

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Бреслав Н.В., Краснослободцев К.Г., Мукашева Е.А., Кириллова Е.С., Росаткевич А.Г., Колобухина Л.В., Бурцева Е.И.

Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи, Москва, Российская Федерация

Чувствительность вирусов гриппа к специфическим химиопрепаратам в России в 2017–2020 гг. Редкие находки и перспективные препараты

Обоснование. В статье представлены результаты изучения эффективности противогриппозных препаратов в России в период 2017–2020 гг. Определена чувствительность циркулирующих штаммов вирусов гриппа A(H1N1)pdm09, A(H3N2) и B к ингибиторам нейраминидазы — осельтамивиру, занамивиру и ремантадину. Проведён анализ научных статей как отечественных, так и зарубежных исследователей по новым перспективным химиопрепаратам в отношении вирусов гриппа.

Цель — изучение чувствительности циркулирующих штаммов вирусов гриппа к специфическим противогриппозным препаратам в рамках проведения мониторинга в период 2017–2020 гг.

Материалы и методы. Исследование осуществлялось в рамках эпидемиологического надзора за циркулирующей вирусом гриппа с использованием коллекции лаборатории этиологии и эпидемиологии гриппа. Под критерии отбора попали штаммы, выделенные от беременных, пациентов с осложнённым течением гриппозной инфекции и с тяжёлой острой респираторной инфекцией, летальными исходами, а также пациентов, проходивших курс лечения специфическими препаратами. В работе применяли вирусологические, иммунологические и молекулярно-генетические методы и использовали субстанции осельтамивира карбоксилата, занамивира и ремантадина.

Результаты. За период 2017–2020 гг. была изучена чувствительность 541 эпидемического штамма вирусов гриппа A и B к противогриппозным препаратам. Большинство изученных штаммов сохранили чувствительность к ингибиторам нейраминидазы. Исключение составили в 2017/2018 гг. 5 штаммов вируса гриппа A(H1N1)pdm09, резистентных к осельтамивиру, и 2 штамма вируса гриппа B, один из которых со сниженной чувствительностью к осельтамивиру, второй — к занамивиру; в 2019/2020 гг. — штамм вируса гриппа A(H1N1)pdm09 с пониженной чувствительностью к обоим препаратам. В сезон 2018/2019 гг. изолирован штамм вируса гриппа A/Москва/246/2018 A(H1N1)pdm09, который оказался чувствительным к ремантадину.

Заключение. Основными и наиболее часто встречающимися генетическими маркерами резистентности вирусов гриппа к специфическим препаратам являются замена H274Y в NA вируса гриппа A(H1N1)pdm09 для осельтамивира и замена S31N в белке M2 вирусов гриппа A(H1N1)pdm09 и A(H3N2) для ремантадина. Учитывая низкую частоту штаммов с пониженной чувствительностью к препаратам с антинейраминидазной активностью, можно уверенно говорить о том, что они остаются препаратами выбора для лечения и профилактики гриппозной инфекции.

Ключевые слова: вирусы гриппа A(H1N1)pdm09, A(H3N2) и B, осельтамивир, занамивир, ремантадин, эффективность, резистентность, чувствительность, мутации, мониторинг.

Для цитирования: Бреслав Н.В., Краснослободцев К.Г., Мукашева Е.А., Кириллова Е.С., Росаткевич А.Г., Колобухина Л.В., Бурцева Е.И. Чувствительность вирусов гриппа к специфическим химиопрепаратам в России в 2017–2020 гг. Редкие находки и перспективные препараты // *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2020;25(2):65–77. DOI: <https://doi.org/10.17816/EID46440>

Breslav N.V., Krasnoslobotsev K.G., Mukasheva E.A., Kirillova E.S., Rosatkevich A.G., Kolobukhina L.V., Burtseva E.I.

N.F. Gamaleya Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

Sensitivity of influenza viruses to specific drugs in Russia during 2017–2020. The rare finds and perspective antivirals

BACKGROUND: The article presents the results of studying the effectiveness of anti-influenza drugs in Russia in the period 2017–2020. The sensitivity of circulating strains of influenza viruses A(H1N1)pdm09, A(H3N2) and B to neuraminidase inhibitors – oseltamivir, zanamivir and rimantadine was determined. The analysis of scientific articles by both domestic and foreign researchers on new promising chemotherapy drugs for influenza viruses was carried out.

AIMS: study of the sensitivity of influenza viruses circulating strains to specific anti-influenza drugs in the framework of monitoring in the period 2017–2020.

MATERIALS AND METHODS: The study was conducted within the framework of epidemiological surveillance of the influenza viruses circulation using the collection of the influenza etiology and epidemiology laboratory with the following criteria for selecting strains isolated from pregnant women, patients with complicated flu infection and severe acute respiratory infection (SARI), lethal outcomes, as well as patients undergoing treatment with specific drugs. Virological, immunological,

and molecular genetic methods were used in the study, and following drugs substances were used: oseltamivir carboxylate, zanamivir, and rimantadine.

RESULTS: For the period 2017–2020, the sensitivity of 541 influenza A and B viruses epidemic strains to anti-influenza drugs was studied. Most of the studied strains remained sensitive to neuraminidase inhibitors. The exceptions were: in 2017/2018 — 5 strains of the influenza A(H1N1)pdm09 virus resistant to oseltamivir and 2 strains of the influenza B virus, one with reduced sensitivity to oseltamivir, the second — to zanamivir; in 2019/2020 — influenza A(H1N1)pdm09 virus strain with reduced sensitivity to both drugs.

In the 2018/2019 season, an influenza A/Moscow/246/2018 A(H1N1)pdm09 strain was found to be sensitive to rimantadine.

CONCLUSIONS: The main and most common genetic markers of influenza viruses resistance to specific drugs are: for oseltamivir — substitution H274Y in the influenza A(H1N1)pdm09 virus NA; for rimantadine — substitution S31N in the influenza A(H1N1)pdm09 and A(H3N2) viruses M2 protein. Taking into account the low frequency of strains with reduced sensitivity to drugs with antineuraminidase activity, can confidently approve that they remain the drugs of choice for the treatment and prevention of influenza infection.

