

В.Ю.Марченко¹, И.М.Суслопаров¹, Н.Ю.Сапронова¹, Н.И.Гончарова¹, Н.П.Колосова¹, В.А.Евсеев¹,
С.В.Святченко¹, О.Г.Пьянкова¹, В.Б.Зиятдинов², О.С.Лиманская³, С.Д.Джамбинов³, Г.Л.Шендо⁴,
В.Н.Михеев¹, Р.А.Максютов¹, А.Б.Рыжиков¹

АНАЛИЗ ШТАММОВ ВИРУСА ГРИППА H5N8, ВЫЗВАВШИХ ВСПЫШКИ В РОССИИ В 2016–2017 гг.

¹ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», п. Кольцово; ²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан», Казань; ³ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Калмыкия»; ⁴ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Астраханской области», Астрахань, Российская Федерация

Цель работы. Изучение биологических характеристик штаммов вируса гриппа, вызвавших вспышки в России в 2016–2017 гг. **Материалы и методы.** Исследования выполнены с использованием современных вирусологических и молекулярно-биологических методов анализа на современном оборудовании. **Результаты и выводы.** В 2016 г. на территории Российской Федерации зарегистрированы вспышки среди диких и домашних птиц, вызванные высокопатогенным вирусом гриппа H5N8-субтипа. В мае 2016 г. зафиксирована гибель диких птиц на территории Республики Тыва. В октябре–ноябре 2016 г. вирус H5N8 выделен на территории республик Татарстан, Калмыкия в Краснодарском крае и Астраханской области. В 2017 г. вирус гриппа H5N8 широко распространился в Европейской части России, где вызвал вспышки среди диких и домашних птиц. Результаты исследования выделенных штаммов показали, что все они являются высокопатогенными и относятся к генетической кладе 2.3.4.4. Молекулярно-генетический и вирусологический анализ выявил различия между штаммами 2016–2017 гг. и штаммом той же клады, циркулировавшим в России в 2014 г.

Ключевые слова: вирус гриппа птиц, вспышка, H5N8, Российская Федерация.

Корреспондирующий автор: Марченко Василий Юрьевич, e-mail: marchenko_vyu@vector.nsc.ru.

V.Yu.Marchenko¹, I.M.Susloparov¹, N.Yu.Sapronova¹, N.I.Goncharova¹, N.P.Kolosova¹, V.A.Evseenko¹,
S.V.Svyatchenko¹, O.G.P'yankova¹, V.B.Ziatdinov², O.S.Limanskaya³, S.D.Dzhambinov³, G.L.Shendo⁴,
V.N.Mikheev¹, R.A.Maksyutov¹, A.B.Ryzhikov¹

Characterization of Avian Influenza H5N8 Virus Strains That Caused the Outbreaks in the Russian Federation in 2016–2017

¹State Scientific Center of Virology and Biotechnology «Vector», Kol'tsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation; ²Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Tatarstan, Kazan, Russian Federation; ³Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Kalmykia, Elista, Russian Federation; ⁴Center of Hygiene and Epidemiology in the Astrakhan Region, Astrakhan, Russian Federation

Objective of the study is to investigate biological properties of avian influenza virus strains that caused the outbreaks in Russia in 2016–2017. **Materials and methods.** The study was performed using advanced virological and molecular-biological methods in state-of-the-art equipment. **Results and conclusion.** In 2016, the outbreaks among wild birds and poultry caused by highly pathogenic avian influenza H5N8 virus have occurred in the territory of the Russian Federation. In May, 2016 an outbreak of H5N8 among wild birds was registered in the territory of the Republic of Tyva. In October–November, 2016 influenza virus H5N8 was isolated in the territory of the Republics of Tatarstan and Kalmykia, Krasnodar and Astrakhan Regions of Russia. In 2017 avian influenza H5N8 has become widespread in European part of Russia and caused multiple outbreaks among wild birds and poultry. Results of the investigations of the isolated strains show that all of them are highly pathogenic and belong to the clade 2.3.4.4. Molecular-genetic and virological analysis has revealed the differences between the viruses isolated in 2016–2017 and the virus of the same clade 2.3.4.4 that was isolated in 2014.

Keywords: avian influenza virus, H5N8 outbreak, Russian Federation.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Corresponding author: Vasily Yu. Marchenko, e-mail: marchenko_vyu@vector.nsc.ru.

Citation: Marchenko V.Yu., Susloparov I.M., Sapronova N.Yu., Goncharova N.I., Kolosova N.P., Evseenko V.A., Svyatchenko S.V., P'yankova O.G., Ziatdinov V.B., Limanskaya O.S., Dzhambinov S.D., Shendo G.L., Mikheev V.N., Maksyutov R.A., Ryzhikov A.B. Characterization of Avian Influenza H5N8 Virus Strains That Caused the Outbreaks in the Russian Federation in 2016–2017. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2017; 3:68–74. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2017-3-68-74

На сегодняшний день новый вариант высокопатогенного вируса гриппа H5N8 клады 2.3.4.4 представляет серьезную угрозу сельскому хозяйству, а также общественному здравоохранению. Это обусловлено высокой вирулентностью данных штаммов для некоторых видов животных, которая показана в ряде исследований [3, 4, 7, 12]. Впервые возникнув в 2010 г. в Китае [15], вирусы данной клады широко

