

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия
человека

ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ВИРУСОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ «ВЕКТОР»
(ФБУН ГНЦ ВБ «ВЕКТОР» РОСПОТРЕБНАДЗОРА)



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»
Роспотребнадзора, д-р биол. наук
Р.А. Максютов

« 12 »

2022 г.

АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР

«КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА ПАНДЕМИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ЗООНОЗНЫХ
ВАРИАНТОВ ВИРУСА ГРИППА ПО ГЕНЕТИЧЕСКИМ И ФЕНОТИПИЧЕСКИМ
МАРКЕРАМ»

Грипп является тяжелым инфекционным заболеванием и серьезной проблемой для общественного здравоохранения. Каждый год этот вирус поражает до 15 % населения мира и вызывает многие тысячи смертей во всем мире. Каждые 10-40 лет возникают пандемии гриппа, которые вызываются новым вирусом, способным передаваться в человеческой популяции и к которому у людей нет иммунитета.

Источником серьезной угрозы с точки зрения возникновения новой пандемии гриппа считаются вирусы птичьего гриппа, а также вирусы гриппа млекопитающих, например, свиней. Некоторые вирусы птичьего гриппа уже преодолели межвидовой барьер и способны передаваться от птиц к человеку. На сегодняшний день не зарегистрировано случаев массовой передачи этих штаммов от человека к человеку, но существует риск появления новых вирусов птичьего гриппа, способных передаваться в человеческой популяции. Количественное измерение передачи вируса гриппа в животной модели является важным компонентом в оценке риска пандемии новых вирусов птичьего гриппа.

Для анализа пандемического потенциала новых вирусов используют различные кинетические [1, 2] или стохастические [3, 4] модели эпидемиологического процесса. Исходными данными для количественной оценки вирусного и микробного риска в пищевых продуктах или воде считаются функция «доза-реакция» и продолжительность воздействия патогена [5, 6, 7].

В 2016 г. ВОЗ запустила Инструмент для оценки риска пандемии гриппа (TIPRA). Для количественной оценки риска TIPRA рекомендует оценивать четыре элемента, характеризующих свойства вируса, такие как (1) способность связываться с рецепторами клеток человека, (2) геномные характеристики вируса, (3) способность вируса к передаче на животных моделях и (4) чувствительность к противовирусному лечению. Таким образом ВОЗ акцентирует внимание на способности вируса гриппа к передаче на животных моделях, что является одним из наиболее важных элементов для расчета общей оценки вероятности возникновения вируса гриппа с пандемическим потенциалом [8]. Вирусы гриппа А обнаруживаются у широкого круга видов-хозяев. Передача вируса происходит как внутри и между видами животных, сопровождающаяся генными мутациями и реассортацией генов [9]. Эти генетические изменения могут привести к появлению вируса, который может эффективно передаваться между людьми. Появление пандемического вируса гриппа 2009 г. наряду со спорадической передачей некоторых вирусов гриппа от животных к человеку подчеркивает важность мониторинга и оценки потенциальных рисков возникновения новых вирусов гриппа, способных вызвать пандемии. Количественная оценка риска направлена на определение вероятности возникновения вируса гриппа с пандемическим потенциалом [10].

В основе трансмиссивности вируса гриппа является взаимодействие вируса с клеточной поверхностью, которое происходит с помощью двух оболочечных вирусных белков: гемагглютинина (НА) и нейраминидазы (НА). НА связывается с рецептором клеточной поверхности - сиаловой кислотой - и является основным фактором, определяющим видовую специфичность вируса гриппа. Птичьи вирусы обычно связываются с альфа2,3-связанной сиаловой кислотой, а вирусы человека связываются преимущественно с альфа2,6-сиалозидами [11]. НА является ферментом, разрушающим сиаловые кислоты. Это расщепление способствует высвобождению вируса из клетки после заражения, предотвращая агрегацию вирионов [12, 13] или высвобождение вируса из муцинов, богатых сиаловой кислотой [14, 15]. Первичный очаг заражения вирусом человека находится в верхних дыхательных путях, при этом вирус инфицирует клетки, преимущественно экспрессирующие альфа2,6-связанные сиаловые кислоты [16], а муцин ВДП человека обогащен сиалозидами «птичьего» типа альфа 2,3. Между авидностью связывания рецепторов гемагглютинином НА и рецептор-разрушающей активностью нейраминидазы НА существует баланс. Чтобы избежать ингибирования муцинами, вирус гриппа человека должен иметь НА с низкой авидностью к альфа2,3-связанной сиаловой

