

DOI: 10.15690/vramn.v70i3.1327

А.В. Ляпунов, С.И. Колесников, М.А. Хаснатинов, Э.Л. Манзарова,
И.В. Петрова, В.В. Долгих, Г.А. Данчинова

Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск, Российская Федерация

Иммунитет к вирусам гриппа у детей и подростков в межэпидемический период

Цель исследования: оценить состояние иммунитета к вирусам гриппа среди детского и подросткового населения путем идентификации антител в сыворотках крови, собранных в межэпидемический период. **Методы:** способность вирусов связывать и агглютинировать эритроциты использована в реакции гемагглютинации, для которой подготовленные куриные эритроциты вносили в лунки с последовательными двукратными разведениями сыворотки. В предельном разведении наблюдалась агглютинация, применяемая для расчета титра. Для определения концентрации противовирусных антител использовали реакцию торможения гемагглютинации (РТГА) с гриппозными диагностикумами. Концентрацию антител определяли по последнему разведению сыворотки, еще тормозящему гемагглютинацию. Также микрометод РТГА с диагностическими сыворотками использовали для идентификации типов вируса. Здесь критерием типовой принадлежности являлась четкая РТГА с одной из типовых сывороток при отсутствии реакции к другим типам. **Результаты:** исследованы 254 сыворотки крови клинически здоровых детей и подростков. 245 детей имели иммунитет к вирусам гриппа А, 199 — к вирусам гриппа А и В и только 4 ребенка 1–4 лет и двенадцатилетний мальчик не имели антител. С увеличением возраста отмечено увеличение числа детей со специфическим иммунитетом: H_3N_2 и H_3N_2 — от 81 до 116 (на 43%); H_1N_1 — от 38 до 80 (на 110%). У детей до 4 лет титр H_1N_1 pdm09 составлял 1:210, H_3N_2 — 1:270, у подростков эти показатели оказались ниже в 1,6 и 2,4 раза, соответственно (1:130 и 1:120). Антитела к H_2N_2 и H_5N_1 не обнаружены. **Заключение:** обследование детского и подросткового населения в межэпидемический по гриппу сезон показало, что 98,4% имеет иммунитет к вирусам гриппа А (H_3N_2 , H_1N_1 , H_0N_1) и В. Более половины детей (57,1%) иммунны к субтипу H_1N_1 pdm09. Напряженность иммунитета к патогенам последних лет (H_3N_2 ; H_1N_1 pdm09) у маленьких детей выше, чем у подростков.

Ключевые слова: грипп, дети, подростки, иммунитет, антитела.

(Для цитирования: Ляпунов А.В., Колесников С.И., Хаснатинов М.А., Манзарова Э.Л., Петрова И.В., Долгих В.В., Данчинова Г.А. Иммунитет к вирусам гриппа у детей и подростков в межэпидемический период. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (3): 315–319. Doi: 10.15690/vramn.v70i3.1327)

315

Обоснование

С вирусами гриппа связаны ежегодные подъемы заболеваемости, частые эпидемии и периодические пандемии [1]. Среди инфекционных болезней на долю гриппа и других острых респираторных вирусных инфекций (ОРИ) приходится до 90%. От свойств циркулирующих штаммов, а также от состояния коллективного иммунитета людей зависит продолжительность, распростра-

нение, течение, тяжесть эпидемий и, как следствие, объем, методы и меры диагностики, профилактики и лечения населения, а также финансовые затраты бюджетов разных уровней. Истории известен ряд пандемий, в результате которых в течение короткого отрезка времени погибали миллионы людей.