распространились, став причиной вспышек среди диких и домашних птиц в различных регионах мира. Показано, что в 2014 г. вирус гриппа H5N8 циркулировал в Юго-Восточной Азии, а затем занесен в Европу и Северную Америку с дикими птицами, использующими пути миграции, проходящие через территорию Российской Федерации [8, 11]. Это подтверждено исследованием выделенного на Дальнем

Востоке России штамма A/wigeon/Sakha/1/2014 (H5N8) [5]. Изучение биологических свойств данного вируса показало, что он являлся высокопатогенным и имел высокую степень идентичности со штаммами, циркулирующими в Европе и Юго-восточной Азии. После широкого распространения в 2014 г., вирус гриппа H5N8 продолжил циркулировать и к началу 2016 г., по данным ОИЕ, вспышки H5N8 продолжали регистрироваться в Корее и Тайване [13]. Нами высказано предположение о возможном повторном выделении вируса гриппа H5N8 в некоторых регионах России [1]. Наша гипотеза получила подтверждение, когда в мае 2016 г. H5N8 появился на территории Республики Тыва. В ходе мониторинга вируса гриппа птиц на территории Республики Тыва в мае 2016 г. зафиксирована гибель диких птиц. Из биологического материала, взятого от погибших птиц, выделено несколько штаммов вируса гриппа. В результате типирования определена принадлежность данных штаммов к субтипу H5N8 вируса гриппа. Затем вирус гриппа H5N8 распространился на запад и в конце 2016 г. стали поступать сообщения о вспышках вируса гриппа H5N8 в европейской части России. Целью данной работы является изучение биологических характеристик штаммов вируса гриппа, вызвавших вспышки в России в 2016–2017 гг.

Материалы и методы

Биологический материал от птиц представлен мазками из клоаки и трахеи, а также фрагментами внутренних органов. Выделение вируса гриппа осуществлялось на 9-дневных развивающихся куриных эмбрионах (РКЭ), путем инокулирования образцов в аллантоисную полость эмбриона и культивирования в течение трех суток. Аллантоисная жидкость тестировалась на наличие вируса гриппа в реакции гемагглютинации с использованием 0,5 % суспензии эритроцитов петуха, а также методом ПЦР в реальном времени. Антигенные свойства изучали в реакции торможения гемагглютинации с использованием 0,5 % суспензии эритроцитов лошади. Использовали референс-антигены и сыворотки хорьков, полученные от Dr. R. Webby, St. Jude Children's Research Hospital (Мемфис, США), а также сыворотки хорьков, полученные на штаммы вируса гриппа H5, ранее циркулировавшие в России.

Выделение РНК из аллантоисной жидкости осуществлялось с помощью набора «АмплиПрайм РИБО-сорб» (ООО «НекстБио», Россия) согласно инструкции производителя. Для обратной транскрипции использовали универсальные праймеры Uni12 и RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific, США).

Типирование и субтипирование вируса гриппа проведено с использованием наборов «АмплиСенс Influenza virus A/B-FL», «АмплиСенс Influenza virus A H5N1-FL» и «АмплиСенс Influenza virus A-тип-H5, H7, H9-FL» (ФГУН «ЦНИИ эпидемио-

логии» Роспотребнадзора) согласно инструкции производителя.

С целью получения первичной структуры генома вируса проведена ПЦР с использованием праймеров, специфичных к определенным участкам каждого гена, а также реакционной смеси DreamTaq PCR Master Mix (Thermo Scientific, США). Выделение ампликонов из агарозного геля проводилось при помощи набора QIAquick gel extraction kit (Qiagen, США). Полногеномное секвенирование новых вирусов гриппа проведено по технологии Illumina с использованием MiSeq reagent kit v3 (Illumina, San Diego, США). Филогенетический анализ проводили с использованием программы MEGA 6 методом maximum likelihood со 100 bootstrep повторами. В работе использовали нуклеотидные последовательности генов вирусов гриппа, опубликованные в базе данных GISAID FluSurver (<http://flusurver.bii.a-star.edu.sg>).

Для определения вирулентности штаммов вируса гриппа использовали мышей линии Balb/c, самок, с массой тела 14–16 г, полученных из питомника ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». Животных заражали интраназально десятикратными разведениями вирусосодержащей аллантоисной жидкости. Перед проведением заражения мышей наркотизировали с использованием углекислого газа. Определение значений 50 % летальных (ЛД₅₀) и инфицирующих (ИД₅₀) доз проводили с использованием компьютерной программы Probit.

Для получения сывороток крови хорьков использовали животные, полученные из питомника ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». Хорьков инфицировали интраназально, усыпленных под воздействием углекислого газа. Через 21 день у животных брали кровь. Полученную сыворотку крови перед постановкой реакции торможения гемагглютинации в течение 18 ч обрабатывали RDE (receptor destroying enzyme) для удаления неспецифических термостабильных ингибиторов, затем прогревали на водяной бане при 56 °С для удаления неспецифических термолабильных ингибиторов.

Результаты и обсуждение

В 2016–2017 гг. зафиксирован ряд вспышек среди диких и домашних птиц на территории России. В ходе мониторинга вируса гриппа птиц на территории Республики Тыва в мае 2016 г. зафиксирована гибель диких птиц. На озере Убсу-нур найдены трупы видов Серая цапля (*Ardea cinerea*), Чомга (*Podiceps cristatus*), Озерная чайка (*Larus ridibundus*), Крачка (*Sterna hirundo*) и один неопределенный вид дикой утки. Из биологического материала, взятого от погибших птиц, выделено несколько штаммов вируса гриппа. В результате типирования определили принадлежность данных штаммов к субтипу H5N8 вируса гриппа. Затем, в октябре 2016 г., вирус гриппа H5N8 выделили от дикой утки в ходе мониторинга на территории Республики Татарстан. В ноябре 2016 г.

