

бург) с совершенствованием тактики вакцинопрофилактики гриппа среди различных возрастных и профессиональных групп населения.

Благодаря научным разработкам института и заинтересованности эпидслужбы стало возможным изучение заболеваемости ротавирусной инфекцией в Свердловской области с 1980 года, когда на других территориях России эта работа не проводилась, что позволило осуществлять постоянный контроль за этой инфекцией и проводить целенаправленные профилактические мероприятия.

Большое внимание, начиная с 60-х годов, уделяется в институте клещевому энцефалиту, являющемуся краевой инфекционной патологией для Среднего Урала. В настоящее время исследования по этой вирусной инфекции осуществляются совместно со специалистами Свердловской эпидслужбы и Уральского госуниверситета им. А.М. Горького на современном молекулярно-генетическом уровне.

В последние годы, в связи с участвовавшими периодическими подъемами заболеваемости энтеровирусным серозным менингитом, специалистами института совместно с эпидемиологами и вирусологами проводятся исследования по изучению этиологии, эпидемиологии и профилактики этой нейровирусной инфекции у детей.

Институтом периодически издаются сборники научно-практических работ по материалам проводимых конференций со специалистами санэпидслужбы и здравоохранения Уральского федерального округа.

За последние 15 лет сотрудниками института оформлены и изданы 6 монографий и 13 методических рекомендаций по актуальным аспектам вирусной патологии.

В институте подготовлены более 60 докторов и кандидатов наук, многие из которых работают в учреждениях санитарно-эпидемиологической службы, практического здравоохранения и Уральской государственной медицинской академии.

ОСНОВНЫЕ ИТОГИ ИССЛЕДОВАНИЙ, ПРОВОДИМЫХ В ЕКАТЕРИНБУРГСКОМ НИИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ ПО ПРОБЛЕМЕ ГРИППА И ДРУГИХ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

И.А. Мальчиков

*ФГУН «Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций» Роспотребнадзора,
г. Екатеринбург*

В 1960 г. приказом МЗ РСФСР № 453 институт в очередной раз был переименован. С этого времени он стал называться Свердловский НИИ вирусных инфекций с утверждением новой структуры научных подразделений. Среди них появился отдел респираторных вирусных инфекций (руководитель, к.м.н. Бурганский Б. Х.), состоящий из лаборатории гриппа (руководитель, к.м.н. Галитаров С. С.) и лаборатории аденовирусов (руководитель к.м.н. Мац-

кевич А.Л.) В 1968 году отдел преобразован в лабораторию респираторных вирусных инфекций, руководителем которой была до 1980 г. к.м.н. Гилева З.П., а с 1980 по 2002 г. д.м.н, профессор Слободенюк А.В.

Одним из основных направлений научно-исследовательской деятельности института была и остается проблема гриппа, гриппоподобных заболеваний, их профилактики и лечения. Это связано с тем, что и в современный период для науки и практики актуальны вопросы, связанные с эпидемиями гриппа и заболеваемостью респираторными инфекциями. Данные заболевания наносят существенный ущерб здоровью населения и экономике стран во всем мире. По оценкам ВОЗ, гриппом и респираторными заболеваниями ежегодно в мире болеют до 100 миллионов человек (от 5 до 30% населения земного шара). Эпидемии гриппа сопровождаются резким увеличением соматических заболеваний и ростом смертности среди групп риска. По данным Минздравсоцразвития РФ, экономические потери от гриппа и ОРВИ составляют в нашей стране 75%-86,0% (от всего ущерба, наносимого инфекционными болезнями) и в среднем составляют примерно 10,2 млрд. рублей. Величину ущерба, наносимого гриппом и гриппоподобными инфекциями населению и экономике любой страны, можно сравнить в совокупности с травматизмом, сердечно-сосудистыми заболеваниями и злокачественными новообразованиями.

