая варибельность среди Российских изолятов вируса по участкам генома, определяющим приспособленность к организму человека. В частности, в 4х позициях аминокислот в белках полимеразного комплекса и нуклеопротеина, улучшающих адаптацию вируса к организму человека, а также полиморфизм в положении 222 аминокислотной последовательности гемагглютинина, влияющий на специфичность связи с рецепторами эпителия верхних и нижних дыхательных путей человека. В 19% вирусов гриппа, обнаруженных в аутопсийном материале, имеются аминокислота 222G, в 8% – аминокислота 222N,

которые повышают сродство вируса к рецепторам, локализованным в нижних дыхательных путях человека. В 28% образцов аутопсийного материала регистрируется наличие смешанной популяции вирусов гриппа, имеющих разные аминокислоты – 222D/G/N и 222D/N/G. В 27% случаев, у пациентов с заболеванием легкой и средней тяжести происходил селективный отбор вирусов с аминокислотой 222E, повышающей сродство к рецепторам, локализованным в верхних дыхательных путях. В связи с тем, что для секвенирования использовался преимущественно клинический или секционный материал, обнаруженные мутации нельзя отнести на счет изменений вируса во время культивирования. В ряде публикаций обсуждался вопрос – вызывают ли вирусы гриппа, несущие в геноме аминокислоту 222G, более тяжелое течение заболевания. Сообщалось об обнаружении данной мутации у 4% – 7 % пациентов с тяжелым течением или летальным исходом по сравнению с 2% в группах легкого течения заболевания [8, 9,10], однако эксперименты на хорьках не доказали связи наличия аминокислоты 222G в геноме вирусов гриппа A/H1N1(sw2009) с более тяжелым течением гриппа [11]. По данным GeneBank такие мутантные изоляты обнаруживались уже в начале пандемии в апреле 2009 г. в США, то есть, нельзя сказать, что вирус гриппа приобрел новые факторы патогенности.

В геномах исследованных нами вирусов гриппа зарегистрирован ряд молекулярных особенностей, которые определяют высокий эпидемический потенциал. Это низкое генетическое а, следовательно, и антигенное родство с вакцинными штаммами и циркулировавшими в последние десятилетия эпидемическими вирусами гриппа A/H1N1, способность связываться с рецепторами эпителия как верхних, так и нижних дыхательных путей человека, и наличие ряда аминокислот в белках его внутреннего комплекса, определяющих адаптивные свойства вируса к организму человека. В связи с этим, в отличие от большинства случаев заражения гриппом свиного происхождения, когда вирус не передавался от человека к человеку, новый вариант A/H1N1(sw2009) обладал достаточно высокой трансмиссивностью в популяции людей. По данным Fraser C. с соавторами [6] репродуктивный коэффициент вируса гриппа A/H1N1(sw2009) равен 1,2-1,6 и был выше в сравнении с гриппом предшествующих сезонов, который в среднем составил 1,3, однако он не достигал значений, рассчитанных для пандемического вируса гриппа 1918 г. – 2-5. Обнаруженные варианты вируса гриппа A/H1N1(sw2009) с различной степенью адаптации к организму человека и разным сродством к рецепторам верхних и нижних дыхательных путей могут обуславливать различия в трансмиссивности.

Вирулентность данных вирусов относительно невысока ввиду отсутствия известных молекулярных маркеров патогенности для млекопитающих, имевшихся, например, у вируса гриппа А/Н5N1, вызвавшего эпизоотию у птиц в 2005–2007 гг, который обладал летальностью 60% среди лабораторно-подтвержденных случаев заболевания человека. На основании анализа молекулярных маркеров резистентности вирусов гриппа к противогриппозным лекарственным препаратам можно сделать вывод о том, что циркулировавшие на территории России в 2009–2010 г. варианты вируса гриппа А/Н1N1(sw2009) устойчивы к ремантадину, не имеют известных мутаций резистентности к арбидолу, и в подавляющем большинстве чувствительны к озельтамивиру. По данным ВОЗ в мире обнаружено всего 285 резистентных к озельтамивиру изолятов вируса гриппа А/Н1N1(sw2009), в нашем исследовании 98 образцов вирусов гриппа А/Н1N1(sw2009) мутации устойчивости к озельтамивиру обнаружены не были.