Биологические свойства вирусов гриппа H5-субтипа

Штамм	Субтип	Титр в РКЭ, log ₁₀ ЭИД ₅₀	Balb/c интраназальная ИД ₅₀ , log ₁₀ ЭИД ₅₀	Balb/c интраназальная ЛД ₅₀ , log ₁₀ ЭИД ₅₀	Чувствительность к занамивиру/ озельтамивиру IC ₅₀ нМ
Ранее выделенные штаммы					
A/rook/Chany/32/2015 GISAID ID: EPI_ISL_193362	H5N1	8,7±0,4	1,9±0,4	2,9±0,8	29,9/32,9
A/wigeon/Sakha/1/2014 GISAID ID: EPI_ISL_169427	H5N8	6,2±0,5	2,9±0,4	4,1±0,4	0,05/0,1
Исследуемые штаммы					
A/great crested grebe/Tyva/34/2016 GISAID ID: EPI_ISL_230820	H5N8	9,3±0,3	1,7±0,5	2,3±0,5	1,0/0,7
A/wild duck/Tyva/35/2016 GISAID ID: EPI_ISL_231684	H5N8	7,9±0,4	1,9±0,6	н.д.	1,4/0,8
A/wild duck/Tatarstan/3059/2016 GISAID ID: EPI_ISL_247724	H5N8	8,6±0,4	н.д.	н.д.	0,58/0,29
A/chicken/Kalmykia/2643/2016 GISAID ID: EPI_ISL_247725	H5N8	7,6±0,4	2,0±0,4	2,9±0,6	0,60/0,28
A/chicken/Astrakhan/3131/2016 GISAID ID: EPI_ISL_240110	H5N8	8,4±0,5	1,9±0,4	2,4±0,5	0,59/0,28
A/goose/Krasnodar/3144/2017 GISAID ID: EPI_ISL_247722	H5N8	8,2±0,4	1,9±0,4	2,4±0,5	0,98/0,57
A/mute swan/Krasnodar/25/2017 GISAID ID: EPI_ISL_247723	H5N8	9,0±0,5	2,7±0,3	н.д.	0,91/0,47
A/turkey/Rostov/11/2017 GISAID ID: EPI_ISL_247721	H5N8	8,0±0,5	2,1±0,4	2,9±0,6	0,48/0,42
A/ural owl/Voronezh/14/2017 GISAID ID: EPI_ISL_247716	H5N8	8,6±0,4	2,2±0,4	3,3±0,4	1,25/0,69
A/chicken/Sergiyev Posad/38/2017 GISAID ID: EPI_ISL_256299	H5N8	8,6±0,4	2,2±0,4	2,9±0,5	н.д.

вирус гриппа выделен на территории Республики Калмыкия, где отмечалась гибель домашних кур на частных подворьях. В это же время зарегистрирована вспышка вируса гриппа на птицефабрике «Харабалинская», г. Харабали Астраханской области. Впоследствии вирус гриппа H5N8 широко распространился в Европейской части России [13]. С декабря 2016 до апреля 2017 года вспышки регистрировались среди диких и домашних птиц в Краснодарском крае и Ростовской области. Следует особо отметить гибель птиц из коллекции зоопарка Воронежа, которая отмечена в январе 2016 г. В марте 2016 г. вспышки отмечены в нескольких регионах Московской и Калининградской областей. Нами изучены биологические свойства нескольких штаммов, вызвавших вспышки, и сравнены со штаммами H5 субтипа ранее выделенными в России (табл. 1).

При титровании на РКЭ изученные штаммы показали высокую степень репродукции. Титр вируса в аллантоисной жидкости находился в диапазоне от 7,6 до 9,3 log₁₀ ЭИД₅₀/мл. Несмотря на различия в титрах между штаммами H5N8 2016–2017 гг., все они оказались более инфекционными для РКЭ, чем штамм A/wigeon/Sakha/1/2014 H5N8, выделенный в 2014 г. в России. Для всех штаммов определено наличие аминокислотной последовательности REKRRKR*GL в сайте протеолитического расщепления гемагглютинина, что характерно для высокопатогенных штаммов вируса гриппа.

Изученные штаммы показали высокую степень вирулентности для мышей. При интраназальном заражении мышей линии Balb/c показатель ИД₅₀ находился в диапазоне 1,7–2,7 log₁₀ ЭИД₅₀. Также для штаммов определили значения летальной дозы (ЛД₅₀), которые составили 2,3–3,3 log₁₀ ЭИД₅₀. Показатели вирулентности для изученных штаммов также были выше, чем у штамма A/wigeon/Sakha/1/2014 H5N8 и оказались сопоставимы с показателями у штаммов H5N1, циркулировавших в России в 2015 г. Все изученные штаммы чувствительны к действию противовирусных препаратов – ингибиторов нейраминидазы озельтамивира и занамивира, что было продемонстрировано флуоресцентным методом измерения ингибирования нейраминидазы (Fluorometric Neuraminidase Inhibition Assay).