Заболеваниям гриппом и ОРИ подвержены люди всех возрастов, но особенно тяжелое течение и серьезные последствия наблюдаются у детей и людей, страдающих

A.V. Lyapunov, S.I. Kolesnikov, M.A. Khasnatinov, E.L. Manzarova,
I.V. Petrova, V.V. Dolgikh, G.A. Danchinova

Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russian Federation

Child and Adolescent Interepidemic Immunity to Influenza Viruses

Objective: Our aim was to evaluate the child and adolescent population immunity to influenza A viruses (IAV) and influenza B virus (IBV). **Methods:** The concentration and specificity of antiviral antibodies was evaluated by hemagglutination inhibition assay (HAI) that was performed using commercial HAI diagnostic kits. **Results:** The serum samples of 254 clinically healthy children and adolescents were examined in this study. 245 participants had the antibodies to IAV, 199 — to IAV and IBV, and only 4 children aged between 1 and 4 years and a 12-year-old boy had no immunity to IAV or IBV. The number of children with specific immunity increased in elder groups by 43% (from 81 to 116) for N_0N_1 and H_3N_2 subtypes and by 110% (from 38 to 80) for H_1N_1 subtype of IAV. In children younger than 4 years the titer of specific antibodies against the H_1N_1 pdm09 was 1:210 and against the H_3N_2 — 1:270, whereas in adolescents of 10–14 years these figures were by 1.6 and 2.4 times lower (1:130 and 1:120) respectively. Antibodies to the subtypes H_2N_2 and H_5N_1 were not detected. **Conclusion:** The results indicate that 98.4% of child and adolescent population in interepidemic influenza season are immune to the various IAV (H_3N_2 , H_1N_1 , H_0N_1) as well as to the IBV. More than half of children and adolescents (57.4%) are immune to H_1N_1 pdm09 subtype of IAV. The strength of immune response to the recent pathogens (H_3N_2 u H_1N_1 pdm09) is higher in infants than in teenagers.

Key words: flu, children, adolescents, immunity, antibodies.

(For citation: Lyapunov A.V., Kolesnikov S.I., Khasnatinov M.A., Manzarova E.L., Petrova I.V., Dolgikh V.V., Danchinova G.A. Children and Adolescent Interepidemic Immunity to Influenza Viruses. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (3): 315–319. Doi: 10.15690/vramn.v70i3.1327)

хроническими заболеваниями [2]. Кроме этого, после перенесенных инфекционных болезней у детей нередко возникают различные осложнения, что в дальнейшем сказывается на ухудшении здоровья. А.А. Баранов и соавт. в своей обзорной статье называют залогом стабильного развития общества и государства сохранение и укрепление здоровья подростков [3].

Согласно данным литературы, в настоящее время в человеческой популяции циркулирует 2 субтипа вируса гриппа А (ВГА) — H_1N_1 и H_3N_2 , а также вирусы гриппа В (ВГВ) 2 линий (Виктория и Ямагата). После пандемии 2009–2011 гг., вызванной так называемым свиным гриппом, отмечено доминирование субтипа H_1N_1 [4], однако уже в 2012 г. в основном выявлялись штаммы ВГА H_3N_2 [5].

Цель исследования состояла в оценке состояния иммунитета к ВГА и ВГВ среди детского и подросткового населения путем обнаружения антител к вирусам гриппа в сыворотках крови, собранных в межэпидемический период у детей и подростков Сибири (Иркутская обл.).

316

Методы

Дизайн исследования

Проведено одномоментное ретроспективное исследование клинически здоровых детей и подростков от рождения до 14 лет на наличие антител к вирусам гриппа в сыворотке крови. Образцы крови пациентов и подробные сведения на них собраны в межэпидемический (июнь–сентябрь) по гриппу сезон 2011 г. и зарегистрированы в пополняемых электронных базах данных [6, 7].

Критерии соответствия

В исследование были включены практически здоровые дети и подростки г. Иркутска и Иркутской обл., обратившиеся в Центр диагностики и профилактики клещевых инфекций по факту присасывания иксодовых клещей в июне–сентябре, что совпадает с периодом почти полного отсутствия заболевания ОРИ. На момент обращения и взятия крови у всех пациентов отсутствовали признаки заболевания ОРИ.

Условия проведения

Прием пациентов осуществлялся на базе Клиники Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (НЦ ПЗСРЧ, Иркутск). Лабораторные исследования проводились в лаборатории трансмиссивных инфекций НЦ ПЗСРЧ.

Продолжительность исследования

Сбор образцов для исследования осуществлялся на протяжении 4 мес (июнь–сентябрь).