Key words: influenza viruses A(H1N1)pdm09, A(H3N2) and B, oseltamivir, zanamivir, rimantadine, efficacy, resistance, sensitivity, mutations, monitoring.

For citation: Breslav NV, Krasnoslobotsev KG, Mukasheva EA, Kirillova ES, Rosatkevich AG, Kolobukhina LV, Burtseva EI. Sensitivity of influenza viruses to specific drugs in Russia during 2017–2020. The rare finds and perspective antivirals. *Epidemiology and Infectious Diseases*. 2020;25(2):65-77. DOI: <https://doi.org/10.17816/EID46440>

Обоснование

До 2017 г. в России достижениями отечественных исследователей были рекомендованы к практическому применению для лечения и профилактики гриппа следующие специфические химиопрепараты с доказанным механизмом противовирусного действия:

- с 1990 г. — умифеновир (Арбидол). Активное вещество вступает во взаимодействие с поверхностным белком вирусов гриппа А и В — геммагглютинином (hemagglutinin, HA), тем самым ингибируя его функции в цикле вирусной репродукции [1]. Препарат выпускается в разных лекарственных формах, рекомендован для применения у взрослых и детей с 3 лет;
- в 2016 г. зарегистрирован воспроизведённый лекарственный препарат с антинейраминидазной активностью Номидес™, содержащий активное действующее вещество осельтамивир (до этого времени и по настоящий день на практике успешно применяются зарубежные препараты Тамифлю[®], Roche, Швейцария, и Реленза™, GSK, Великобритания). Номидес рекомендован для лечения и профилактики гриппа А и В у взрослых и детей с 3 лет и имеет удобную форму (капсулы) выпуска и дозировку (30, 45 и 75 мг), что позволяет назначать адекватные режимы дозирования при терапии разных возрастных групп [2].

Ремантадин (блокатор M2 ионного канала вирусов гриппа А) был впервые получен в 1963 г. и

запатентован в 1965 г. в США. В Советском Союзе исследованиями ремантадина занимались учёные Института органического синтеза Академии наук Латвийской ССР. Следует отметить, что, согласно докладу Центров по контролю и профилактике заболеваний США (Centers for Disease Control and Prevention, CDC), опубликованному в 2011 г., около 100% штаммов вирусов гриппа А, циркулирующих на момент опубликования доклада, устойчивы к действию препарата, и его назначение более не рекомендуется. Резистентность к препаратам адамантанового ряда в популяции вируса гриппа А(H3N2) была отмечена с 2002 г., а к 2009 г. количество устойчивых штаммов достигло 99% (пандемический вирус гриппа А(H1N1)pdm09 уже содержал замену S31N в M2 белке) [3]. Адамантанчувствительные вирусы гриппа циркулируют по настоящий день, но их количество очень низкое. На пике эпидемического сезона 2016/2017 г. в Австралии адамантанчувствительные штаммы А(H3N2) были детектированы в 8,7% случаев, однако во всём мире частота их циркуляции не превышает 1%. И, наоборот, осельтамивир-резистентность штаммов А(H1N1), которые в настоящее время исторически циркулируют с крайне низкой частотой, выросла почти до 100% в 2009 г. вплоть до появления осельтамивирчувствительного А(H1N1)pdm09 вируса гриппа [3].

Таким образом, на сегодняшний день во всех странах мира, включая Россию, ингибиторы нейраминидазы (neuraminidase inhibitors, NAi) оста-

ются основными препаратами выбора для лечения гриппозной инфекции, вызванной вирусами гриппа А и В, а также для создания стоковых запасов на случай пандемии. В то время как осельтамивир и занамивир являются препаратами широкого назначения, перамивир и ланинамивир применяют при лихорадочных состояниях лишь в некоторых странах [4]. Специфический механизм их действия основан на блокировании активного центра нейраминидазы (neuraminidase, NA) вирусов гриппа, что препятствует высвобождению вновь сформированных вирионов и распространению вирусов от клетки к клетке [5].

Рекомендации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в отношении эффективности и доступности противовирусных препаратов предусматривают мониторинг чувствительности циркулирующих штаммов к применяемым на практике препаратам, оценку их эффективности при лечении и профилактике, а также разработку и внедрение новых форм [6, 7]. Все эти направления имеют значение для диверсификации запасов антивирусных препаратов с целью избежать случаев появления резистентных к ним штаммов и их закрепления в популяции циркулирующих вирусов гриппа.

На сегодняшний день в мире циркулируют вирусы гриппа человека А(Н1N1)pdm09, А(Н3N2) и две эволюционные линии вирусов гриппа В (Ямагата- и Викторияподобные), сохраняющие чувствительность к препаратам с антинейраминидазной активностью и резистентные к препаратам адамантанового ряда. Эффективность практического применения специфических препаратов напрямую зависит от чувствительности к ним циркулирующих штаммов вирусов гриппа. Важными факторами, предупреждающими риск формирования резистентных штаммов, могут являться раннее назначение препаратов и адекватные терапевтические дозы. Кроме того, эксперты ВОЗ не рекомендуют применение NAИ для профилактики гриппа, в том числе при риске инфицирования вирусами гриппа птиц [6, 7].

Всё вышесказанное оправдывает **цель настоящей работы** — изучение чувствительности циркулирующих штаммов вирусов гриппа к специфическим противогриппозным препаратам в рамках проведения мониторинга в период 2017–2020 гг.

Материалы и методы

Настоящее исследование проведено в рамках эпидемиологического надзора за циркуляцией вирусов гриппа в Российской Федерации Центром экологии и эпидемиологии гриппа (ЦЭЭГ), Национальным центром по гриппу, сотрудничающим с ВОЗ (НЦГ), Институтом вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (Москва; далее НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи). Период наблюдения — с 40-й недели (октябрь) 2017 г. по 26-ю неделю (июнь) 2020 г.