кислоте и нейраминидазу NA с большой ферментативной активностью в отношении альфа 2,3-связанной сиаловой кислоты. Для эффективного прикрепления к клетке-мишени и проникновения вируса в клетку необходимо, чтобы человеческий вирус обладал сильной авидностью для альфа2,6-связанных сахаров, а для высвобождения вируса и предотвращения агрегации после выхода вируса из клетки нейраминидаза должна эффективно расщеплять альфа 2,6-связанные сахара. Следовательно, можно ожидать, что для эффективной репликации и трансмиссивности вируса необходимы совместимые уровни активности HA и NA, и такие исследования представляет большой интерес для определения пандемического потенциала вируса гриппа. Параллельно роль баланса активности этих двух белков в связывании с рецептором была впервые непосредственно измерена с использованием нового биофизического подхода, основанного на интерферометрии биослоя в режиме реального времени [17].

Среди животных моделей мыши при исследовании вируса гриппа не передают инфекцию от одного животного к другому [18, 19, 20], что делает эту систему непригодной для изучения трансмиссивности. Хорьки являются хорошо зарекомендовавшей себя моделью как для изучения передачи, так и для изучения патогенеза вирусов гриппа. Они восприимчивы к неадаптированным вирусам свиного и человеческого гриппа, и было показано, что такие вирусы передаются от инфицированного хорька к неинфицированному хорьку при контакте [21]. С другой стороны, высокопатогенные вирусы птичьего гриппа не передаются между хорьками [22], что имеет место и среди людей. Однако хорьковая модель имеет несколько практических недостатков: они дороги; они относительно велики, и в результате условия, необходимые для содержания этих животных, не всегда доступны; трудно получить хорьков, которые ранее не болели гриппом. По этим причинам были разработаны модели передачи инфекции морскими свинками, поскольку они практичны и менее дороги [23]. Более экономичная и менее требовательная модель морской свинки позволяет увеличить количество экспериментов и, следовательно, статистическую мощность экспериментов при изучении трансмиссивности. Морские свинки легко заражаются вирусами гриппа человека и птиц без адаптации, но у них отсутствуют или проявляются очень слабые клинические симптомы гриппозной инфекции, не так как у хорьков и человека. Хотя вирусы гриппа могут реплицироваться с высоким титром в дыхательных путях морских свинок, эти животные не проявляют симптомов тяжелого заболевания при заражении даже штаммами, патогенными для человека и хорьков [24]. Наличие ярких клинических проявлений заболевания, специфичность по отношению к заражению вирусами гриппа человека наряду с наличием бесконтактной передачи вируса гриппа делает хорьков наиболее подходящей моделью для изучения трансмиссивности. «Естественная» инфекция имеет явное преимущество по сравнению с экспериментальной интраназальной, поскольку заражает хорьков реалистичной инфекционной дозой вируса и приводит к кинетике репликации вируса, которая лучше имитирует кинетику «естественной» инфекции гриппа у людей [25, 26, 27, 28]. Поэтому хорьки являются наилучшими модельными животными для изучения инфекции гриппа у человека, и было показано, что вирусы сезонного гриппа могут передаваться между хорьками [29]. Ранее было показано, что реассортантные штаммы вируса гриппа птиц A(H9N2) с внутренними генами вирусов сезонного гриппа человека способны реплицироваться и передаваться хорькам [30].