В этих условиях чрезвычайно важным является осуществление регулярно контроля за инфекционной заболеваемостью, включающего проведение качественной лабораторной диагностики регистрируемых инфекций и их адекватной терапии. Важнейшим элементом, определяющим эффективность и результативность такого контроля в настоящее время, является использование современных молекулярно-биологических и молекулярно-эпидемиологических методов исследований, позволяющих оперативно установить этиологию, пути и факторы передачи инфекций, изучить на молекулярном уровне биологию их возбудителей и на этой основе управлять эпидемическим процессом, а также прогнозировать его возможное развитие.

Основными направлениями научной тематики в первые годы работы отдела, а затем лаборатории являлись: эпидемиолого-вирусологическая характеристика гриппа в эпидемические и межэпидемические периоды; изучение антигенного дрейфа гемагглютинина и нейраминидазы вирусов гриппа.

В процессе выполнения этих тем изучались вопросы прогнозирования эпидемий гриппа. Многолетнее комплексное изучение послепандемического гриппа (1947 г.) в Свердловске показало, что имеется ряд эпидемиолого-иммунологических особенностей гриппа типов А и В, позволяющих не только дифференцированно подходить к оценке эффективности противоэпидемических мероприятий, но и определять возможные сроки возникновения гриппозных эпидемий.

В результате проведенных исследований были сделаны следующие выводы:

- эпидемии гриппа типа А развиваются быстро, достигая наивысших суточных показателей заболеваемости на вторую неделю, а общая продолжительность обычно не превышает пяти недель, они значительно интенсивнее по

уровню заболеваемости населения, для вируса гриппа типа А характерна прогрессирующая изменчивость;

- эпидемии гриппа типа В имеют медленный затяжной характер развития, достигая пика лишь на 30 день, и менее интенсивные;

- возникновение этих эпидемий дает основание думать о 4-летней периодичности их чередования;

- уровень антител к вирусу гриппа типа В начинает нарастать еще до статистически выраженного подъема заболеваемости гриппом этого типа;

- эпидемии гриппа типа А и В имеют выраженные отличия по длительности и динамике развития, а также в интенсивности поражения населения, что позволяет не только дифференцировать их, но и правильно оценивать эффективность противоэпидемических мероприятий.

Установление 4-летней периодичности эпидемий гриппа типа В и особенностей динамики гуморального противогриппозного иммунитета населения имело важное прогностическое значение, позволившее в комплексе с вирусологическим и серологическим обследованием спорадических и групповых случаев заболеваний гриппом накануне эпидемического подъема своевременно проводить специфическую профилактику гриппа.

Была подтверждена вероятность повышения активности эпидемического процесса при гриппе по возникновению задолго до эпидемии этиологически однотипных вспышек-предвестников.

Сейчас это считается прописными истинами, но не потеряло своей актуальности.

Основываясь на исследованиях Э.А. Фридман (1964), А.А. Смородинцева, А.А. Коровина (1961), А.С. Горбуновой (1966), которые изучали закономерности в периодичности возникновения эпидемий гриппа, сотрудники лаборатории, по данным своих наблюдений, также подтвердили цикличность эпидемического процесса. При этом изменению антигенной структуры вируса было придано определяющее значение в генезе эпидемий. Вместе с тем отмечено, что наиболее резкие отличия в антигенной структуре вирусов, приводящие к появлению новых подтипов, происходят через 10-15 лет, что обосновывает необходимость полной замены штаммов, применяемых для производства гриппозных вакцин и диагностических препаратов.

Была установлена одновременная циркуляция различных вариантов вируса гриппа А(Н3N2). Качественно новое свойство эпидпроцесса гриппозной инфекции в преддверии и в периоды смены серотипа вируса выражалось в смешанной этиологии эпидемических подъемов гриппа и своеобразии развития течения эпидемий. Отмечена высокая интенсивность и продолжительность эпидемий, обусловленная доминирующим в эпидемии возбудителем вируса гриппа А(Н3N2).

Отмечено - изменение профиля ингибиторочувствительности предшествовало значительным изменением антигенной структуры вируса А3.