Критерии отбора материала. В исследование были включены штаммы вирусов гриппа А и В из коллекции лаборатории этиологии и эпидемиологии гриппа НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, изолированные из клинического материала от пациентов, госпитализированных в Инфекционную клиническую больницу № 1 г. Москвы (далее ИКБ № 1), а также амбулаторных и госпитализированных пациентов с опорных баз, сотрудничающих с НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи (секционный материал — ткани бронхов, трахеи, лёгких, селезёнки; беременные женщины, пациенты с осложнённым течением гриппозной инфекции и тяжёлой острой респираторной инфекцией, а также пациенты, проходившие курс лечения NAИ).

Изоляцию вирусов гриппа проводили по общепринятым методикам из клинических материалов на клетках культуры ткани MDCK (грипп А(Н1N1)pdm09 и В) и ткани MDCK-SIAT1 (грипп А(Н3N2)), любезно предоставленной для научных целей автором линии М. Matrosovich [8, 9].

Типирование изолятов проводили в реакции торможения гемагглютинирующей активности по общепринятой методике с диагностическими сыворотками к эталонным и эпидемическим вирусам гриппа [8, 10].

Антинейраминидазные препараты. Осельтамивир карбоксилат, субстанция (Oseltamivir carboxylate D-tartrate salt) была любезно предоставлена компанией F. Hoffman-La Roche Ltd., Швейцария. Занамивир, субстанция ([4S,5R,6R]-5-ацетиламино-4-гуанидино-6-(1S,2R,3-тригидроксипропил)-5,6-дигидро-4Н-пиран-2-карбоксилат) любезно предоставлена сотрудниками GSK Ltd., Великобритания.

Для определения минимальной ингибирующей концентрации (minimal inhibitory concentration, IC_{50}) субстанций осельтамивира карбоксилата и занамивира использовали функциональный флуоресцентный метод подавления нейраминидазы вирусов гриппа А и В с субстратом MUNANA (Sigma-Aldrich, США) [11]. Учёт результатов проводили с помощью оптического спектрофотометра Biotek, Synergy HT (США) на протоколе флуоресценции при длине волны возбуждения 355 нм и эмиссии 460 нм. Результаты обсчитывали в Microsoft Excel.

Молекулярно-генетические исследования штаммов вирусов гриппа проводили совместно с международными центрами по гриппу — Центром ВОЗ по надзору, эпидемиологии и контролю за гриппом, Центрами по контролю за заболеваемостью и профилактике (CDC&P, Атланта, США); Всемирным Крик Центром по гриппу (WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Influenza, Лондон, Великобритания), ФГБЦ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия) и согласно методикам, описанным ранее [12–14]. Использовали метод конвекционного секвенирования фрагментов NA по Сенгеру для выявления известных маркерных мутаций, ответственных за пониженную чувствительность к NAИ. Фрагменты NA получали в полимеразной цепной реакции с использованием праймеров N1sw15F 5'-AAGCAgAgTTTAAATgAATCC-3', N1sw944R 5'-TTCTggTTgAAAgACACCC-3', N1sw497F 5'-TCCCTCTCCATACAACCTCAA-3', N1sw1417R 5'-TgAACAAAYTACTTgTCAAyggTA-3'. Реакцию секвенирования проводили с использованием набора BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing RR-100 (Thermo Scientific, США) в соответствии с инструкцией. Определение последовательностей NA выполняли на автоматическом секвенаторе ABI Prism 3130 (Applied Biosystems, США) согласно рекомендациям производителя. Анализ полученных последовательностей и их выравнивание проводили с использованием пакета программ DNASTAR-Lasergene v6, MEGA 6 Software.

Подавление экспрессии вирусных антигенов пандемических штаммов А(Н1N1)pdm09 под влиянием ремантадина изучали путём добавления пре-

парата в разных концентрациях (0,5–10,0 мкг/мл) при культивировании инфицированных вирусами гриппа клеток культуры ткани MDCK с последующим учётом результатов методом иммуноферментного анализа, как описано ранее [15]. Реакция учитывалась по оптической плотности при 450 нм на спектрофотометре фирмы Biotek, Synergy HT (США).

Результаты

В эпидемическом сезоне 2017/2018 г. была изучена чувствительность 81 штамма вирусов гриппа А и В к осельтамивиру и занамивиру (см. **табл.**). Большинство штаммов (83%) выделено в г. Москве, при этом 76 изученных штаммов хорошо ингибировались препаратами в концентрациях, рекомендованных ВОЗ. В то же время 5 штаммов вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 проявили пониженную чувствительность к осельтамивиру ($IC_{50} = 610,8–926,3$ нМ) и сохранили чувствительность к занамивиру ($IC_{50} = 0,8–1,7$ нМ). В ходе анализа аминокислотных последовательностей NA этих штаммов была выявлена замена гистидина (histidine, H) на тирозин (tyrosine, Y) в позиции 274. Вирусы были изолированы из клинического материала от беременных женщин в возрасте 20–35 лет, поступивших в ИКБ № 1 в начале эпидемического сезона. Женщины были госпитализированы с диагнозом «грипп» и не были привиты гриппозной вакциной. Помимо симптоматического лечения и антибиотикотерапии трём женщинам из пяти был назначен осельтамивир в стационаре. Штамм А/Москва/102/2017 (Н1N1)pdm09 выделен из клинического материала, взятого на второй день от начала приёма препарата; А/Москва/11/2018 (Н1N1)pdm09 — на первый день приёма препарата; А/Москва/12/2018 (Н1N1)pdm09 — на третий день приёма препарата. У всех женщин, получавших лечение осельтамивиром, лихорадка закончилась в первый и второй дни приёма препарата, что свидетельствует об эффективности применяемой стационарно схемы лечения.