С момента интродукции вируса гриппа птиц A/goose/Guangdong/1/96 (H5N1) в Китае в 1996 г. вирусы гриппа этого подтипа распространились по всему миру. В результате реассортации с малопатогенными вирусами гриппа птиц произошло дальнейшее увеличение генетического разнообразия и появление вирусов разных подтипов, которые обозначают как H5Nx [31]. Установлено, что большинство изученных вирусов H5Nx клуды 2.3.2.1. и 2.3.4.4. не передаются между млекопитающими [32]. Однако, некоторые из них имеют ограниченную способность передаваться при контакте с хорьками и другими модельными животными [33]. Ограниченная доступная информация о генетических

трансмиссивность, и в некоторых случаях вирусы H5Nx человека и птиц с одинаковыми известными маркерами могут различаться по трансмиссивности [32]. Основными маркерами трансмиссивности являются маркеры, определяющие рецепторную специфичность вируса, стабильность белка HA при выходе вируса из эндосомы в клетку, а также маркеры, связанные с репликацией вируса. В основном эти маркеры расположены в разных позициях рецепторсвязывающего сайта белка HA и белка PB2 [34, 35]. Влияние маркеров в HA в положениях 158 (положение, связанное с сайтом гликозилирования), 224, 226, 318 (нумерация по H3) на трансмиссивность было установлено в модельном исследовании на хорьках искусственного реассортанта H5N2, содержащего HA из H5N2 и NA и внутренние гены вируса сезонного гриппа H3N2 [34]. Полученный реассортантный вирус с HA от птичьего гриппа и внутренними генами от вируса сезонного гриппа стал аэрозольно-трансмиссивным. Другое исследование показало, что мутация G228S в HA вирусов H5Nx, помимо перечисленных, влияет на трансмиссивность вируса у хорьков при прямом контакте [36]. Опубликованная литература также указывает на ограниченную прямую контактную передачу вирусов подтипа H9N2 у хорьков [37]. Основными маркерами трансмиссивности вирусов H9N2 являются маркеры, определяющие специфичность рецептора. Значение маркеров трансмиссивности сильно зависит от их положения в геноме в их генетическом окружении. Так, ранее была продемонстрирована определяющая роль мутации Q226L [нумерация H3] [37], однако практически все современные вирусы подтипа H9N2 содержат эту мутацию Q226L. Затем на вирусах субклада G1 было обнаружено множество мутаций, в том числе в положениях 190, 226 и 227, определяющие рецепторную специфичность и авидность связывания с рецепторами клеток человека [38]. Дальнейший мониторинг вирусов H9N2 позволил установить, что мутации T205A, D208E, V216L, V245I в вирусах, циркулировавших в 2002-2005 гг., и мутации S119R, D145G, Q156R, A160D, T212I, Q227M, R246K в вирусах, циркулировавших в 2011-2017 гг. увеличивали сродство либо к рецепторам человеческого типа, либо к рецепторам как человеческого, так и птичьего типов [39]. По данным GISAID EpiFlu, почти все вирусы H9N2, выделенные от инфекций человека в 2018-2020 гг., имеют эти мутации. В то же время некоторые из этих мутаций отсутствовали в геномах птичьего вируса H9N2 [40].

