

УДК 577.112

О.А.Федорова (6 курс, каф. ФХБК), В.В.Зарубаев, к.б.н., зав. лаб. (НИИ Гриппа РАМН)

УСТОЙЧИВОСТЬ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ШТАММОВ ВИРУСА ГРИППА К ХИМИОПРЕПАРАТАМ

На данный момент существует два способа борьбы с гриппом: вакцинопрофилактика и химиотерапия, но несмотря на успехи в создании вакцин и химиопрепаратов, ежегодно эпидемии гриппа охватывают страны и континенты. За последние годы значительно улучшилось качество вакцинных препаратов, но гриппозные вакцины имеют недостатки, к которым, прежде всего, относятся: узкий диапазон защитного действия и необходимость ежегодного обновления штаммового состава. Химиотерапия вирусных инфекций – быстро развивающаяся область медицины. Однако широкое применение противовирусных препаратов зачастую приводит к возникновению субпопуляций, резистентных к действию антивирусных агентов. Именно поэтому мониторинг лекарственной резистентности – важное составляющее звено эпидемиологического контроля за вирусом гриппа.

Целью данной работы являлось разработка критериев устойчивости вирусов гриппа к химиопрепаратам и характеристика при помощи этих критериев чувствительности к противовирусным препаратам клинических изолятов вируса гриппа эпидемического сезона 2004 – 2005 г.г.

Для работы использовали вирусы гриппа А из коллекции вирусных штаммов НИИ гриппа РАМН, относящиеся к различным антигенным подтипам (H1N1 и H3N2). В работе использовали препараты: арбидол, гриппферон, ремантадин. Для культивирования модельных штаммов вирусов гриппа использовали куриные эмбрионы. Для культивирования циркулирующих штаммов вирусов гриппа использовали культуру клеток MDCK. Для изучения чувствительности модельных штаммов к ремантадину проводили титрование инфекционной активности вирусов на кусочках хорионаллантоисной оболочки (ХАО) куриных эмбрионов. При определении противовирусного действия препарата в отношении циркулирующих штаммов вируса гриппа использовали культуру клеток MDCK.

Данные по действию ремантадина на репликацию модельных вирусов гриппа представлены в табл. 1.

Таблица 1. Снижение титра модельных вирусов гриппа в присутствии ремантадина.

Штаммы вируса	Снижение титра вируса (lg ЭИД ₅₀)* в присутствии ремантадина, мкг/мл		
	3	10	20
A\PR\8\34 (H1N1)	0	0.5	3
A\Panama\2007\99 (H3N2)	2.5	4	н/о**
A \Чита\R (H3N2)	0.5	0.5	2
A\Чита\3\03 (H3N2)	1.5	2	2
A\Duck\Singapore (H5N2)	2.5	2	н/о
A\New Caledonia\20\99 (H1N1)	0.5	1	н/о

* Представленные в таблице величины являются средним из 3-х экспериментов для каждого вируса.

** Не определяли.

В настоящее исследование были взяты модельные штаммы вирусов с заведомо известными данными, в том числе и чувствительностью к ремантадину. Полученные

результаты согласуются с известными характеристиками вирусных штаммов, что позволяет использовать показатели снижения инфекционного титра вируса в присутствии ремантадина в концентрации 3 мкг/мл для изучения чувствительности или устойчивости изолятов вируса гриппа к этому препарату. Показано, что инфекционный титр ремантадин-чувствительных штаммов в присутствии ремантадина в концентрации 3 мкг/мл снижается больше, чем на 1 lg ЭИД₅₀, тогда как инфекционность устойчивых штаммов при тех же условиях уменьшается на 1 lg ЭИД₅₀ и меньше (табл. 2).

Таблица 2. Снижение титра современных эпидемических вирусных изолятов в присутствии ремантадина, гриппферона, арбидола.

Штаммы вирусов	Снижение титра вируса (lg ЭИД ₅₀) в присутствии препарата								
	Ремантадин, мкг/мл			Гриппферон, МЕ/мл			Арбидол, мкг/мл		
	1	3	10	1000	500	250	12,5	5	2,5
А/Санкт-Петербург/103/05 (H1N1)	0	0,5	1	4,5	1,5	1	н/о	н/о	н/о
А/Красноярск/48/05 (H1N1)	1	1	1	4,5	1,5	0	1	0,5	0,5
А/Новосибирск/5/05 (H1N1)	2	2	3	2	0,5	0	0	0	0
А/Новосибирск/4/05 (H1N1)	3	4,5	4,5	н/о	н/о	н/о	3,5	1	0,5
А/Красноярск/18/05 (H1N1)	3	3	н/о	4,5	4,5	3	н/о	н/о	н/о
А/Панама/2077/99 (H3N2)	н/о	н/о	н/о	1	1	0	1,5	1	0
А/PR\8\34 (H1N1)	0	0,5	1	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о

Полученные результаты использованы для определения спектра чувствительности к ремантадину современных эпидемических вирусных изолятов, полученных на территории России (Красноярск, Санкт-Петербург, Новосибирск).

Таким образом, в работе получены следующие основные результаты.

1. Определены критерии устойчивости вирусов гриппа к химиопрепаратам – ремантадину, арбидолу и гриппферону. Показано, что определяющей для ремантадина является концентрация 3 мкг/мл, арбидола – 5 мкг/мл, гриппферона – 500 МЕ/мл. Инфекционный титр устойчивых к препаратам вирусов снижался при этих концентрациях менее чем на 1 lg ЭИД₅₀, чувствительных – на 1 lg ЭИД₅₀ и более.

2. Исследованные штаммы вируса гриппа (модельные и циркулирующие) проявляют различную чувствительность к химиопрепаратам – от высокой чувствительности до полной устойчивости.

3. Полученные данные служат основанием для более широкого внедрения анализа чувствительности вирусов к противогриппозным препаратам в практику слежения за гриппом.