В эпидемическом сезоне 2018/2019 г. было исследовано 70 штаммов вирусов гриппа А и В (79% выделены от пациентов г. Москвы). Все штаммы сохранили благоприятный профиль чувствительности к NAИ (см. **табл.**). Помимо проведённых исследований относительно ингибиторов

Изучение чувствительности вирусов гриппа к специфическим препаратам в Институте вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России

Эпидемический сезон, гг.	Вирусы гриппа	Число штаммов	Летальные случаи	Беременные	ТОРИ	Находки
2017/2018	A(H1N1) pdm09	40	4	28	6	5 штаммов HRI* к осельтамивиру (H274Y в NA); 87,5% NI к NAI
	A(H3N2)	18	–	–	2	100% NI к NAI
	B	23	–	10	4	1 штамм RI к осельтамивиру (H273Y в NA) 1 штамм RI к занамивиру; 91% NI к NAI
2018/2019	A(H1N1) pdm09	45	1	19	1	1 штамм A(H1N1)pdm09 чувствительный к ремантадину; 100% NI к NAI
	A(H3N2)	19	–	4	–	
	B	6	–	–	1	
2019/2020	A(H1N1) pdm09	81	3	18	4	1 штамм RI к осельтамивиру и занамивиру (R152K в NA); 98% NI к NAI
	A(H3N2)	10	–	–	–	100% NI к NAI
	B	48	–	22	–	

Примечание. * — профили чувствительности вирусов гриппа к NAI по официальным критериям Всемирной организации здравоохранения: NI — нормальное ингибирование, RI — сниженное ингибирование, HRI — сильно сниженное ингибирование. ТОРИ — тяжёлая острая респираторная инфекция.

NA, в этом эпидемическом сезоне в серии экспериментов было изучено влияние ремантадина на репродукцию 13 пандемических штаммов вируса гриппа A(H1N1)pdm09. В отношении 12 изученных штаммов (скрининговое исследование) процент ингибирования вирусной репродукции при концентрации препарата 5,0 мкг/мл не превышал 27%. Для большинства штаммов это значение было равно нулю. Следует отметить, что в январе 2019 г. в НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи был выделен штамм вируса гриппа A(H1N1)pdm09 — A/Москва/246/2018, который показал снижение репликации в клетках культуры ткани MDCK в присутствии ремантадина. Согласно средним данным серии опытов по исследованию специфической активности ремантадина в отношении этого штамма, активность была дозозависимой, т.е. увеличение концентрации препарата от 0,5 до 10,0 мкг/мл приводило к возрастанию процента подавления вирусной репродукции от 0 до 100% соответственно для разных вирусных разведений. По результатам генетического анализа, этот

штамм и клинический материал, из которого он был изолирован, не имели аминокислотной замены серина (serine, S) на аспарагин (asparagine, N) в 31-м положении белка M2, которая отвечает за резистентность к препаратам адамантанового ряда.

В эпидемическом сезоне 2019/2020 г. было исследовано 139 штаммов вирусов гриппа, из них 118 (85%) из г. Москвы и 21 (15%) из других регионов России. Большинство изученных штаммов оставались чувствительными как к осельтамивиру, так и к занамивиру в концентрациях, рекомендованных ВОЗ (см. табл.). Штамм A/Чебоксары/125/2020 (H1N1)pdm09, изолированный от пациента с пневмонией, проявил пониженную чувствительность как к осельтамивиру ($IC_{50} = 98,9$ нМ), так и к занамивиру ($IC_{50} = 13,1$ нМ). Результаты полногеномного секвенирования данного штамма выявили наличие 8 мутаций в гене NA, одна из которых в активном сайте белка R152K отвечает за сниженную чувствительность к антинейраминидазным препаратам, другая — S31N в белке M2 — ответственна за резистентность к препаратам адаман-

танового ряда. Также в сезоне 2019/2020 г. изолированный на вторые сутки от начала лечения осельтамивиром штамм А/Москва/38/2020 (H1N1) pdm09 от пациента ИКБ № 1 оставался чувствительным как к осельтамивиру, так и к занамивиру в концентрациях, рекомендованных ВОЗ.

В рамках международного сотрудничества большинство вирусов гриппа, в частности 85 А(H1N1) pdm09, 103 А(H3N2) и 61 В, отправленных в сотрудничающие Центры в период 2017–2020 гг., показали нормальную чувствительность к препаратам с антинейраминидазной активностью. Исключение составили 2 штамма вируса гриппа В, один из которых — В/Москва/107/2017 — показал сниженную чувствительность к осельтамивиру (замена H273Y в NA), но сохранил чувствительность к занамивиру; другой — В/Москва/01/2018 — сниженную чувствительность к занамивиру и нормальную — к осельтамивиру (см. табл.).

Обсуждение

До настоящего исследования в период с 2009 по 2016 г. в Институте вирусологии им. Д.И. Иванова ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России из всех протестированных образцов, содержащих вирусы гриппа А(H1N1) pdm09, А(H3N2) и В, в двух (0,4%) с вирусом гриппа А(H1N1) pdm09 была детектирована сильно сниженная чувствительность (highly reduced inhibition, HRI) к осельтамивиру (мутация H274Y), один из которых был от пациента с летальной пневмонией [2, 16]. Следует отметить, что в начале 2013 г. был изолирован осельтамивиррезистентный пандемический штамм вируса гриппа А/ИВ-Москва/34/2013 (H1N1) pdm09. Вирус был выделен из клинического материала от непривитого от гриппа пациента ИКБ № 1 в возрасте 22 лет без хронических заболеваний, со стандартной симптоматикой при неосложнённом течении инфекции (лихорадка, слабость, трахеит, фарингит) и назначенной в стационаре противовирусной терапией Ингавирином (90 мг/сут.). Молекулярно-генетическое исследование носоглоточного смыва и изолированного из него штамма показало наличие замены H274Y в белке NA, что указывало на сильно сниженную чувствительность к осельтамивиру. Результат изучения чувствительности штамма к NA1 в фенотипическом MUNANA тесте:

IC₅₀ для осельтамивира составила 569,4 nM (HRI), IC₅₀ для занамивира — 0,6 nM (normal inhibition, NI). Штамм депонирован в Государственную коллекцию вирусов Института вирусологии им. Д.И. Иванова ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, номер депонирования 2761.

