

8. Papasian C.J., Downs N.J., Talley R.L., Romberger D.J., Hodges G.R. Bordetella bronchiseptica bronchitis. // J. Clin. Microbiol. - 1987. - №25. P. 575-577.
9. Stoll D.B., Murphey S.A., Ballas S.K. Bordetella bronchiseptica infection in stage IV Hodgkin's disease. // Postgrad. Med. J. – 1981. - №57. – P. 723-724.
10. Woolfrey B.F, Moody J. Human infections associated with Bordetella bronchiseptica. // Clin Microbiol Rev. – 1991. - №4. – P. 243-55.

### **Особенности вакцинопрофилактики птичьего гриппа**

Сафиуллова Д.Ф., 4 курс ФВМ

Научные руководители – к.в.н., доцент Никульшина Ю.Б., д.б.н., проф. Васильев Д.А.  
ФГОУ ВПО «Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия»

Пандемия гриппа - это глобальная вспышка гриппа и происходит она, когда новый вирус гриппа появляется, распространяется и вызывает болезнь по всему миру. Последние пандемии вируса гриппа приводили к высоким уровням заболеваемости, смертности, социальной нестабильности и экономическим потерям.

Вирус гриппа впервые был выделен в 1933 г. Интересно, что каждый новый вирус (азиатский, гонконгский) сначала появлялся в Китае, и полагают, что вирусы, вызывавшие эпидемии, происходившие до 1933 г., также происходили из Китая.

Эти пандемические вирусы имели несколько общих особенностей. Первые вспышки пандемий, вызванные этими вирусами, произошли в Юго-Восточной Азии. Появление вирусов H2N2 и H3N2 сопровождалось исчезновением из человеческой популяции вирусов, циркулировавших до них (соответственно вирусов подтипов H1N1 и H2N2). Почему вирусы, ранее циркулировавшие в человеческой популяции, исчезали с появлением новых вирусов, остается неясным.

В настоящее время вирус птичьего гриппа преодолел межвидовой барьер от птиц к человеку, однако пока нет доказательств того, что вирус передается напрямую от человека к человеку (все заболевшие люди имели прямой контакт с зараженной птицей).

Вирус поражает и убивает в основном детей.

Источник заражения и пути распространения вируса не определены, что делает ситуацию с распространением вируса практически не контролируемой.

Сразу же после вспышек 1997-1999 годов начались поиски вакцины против вируса птичьего гриппа. Поскольку неадаптированный H5N1 вирус является патогенным для мышей, именно эти животные были использованы как модель иммунной системы млекопитающих для исследования летальной инфекции птичьего гриппа.

Производство вакцины против вируса гриппа H5N1 в системе куриных эмбрионов невозможно из-за гибели куриных эмбрионов при заражении этим вирусом и высоком уровне биобезопасности, необходимым для работы с этим вирусом и производством вакцины на основе этого вируса. Для разработки вакцины на основе цельного вируса использовались авирулентный вирус H5N4,

выделенный от мигрирующих уток, вирус H5N1 и авирулентный рекомбинантный вирус H5N1. Все вакцины были инактивированы формалином. Интраперитонеальная иммунизация мышей каждой вакциной вызывала выработку гемагглютинин-ингибирующих и вирус-нейтрализующих антител, в то время как интраназальная вакцинация без адьюванта индуцировала как мукозальный, так и системный антительный ответ, который защищал мышей от контрольного заражения летальным вирусом H5N1.

Интрамушкулярное введение вакцины, приготовленной на основе непатогенного штамма H5N3, антигенно связанного с человеческим вирусом H5N1, в сочетании с квасцами или без них, приводило к полной защите от летального контрольного заражения вирусом H5N1. Защита от инфекции наблюдалась у 70% животных, которым вакцина вводилась сама по себе и у 100% животных, которым вакцина вводилась в сочетании с квасцами. Протективный эффект вакцинации коррелировал с уровнем вирус-специфических сывороточных антител. Эти результаты говорят о том, что в случае пандемии возможно использование антигенно связанных, но не патогенных вирусов гриппа в качестве кандидатов в вакцину.