Таким образом, были получены данные, дающие возможность определить основные общие черты, характерные для эпидемических ситуаций 1947-1949, 1957-1959, 1968-1969 гг.:

- появление через 10-12 лет новых вариантов вируса гриппа типа А, резко отличающихся по антигенной структуре от ранее циркулирующих;
- глобальный в течение 2-3 лет характер их распространения;
- возможность возникновения при этом двух волн с интервалом 10-13 месяцев и охватом до 40% населения крупных городов;
- обращал на себя внимание необычно высокий удельный вес детей до 15 лет среди заболевших гриппом. После достижения пика заболеваемости возрастная структура заметно меняется в сторону преобладания среди заболевших взрослого населения.

Со времени выделения в 1957 г. первых штаммов вируса гриппа подтипа А2 в их антигенной структуре произошли значительные изменения. Благодаря исследованиям, проводимым в лаборатории, было установлено, что на протяжении 10 лет послепандемического периода прослеживалась постепенная изменчивость вирусов гриппа подтипа А2, которая привела к формированию нового «гонконгского» варианта.

Установлена этиология 3-х эпидемий гриппа, эпидемии гонконгского периода 1971-1972 гг и эпидемии, обусловленные новыми вариантами вируса гриппа А/Виктория/72 и А/Порт Чалмерз/73. Выявлено, что изменения антигенной структуры поверхностных антигенов вирусов гриппа шли по типу дрейфа, с утратой родства с вирусами А/Гонконг/1/68 и появлением новых антигенных характеристик, не свойственных вирусам гонконгского периода. По снижению гемагглютинирующей активности штаммов гонконгского типа в пределах одного эпидемического цикла свидетельствовало в пользу начала нового эпидемического цикла вируса гриппа подтипа А2.

Была изучена гетерогенность популяций штаммов вирусов гриппа типа А в межэпидемический и эпидемический периоды. Исследования с помощью методов гель-хроматографии на сефарозе и ультрацентрифугирования в градиенте плотности сахарозы установили, что популяции штаммов межэпидемического и эпидемического периодов неоднородны по инфекционной и гемагглютинирующей активности.

В популяции штаммов межэпидемического периода были выделены вирионы с одинаково высокой гемагглютинирующей и инфекционной активностью, но разной при этом плавучей плотностью и регистрировались в виде двух пиков.

В период эпидемического подъема заболеваемости наивысшие показатели инфекционной и гемагглютинирующей активности определялись в одном пике и наиболее активные вирусные частицы имели плавучую плотность 1,197 г/см³, характерную для стандартных вирионов. У эпидемических штаммов наблюдался сдвиг пика по ГА активности и удельной инфекционности в сторону более раннего появления, чем у штаммов межэпидемического периода.

Была установлена принципиальная возможность определения степени авидности ингибиторорезистентных штаммов вируса гриппа типа А, что необ-

ходимо в целях отбора высокоавидных вариантов вируса для приготовления гриппозных диагностикумов.

С помощью метода электрофореза с ПААГ была изучена сравнительная характеристика полипептида вновь появившегося в 1977 году штамма вируса А(H1N1). Молекулярная масса полипептида ГА1 была выше чем у других штаммов, циркулировавших ранее.

Метод изучения выделенных штаммов вирусов в ПААГ являлся ценным дополнением серодиагностики, т.к. давал дополнительную информацию о биологических свойствах вновь выделенных вирусов.

Были изучены биологические характеристики штаммов вируса гриппа типа А (адаптационные свойства, спектр чувствительности к ингибиторам нормальных сывороток, термоустойчивость гемагглютинина, способность агглютинировать эритроциты животных). Обнаружено резкое падение гемагглютинирующей активности вируса, снижение адаптационной активности из-за снижения эпидемической активности. Термоустойчивость гемагглютинина не претерпела изменений в сравнении с вирусами предыдущих лет – также снижалась в 8 раз при прогревании. «Техасоподобные» варианты активно взаимодействовали только в γ -ингибиторам, «бангкокоподобные» отличались выраженной чувствительностью к обоим видам ингибиторов γ и β . Предполагается, что новые варианты подтипа вируса гриппа типа А не сразу вытесняют существующие варианты, переход к преобладанию происходит постепенно.

Был апробирован метод повышения выделенности вируса гриппа на основе ультразвуковой обработки материала от больных.