В более раннем клиническом исследовании в период пандемии 2009/2010 г. от пациента ИКБ № 1 с гриппом на 5-й день лечения осельтамивиром был выделен первый штамм вируса гриппа А(H1N1) pdm09 с маркером резистентности H275Y в NA [16]. При депонировании в Государственную коллекцию вирусов штамму А/ИВ-Москва/17/2010 (H1N1)v был присвоен номер депонента 2609. В то же время штамм оставался чувствительным к Арбидолу (умифеновир) и резистентным к ремантадину. Проведённые исследования подтверждают многочисленные литературные данные о формировании вирусной устойчивости в процессе терапии специфическими препаратами [3, 17].

Следует отметить, что все изученные в эпидемическом сезоне 2015/2016 г. штаммы А(H1N1) pdm09 были чувствительны к умифеновиру (10,0 мкг/мл). Кроме того, процент ингибирования репродукции для 25 штаммов, выделенных из аутопсийного материала, был сопоставим с таковым для штаммов, выделенных из носоглоточных смывов выздоровевших пациентов [18]. Арбидол активен в отношении вирусов гриппа А и В, включая высокопатогенные А(H5N1), а также осельтамивиррезистентные штаммы с заменой H275Y в NA [1, 3]. Лечение умифеновиром мышей с пневмонией, вызванной вирусом гриппа А(H1N1) pdm09, привело к повышению выживаемости и увеличению периода жизни, а также остановке потери веса в сравнении с группой плацебо [3]. Последующие стадии клинических исследований включали 5287 пациентов с острой респираторной инфекцией из 88 госпиталей 55 регионов России. Пневмония развилась у 14,1% из 1605 пациентов, получавших лечение умифеновиром, в течение первых 24 ч, у 18,1% из 714 пациентов и 48% из 148 пациентов, не получавших лечение препаратом, — в течение 48 ч. Раннее начало лечения умифеновиром снижает риск развития осложнений у пациентов с тяжёлым течением инфекции [3].

За период 2016–2017 гг. Национальными центрами ВОЗ (западная часть Тихого океана, США и Европа, а также незначительное количество вирусов с Восточного Средиземноморья, Африки и Юго-Восточной Азии) было проведено большое исследование, где в целом 18 915 вирусов гриппа А и В были протестированы на предмет чувствительности к ингибиторам NA [4]. В 0,5% (90 образцов) показано сниженное/сильно сниженное (RI/HRI) ингибирование одним или более NA1. Следует отметить, что частота встречаемости таких вирусов остаётся низкой с начала проведения Глобального надзора (2015/2016 — 0,8%; 2014/2015 — 0,5%; 2013/2014 — 1,9%; 2012/2013 — 0,6%) [17, 19, 20].

Из 2994 протестированных Национальными центрами ВОЗ в период 2016/2017 г. штаммов А(Н1N1)pdm09 14 (0,5%) оказались с профилем RI/HRI к одному или более NA1 [4]. Большинство этих вирусов (12) содержали замену H275Y в NA и были устойчивы к осельтамивиру и перамивиру. История лечения была известна для 7 случаев из 12: трое пациентов получали осельтамивир, в то же время четверо не получали лечения ни одним из NA1. Стоит отметить, что на сегодняшний день вирусы гриппа А(Н1N1)pdm09 с заменой H275Y (H274Y) в NA — наиболее часто встречаемые с профилем осельтамивир-резистентности. Один вирус А(Н1N1)pdm09 с профилем сниженной чувствительности (reduced inhibition, RI) как к занамивиру, так и осельтамивиру содержал замену S110F в NA и был изолирован от иммунокомпетентного пациента. Другой вариант А(Н1N1)pdm09 с заменой D199G показал профиль низкой чувствительности (RI) к осельтамивиру. Пациент не получал лечения NA1, но история его болезни и иммунный статус неизвестны.

Из 6844 штаммов А(Н3N2) 7 (0,1%) оказались с профилем сниженного ингибирования (RI) к одному или более NA1 [4]. Три штамма с заменой N329K, изолированные в Европейском регионе, показали пограничные значения сниженной чувствительности к осельтамивиру и занамивиру, причём данная замена была обнаружена ранее у вируса с нормальным профилем чувствительности к NA1. Вирус А(Н3N2), выделенный от пациента с неизвестной историей лечения в Китае, содержал микс-замену D151D/G в NA и демонстрировал сниженное ингибирование (RI) занамивиром. Ранее вирус

из Японии с заменой D151N в NA показывал сниженное ингибирование тремя из четырёх NA1 (кроме перамивира). Также стоит отметить, что данная мутация не регистрировалась при генотипировании NA из клинического образца, что может указывать на то, что замена индуцирована культивированием вируса в клеточной культуре или на присутствие изначально низкого количества варианта с заменой в клиническом материале.

Восемь (0,4%) из 2242 штаммов вирусов гриппа В (линия Викторияподобных) показали RI/HRI профили к одному или нескольким NA1 [4]. Вирусы были получены из Мексики (2; I221V), США (1; A200T), Японии (1; H134Y/Н микс) и Китая (4; P76S, D197N, T43A/P124T, S246P). Вариант с заменой A200T был идентифицирован как в клиническом образце, так и в изоляте и показывал профиль сниженной чувствительности (RI) ко всем четырём NA1. Стоит отметить, что данная замена в NA вирусов гриппа В была выявлена ранее, но возникала в результате культивирования штамма на клетках культуры ткани MDCK. Все четыре штамма вируса гриппа В из Китая, демонстрировавшие RI профиль к осельтамивиру и/или занамивиру, были изолированы от иммунокомпетентных пациентов.