Методы регистрации исходов

При оценке иммунитета к гриппу были исследованы серологические подтипы ВГА с формулами H_1N_1 , H_2N_2 , H_3N_2 , в разные годы вызывавшие пандемии и

эпидемии в мире. Также были использованы и генетически близкие к H_1N_1 субтипы H_0N_1 и H_1N_1 pdm09. Штамм А/Киев/3304/84 субтипа H_0N_1 относят к группе вирусов, схожих с вирусом «испанки», вызвавшей пандемию в 1918 г. и в течение нескольких лет, по разным оценкам, унесшей жизни 20–100 млн человек. Субтип H_1N_1 pdm09, известный как «свиной грипп», стал причиной пандемий 2009–2011 гг. в разных странах, в т.ч. и в России. Кроме того, была проведена оценка уровня иммунного ответа у детей и подростков к ВГА субтипа H_5N_1 , называемого птичим гриппом, который в начале XXI в. рассматривали в качестве кандидата в пандемичные штаммы, поскольку с ним были связаны наиболее тяжелые случаи инфицирования и смертность людей в Юго-Восточной Азии [8]. Параллельно изучено состояние иммунитета к ВГВ.

Для оценки коллективного иммунитета и определения наличия антител к ВГА и ВГВ использовали методы, рекомендуемые экспертами Всемирной организации здравоохранения [9]: реакцию гемагглютинации и реакцию торможения гемагглютинации. Сыворотки крови проверяли на спонтанную агглютинацию эритроцитов и бактериальную или грибковую контаминацию. В реакции гемагглютинации использовали микрометод с применением 0,5% суспензии эритроцитов петуха в фосфатно-солевом буфере (рН = 7,2). Реакцию торможения гемагглютинации ставили с диагностикумами гриппозными (сухими) производства НИИ гриппа (Санкт-Петербург, Россия) согласно инструкции производителя. В исследовании использовали антигены ВГА: H_0N_1 (А/Киев/3304/84), H_1N_1 (А/Брисбен/59/07), H_1N_1 pdm09 (А/Калифорния/07/09), H_2N_2 (А/Ленинград/549/80), H_3N_2 (А/Висконсин/15/09), H_5N_1 (А/NIBRG-14), а также ВГВ (В/Санкт-Петербург/40/09). Все антигены были антигенно актуальны, выращены в аллантаоисной полости куриных эмбрионов, инактивированы, авидны к антителам, но резистентны к неспецифическим ингибиторам гемагглютинации сывороток людей. Учет реакции проводили визуально, сыворотки с титром торможения гемагглютинации 1:40 и выше считали иммунными.

Этическая экспертиза

Исследование проведено в рамках научно-исследовательских работ и с информированного согласия законных представителей пациентов. Оно было одобрено комитетом по биомедицинской этике Восточно-Сибирского научного центра г. Иркутска (протокол № 33 от 29.05.2008 г.).

Статистический анализ

Размер выборки предварительно не рассчитывался. Для анализа результатов исследования иммунитета к ВГА и ВГВ среди населения детского и подросткового возраста Иркутской обл. применяли стандартные статистические методы, используемые при эпидемиологическом анализе (определение разницы достоверности между выборочными долями у детей разного возраста с антителами к вирусам гриппа, расчет среднего геометрического титра) [10]. Данные представлены в виде сред-

них арифметических значений (M) и соответствующих им стандартных ошибок среднего (m).

Результаты

Участники исследования

Для решения поставленной цели из детей, проживающих в Иркутске и Иркутской обл., было сформировано 3 возрастные группы: 0–4 (n =81, средний возраст 3,0±0,1 года), 5–9 (n =122, средний возраст 6,7±0,1 года) и 10–14 лет (n =51, средний возраст 11,7±0,2 года). Всего в исследовании приняли участие 111 (44%) девочек и 143 (56%) мальчика.

Основные результаты исследования

В результате исследования установили, что большая часть населения детского и подросткового возраста имеет иммунитет к одному или нескольким субтипам ВГА (n =245, 96%) и ВГВ (n =199, 78%; табл. 1).

К достижению 5–9-летнего возраста все дети имели антитела к вирусам гриппа. При детализации полученных результатов по субтипам ВГА установлено, что у большинства детей и подростков имеются антитела к «сезонным» ВГА: H₁N₁ (n =153, 60%) и H₃N₂ (n =174, 69%; табл. 2).