Таким образом, количественная оценка трансмиссивности вирусов гриппа человека и животных является необходимым звеном при оценке пандемического потенциала новых зоонозных вирусов гриппа, чтобы заблаговременно проводить противоэпидемические мероприятия в случае высокой вероятности появления нового пандемического вируса. Фенотипические и генетические маркеры трансмиссивности в мире изучены недостаточно и требуют углубленного системного изучения.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Anderson R, May R: Infectious Diseases of Humans: Dynamics and Control. Oxford University Press, 1991
2. Shenghai Zhang, Estimating Transmissibility of Seasonal Influenza Virus by Surveillance Data, Journal of Data Science 9(2011), 55-64
3. Steven Riley, Joseph T. Wu, Gabriel M. Leung Optimizing the Dose of Pre-Pandemic Influenza Vaccines to Reduce the Infection Attack Rate PLoS Medicine, June 2007, Volume 4, Issue 6
4. Payet C, Voirin N, Vanhems P and Ecochard R, A statistical model to assess the risk of communicable diseases associated with multiple exposures in healthcare settings, BMC Medical Research Methodology, 2013, 13:26
5. Charles N Haas, Joan B Rose, Charles P Gerba, Quantitative microbial risk assessment - second edition, John Wiley & Sons, 2014
6. Charles N. Haas, Joan B. Rose, Charles Gerba and Stig Regli: Risk Assessment of Virus in Drinking Water, RkkAnalysk, Vol. 13, No. 5, 1993

7. Claudia Torres Codeco: Endemic and epidemic dynamics of cholera: the role of the aquatic Reservoir, *BMC Infectious Diseases* (2001) 1:1
8. Tool for Influenza Pandemic Risk Assessment (TIPRA). World Health Organization; 2016 60p. (WHO/OHE/PED/GIP/2016.2 <https://apps.who.int/iris/handle/10665/250130>)
9. Webster RG, Monto AS, Braciale TJ, Lamb RA, editors. *Textbook of Influenza*. Second Edition. West Sussex: Wiley-Blackwell; 2015, 175-189
10. *Pandemic Influenza Risk Management*. Geneva: World Health Organization; 2013 (WHO/HSE/HEA/HSP/2013.3 http://www.who.int/influenza/preparedness/pandemic/GIP_PandemicInfluenzaRiskManagementInterimGuidance_Jun2013.pdf, accessed 29 April 2016).
11. Skehel, J. J., and Wiley, D. C. (2000) Receptor binding and membrane fusion in virus entry: the influenza hemagglutinin. *Annu. Rev. Biochem.* 69, 531–569
12. Palese, P., and Compans, R. W. (1976) Inhibition of influenza virus replication in tissue culture by 2-deoxy-2,3-dehydro-N-trifluoroacetylneuraminic acid (FANA): mechanism of action. *J. Gen. Virol.* 33, 159–163
13. Baigent, S. J., Bethell, R. C., and McCauley, J. W. (1999) Genetic analysis reveals that both haemagglutinin and neuraminidase determine the sensitivity of naturally occurring avian influenza viruses to zanamivir in vitro. *Virology* 263, 323–338