Накопление новых вирусов гриппа в культуре клеток MDCK ингибировалось в присутствии интерферона альфа, однако штаммы вируса гриппа птиц A/great crested grebe/Tyva/34/2016, A/wild duck/Tyva/35/2016, A/chicken/Kalmykia/2643/2016, A/chicken/Astrakhan/3131/2016 в культуре клеток A549 ингибировали индукцию эндогенного интерферона, что, вероятно, является одной из причин усиления вирулентности при заражении млекопитающих.

Результаты исследования антигенных свойств выделенных вирусов показали, что изучаемые штам-

Результаты РТГА со штаммами вируса гриппа H5-субтипа

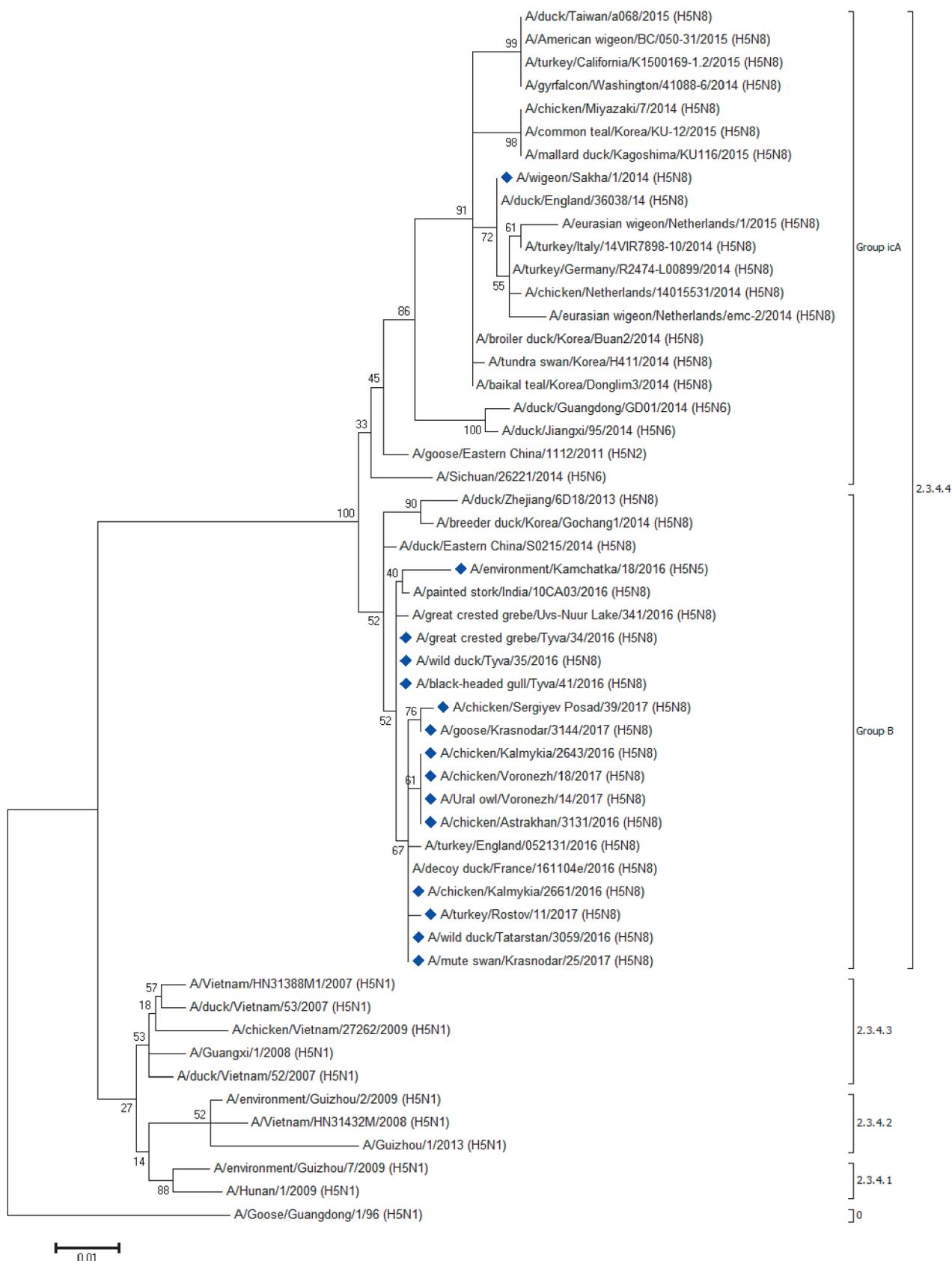
Штамм	Субтип	Клада	Сыворотка						
			A/rook/Chany/32/2015	A/duck/England/36254/2014	A/Nothorn Pintail/WA/40964/2014	A/Sichuan/26221/2014-RG42A	A/gyrfalcon/WA/41088/2014-RG43A	A/great crested grebe/Tuva/34/2016	A/wigeon/Sakha/1/2014
			2.3.2.1c	2.3.4.4	2.3.4.4	2.3.4.4	2.3.4.4	2.3.4.4	2.3.4.4
Референс антигены									
A/rook/Chany/32/2015	H5N1	2.3.2.1c	320	<20	160	<20	<20	640	<20
A/duck/England/36254/2014	H5N8	2.3.4.4	<20	1280	5120	5120	640	1280	1280
A/Nothorn Pintail/WA/40964/2014	H5N2	2.3.4.4	<20	1280	5120	5120	640	1280	640
A/Sichuan/26221/2014 RG42A	H5N6	2.3.4.4	<20	640	5120	5120	320	640	320
A/gyrfalcon/WA/41088/2014 RG43A	H5N8	2.3.4.4	<20	1280	5120	5120	1280	1280	1280
A/great crested grebe/Tuva/34/2016	H5N8	2.3.4.4	<20	640	5120	5120	320	640	320
A/wigeon/Sakha/1/2014	H5N8	2.3.4.4	<20	1280	2560	5120	640	1280	1280
Тестируемые антигены									
A/wild duck/Tuva/35/2016	H5N8	2.3.4.4	<20	320	5120	5120	640	320	320
A/wild duck/Tatarstan/3059/2016	H5N8	2.3.4.4	<20	640	5120	5120	320	640	640
A/chicken/Kalmykia/2643/2016	H5N8	2.3.4.4	<20	320	2560	1280	320	320	160
A/chicken/Astrakhan/3131/2016	H5N8	2.3.4.4	<20	640	5120	5120	320	640	640
A/goose/Krasnodar/3144/2017	H5N8	2.3.4.4	<20	640	5120	5120	320	640	640
A/mute swan/Krasnodar/25/2017	H5N8	2.3.4.4	<20	1280	5120	5120	640	1280	640
A/turkey/Rostov/11/2017	H5N8	2.3.4.4	<20	1280	5120	5120	640	1280	640
A/ural owl/Voronezh/14/2017	H5N8	2.3.4.4	<20	640	5120	5120	320	640	640
A/chicken/Sergiyev Posad/38/2017	H5N8	2.3.4.4	<20	640	5120	5120	640	640	640