Обсуждение

Полученные результаты у детей Иркутской обл. можно экстраполировать на население всей Российской Федерации, т.к. в настоящий момент в России циркулируют вирусы именно этих субтипов, и иммунизация происходит как естественным образом, так и при вакцинации детей противогриппозными вакцинами, содержащими штаммы к этим вирусам. Обнаружена четкая закономерность: процент иммунной прослойки повышается с увеличением возраста детей. Для субтипа H₁N₁pdm09 это повышение составило 1,2 раза; для субтипов H₀N₁ и H₃N₂ — почти 1,5, а для H₁N₁ — более 2. Аналогичная картина проде-

монстрирована и для ВГВ, только с меньшим повышением иммунной прослойки: в 1,1 раза к 10–14 годам жизни (см. табл. 1). Ввиду небольшого объема исследуемых выборок различия не достигали статистической значимости (p >0,05). Этот вирус обнаружен у 74–82% детей, что свидетельствует о его большом значении в эпидемическом процессе гриппоподобных заболеваний.

Из табл. 2 видно, что более 1/3 обследованных имели антитела к ВГА субтипа H₀N₁, к которому относят вирусы, сходные с так называемой испанкой. ВГА, подобные штамму А/Киев/3304/84, циркулировали в России преимущественно в 80–90-е гг. XX в. Столь высокий процент положительных находок у детей, родившихся после 1997 г., а тем более — после 2002 г. (дети в возрасте до 9 лет), на наш взгляд, связан с наличием перекреста между штаммами субтипов H₀N₁ и H₁N₁, которые, согласно меморандуму Всемирной организации здравоохранения от 1979 г., объединены в субтип H₁N₁ [9]. Ранее было показано, что 90% пожилых людей (старше 70 лет) имеют иммунитет к ВГА типа «испанка» [11].

При изучении содержания антител к субтипам H₁N₁pdm09 и H₃N₂ у населения детского и подросткового возраста установлена обратная зависимость напряженности иммунитета от возраста: у маленьких детей до 4 лет титр антител был в 1,6 раза для первого и в 2 и более раза для второго субтипа выше, чем у детей и подростков 10–14 лет (рис.). Для остальных вариантов ВГА и ВГВ различий в напряженности иммунитета к гриппу между возрастными группами не отмечено.

Примечательно, что в исследованных группах детей и подростков не обнаружены антитела к опасным ВГА субтипов H₂N₂ и H₅N₁. Субтип H₂N₂ появился в 1957 г., был назван «азиатский грипп». Он вызвал пандемию в 1957–1958 гг. и смерть не менее 1 млн человек [10], но в последующие годы не встречался среди субтипов ВГА, изолируемых у больных гриппом людей. Результаты цикла наших исследований подтверждают исчезновение вышеназванного вируса из человеческой популяции: только в сыворотках крови 20% людей, родившихся до этой пандемии, были идентифицированы антитела к ВГА H₂N₂ [11], а у людей более молодого возраста, в т.ч. у детей до

Таблица 1. Результаты определения иммунитета к гриппу у детей и подростков Иркутской обл. (2011)

Возраст, лет	n	Грипп А (абс. / %)	Грипп В (абс. / %)
0–4	81	73 / 90	60 / 74
5–9	122	122 / 100	97 / 80
10–14	51	50 / 98	42 / 82
Всего	254	245 / 96	199 / 78

Таблица 2. Результаты исследования сывороток крови детей и подростков на наличие антител к различным штаммам вируса гриппа А (2011)

Возраст, лет	n	Вирусы гриппа А (абс. / %)			
		H ₀ N ₁	H ₁ N ₁	H ₁ N ₁ pdm09	H ₃ N ₂
0–4	81	24 / 30	31 / 38	39 / 48	41 / 51
5–9	122	45 / 37	81 / 66	73 / 60	96 / 79
10–14	51	22 / 43	41 / 80	33 / 65	37 / 73
Всего / в среднем	254	91 / 36	153 / 60	175 / 57	174 / 69