Заключение. Таким образом, внедрение молекулярно-генетических методов в практику эпидемиологического надзора за гриппом позволило существенно повысить его эффективность в условиях пандемии. Получен ценный положительный опыт взаимодействия ФГУЗ ЦГиЭ с референс-центрами по контролю над распространением и по изучению эпидемического потенциала вирусов гриппа. Дальнейшие научно-исследовательские разработки и использование новых средств лабораторной диагностики при мониторинге позволяют эффективно контролировать эпидемическую ситуацию по гриппу и ОРЗ в стране.

Список авторов из ФГУЗ ЦГиЭ и ТУ Роспотребнадзора:

1. Управление Роспотребнадзора по г. Москва и ФГУЗ ЦГиЭ в г. Москва: Лыткина И.Н. – начальник отдела эпидемиологического надзора, Салова Н.Я. зав. микробиологической лабораторией, Курибко С.Г. – зав. отделением вирусологии, Ярмольник М.С. – врач-вирусолог, Бабкина Г.М. – врач-вирусолог;
2. ФГУЗ ЦГиЭ в Московской области: Козлов А.В. – зав. отделом лабораторных исследований, Успенская Е.С. – зав. отделом вирусологических исследований микробиологической лаборатории, Цурикова С.И. – врач-вирусолог, Юрашко О.В. – врач-вирусолог;
3. ФГУЗ ЦГиЭ в Калужской области: Косолапова Е.И. – зав. вирусологической лабораторией, Кованова Ю.А. – врач-вирусолог;
4. Управление Роспотребнадзора по Липецкой области и ФГУЗ «Центр Гигиены и Эпидемиологии в Липецкой области»: Ярквская И.В. – главный специалист-эксперт, Вендеревская Е.И. – зав. вирусологической лабораторией;

5. ФГУЗ «ЦГиЭ в Кировской области»: Дехтерева Н.В. – зав. эпидемиологическим отделом, Калинина Л.А. – зав. вирусологической лабораторией, Лузянина Е.В. – зав. отделом лабораторного дела, Козлов А.Е. – врач-бактериолог, Амилевская Н.С. – врач-эпидемиолог;

6. ФГУЗ «ЦГиЭ в Тамбовской области»: Агафонова Т.В. – зав. лабораторией микробиологических исследований, Гончаренко Г.П. – зав. эпидемиологическим отделом, Илясова Н.А. – биолог ПЦР-отделения лаборатории микробиологических исследований;

7. Управление Роспотребнадзора по Архангельской области, ФГУЗ «ЦГиЭ в Архангельской области»: Бузинов Р.В. – руководитель Управления Роспотребнадзора, Шишко Л.А. – зав. вирусологической лабораторией;

8. ФГУЗ «ЦГиЭ в Ульяновской области»: Салина Г.В. – зав. эпидемиологическим отделом, Савельева Н.В. – зав. вирусологическим отделением, Насев А.А. – зав. особо опасных инфекций, Объязова В.И. – врач-эпидемиолог;

9. ФГУЗ «ЦГиЭ в Тюменской области»: Ефименкова О.Б. – зав. отделением по учету инфекционных заболеваний, Кривоногова С.Г. – биолог;

10. Управление Роспотребнадзора по Республике Марий-Эли «Центр гигиены и эпидемиологии в Астраханской области»: Кудрявцева Л.М. – зав. вирусологической лабораторией, Лоскутов Д.В. – зав. эпидемиологическим отделом, Кониная М.В. – начальник отдела эпидемиологического надзора;

11. ФГУЗ «ЦГиЭ в Республике Коми»: Кораблева Е.Д. – биолог, Аникеева Л.В. – зав. лаборатории ЦМЛ;