мы не имеют сродства со штаммами H5N1 клады 2.3.2.1c, выделенными в России в 2015 г., но имеют высокую степень родства со штаммом клады 2.3.4.4 A/wigeon/Sakha/1/2014 H5N8, а также с референс штаммом той же клады A/Nothorn Pintail/WA/40964/2014 (H5N2) и штаммом A/Sichuan/26221/2014-RG42A (H5N6), выделенным от человека (табл. 2).

Полученные данные согласуются с проведенным филогенетическим анализом, который также определил изучаемые штаммы к генетической кладе 2.3.4.4. Однако штаммы вируса гриппа H5N8, выделенные в 2016 г. находятся в другой генетической группе В. Штамм A/wigeon/Sakha/1/2014 и референс штамм A/Sichuan/26221/2014-RG42A формируют группу А, представители которой циркулировали до 2016 г. (рисунок). Анализ нуклеотидных последовательностей генома выделенных штаммов выявил ряд генотипических отличий от референс штамма клады 2.3.4.4, которые выявили при помощи H5N1 Genetic Changes Inventory (<http://www.cdc.gov/flu/avianflu/h5n1/inventory.htm>) и с использованием сервиса FluServer (<http://fluserver.bii.a-star.edu.sg>).

У изученных штаммов выявлен ряд мутаций, отвечающих за вирулентность и изменение хозяйской специфичности. Так, при анализе аминокис-

лотной последовательности гена НА выявлены две замены – N94S и T123P. Подобные замены, по литературным данным, обуславливают усиление рецепторного взаимодействия с α2-6 остатками сиаловых кислот [14]. В гене NS1 выявлены две мутации (V226I и E227G), которые отвечают за вирулентность и, в частности, за ее усиление [2], которое показано экспериментально в сравнении со штаммом 2014 г. A/wigeon/Sakha/1/2014. Также в гене M2 выявлена мутация I51V, которая, по литературным данным, совместно с мутацией S31N вероятно может указывать на устойчивость штаммов к антивирусным препаратам адамантанового ряда [9], однако последняя у исследуемых штаммов не выявлена. Таким образом можно заключить, что выделенные штаммы являются чувствительными к препаратам адамантанового ряда. Помимо всего прочего, у штаммов A/black-headed gull/Tuva/41/2016 и A/wild duck/Tuva/35/2016 в гене PB2 выявлена мутация I292V. Ранее было показано, что мутации в позиции 292 могут влиять на адаптацию вирусов к передаче от человека к человеку [6]. Таким образом, нами получена важная информация, которая может использоваться при оценке пандемического риска циркулирующих вариантов вируса гриппа.



Филогенетическое дерево гена НА вирусов гриппа H5Nx субтипа. Штаммы, выделенные в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора отмечены ромбами

Выделение вируса гриппа H5N8 клады 2.3.4.4 в Республике Тыва и европейской части России показывает, что данный вирус продолжает цирку-

лировать в природе, приобретая в ходе эволюции новые свойства. Это подтвердили проведенные вирусологические и молекулярно-генетические исследова-

дования. Повышенная вирулентность выделенных штаммов, по сравнению с циркулировавшим ранее в России штаммом A/wigeon/Sakha/1/2014, а также потенциальная возможность передачи от человека к человеку заставляет уделять особое внимание распространению данного вируса, а также комплексно подходить к изучению его свойств. Несмотря на то, что до сих пор не зарегистрировано ни одного случая заражения человека вирусом H5N8, нами показано, что возможность преодоления данным вирусом межвидового барьера сохраняется.