Определялась устойчивость вируса гриппа к действию ультрафиолетового излучения и аэрозолей некоторых химических веществ, разработаны временные периоды, дозы облучения УФ и концентрации химических веществ, необходимые для полной инактивации вируса гриппа.

В 1970 -1975 гг. по теме «Изучение оптимальных условий изготовления флуоресцирующих антител к вирусам респираторной группы» была внедрена в практику технология серийного производства флуоресцирующих антител для иммунофлуоресцентной диагностики парагриппа и аденовирусной инфекции. Изучены оптимальные условия получения высокоактивных специфических антител к этим вирусам и получены типоспецифические иммуноглобулины к вирусам парагриппа и группоспецифические к аденовирусам, способные выявлять антигены 1-7 типов вируса.

По теме «Получение референс-сыворотки к респираторно-синцитиальному вирусу для реакции связывания комплемента» был разработан способ приготовления высокоактивного специфического эритроцитарного диагностикума, обеспечивающего активное выявление гемагглютинирующих антител у больных и реконвалесцентов в присутствии РС-вирусного антигена, адсорбированного на глутаринизированных эритроцитах.

Разрабатывались методические подходы к стандартизации флуоресцирующих антител. Предложен оригинальный универсальный метод, позволяющий получать самые разнообразные тест-препараты на основе стабилизированных

эритроцитов, дозировано нагруженных вирусными антигенами (с нагрузкой 1-2 тыс. вирионов гриппа типов А и В на 1 эритроцит). Предложенные тест-препараты являлись простой и удобной моделью, позволяющей достоверно оценивать красящую активность и специфичность противогриппозных флуоресцирующих антител, как в процессе производства, так и при диагностике.

На сессии АМН СССР была отмечена сложность проблемы вакцинопрофилактики гриппа и предложено углубить изучение клеточных и гуморальных факторов и механизмов противогриппозного иммунитета, изыскать пути регуляции иммунного ответа организма и способы повышения эффективности вакцин.

С учетом этих рекомендаций в 1979-1987г.г. выполнялись темы «Сравнительное изучение динамики формирования иммунологического ответа у доноров, привитых различными вакцинами против гриппа», «Влияние парентеральной иммунизации инактивированной вакциной против гриппа на функциональную активность клеточного и гуморального иммунитета», «Изучение реактогенности, безвредности и иммуногенной активности ИГЦВ у детей 7-15 лет», «Сравнительное изучение гомеостаза при иммунизации убитыми вакцинами против гриппа».

По первой теме изучалась реактогенность и иммуногенность живых гриппозных вакцин. Наблюдения установили, что наиболее выраженная реактогенность той или иной моновакцины наблюдалась при ее применении накануне этиологически однотипного эпидемического подъема гриппа. Несмотря на достаточно высокий инфекционный титр вакцинного вируса, приживаемость его оказалась ниже на 50%, предусмотренных производственным регламентом. Иммунологическая эффективность при 2-х кратном введении оказались ниже запланированной. Ревакцинация через год не имела преимуществ перед вакцинацией.

Показано, что применение живой или инактивированной вакцины требует выбора оптимальных схем их применения не только для максимального эффекта, но и в плане безопасности их использования (оценки их аллергенности, онкогенности, влияния на систему иммунитета). Обнаружено снижение показателей функциональной активности лимфоцитов у лиц старше 40 лет. Возможно, это связано с возрастным истощением пула циркулирующих Т-клеток.

При изучении применения живых и инактивированных противогриппозных вакцин для получения донорского иммуноглобулина было установлено, что многократное использование живой вакцины для иммунизации доноров вызывает существенное снижение функциональной активности тимусзависимой субпопуляции лимфоцитов, выражающейся в снижении способности образовывать Е-розетки и трансформироваться в бласты под влиянием ФГА. Была дана рекомендация воздержаться от иммунизации доноров старше 40 лет.