14. Cohen, M., Zhang, X.-Q., Senaati, H. P., Chen, H.-W., Varki, N. M., Schooley, R. T., and Gagneux, P. (2013) Influenza A penetrates host mucus by cleaving sialic acids with neuraminidase. *Virol. J.* 10, 321
15. Matrosovich, M. N., Matrosovich, T. Y., Gray, T., Roberts, N. A., and Klenk, H.-D. (2004) Neuraminidase is important for the initiation of influenza virus infection in human airway epithelium. *J. Virol.* 78, 12665–12667
16. Shinya, K., Ebina, M., Yamada, S., Ono, M., Kasai, N., and Kawakami, Y. (2006) Avian influenza virus receptors in the human airway. *Nature* 440, 435–436
17. Benton D.J., Martin S.R., Wharton S.A., McCauley J.W. Biophysical Measurement of the Balance of Influenza A Hemagglutinin and Neuraminidase Activities. *J of Biol Chem.* vol. 290, No. 10, pp. 6516–6521, 2015. DOI 10.1074/jbc.M114.622308
18. Schulman, J. L., Kilbourne, E. D. Experimental transmission of influenza virus infection in mice. I. The period of transmissibility, *J. Exp. Med.*, 1963, 125, 267–275.
19. Matsuoka Y., Lamirande E.W., Subbarao K. The Mouse Model for Influenza. *Curr. Protoc. Microbiol.* 13:15G.3.1-15G.3.30. © 2009 by John Wiley & Sons, Inc. doi.org/10.1002/9780471729259.mc15g03s13
20. Kathryn M. Edenborough, Brad P. Gilbertson, and Lorena E. Brown, A Mouse Model for the Study of Contact-Dependent Transmission of Influenza A Virus and the Factors That Govern Transmissibility, *J Virol.* 2012 Dec; 86(23): 12544–12551.
21. Linster M, van Boheemen S, de Graaf M, *et al.* Identification, characterization, and natural selection of mutations driving airborne transmission of A/H5N1 virus. *Cell* 2014;157:329–39.
22. Yen HL, Lipatov AS, Ilyushina NA. *et al.* Inefficient Transmission of H5N1 Influenza Viruses in a Ferret Contact Model, *J Virol*, July 2007, p. 6890–6898
23. Lowen A, Mubareka S, Tumpey T, Garcí'a-Sastre A, Palese P: The guinea pig as a transmission model for human influenza viruses, *PNAS*, June 27, 2006, vol. 103, no. 26
24. Kwon YK, Lipatov AS, Swayne DE. Bronchointerstitial pneumonia in guinea pigs following inoculation with H5N1 high pathogenicity avian influenza virus. *Vet Pathol* 2009;46: 138–41.
25. Matsuoka Y., Lamirande E.W., Subbarao K. The Ferret Model for Influenza. *Curr. Protoc. Microbiol.* 13:15G.2.1-15G.2.29. © 2009 by John Wiley & Sons, Inc. doi.org/10.1002/9780471729259.mc15g02s13
26. Herfst S., Schrauwen E. J., Linster M., Chutinimitkul S., de Wit E., Munster V. J., *et al.* (2012). Airborne transmission of influenza A/H5N1 virus between ferrets. *Science* 336 1534–1541. [10.1126/science.1213362](https://doi.org/10.1126/science.1213362)
27. van der Vries E., Veldhuis Kroeze E. J., Stittelaar K. J., Linster M., Van der Linden A., Schrauwen E. J., *et al.* (2011). Multidrug resistant 2009 A/H1N1 influenza clinical isolate with