Хронология распространения высокопатогенного вируса гриппа H5N8 в 2016 г., а также анализ выделенных штаммов указывают на то, что вирус гриппа распространился из Юго-Восточной Азии на территорию России с дикими птицами по Центрально-Азиатскому пролетному пути, который пролегает через Республику Тыва [10], где в мае 2016 г. зафиксирована вспышка среди диких птиц. Затем с дикими птицами вирус распространился на запад, где он сначала был выделен от дикой птицы в Республике Татарстан, а затем поразил частные подворья и птицефабрики на территории Республики Калмыкия, в Астраханской области и других регионах европейской части России. Подобным образом в 2005 г. распространялся высокопатогенный вирус гриппа H5N1, который был впервые зарегистрирован в Юго-Западной Сибири, а затем занесен в европейскую часть России. Это в очередной раз подчеркивает ключевую роль диких птиц в распространении вируса гриппа. Становится очевидным, что необходимо усиливать существующие противозидемические и противозооотические меры по контролю высокопатогенного вируса гриппа. Так, например, остро встает вопрос о создании современной ветеринарной вакцины против гриппа H5N8-субтипа. Наши исследования показали, что все выделенные в 2016 г. на территории РФ варианты вируса гриппа птиц A(H5N8) антигенно не отличаются от рекомендованного ВОЗ кандидатного вакцинного штамма A/Sichuan/26221/2014 RG42A субтипа H5N6. Отечественным производителям вакцин следует обратить внимание на возможность создания запаса предпандемической вакцины на основе этого штамма.

Вполне вероятно, что вирус H5N8 в будущем также продолжит свое распространение в различные географические регионы. Весной 2017 г. уже зафиксированы повторные вспышки гриппа на птицефабриках в Ростовской и Московской областях [13]. На сегодняшний день уже погибло или было забито более 1500000 голов птицы, что нанесло серьезный экономический ущерб сельскому хозяйству. В связи с этим необходимо усилить мониторинговые исследования в ключевых точках распространения вируса гриппа птиц, среди которых можно выделить регионы Европейской части России, где зафиксированы вспышки, Республику Тыва, а также Дальний Восток.

На сегодняшний день не зарегистрированы случаи инфицирования человека вирусом гриппа A(H5N8). Однако известно, что вирус гриппа субтипа A(H5N6), принадлежащий к той же кладе 2.3.4.4, что и циркулирующие среди птиц по территории России вирусы гриппа A(H5N8), уже вызывали инфекцию у 16 человек в Китае, 6 из которых погибли. Хотя инфицирование людей вирусами гриппа субтипа A(H5) происходит редко и связано в основном с контактами с больной или павшей инфицированной птицей, такие случаи могут приводить к тяжелым осложнениям или гибели человека. Ожидается, что популяционный иммунитет у людей к новым вирусам A(H5N8) минимален, поэтому в 2017 г. следует расширить и углубить мониторинговые исследования высокопатогенного гриппа не только среди дикой и домашней птицы, но и среди сельскохозяйственных и диких животных, а также среди людей, профессионально контактирующих с сельскохозяйственными животными. Регулярный обмен вирусами между лабораториями ВОЗ, занимающихся изучением вируса гриппа, и обмен информацией о генетических структурах новых вирусов гриппа является необходимым элементом для проведения полноценной и своевременной оценки риска возникновения вирусов с пандемическим потенциалом на границе человек-животные.

Все исследования на животных осуществлялись в соответствии с законодательством РФ, международными этическими нормами и нормативными документами ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. В.Ю.Марченко, И.М.Суслопаров, А.В.Шиповалов, В.Н.Михеев, А.Б.Рыжиков. Циркуляция высокопатогенного вируса гриппа птиц в России в 2014–2015 гг. *Пробл. особо опасных инф.* 2016; 1:48–54. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-48-54.
2. Forbes N., Selman M., Pelchat M., Jia J.J., Stintzi A., Brown E.G. Identification of adaptive mutations in the influenza A virus non-structural 1 gene that increase cytoplasmic localization and differentially regulate host gene expression. *PLoS One.* 2013; 8(12):e84673. DOI: 10.1371/journal.pone.0084673.
3. Kim Y.I., Pascua P.N., Kwon H.I., Lim G.J., Kim E.H., Yoon S.W., Park S.J., Kim S.M., Choi E.J., Si Y.J., Lee O.J., Shim W.S., Kim S.W., Mo I.P., Bae Y., Lim Y.T., Sung M.H., Kim C.J., Webby R.J., Webster R.G., Choi Y.K. Pathobiological features of a novel, highly pathogenic avian influenza A(H5N8) virus. *Emerg. Microbes Infect.* 2014; 3(10):e75. DOI: 10.1038/emi.2014.75.
4. Lee Y.J., Kang H.M., Lee E.K., Song B.M., Jeong J., Kwon Y.K., Kim H.R., Lee K.J., Hong M.S., Jang I., Choi K.S., Kim J.Y., Lee H.J., Kang M.S., Jeong O.M., Baek J.H., Joo Y.S., Park Y.H., Lee H.S. Novel reassortant influenza A(H5N8) viruses, South Korea, 2014. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20(6):1087–9. DOI: 10.3201/eid2006.140233.
5. Marchenko V.Y., Susloparov I.M., Kolosova N.P., Goncharova N.I., Shipovalov A.V., Durymanov A.G., Ilyicheva T.N., Budatsirenova L.V., Ivanova V.K., Ignatyev G.A., Ershova S.N., Tulyahova V.S., Mikheev V.N., Ryzhikov A.B. Influenza A(H5N8) virus isolation in Russia, 2014. *Arch. Virol.* 2015; 160(11):2857–60. DOI: 10.1007/s00705-015-2570-4.
6. Miotto O., Heiny A., Tan T.W., August J.T., Brusica V. Identification of human-to-human transmissibility factors in PB2 proteins of influenza A by large-scale mutual information analysis. *BMC Bioinformatics.* 2008; 9(1):S18. DOI: 10.1186/1471-2105-9-S1-S18.