По второй теме были изучены иммуногенные свойства инактивированной хроматографической вакцины (ИХВ). В результате выполненных исследований показано, что ИХВ проявляет достаточно высокую эффективность лишь при двукратной иммунизации. В отличие от однократной иммунизации индуцирует более длительную циркуляцию клеток памяти, и дает возможность перерывов в

вакцинации лицам, двукратно привитым ИГВ. Двукратное введение вакцины вызывало более интенсивный синтез IgG; обнаружено увеличение сероконверсии у 100% повторно привитых людей; почти вдвое увеличивалось число лиц, у которых в сыворотках крови содержались в защитном титре ($1 > 40$) антитела к вирусу, вступившему в эпидемическую циркуляцию три года спустя после вируса, использованного для приготовления вакцины; двукратная иммунизация ИХВ сопровождалась достоверным увеличением интенсивности анамнестической реакции, более выраженным повышением титров антител к вирусам-предшественникам.

По третьей теме исследования выявили, что показатель реактогенности ИХВ равнялся нулю, вакцина была безвредна, не было выявлено достоверных изменений в составе крови, мочи. Она обладала высокой иммуногенной активностью, вызывала у серонегативных детей в возрасте 7-10 лет сероконверсии в 85-93%, в возрасте 11-15 лет – в 75,7-68,6% случаев.

Одновременно изучены специфические и неспецифические методы защиты детей от гриппа и ОРВИ и возможность иммунокорректирующей терапии у больных с вторичными иммунодефицитами. Установлена возможность иммунотерапии Тактивином острой гриппозной инфекции и вторичных иммунодефицитов у детей с бронхо-легочной патологией.

По четвертой теме проведенные исследования показали, что формирование противовирусной резистентности к гриппу в результате вакцинации происходит при активном участии Т- и В-систем иммунитета. Этим объясняются особенности перестройки В-системы иммунитета у лиц, привитых различными по качественным и количественным характеристикам вакцинами. Изучение перестройки Т-системы иммунитета выявило выраженное уменьшение относительного и абсолютного количества тимусзависимых лимфоцитов в периферической крови, которое объясняется антигенобусловленной регуляцией тимусом процессов миграции иммунокомпетентных клеток.

В 1984-1987 гг. по теме «Изучение эпидемиологии гриппа на фоне комплексной профилактики в условиях крупного промышленного города» выявлены следующие:

В эпидемиологии гриппа в нашей стране и в мире в целом наблюдались существенные изменения. Если до 1977 года в мире постоянно регистрировались эпидемии гриппа, то в последующие периоды региональные центры не могли зафиксировать развитие эпидемий в какой либо стране мира. В результате этого классическая теория о непрерывности эпидемического процесса при гриппе оказалась недостаточно убедительной. Не исключено, что одной из причин этого явления может служить активная иммунизация населения против гриппа.

Наблюдаемый период характеризовался ежегодными подъемами заболеваемости гриппом, снижением интенсивности эпидемий, умеренной изменчивостью вируса гриппа подтипа А3 и существенным дрейфом штаммов вируса гриппа подтипа А1. Создавались условия для распространения не только старых вариантов, вследствие разной напряженности иммунитета населения, но и

новых. Названные факторы лежали в основе активности эпидпроцесса – ежегодных подъемов заболеваемости гриппом. В то же время превалирование в циркуляции штаммов, аналогичных вирусам прошлых лет, способствовало поддержанию устойчивости уровня иммунитета у населения, что ограничивало интенсивность эпидемий.

Была представлена характеристика эпидемического процесса гриппа и ОРЗ в условиях массовой комплексной профилактики

Комплексная профилактика против гриппа ИГХВ и химиопрепаратами показала, что эффективность вакцины была выше в группе лиц, которые болеют ОРВИ два и более раз в течение года, чем в группе лиц, редко болеющих респираторными заболеваниями. Получены положительные результаты при защите от гриппа лиц, состоящих на диспансерном учете. ИЭ = 1,8. Экстренная профилактика гриппа ремантадином позволила снизить заболеваемость среди лиц, принимавших препарат самостоятельно в 1,3 раза, а в группе лиц, которым его выдавали в столовой ежедневно в третьем блюде – в 1,5 раза по сравнению с контролем.

Наблюдения, проведенные среди рабочих промпредприятий показали, что на первичное введение ИГВ в организме привитых происходит активная иммунологическая прослойка в результате чего удельный вес лиц с защитным титром антител после прививки составлял более 80%.