12. ФГУЗ «ЦГиЭ в Волгоградской области»: Русакова Н.В. – зав. вирусологической лабораторией, Шишкина Л.В. – врач-вирусолог, Сандецкая Н.Г. – врач-вирусолог, Иванова В.А. – лаборант;

13. Управление Роспотребнадзора по Астраханской области и «Центр гигиены и эпидемиологии в Астраханской области»: Базельцева Л.И. – главный специалист-эксперт Управления, Азарян А.Р. – зав. вирусологической лабораторией, Мальков П.М. – зав. лабораторией ПЦР, Гришанова А.П. – врач-лаборант;

14. ФГУЗ «ЦГиЭ в Республике Мордовия»: Стамиков А.Г. – зав. эпидемиологическим отделом, Ортова О.И. – зам. зав. эпидемиологическим отделом, Козлова И.Н. – врач-эпидемиолог;

15. ФГУЗ «ЦГиЭ в Удмуртской Республике»: Аненкова Л.Г. – зав. вирусологической лабораторией, Недобежкина Т.В. – зав. эпидемиологическим отделом;

16. ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Пермском крае»: Селиванова Т.В. – врач-вирусолог, Альпова И.И. – врач-вирусолог;

17. ФГУЗ ЦГиЭ в Республике Татарстан: Чернышева А.В. заместитель главного врача, Лебедева С.Д. зав. лабораторией диагностики особо-опасных и вирусных инфекций, Леонтьева Л.Р. врач-вирусолог, Хакимзянова М.В. зав. отделом обеспечения эпиднадзора;

18. Управление Роспотребнадзора в Калининградской области и ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Калининградской области»: Груничева Т.П. руководитель управления Роспотребнадзора, Бабуря Е.А. зам. руководителя, Михеенко О.П. Главный врач ФГУЗ ЦГиЭ, Погребная Т.Н. – зав. вирусологической лабораторией, Коваль И.Л. – вирусолог, Назаревская Г.Л. – вирусолог;

19. ФГУЗ «Центра гигиены и эпидемиологии в Краснодарском крае» и филиалов: Волкова М.В. – биолог, Безверхая Г.И. – лаборант, Абрамова И.В. – биолог, Коблова Е.Б. – врач-бактериолог, Кучук Л.Г. – врач-бактериолог, Коновалова Л.А. – врач-бактериолог, Письменная О.А. – врач-бактериолог;

20. Управление Роспотребнадзора по Тульской области и ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Тульской области»: Василькова О.И. – главный специалист-эксперт отдела эпиднадзора, Смольянинова О.Л. – зав. лабораторией ПО и ООИ, Овечкина И.Н. – зав. вирусологической лабораторией;

21. ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ярославской области»: Соколова И.А. – зав. вирусологической лабораторией, Грошенкова Е.В. – врач-вирусолог, Журавлева М.В. – врач-вирусолог, Шамина Ж.В. – врач-вирусолог;

22. Управление Роспотребнадзора по Мурманской области и ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Мурманской области»: Мациевская Е.А. – начальник отдела эпидемиологического надзора, Ермакова М.В. – зам. начальника отдела эпидемиологического надзора, Тареев С.Ю. – начальник территориального отдела, Передерий Н.Г. – зам. начальника отдела санитарно-эпидемиологического надзора и защиты прав потребителей, Камынина Л.С. – зав. вирусологической лабораторией, Бахирева Л.А. – врач-вирусолог, Зацаринная И.В. – врач-вирусолог;

23. ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Башкортостан»: Сыса А.М. – зав. лабораторией особо-опасных инфекций и ПЦР диагностики, врач-бактериолог; Коробов Л. И. – зав. отделом санитарной охраны территории и координации деятельности ФГУЗ по эпидемиологии и микробиологическим исследованиям, Кутлубаева Лилия Юлаевна – зав. орготделом, врач-эпидемиолог;

24. ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ямало-Ненецком автономном округе»: Косарева Л. Э. – зав. лабораторией, врач-бактериолог, Кузьминых М.М. – врач бактериолог;