7. Pulit-Penalzo J.A., Sun X., Creager H.M., Zeng H., Belser J.A., Maines T.R., Tumpey T.M. Pathogenesis and Transmission of Novel Highly Pathogenic Avian Influenza H5N2 and H5N8 Viruses in Ferrets and Mice. *J. Virol.* 2015; 89(20):10286–93. DOI: 10.1128/JVI.01438-15.

8. Ramey A.M., Reeves A.B., TeSlaa J.L., Nashold S., Donnelly T., Bahl J., Hall J.S. Evidence for common ancestry among viruses isolated from wild birds in Beringia and highly pathogenic intercontinental reassortant H5N1 and H5N2 influenza A viruses. *Infect. Genet. Evol.* 2016; 40:176–85. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.02.035.

9. Tang J.W., Ngai K.L., Wong J.C., Lam W.Y., Chan P.K. Emergence of adamantane-resistant influenza A(H3N2) viruses in Hong Kong between 1997 and 2006. *J. Med. Virol.* 2008; 80(5):895–901. DOI: 10.1002/jmv.21155.

10. Veen J., Yurlov A.K., Delany S.N., Mihantiev A.I., Selivanova M.A., Boere G.C. An atlas of movements of Southwest Siberian waterbirds. Wetlands International; 2005. 60 p. (Cited 16 Feb 2017). Available from: <http://www.wetlands.org/Portals/0/publications/Analyses/West%20Siberia%20flyway.pdf>.

11. Verhagen J.H., Herfst S., Fouchier R.A. Infectious disease. How a virus travels the world. *Science.* 2015; 347(6222):616–7. DOI: 10.1126/science.aaa6724.

12. Wang X., Meng F., Wang D., Liu X., Chen S., Qin T., Peng D., Liu X. Characteristics of two highly pathogenic avian influenza H5N8 viruses with different pathogenicity in mice. *Arch. Virol.* 2016; 12(161):3365–74. DOI:10.1007/s00705-016-3043-0.

13. World Organisation for Animal Health (OIE). Update on highly pathogenic avian influenza in animals (typeH5 and H7). Paris: OIE; 2017. (cited 16 Feb 2017). Available from: <http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/update-on-avian-influenza/2017/>.

14. Yamada S., Suzuki Y., Suzuki T., Le M.Q., Nidom C.A., Sakai-Tagawa Y., Muramoto Y., Ito M., Kiso M., Horimoto T., Shinya K., Sawada T., Kiso M., Usui T., Murata T., Lin Y., Hay A., Haire L.F., Stevens D.J., Russell R.J., Gambelin S.J., Skehel J.J., Kawaoka Y. Haemagglutinin mutations responsible for the binding of H5N1 influenza A viruses to human-type receptors. *Nature.* 2006; 444(7117):378–82. DOI: 10.1038/nature05264.

15. Zhao K., Gu M., Zhong L., Duan Z., Zhang Y., Zhu Y., Zhao G., Zhao M., Chen Z., Hu S., Liu W., Liu X., Peng D., Liu X. Characterization of three H5N5 and one H5N8 highly pathogenic avian influenza viruses in China. *Vet. Microbiol.* 2013; 163(3–4):351–7. DOI: 10.1016/j.vetmic.2012.12.025.

References

1. V.Yu. Marchenko, I.M. Susloparov, A.V. Shipovalov, V.N. Mikheev, A.B. Ryzhikov [Circulation of highly pathogenic avian flu virus in the Russian Federation in 2014–2015]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2016; 1:48–54. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-48-54.

2. Forbes N., Selman M., Pelchat M., Jia J.J., Stintzi A., Brown E.G. Identification of adaptive mutations in the influenza A virus non-structural 1 gene that increase cytoplasmic localization and differentially regulate host gene expression. *PLoS One.* 2013; 8(12):e84673. DOI: 10.1371/journal.pone.0084673.

3. Kim Y.I., Pascua P.N., Kwon H.I., Lim G.J., Kim E.H., Yoon S.W., Park S.J., Kim S.M., Choi E.J., Si Y.J., Lee O.J., Shim W.S., Kim S.W., Mo I.P., Bae Y., Lim Y.T., Sung M.H., Kim C.J., Webby R.J., Webster R.G., Choi Y.K. Pathobiological features of a novel, highly pathogenic avian influenza A(H5N8) virus. *Emerg. Microbes Infect.* 2014; 3(10):e75. DOI: 10.1038/em.2014.75.

4. Lee Y.J., Kang H.M., Lee E.K., Song B.M., Jeong J., Kwon Y.K., Kim H.R., Lee K.J., Hong M.S., Jang I., Choi K.S., Kim J.Y., Lee H.J., Kang M.S., Jeong O.M., Baek J.H., Joo Y.S., Park Y.H., Lee H.S. Novel reassortant influenza A(H5N8) viruses, South Korea, 2014. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20(6):1087–9. DOI: 10.3201/eid2006.140233.