Исследования ДНК вакцин показали, что ДНК вакцина, кодирующая гемагглютинин из H5N8, который отличается от H5N1 в пределах 12% в HA1, предотвращает гибель мышей, но не заболевание при инфицировании H5N1. Следовательно, ДНК вакцина, сделанная на основе гетерологичного штамма H5 не защищает мышей от инфицирования вирусом птичьего гриппа H5N1, но полезна при защите мышей от гибели.

Противогриппозные вакцины, индуцирующие значительный перекрестный гетеросубтипный иммунитет, могут преодолеть ограничения эффективности вакцин, вызванные антигенной вариабельностью вируса гриппа А. Мыши, получившие трехкратную интраназальную иммунизацию вакциной H3N2 в сочетании LT(R192G), были полностью защищены при летальном контрольном инфицировании высокопатогенным человеческим вирусом H5N1, причем вирусные титры в носовой полости и легких были по крайней мере в 2500 раз ниже, чем у контрольных мышей, получавших только LT(R192G). Напротив, мыши, которые получили трехкратную вакцинацию вакциной H3N2 подкожно в присутствии или отсутствии LT(R192G) или неполного адьюванта Фрейнда, не были защищены при летальном контрольном инфицировании и никакого заметного снижения титров вируса в тканях не наблюдалось на 5 день после контрольного инфицирования вирусом H5N1. Вакцинация без LT(R192G) приводила лишь к частичной защите против гетеросубтипного контрольного заражения. Результаты исследования гетеросубтипного иммунитета подтвердили полезность мукозальной вакцинации, которая стимулирует перекрестную защиту против множества вирусных субтипов, включая вирусы, представляющие потенциальную пандемическую опасность.

Во время вспышки 1997 года анализ ингибирования гемагглютинации, стандартный для серологического определения инфекции гриппа у человека, показал низкую чувствительность при определении антител к вирусу птичьего

гриппа. В связи с этим, для определения антител к вирусу птичьего гриппа у человека был предложен более чувствительный метод микронейтрализации и H5 специфический непрямой ELISA (иммуоферментный анализ). Чувствительность и специфичность этих методов была сравнима и, кроме того, значительно увеличивалась при сочетании с Вестерн-блотом. Максимальная чувствительность (80%) и специфичность (96%) при определении анти H5 антител у взрослых в возрасте от 18 до 59 лет достигалась при применении микронейтрализации в сочетании с Вестерн блотом, а максимальная чувствительность (100%) и специфичность (100%) при определении анти H5 антител в сыворотке детей моложе 15 лет достигалась при применении ELISA в сочетании с Вестерн блотом. Этот алгоритм может использоваться при проведении сероэпидемиологических исследований вспышек птичьего гриппа H5N1.

Было также показано, что высокопатогенные нейротропные варианты вируса птичьего гриппа H5N1 могут быть быстро выделены на мышах.

Кроме того, еще в 1995 году для быстрого определения последовательности сайта расщепления гемагглютинина, маркера потенциала вирулентности вирусов птичьего гриппа, была использована RT-PCR (полимеразная цепная реакция). Эта методика в сочетании с сиквенсом сайта расщепления гемагглютинина может служить в качестве быстрого и чувствительного метода оценки потенциальной вирулентности вирусов птичьего гриппа. Раннее обнаружение связанных с вирулентностью последовательностей на сайте расщепления гемагглютинина в полевых изолятах вируса поможет лучше контролировать грипп среди огромной популяции домашней птицы.

В дальнейшем был разработан простой молекулярный метод быстрого генотипирования для мониторинга внутренних генов циркулирующего вируса гриппа А. Стратегия субтипирования вируса была протестирована вслепую на 10 контрольных вирусах каждого субтипа H1N1, H3N2 и H5N1 (всего на 30) и обнаружила высокую эффективность. Стандартизованный метод генотипирования использовался для идентификации источника внутренних генов 51 вируса гриппа А, выделенного от людей в Гонконге в ходе вспышек 1997-1998 годов и сразу после них. Эта же методика использовалась для характеристики внутренних генов двух изолятов вируса птичьего гриппа H9N2, полученных в Гонконге в 1999г.