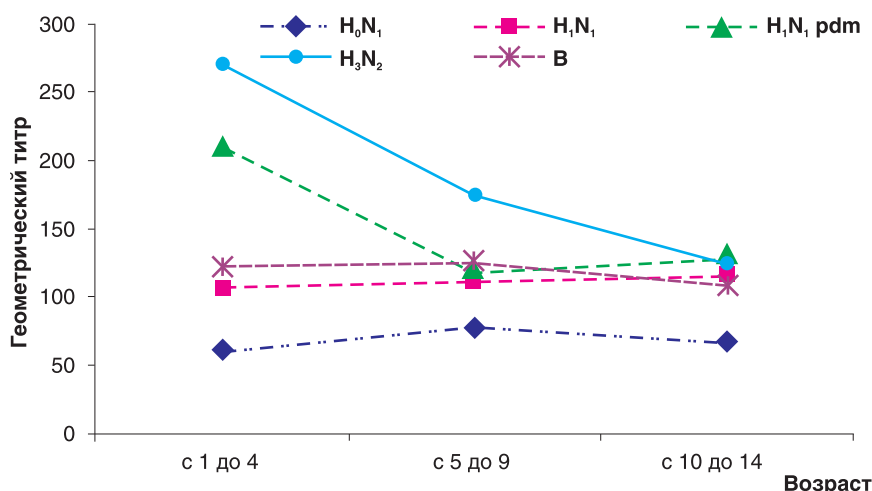


Рис. Результаты изучения напряженности иммунитета к вирусам гриппа у детей и подростков в межэпидемический сезон.

14 лет, таких антител не обнаружено. Это обстоятельство позволяет предположить, что вирус H₂N₂ не играет существенной роли в современном эпидемическом процессе. Антитела к высокопатогенному субтипу H₅N₁ были обнаружены нами лишь у 1 пожилой женщины в 2011 г., в то время как за 2010–2013 гг. исследовано 7,8 тыс. образцов крови.

ростовского возраста, и прогнозируя дальнейшее развитие природных очагов гриппа (в т.ч. птиц), можно эффективно противодействовать вирусным угрозам.

Полученные результаты можно экстраполировать на другие регионы и следует учитывать при проведении ежегодной вакцинации населения и приближающихся эпидемиях.

318

Заключение

При обследовании детей и подростков, проведенном в межэпидемический по гриппу сезон, установлено, что большинство детского и подросткового населения региона имеют иммунитет к различным ВГА (H₃N₂, H₁N₁, H₀N₁) и ВГВ. При этом напряженность иммунитета к основным патогенам последних лет (H₃N₂ и H₁N₁ pdm09) у маленьких детей выше, чем у подростков. Более половины обследуемых иммунны к субтипу H₁N₁ pdm09, ни у одного ребенка не обнаружены антитела к опасным ВГА (H₂N₂ и H₅N₁).

Результаты серологических исследований свидетельствуют о том, что вирусы гриппа, которые в настоящее время активны и циркулируют среди людей, не должны вызвать эпидемию среди детского и подросткового населения. Зная современное состояние эпидемиологии гриппа, состояние коллективного иммунитета у людей различных возрастных групп, особенно детского и под-

Источник финансирования

Исследование выполнено при финансовом обеспечении Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека в рамках госбюджетной темы без дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Выражение признательности

Авторы выражают благодарность Е.В. Арбатской и Т.В. Туник, оказавшим техническую помощь в проведении лабораторных исследований.