Три штамма (0,2%) из 1592 вирусов гриппа В (линия Ямагатаподобных) показали RI/HRI профили к одному или нескольким NA1 [4]. Один вариант с заменой R150K как в клиническом материале, так и в изоляте выделен в Тайвани от пациента, не получавшего лечения ингибиторами, был высоко устойчив (HRI) ко всем четырём препаратам. Следующий вариант с заменой D197N был детектирован в США и показывал сниженное ингибирование (RI) как осельтамивиром, так и перамивиром. Обе эти замены находятся в активном сайте NA вируса гриппа, и ранее детектировались как возникшие в результате терапии препаратами.

В эпидемическом сезоне 2017/2018 г. рядом стран (Европейский регион, США) был протестирован 8261 штамм [20–24]. Из 2298 изученных штаммов вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 32 (1,4%) проявили пониженную чувствительность к осельтамивиру, 2 — к занамивиру; из 3337 штаммов вируса гриппа А(Н3N2) 2 штамма проявили пониженную чувствительность к осельтамивиру и занамивиру; из 2626 штаммов вируса гриппа В

2 штамма проявили пониженную чувствительность к осельтамивиру и 2 штамма — к осельтамивиру и занамивиру. Подавляющее большинство штаммов, циркулировавших в странах Северного полушария, сохранили чувствительность к препаратам с антинейраминидазной активностью.

В эпидемическом сезоне 2018/2019 г. было протестировано 4636 штаммов [20, 22–24]. Из 2591 изученного штамма вируса гриппа А(Н1N1)pdм09 16 (0,6%) проявили пониженную чувствительность к осельтамивиру; из 1790 штаммов вируса гриппа А(Н3N2) 2 штамма проявили пониженную чувствительность к осельтамивиру; из 255 штаммов вируса гриппа В 1 штамм проявил пониженную чувствительность к осельтамивиру и занамивиру.

Результаты мониторинга чувствительности эпидемических штаммов к противовирусным препаратам в эпидемическом сезоне 2019/2020 г. показали, что из числа более чем 4000 протестированных образцов (Европейский регион, США) пониженную чувствительность к осельтамивиру проявили только 7 (0,4%) штаммов вируса гриппа А(Н1N1)pdм09 и 1 (0,1%) штамм вируса гриппа В, к занамивиру — 1 (0,1%) штамм вируса гриппа А(Н1N1)pdм09 и 2 (0,1%) штамма вируса гриппа В, к обоим препаратам — 3 штамма вирусов гриппа А(Н1N1)pdм09, А(Н3N2) и В [20, 24]. Один штамм вируса гриппа А(Н3N2) (Европейский регион), содержащий замену R292K в активном сайте NA, проявлял сильно сниженную чувствительность к осельтамивиру и сниженную — к занамивиру. В то же время все изученные штаммы были резистентны к препаратам адамантанового ряда.

Следует отметить, что аминокислотные замены, приводящие к профилям RI/HRI, могут вызывать снижение жизнеспособности вируса, что приводит к низкой репликации в культуре клеток по сравнению с чувствительным вариантом, особенно если изначально в клиническом образце количество RI/HRI варианта недостаточное [4]. Также для некоторых выявленных ранее замен существуют ограниченные доказательства того, что именно они действительно влияют на чувствительность вируса к ингибиторам NA. Риск возникновения циркулирующих резистентных штаммов может обуславливаться развившейся

устойчивостью в результате лечения инфекции [3]. Пятилетний опыт изучения формирования резистентности у вирусов гриппа А от принявших осельтамивир пациентов показал, что частота возникновения устойчивых штаммов в 10 раз превышает у детей младше 5 лет (11,8%) и в 2 раза выше среди всех пациентов с гриппом А(Н1N1)pdм09 (5,1%). Стоит отметить, что устойчивые штаммы также довольно часто возникают у иммунокомпромированных пациентов, которые продолжают выделять вирус некоторый период после лечения препаратами.

Таким образом, мировые данные за период 2017–2020 гг. в целом коррелируют с результатами, полученными в НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, в отношении чувствительности циркулирующих вирусов гриппа к специфическим химиопрепаратам. Сохранены благоприятный профиль вирусной чувствительности к NAi и резистентность к ремантадину. Расширение эпиднадзора имеет первостепенное значение, так как в отношении некоторых препаратов против гриппа, находящихся на поздних стадиях клинических испытаний, уже были выявлены резистентные штаммы.

В настоящее время в Японии существует ряд противогриппозных химиопрепаратов с альтернативными механизмами действия на разные стадии вирусной репродукции [3, 4]. Одним из таких соединений является *фавипиравир*, разработанный в компании Toyama Chemical, — ингибитор полимеразы, аналог пуриновых нуклеозидов с широким спектром противовирусной активности, лицензированный в Японии с 2014 г. Применяется в отношении вирусов гриппа в случаях, если имеющиеся известные препараты уже неэффективны [3]. 30 мая 2020 г. фавипиравир, выпускаемый под торговым наименованием Ави-фавир, зарегистрирован в России как препарат, эффективный в отношении новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2.

При лечении гриппозной инфекции фавипиравиром облегчение симптомов происходит на 6–14 ч раньше по сравнению с группой плацебо [3]. На сегодняшний день резистентных к фавипиравиру штаммов у пролеченных пациентов не изолировано, но серия последовательных пассажей *in vitro* в присутствии препарата приводит к замене в белке PB1, что свидетельствует о том, что

устойчивые вирусы имеют право возникнуть при его активном клиническом применении.