25. Управление Роспотребнадзора по Челябинской области и ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области»: Чиркова Г.Г. – зав. вирусологической лабораторией, Отт Н.Н. – врач вирусолог, Усольцева Н.М. – зав. лабораторией ООИ, Лучинина С.В. – заместитель руководителя Управления Роспотребнадзора, Косарева Р.Р. – начальник отдела эпидемиологического надзора, Софейкова Т.В. – зам. начальника отдела эпидемиологического надзора, Воеводова Т.С. – ведущий специалист-эксперт отдела эпидемиологического надзора, Финце М.Н. – ведущий специалист-эксперт отдела эпидемиологического надзора, Субачева Е.А. – специалист-эксперт отдела эпидемиологического надзора;

26. Управление Роспотребнадзора по Тверской области и ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Тверской области»: Синода В.А. – руководитель Управления Роспотребнадзора, Матюшкова В.В. – главный врач ФГУЗ ЦГиЭ, Елисеева С.М. – заместитель главного врача ФГУЗ ЦГиЭ, Апостолова Т.К. – зав. микробиологической лабораторией, Владимирова Л.А. – врач-вирусолог, Матвеева Л.Р. – врач-бактериолог;

27. Управление Роспотребнадзора по Саратовской области и «Центр гигиены и эпидемиологии в Саратовской области»: Кириллова Л.П. – зав. вирусологической лабораторией, Дляпина О.В. – врач-вирусолог, Большакова Е.В. – главный специалист-эксперт отдела эпиднадзора;

28. ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Воронежской области»: Стёпкин Ю.И. – главный врач ФГУЗ ЦГиЭ, Жукова А.И. – зав. эпидемиологическим отделом, врач-эпидемиолог, Кистенёв А.А. – зав. противоэпидемическим отделением эпидотдела, врач-эпидемиолог, Агеева О.Т. – зав. вирусологической лабораторией, врач-вирусолог, Жарикова О.С. – врач-вирусолог;

29. Управление Роспотребнадзора по Ростовской области и ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области»: Говорухина М.В. – зав. лабораторией вирусологических исследований, Кудря Е.В. – врач-вирусолог, Самарина О.В. – врач-эпидемиолог, Слизь С.С. – врач-эпидемиолог, Ненадская С.А. – зам. начальника отдела эпиднадзора, Кадькова Л.Е. – старший специалист-эксперт;

30. Управление Роспотребнадзора по Владимирской области, ФГУЗ «ЦГиЭ во Владимирской области»: Джапаридзе Н.И. – зав. лабораторией вирусологических исследований, Иванова Н.И. – врач-вирусолог, Ильина Н.Г. – главный специалист-эксперт отдела эпиднадзора и санитарной охраны территории;

31. Управление Роспотребнадзора по городу Санкт-Петербургу и ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербург»: Ракигин И.А. – руководитель Управления Роспотребнадзора,

Мельцер А.В. – зам. руководителя Управления Роспотребнадзора, Курнаев Д.В. – зам. руководителя Управления Роспотребнадзора, Парков О.В. – начальник отдела эпидемиологического надзора, Крайнова Т.И. – главный специалист-эксперт, Коржаев Ю.Н. – главный врач ФГУЗ ЦГиЭ, Гречанинова Т.А. – зам. главного врача ФГУЗ ЦГиЭ, Забалужева Г.В. – зав. лабораторией особо опасных и вирусологических исследований, Демакова Т.Е. – врач-бактериолог, Штром Л. В. – врач-бактериолог, Кутасова Т.Б. – зав. отделом эпидемиологии инфекционных и особо опасных заболеваний, Прокофьева Н. Н. – врач-эпидемиолог;

а также сотрудники ФГУЗ ЦГиЭ в Белгородской, Брянской, Вологодской, Ивановской, Костромской, Курской, Ленинградской, Нижегородской, Оренбургской, Орловской, Пензенской, Сахалинской, Смоленской областей, Республики Бурятия, Республики Дагестан, Карачаево-Черкесской Республики, Республики Карелия, Республики Саха (Якутия), Республики Северная Осетия-Алания, Ставропольском крае, Чувашской Республики.