После третьей прививки количество сероконверсий к вирусам иммуногенам уменьшилось среди серонегативных лиц на 50%, среди серопозитивных в 9-13 раз.

Наблюдения свидетельствуют, что если после 3-кратной вакцинации ИГВ делать перерыв в течении года и снова привить этой же вакциной, то количество сероконверсий среди серонегативных лиц повышается с 6% до 24%, а среди всех привитых до 46%. У многократно привитых также возрастало количество средних и сильных реакций местного типа до 3,3%. После проведения перерыва показатели реактогенности не превышали величин допустимых регламентом.

В разные периоды (1995-2002 и 2008-2009 гг.) по направлению – «Совершенствование тактики профилактики респираторных вирусных инфекций» исследовались био- и химиопрепараты (эраконд, продигозан, ридостин и имунорикс).

В частности, анализ полученных результатов позволил положительно оценить действие фитопрепарата эраконда при экспериментальной гриппозной инфекции. В контролируемых наблюдениях при использовании выбранных критериев оценки состояния инфицированных животных выявлено, что фитопрепарат оказывал стимулирующее влияние на противовирусный клеточный иммунитет, увеличивая продукцию лимфокина сенсibilизированными вирусом гриппа лимфоцитами в 1,5 раза; проявлял активизирующее влияние на неспецифические факторы резистентности организма, увеличивая фагоцитарный показатель в 1,8 раза, а спленоцит-индекс и адгезивную способность перитонеальных макрофагов - в 1,9 раза.

Все вышеперечисленное позволило положительно оценить фитопрепарат в плане применения его для профилактики и лечения гриппа и других ОРВИ.

Результаты исследований по сравнительной оценке эффективности методов специфической, экстренной неспецифической и комбинированной защиты детей от гриппа и ОРВИ свидетельствовали о реальной возможности широкого применения фитопрепарата эраконд в качестве как самостоятельного средства для экстренной неспецифической профилактики этих инфекций, так и для дополнительной защиты привитых гриппозной вакциной детей.

При иммунологическом обследовании детей, часто болеющих респираторными вирусными инфекциями, было установлено, что использование фитопрепарата эраконд в комплексе с терапевтическими средствами способствовало статистически достоверному увеличению В-лимфоцитов до 12% и Т-лимфоцитов до 45%, а также приведению к нормальным показателям общего количество лимфоцитов, уровня IgE и иммунорегуляторного индекса. Дети, получавшие эраконд, находились в стационаре в среднем на 5 дней меньше, чем дети контрольной группы.

У беременных женщин с частыми ОРЗ функциональная активность иммунной системы такова, что могут создаваться условия для отторжения плода в случае внутриутробного заражения последнего респираторными вирусами. Выявленная у них иммунологическая недостаточность функционального характера, выражающаяся в дисфункции клеточных параметров иммунной системы, позволила рекомендовать применение иммуностропного средства эраконда.

Применение другого препарата - имунорикса у детей, часто болеющих респираторными заболеваниями, также дало положительный клинико-иммунологический и опосредованный противовирусный эффект при проведении реабилитационных мероприятий. Он выражался в сокращении длительности заболевания, уменьшении его тяжести, выраженности симптомов инфекций верхних дыхательных путей и ЛОР органов, потребности в приеме антибиотиков.

В период 2006-2010 гг. выполнялись и в последующие годы планируется продолжение исследований, направленных на СИСТЕМНЫЙ АНАЛИЗ РАЗВИТИЯ ЭПИДПРОЦЕССА ГРИППА И ОРВИ В УСЛОВИЯХ МЕГАПОЛИСА:

- ежегодные серовирусологические исследования, входящие в систему эпиднадзора за гриппом и другими ОРВИ в мегаполисе (г. Екатеринбург);
- мониторинг циркуляции вирусов гриппа в эпидемические и межэпидемические периоды;
- проведение молекулярно-генетического анализа вирусов гриппа, выделяемых от больных респираторными инфекциями (секвенирование участков сегментов вирусов с подбором праймеров, описание транскрипции генома и генных РНК-сегментов) и т.д.