Балоксавир (балоксавира марбоксил) — ингибитор эндонуклеазы с пролонгированным действием на стадии репликации вирусов гриппа А и В, разработанный японской компанией Shionogi & Co, является первым ингибитором PA белка, одобренный к лечению гриппозной инфекции в Японии и США с 2018 г. [3, 4]. Выпускается швейцарской фармацевтической компанией Roche с 2016 г. под торговой маркой Ксофлюза™. Препарат продемонстрировал широкую активность в отношении нескольких подтипов вируса гриппа А (H1N2, H5N1, H5N2, H5N6, H7N9, H9N2) [25]. Раннее начало лечения (< 48 ч) препаратом приводило к смягчению или полному исчезновению симптомов на 26,5 ч ранее, чем в группе плацебо, что сравнимо с теми же показателями для осельтамивира. Балоксавиррезистентные варианты вирусов были обнаружены в результате клинических испытаний у 17% пролеченных детей [4]. Во многих исследованиях отмечено, что резистентность в результате лечения наблюдалась в 20–23% случаев у пациентов в возрасте от 1 до 11 лет по сравнению с 8% случаев у пациентов в возрасте 12–64 лет [3]. Серийные пассажи вирусов в присутствии балоксавира привели к изоляции варианта с заменой I38T в белке PA со сниженной чувствительностью к препарату. Однако возникновение PA/I38T вариантов не приводило к увеличению времени исчезновения симптомов гриппозной инфекции у взрослых пациентов. У детей появление PA/I38T вариантов увеличивало время смягчения общих симптомов гриппа. Таким образом, замена PA/I38T может ассоциироваться с пролонгацией вирусной элиминации и общего периода заболевания.

В III фазе клинических испытаний находится ещё один препарат — *нимодивир* (компания Janssen Pharmaceutica, дочерняя компания Johnson & Johnson, США). Препарат эффективен в отношении вирусов гриппа А, является нуклеотидным PB2 ингибитором, механизм действия которого заключается в блокировании 7-метил-GTP-связывающего сайта [4]. Показал противовирусный эффект во II фазе клинических испытаний, однако устойчивые варианты с аминокислотными точечными заменами в

PB2 белке были найдены в 10% случаев. Нимодивир эффективно снижал вирусную нагрузку; при совместном применении с осельтамивиром в течение первых 72 ч от начала заболевания у пролеченных пациентов сокращался период вирусной элиминации на 36%, а время возвращения к нормальной жизнедеятельности уменьшалось на 61% в сравнении с применением только осельтамивира.

Препарат широкого спектра действия, известный с 1980 г., — *нитазоксанид* (Romark Laboratories, США), мишенью которого являются инфицированные вирусом клетки митохондрия [4]. Механизм его противовирусного действия заключается в сокращении продуцирования аденозинтрифосфата, что приводит к невозможности дальнейшей вирусной репликации. В настоящее время нитазоксанид проходит III и IV стадии клинических исследований своего ингибирующего действия на широкий спектр подтипов вирусов гриппа, а также вирусов, устойчивых к NA1. Препарат довольно хорошо переносится пациентами с частотой неблагоприятных побочных эффектов, сравнимых с группой плацебо; в серии вирусных пассажей в присутствии последовательно растущей концентрации нитазоксанида резистентных штаммов не выявлено.

Заключение

В период 2017–2020 гг. в рамках эпидемиологического надзора за циркуляцией вирусов гриппа в Институте вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России была изучена чувствительность выделенных из клинического материала от пациентов из городов Европейской части, Урала, Сибири и Дальнего Востока России штаммов вирусов гриппа А и В к ингибиторам NA осельтамивиру и занамивиру (541 штамм). Большинство изученных штаммов оставались чувствительными к обоим препаратам в концентрациях, рекомендованных ВОЗ.

Исключение составили:

- 5 штаммов вируса гриппа А(H1N1)pdm09, изолированных из клинического материала от беременных женщин в начале сезона 2017/2018 г., которые проявили сильно сниженную чувствительность к осельтамивиру (HRI), но сохранили чувствительность к занамивиру (NI);

- 2 штамма вируса гриппа В, один из которых — В/Москва/107/2017 — показал сниженную чувствительность к осельтамивиру (RI), но сохранил чувствительность к занамивиру (NI), другой — В/Москва/01/2018 — сниженную чувствительность к занамивиру (RI) и нормальную к осельтамивиру (NI);
- изолированный в сезоне 2019/2020 г. от пациента с пневмонией штамм вируса гриппа А/Чебоксары/125/2020 (H1N1)pdm09 проявил пониженную чувствительность как к осельтамивиру (RI), так и к занамивиру (RI).

Также в сезоне 2018/2019 г. в отношении большинства изученных штаммов А(H1N1)pdm09 процент ингибирования вирусной репродукции в присутствии ремантадина был равен нулю. Исключение составил штамм вируса гриппа А/Москва/246/2018 А(H1N1)pdm09, который показал снижение репликации до 100% в присутствии препарата. По результатам генетического анализа, этот штамм не содержал аминокислотной замены серина (S) на аспарагин (N) в 31-м положении белка М2, которая отвечает за резистентность к препаратам адамантанового ряда.

Таким образом, основными и наиболее часто встречающимися генетическими маркерами резистентности вирусов гриппа к специфическим препаратам являются:

- замена H274Y в NA вируса гриппа А(H1N1)pdm09 для осельтамивира;
- замена S31N в белке М2 вирусов гриппа А(H1N1)pdm09 и А(H3N2) для ремантадина.

Учитывая низкую частоту штаммов с пониженной чувствительностью к препаратам с антинейраминидазной активностью, можно уверенно говорить о том, что они остаются препаратами выбора для лечения и профилактики гриппозной инфекции. Дальнейшие исследования предполагают изучение роли комбинированной терапии препаратами с отличающимся механизмом действия. Новые препараты и схемы их комбинированного применения в случае тяжёлого протекания инфекции представляют перспективу укрепления уже существующего арсенала для лечения и профилактики гриппа и обеспечения готовности к пандемии в будущем. Также является очень существенным расширение методологии мониторинга чувствительности ежегодно цирку-

лирующих штаммов к противовирусным препаратам и параллельное исследование механизмов возникновения резистентности к ним.