ЛИТЕРАТУРА

- Bouvier N.M., Palese P. The Biology Of Influenza Viruses. *Vaccine*. 2008; 26 (Suppl. 4): 49–53.
- Чеботарева Т.А., Малиновская В.В., Мазанкова Л.Н., Каряева С.К., Паршина О.В., Гусева Т.С., Лазарев В.В., Калоева З.Д. Часто болеющие дети: иммунологическая концепция профилактики гриппа и других ОРВИ. *Педиатр*. 2010; 1 (2): 106–110.
- Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Ильин А.Г. Сохранение и укрепление здоровья подростков — залог стабильного развития общества и государства (состояние проблемы). *Вестник РАМН*. 2014; 5–6: 65–70.
- Prokoreva E.A., Sayfutdinova S.G., Glushchenko A.V., Kurskaya O.G., Zaykovskaya A.V., Durymanov A.G., Ilyicheva T.N., Shestopalova L.V., Shestopalov A.M. Comparative Analysis of Biological Properties of Influenza A(H1N1) pdm09 Virus Strains isolated in the Pandemic of 2009 and the Post Pandemic Period in the Asian Part of Russia. *J. Virol. Microbiol.* 2013; 2013: 890660.
- Курская О.Г., Соболев И.А., Дурыманов А.Г., Дронова С.А., Шестопалов А.М., Ильичёва Т.Н. Анализ эпидемической ситуации по гриппу в 2011–2012 гг. в Западной Сибири. *Вестник НГУ*. 2013; 11 (1): 118–123.
- Данчинова Г.А., Ляпунов А.В., Петрова И.В., Глушенкова Т.В., Чапоргина Е.А., Арбатская Е.В., Рыкова Е.В., Савелькаева М.В., Миронова Л.В., Долгих В.В. Информационно-справочная система «Пациенты, подвергшиеся укусу клеща, и

- результаты лабораторных исследований их сывороток крови» (ИСС «Антитела»). *Электронный бюллетень*. 2009; 1: 414.
7. Ляпунов А.В., Данчинова Г.А., Арбатская Е.В., Чапоргина Е.А., Туник Т.В., Хаснатинов М.А., Петрова И.В. Информационно-аналитическая система «Мониторинг вирусов гриппа А и В в межэпидемический сезон» (ИАС «Грипп-Антитела»). *Электронный бюллетень*. 2013; 2: 1.
 8. Гольдштейн А.В., Семёнов Б.Ф. Проблема «птичьего гриппа» и пандемии гриппа в человеческой популяции (по материалам ВОЗ). *Ремедиум*. 2005; 3: 40–43.
 9. Reconsideration of influenza A virus nomenclature: a WHO memorandum. *Bull. World Health Organ.* 1979; 57: 227–233.
 10. Brugh M., Jr. A simple method for recording and analyzing serological data. *Avian Dis.* 1978; 22 (2): 362–365.
 11. Чапоргина Е.А., Ляпунов А.В., Арбатская Е.В., Хаснатинов М.А., Петрова И.В., Данчинова Г.А., Миронова Т.В., Яковчиц Н.В. Сероэпидемиологическое обследование жителей г. Иркутска на наличие антител к вирусу гриппа. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2011; 1 (1): 173–176.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Ляпунов Александр Валерьевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории трансмиссивных инфекций НЦ ПЗСРЧ

Адрес: 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, тел.: +7 (3952) 33-39-71, e-mail: liapunov.asp@mail.ru

Колесников Сергей Иванович, доктор медицинских наук, академик РАН, советник РАН, заслуженный деятель науки РФ

Адрес: 109240, Москва, ул. Солянка, д. 14, тел.: +7 (495) 69-85-816, e-mail: sikolesnikov2012@gmail.com

Хаснатинов Максим Анатольевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории трансмиссивных инфекций НЦ ПЗСРЧ

Адрес: 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, тел.: +7 (3952) 33-39-71, e-mail: khasnatinov@yandex.ru

Манзарова Элина Лопсоновна, младший научный сотрудник лаборатории трансмиссивных инфекций НЦ ПЗСРЧ

Адрес: 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, тел.: +7 (3952) 33-39-71, e-mail: manzarova89@yandex.ru

Петрова Ирина Викторовна, врач высшей категории, руководитель отделения аллергологии Клиники НЦ ПЗСРЧ

Адрес: 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, тел.: +7 (3952) 33-34-45, e-mail: irina_petrova_62@list.ru

Долгих Владимир Валентинович, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе НЦ ПЗСРЧ

Адрес: 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, тел.: +7 (3952) 20-76-36, e-mail: dolgikh64@gmail.com

Данчинова Галина Анатольевна, доктор биологических наук, руководитель лаборатории трансмиссивных инфекций НЦ ПЗСРЧ

Адрес: 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, тел.: +7 (3952) 33-39 71, e-mail: dan-chin@yandex.ru