- a neuraminidase I223R mutation retains its virulence and transmissibility in ferrets. *PLoS Pathog.* 7:e1002276 10.1371/journal.ppat.1002276
28. Hamelin M. E., Baz M., Bouhy X., Beaulieu E., Dube K., Mallett C., et al. (2011). Reduced airborne transmission of oseltamivir-resistant pandemic A/H1N1 virus in ferrets. *Antivir. Ther.* 16 775–779. 10.3851/imp1794
 29. Imai, H.; Shinya, K.; Takano, R.; Kiso, M.; Muramoto, Y.; Sakabe, S.; Murakami, S.; Ito, M.; Yamada, S.; Le, M.T.; Nidom, C.A.; Sakai-Tagawa, Y.; Takahashi, K.; Omori, Y.; Noda, T.; Shimojima, M.; Kakugawa, S.; Goto, H.; Iwatsuki-Horimoto, K.; Horimoto, T.; Kawaoka, Y. The HA and NS genes of human H5N1 influenza A virus contribute to high virulence in ferrets. *PLoS Pathog.* 2010, 6, 1-13.
 30. Belser, J.A.; Pulit-Penaloza, J.A.; Maines, T.R. Ferreting Out Influenza Virus Pathogenicity and Transmissibility: Past and Future Risk Assessments in the Ferret Model. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2020, 10, 1-15.
 31. Cáceres, C.J.; Rajao, D.S.; Perez, D.R. Airborne Transmission of Avian Origin H9N2 Influenza A Viruses in Mammals. *Viruses* 2021, 13, 1919.
 32. Claes, F.; Morzaria, S.P.; Donis, R.O. Emergence and dissemination of clade 2.3.4.4 H5Nx influenza viruses-how is the Asian HPAI H5 lineage maintained. *Curr. Opin. Virol.* 2016, 16, 158-163.
 33. Yamaji, R.; Saad, M.D.; Davis, C.T.; Swayne, D.E.; Wang, D.; Wong, F.Y.K.; McCauley, J.W.; Peiris, J.S.M.; Webby, R.J.; Fouchier, R.A.M.; Kawaoka, Y.; Zhang, W. Pandemic potential of highly pathogenic avian influenza clade 2.3.4.4 A(H5) viruses. *Rev. Med. Virol.* 2020, 30, 1-16.
 34. Kaplan, B.S.; Russier, M.; Jeevan, T.; Marathe, B.; Govorkova, E.A.; Russell, C.J.; Kim-Torchetti, M.; Choi, Y.K.; Brown, I.; Saito, T.; Stallknecht, D.E.; Krauss, S.; Webby, R.J. Novel Highly Pathogenic Avian A(H5N2) and A(H5N8) Influenza Viruses of Clade 2.3.4.4 from North America Have Limited Capacity for Replication and Transmission in Mammals. *mSphere* 2016, 1, 1-17.
 35. Imai, M.; Watanabe, T.; Hatta, M.; Das, S.C.; Ozawa, M.; Shinya, K.; Zhong, G.; Hanson, A.; Katsura, H.; Watanabe, S.; Li, C.; Kawakami, E.; Yamada, S.; Kiso, M.; Suzuki, Y.; Maher, E.A.; Neumann, G.; Kawaoka, Y. Experimental adaptation of an influenza H5 HA confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets. *Nature* 2012, 486, 420-428.
 36. Herfst, S.; Schrauwen, E.J.; Linster, M.; Chutinimitkul, S.; de Wit, E.; Munster, V.J.; Sorrell, E.M.; Bestebroer, T.M.; Burke, D.F.; Smith, D.J.; Rimmelzwaan, G.F.; Osterhaus, A.D.; Fouchier, R.A. Airborne transmission of influenza A/H5N1 virus between ferrets. *Science* 2012, 336, 1534-1541.
 37. Pulit-Penaloza, J.A.; Brock, N.; Pappas, C.; Sun, X.; Belser, J.A.; Zeng, H.; Tumpey, T.M.; Maines, T.R. Characterization of highly pathogenic avian influenza H5Nx viruses in the ferret model. *Sci. Rep.* 2020, 10, 12700.
 38. Wan, H.; Sorrell, E.M.; Song, H.; Hossain, M.J.; Ramirez-Nieto, G.; Monne, I.; Stevens, J.; Cattoli, G.; Capua, I.; Chen, L.M.; Donis, R.O.; Busch, J.; Paulson, J.C.; Brockwell, C.; Webby, R.; Blanco, J.; Al-Natour, M.Q.; Perez, D.R. Replication and transmission of H9N2 influenza viruses in ferrets: evaluation of pandemic potential. *PLoS One* 2008, 3, 1-13.
 39. Peacock, T.P.; Sealy, J.E.; Harvey, W.T.; Benton, D.J.; Reeve, R.; Iqbal, M. Genetic determinants of receptor-binding preference and zoonotic potential of H9N2 avian influenza viruses. *J. Virol.* 2020, 95, 1-16.
 40. Liu, Y.; Li, S.; Sun, H.; Pan, L.; Cui, X.; Zhu, X.; Feng, Y.; Li, M.; Yu, Y.; Wu, M.; Lin, J.; Xu, F.; Yuan, S.; Huang, S.; Sun, H.; Liao, M. Variation and Molecular Basis for Enhancement of Receptor Binding of H9N2 Avian Influenza Viruses in China Isolates. *Front. Microbiol.* 2020, 11, 1-13.