Позднее был разработан real-time reverse transcriptase PCR (RRT-PCR) анализ для быстрого определения вируса гриппа А и субтипов H5 и H7 вируса гриппа А. В этом анализе используется одностадийный способ определения и флуоресцентные зонды. Предел определения - около 1000 копий мишени-РНК. С помощью этого метода можно определить 0,1 50%-ную инфекционную дозу для куриных эмбрионов. Для анализа субтипов вируса гриппа А предел определения - 10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> копии мишени-РНК. Чувствительность и специфичность данного метода напрямую сравнивалась со стандартными методиками для определения вируса гриппа: выделение гриппа на куриных эмбрионах и

субтипирование гемагглютинаина в реакции ингибирования гемагглютинации. Сравнение проводилось на 1550 трахеальных и клоачных мазках от различных видов птиц и мазков, взятых из окружающей среды на рынках живой птицы в Нью-Йорке и Нью-Джерси. Результаты RRT-PCR коррелировали с результатами выделения гриппа на куриных эмбрионах в 89% образцов. Остальные образцы были положительными при определении только одним из методов. В целом чувствительность и специфичность H7- и H5-специфичных анализов была сходна с методом выделения вируса на куриных эмбрионах и реакции ингибирования гемагглютинации.

Библиографический список.

1. Евгения Ротшильда. Птичий грипп – третий звонок // В мире животных. – 2006. - №4.
2. Птичий грипп и значимость его передачи людям по материалам ВОЗ [www.World Health Organization](http://www.WorldHealthOrganization).
3. Lois A. Zitzow, Thomas Rowe, Timothy Morken, Wun-Ju Shieh, Sherif Zaki, and Jacqueline M. Katz, Pathogenesis of Avian Influenza A (H5N1) Viruses in Ferrets, Journal of Virology, May 2002, Vol. 76, No. 9, p. 4420-4429.

### ***Пути заражения и способы лечения птичьего гриппа у людей***

Николаева М., 4 курс ФВМ

Научные руководители – к.в.н., доцент Никульшина Ю.Б., д.б.н., проф. Васильев Д.А  
ФГОУ ВПО «Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия»

В XVI веке Европа перенесла, как минимум, две крупные эпидемии гриппа. Тогда болезнь получила название "инфлюэнца" (что на итальянском означает "влияние холода"). Другое ее название появилось в XX веке - "грипп" (от английского *grip* или французского *grippe* - "схватывать").

В 20 веке за большой пандемией гриппа в 1918-1919 годах была, так называемая Испанка, которая стала причиной болезни каждого второго жителя планеты и унесла 40-50 миллионов человек по всему миру.

Последняя пандемия была в 1968 году. Тогда в США умерли 34 тысячи человек, а по всему миру - 700 тысяч.

Обычный грипп является причиной смерти 250-500 тысяч человек ежегодно. Экономический ущерб от него достигает 80 млрд. долларов. Однако традиционный грипп не может сравниться с эпидемией птичьего гриппа, если она начнется. Специалисты-вирусологи прогнозируют, что пандемия птичьего гриппа неизбежна и может поразить почти треть населения Земли. Помимо финансового ущерба, который может составить 2% всей мировой экономики, чрезвычайно велика смертность. Африка, например, стонущая под тяжестью СПИДа и малярии, не сможет справиться с ударом пандемии гриппа.

Ширится распространение птичьего гриппа в Азии, Европе и на африканском континенте. Его наличие было подтверждено в более, чем 40 странах: Китае, России, Казахстане, Румынии, Турции, Камбоджи, Индонезии, Японии, Лаосе, Южной Корее и др. Возможность дальнейших вспышек болезни в этих и других странах не может быть исключена.