Список литературы:

1. Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) virus investigation team. Emergence of a Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) virus in Humans. // *N Engl J Med.* – 2009. – Vol. 361. – P. 1-10.
2. Яцьшина С.Б., Миненко А.Н., Прадед М.Н., с соавт. Диагностика гриппа: новый вариант H1N1 в России. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2009, №6, с. 56-62.
3. Iconen NI, Strengell M, Kinnunen L. High frequency of cross-reacting antibodies against 2009 pandemic influenza A(H1N1) virus among the elderly in Finland. *Euro Surveill.* 2010, V.15, N.5, P.19478.
4. Shen J, Ma J, Wang Q. Evolutionary trends of A(H1N1) influenza virus Haemagglutinin since 1918. *PLoS ONE.* V.4, N. 11, e7789.
5. Яцьшина С.Б., Миненко А.Н., Кушакова Т.Е., Прадед М.Н., Кудрявцева А.В., Шипулин Г.А., Малеев В.В., Покровский В.И. Пандемический грипп А/Н1N1(sw2009) в России: эпидемиология, диагностика, клиника и лечение. // *Терапевтический архив.* 2010, №12
6. Fraser C, Donnelly C, Cauchemez S. Pandemic potential of a strain of influenza A (H1N1): Early Findings. *Scienceexpress.org/*11 May 2009.
7. Яцьшина С.Б., Миненко А.Н., Волошина П. с соавт. Молекулярно-генетическая характеристика вирусов пандемического гриппа А/Н1N1(sw2009), обнаруженных в 2009-2010 гг в России. // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2011, №1.
8. Morens DM, Tauberberger JK, Fauci AS. Predominant role of bacterial pneumoniae as a cause of death in pandemic influenza: implica-

tions for pandemic influenza preparedness. // *J. Infect. Dis.* 2008, V. 198, P. 926-970.

9. Mac GC, Au KW, Tai KC. Association of D222G substitution in haemagglutinin of 2009 pandemic influenza A(H1N1) with severe disease. // *Euro Surveill.* 2010., V.15, N. 14, P.19534.

10. Miller RS, MacLean AR, Gunson RN. Occurrence of haemagglutinin mutation D222G in pandemic influenza A(H1N1) infected patients in the West of Scotland, United Kingdom, 2009-10. // *Euro Surveill.* 2010., V.15, N. 16, P.19546.

11. WHO Preliminary review of D222G amino acid substitution in haemagglutinin of 2009 pandemic influenza A(H1N1) viruses. *Wkly Epidemiol Rec.* 2010, V.85, N. 4, P. 21-22.

РАЗРАБОТКА И АПРОБАЦИЯ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ОРВИ В ФОРМАТЕ ПЦР-МУЛЬТИПРАЙМ-FL

Яцышина С.Б., Прадед М.Н., Миненко А.Н., Зверева З.А., Шевцова Ю.В.¹, Кудрявцева А.В., Вартамян Р.В.²

ФГУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, 1. Инфекционная клиническая больница №1, Москва, 2. ГУ НИИ Вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН, Москва.

Введение. В структуре инфекционной патологии острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) занимают до 90%, что обуславливает значимость вопроса этиологической диагностики для медицинской практики и эпидемиологического надзора. Причиной ОРВИ может быть инфицирование представителями 6-ти основных семейств вирусов (Orthomyxoviridae, Paramyxoviridae, Picornaviridae, Adenoviridae, Coronaviridae, Parvoviridae), обнаружение половины из которых с помощью традиционных методов диагностики невозможно. Метод прямой иммунофлуоресценции, привлекательный своей простотой, отличается субъективизмом при интерпретации результатов, имеет невысокую чувствительность и специфичность и ограниченный спектр обнаруживаемых возбудителей. В сложившейся ситуации результаты лабораторной диагностики не всегда отражают реальную эпидемиологическую картину, и могут способствовать выбору неадекватной тактики лечения.

Создание и внедрение в практику быстрых, специфичных и чувствительных методов прямой этиологической диагностики ОРВИ на