5. Marchenko V.Y., Susloparov I.M., Kolosova N.P., Goncharova N.I., Shipovalov A.V., Durymanov A.G., Ilyicheva T.N., Budatsirenova L.V., Ivanova V.K., Ignatyev G.A., Ershova S.N., Tulyahova V.S., Mikheev V.N., Ryzhikov A.B. Influenza A(H5N8) virus isolation in Russia, 2014. *Arch. Virol.* 2015; 160(11):2857–60. DOI: 10.1007/s00705-015-2570-4.

6. Miotto O., Heiny A., Tan T.W., August J.T., Brusci V. Identification

of human-to-human transmissibility factors in PB2 proteins of influenza A by large-scale mutual information analysis. *BMC Bioinformatics.* 2008; 9(1):S18. DOI: 10.1186/1471-2105-9-S1-S18.

7. Pulit-Penalzo J.A., Sun X., Creager H.M., Zeng H., Belser J.A., Maines T.R., Tumpey T.M. Pathogenesis and Transmission of Novel Highly Pathogenic Avian Influenza H5N2 and H5N8 Viruses in Ferrets and Mice. *J. Virol.* 2015; 89(20):10286–93. DOI: 10.1128/JVI.01438-15.

8. Ramey A.M., Reeves A.B., TeSlaa J.L., Nashold S., Donnelly T., Bahl J., Hall J.S. Evidence for common ancestry among viruses isolated from wild birds in Beringia and highly pathogenic intercontinental reassortant H5N1 and H5N2 influenza A viruses. *Infect. Genet. Evol.* 2016; 40:176–85. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.02.035.

9. Tang J.W., Ngai K.L., Wong J.C., Lam W.Y., Chan P.K. Emergence of adamantane-resistant influenza A(H3N2) viruses in Hong Kong between 1997 and 2006. *J. Med. Virol.* 2008; 80(5):895–901. DOI: 10.1002/jmv.21155.

10. Veen J., Yurlov A.K., Delany S.N., Mihantiev A.I., Selivanova M.A., Boere G.C. An atlas of movements of Southwest Siberian waterbirds. Wetlands International; 2005. 60 p. (Cited 16 Feb 2017). Available from: <http://www.wetlands.org/Portals/0/publications/Analyses/West%20Siberia%20flyway.pdf>.

11. Verhagen J.H., Herfst S., Fouchier R.A. Infectious disease. How a virus travels the world. *Science.* 2015; 347(6222):616–7. DOI: 10.1126/science.aaa6724.

12. Wang X., Meng F., Wang D., Liu X., Chen S., Qin T., Peng D., Liu X. Characteristics of two highly pathogenic avian influenza H5N8 viruses with different pathogenicity in mice. *Arch. Virol.* 2016; 12(161):3365–74. DOI:10.1007/s00705-016-3043-0.

13. World Organisation for Animal Health (OIE). Update on highly pathogenic avian influenza in animals (typeH5 and H7). Paris: OIE; 2017. (cited 16 Feb 2017). Available from: <http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/update-on-avian-influenza/2017/>.

14. Yamada S., Suzuki Y., Suzuki T., Le M.Q., Nidom C.A., Sakai-Tagawa Y., Muramoto Y., Ito M., Kiso M., Horimoto T., Shinya K., Sawada T., Kiso M., Usui T., Murata T., Lin Y., Hay A., Haire L.F., Stevens D.J., Russell R.J., Gambelin S.J., Skehel J.J., Kawaoka Y. Haemagglutinin mutations responsible for the binding of H5N1 influenza A viruses to human-type receptors. *Nature.* 2006; 444(7117):378–82. DOI: 10.1038/nature05264.

15. Zhao K., Gu M., Zhong L., Duan Z., Zhang Y., Zhu Y., Zhao G., Zhao M., Chen Z., Hu S., Liu W., Liu X., Peng D., Liu X. Characterization of three H5N5 and one H5N8 highly pathogenic avian influenza viruses in China. *Vet. Microbiol.* 2013; 163(3–4):351–7. DOI: 10.1016/j.vetmic.2012.12.025.

Authors:

Marchenko V.Yu., Susloparov I.M., Sapronova N.Yu., Goncharova N.I., Kolosova N.P., Evseenko V.A., Svyatchenko S.V., Pyankova O.G., Mikheev V.N., Maksyutov R.A., Ryzhikov A.B. State Scientific Centre of Virology and Biotechnology “Vector”. Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Ziatdinov V.B. Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Tatarstan. 13a, Sechenova St., Kazan, 420061, Russian Federation. E-mail: fguz@16.rospotrebnadzor.ru

Limanskaya O.S., Dzhambinov S.D. Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Kalmykia. Elista, Russian Federation.

Shendo G.L. Center of Hygiene and Epidemiology in the Astrakhan Region. Astrakhan, Russian Federation.

Об авторах:

Марченко В.Ю., Сулопаров И.М., Сапронова Н.Ю., Гончарова Н.И., Колосова Н.П., Евсеенко В.А., Святченко С.В., Пьянкова О.Г., Михеев В.Н., Максютов Р.А., Рыжиков А.Б. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Зятдинов В.Б. Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан. Российская Федерация, 420061, Казань, ул. Сеченова 13а. E-mail: fguz@16.rospotrebnadzor.ru

Лиманская О.С., Джамбинов С.Д. Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Калмыкия. Российская Федерация, Республика Калмыкия, Элиста.

Шендо Г.Л. Центр гигиены и эпидемиологии в Астраханской области. Российская Федерация, Астрахань.

Поступила 11.05.17.