

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ РЕАССОРТАНТНОГО ШТАММА ВИРУСА ГРИППА А/17/НИДЕРЛАНДЫ/00/84 (Н7N3) ДЛЯ ЖИВОЙ ГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНЫ

Вирусы гриппа подтипа Н7 постоянно циркулируют в популяции диких птиц и часто являются причиной массовых заболеваний среди домашней птицы, при этом приобретая свойства повышенной патогенности в результате дополнительной адаптации. К настоящему времени зарегистрировано несколько случаев заражения вирусом подтипа Н7N7 людей, в том числе один со смертельным исходом [1]. И хотя основной частью заболевших были работники фермерских хозяйств и люди, непосредственно контактировавшие с птицами, это не уменьшает необходимости разработки полноценной вакцины для защиты человека. В связи с этим в отделе вирусологии ГУ НИИЭМ РАМН подготовлен реассортантный вакцинный штамм А/17/Нидерланды/00/84(Н7N3) с использованием в качестве источника поверхностных антигенов апатогенного вируса птичьего гриппа А/дикая утка/Нидерланды/12/2000 (Н7N3). 6 генов внутренних и неструктурных белков реассортанта были унаследованы от безвредного для человека холодоадаптированного (ХА) донора аттенуации А/Ленинград/134/47/57(Н2N2) [2].

Цель работы — оценка биологических свойств штамма А/17/Нидерланды/00/84(Н7N3) на чувствительных моделях гриппозной инфекции.

Показано, что реассортант проявлял высокую урожайность при оптимальной температуре инкубации в куриных эмбрионах (9,6 lg ЭИД50/мл). Подобно ХА донорскому штамму реассортант А/17/Нидерланды/00/84(Н7N3) хорошо репродуцировался при пониженной до 25–26°C температуре и практически утратил способность к размножению при 40°C, то есть проявлял свойства температурочувствительности и холодовой адаптации.

Методом ОТ-ПЦР рестрикционного анализа проведена проверка генетической стабильности указанного реассортанта после 4-х и 5-ти пассажей в куриных эмбрионах. Анализ подтвердил сохранность всех мутаций во «внутренних» генах реассортанта, характерных для штамма А/Ленинград/134/17/57.

Прививочные свойства реассортанта изучали на модели мышей линии BALB/c в возрасте 10–12 недель. Животным под легкой анестезией интраназально вводили 50 мкл аллантоисной жидкости с содержанием 10^6 ЭИД50 реассортантного вируса или одного из родительских штаммов. На третьи сутки после заражения средний титр реассортанта в носовых ходах мышей (по показателям титрования суспензии органов в развивающихся куриных эмбрионах) составил 3,7 lgЭИД50/мл. При этом оказалось, что реассортант, подобно ХА родительскому штамму, практически полностью утратил способность размножаться в лёгких (показатели были ниже границ чувствительности метода), в отличие от дикого вируса, который даже без предварительной адаптации репродуцировался в лёгких до титров в 6,4 lgЭИД50/мл.

Иммуногенность штамма определяли через 4 недели после его интраназального введения в реакции торможения гемагглютинации (РТГА), тесте микронеutralизации (РН) и иммуноферментном анализе (ИФА) с сыворотками крови иммунизированных животных. Однократное введение реассортантного штамма вызывало сероконверсии антигемагглютинирующих и нейтрализующих вирус-специфических антител в среднегеометрических титрах 8,7 и 20,0, при показателях контрольной группы 5,0. Средний титр поствакцинальных сывороточных IgG по результатам ИФА составил 2,7 lg.

Таким образом было показано, что реассортантный штамм А/17/Нидерланды/00/84 на основе апатогенного птичьего вируса подтипа Н7N3 является холодоадаптированным, генетически стабильным и аттенуированным для мышей. Несмотря на отсутствие

репродукции в легких мышей, реассортант вызывал образование специфических сывороточных антител при однократном интраназальном введении.

ЛИТЕРАТУРА:

1. R.A.Fouchier, P.M.Schneeberger, F.W.Rozendaal et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2004. - Vol.101. - P.857-860.
2. J.A.Desheva, L.G.Rudenko, A.R.Rekstin, et al. Proc. Options for the control of Influenza VI/ Toronto, Canada. – 2007. – P289.