Дополнительная информация

Финансирование. Исследование было частично поддержано Центрами по контролю и профилактике заболеваний (Атланта, США), Кооперативным соглашением «Поддержание потенциала по надзору за гриппом в России».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов. Бреслав Н.В. — разработка концепции и дизайна исследований, проведение исследований, сбор и анализ литературных источников, написание и редактирование текста рукописи; Краснослободцев К.Г. — проведение молекулярно-генетических исследований, сбор и обработка материала, написание и редактирование текста рукописи; Мукашева Е.А., Кириллова Е.С., Колобухина Л.В. — проведение исследований и редактирование текста рукописи; Росаткевич А.Г. — сбор информационного материала и редактирование текста рукописи; Бурцева Е.И. — разработка концепции и дизайна исследований, редактирование и утверждение окончательного варианта текста рукописи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства согласно международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследований и подготовку рукописи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Благодарности. Авторы благодарны сотрудникам опорных баз, представленных территориальными управлениями и Центрами гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора в Европейской части (Великий Новгород, Липецк, Владимир, Ярославль, Пенза и Чебоксары), на Урале (Оренбург), в Сибири (Томск) и на Дальнем Востоке (Владивосток и Биробиджан), а также сотрудникам ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница № 1» ДЗ г. Москвы за предоставление данных и образцов клинических материалов; коллегам из сотрудничающих центров по гриппу ВОЗ — Всемирный Крик Центр по гриппу (Милл Хилл, Лондон, Великобритания), Центры по контролю за заболеваемостью и профилактике

(CDC&P; Атланта, США) и ФГБЦ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия), а также сотрудникам НПО «ДНК-технология» (Москва, Россия) и заведующей лабораторией анализа геномов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России к.б.н., доценту Вороной Ольге Львовне за проведение молекулярно-генетического анализа эпидемических штаммов.

Funding. The work was supported by the Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA, Cooperative agreement “The support of potential for influenza surveillance in Russia”.

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

Authors contribution. Breslav N.V. — developing the concept and design of research, conducting

research, collecting and analyzing literary sources, writing and editing the text of the manuscript; Krasnoslobotsev K.G. — conducting molecular genetic research, collecting and processing material, writing and editing the text of the manuscript; Mukasheva E.A., Kirillova E.S., Kolobukhina L.V. — conducting research and editing the text of the manuscript; Rosatkevich A.G. — collecting information material and editing the text of the manuscript; Burtseva E.I. — development of the research concept and design, editing and approval of the final version of the manuscript text. All authors confirm their authorship in accordance with the international ICMJE criteria (all authors have made a significant contribution to the concept development, research and preparation of the manuscript, read and approved the final version before publication).

ЛИТЕРАТУРА

- Leneva I.A., Russell R.J., Boriskin Y.S., Hay A.J. Characteristics of arbidol-resistant mutants of influenza virus: implications for the mechanism of anti-influenza action of arbidol. *Antiviral Res.* 2009;81(2):132-140. doi: 10.1016/j.antiviral.2008.10.009.
- Бурцева Е.И., Бреслав Н.В., Кириллова Е.С., и др. Ингибиторы нейраминидазы вирусов гриппа: эффективность в постпандемический период // *Эффективная фармакотерапия. Эпидемиология и инфекции.* — 2016. — Т.44. — №2. — С. 32–36.
- Beigel J.H., Nam H.H., Adams P.L., et al. Advances in respiratory virus therapeutics – A meeting report from the 6th isiv Antiviral Group conference. *Antiviral Res.* 2019;167:45-67. doi: 10.1016/j.antiviral.2019.04.006.
- Lackenby A., Besselaar T.G., Daniels R.S., et al. Global update on the susceptibility of human influenza viruses to neuraminidase inhibitors and status of novel antivirals, 2016–2017. *Antiviral Res.* 2018;157:38-46. doi: 10.1016/j.antiviral.2018.07.001.
- Colman P.M., Varghese J.N., Laver W.C. Structure of the catalytic and antigenic sites in influenza virus neuraminidase. *Nature.* 1983;303(5912):41-44. doi: 10.1038/303041a0.
- Львов Д.К., Бурцева Е.И., Прилипов А.Г., и др. Изоляция 24.05.2009 г. и депонирование в Государственную коллекцию вирусов (ГКВ N 2452 от 24.05.2009 г.) первого штамма A/IV-Moscow/01/2009 (H1N1)sw1, подобного свиному вирусу A(H1N1), от первого выявленного 21.05.2009 г. больного в г. Москве // *Вопросы вирусологии.* — 2009. — Т.54. — №5. — С. 10–14.
- Sominina A., Burtseva E., Erokin M., et al. Influenza surveillance in Russia based on epidemiological and laboratory data for the period from 2005 to 2012. *Am J Infect Dis.* 2013;9(3):77-93. doi: 10.3844/ajidsp.2013.77.93.
- WHO Global Influenza Surveillance Network. Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. World Health Organization; 2011. 153 p.
- Matrosovich M., Matrosovich T., Carr G., et al. Over-expression of the alpha-2,6-sialyltransferase in MDCK cells increases influenza virus sensitivity to neuraminidase inhibitors. *J Virol.* 2003;77(15):8418-8425. doi: 10.1128/jvi.77.15.8418-8425.2003.
- Методические рекомендации «Выделение вирусов сезонного и потенциально пандемического гриппа в клеточных культурах и куриных эмбрионах и их идентификация» (утверждены ФС по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 18 апреля 2006 г. № 0100/4430-06-34). Доступно по: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/4082733/>. Ссылка активна на 15.06.2020.
- Leang S.K., Hurt A.C. Fluorescence-based neuraminidase inhibition assay to assess the susceptibility of influenza viruses to the neuraminidase inhibitor class of antivirals. *J Vis Exp.* 2017;122:55570. doi: 10.3791/55570.
- Zhou B., Donnelly M.E., Scholes D.T., et al. Single-reaction genomic amplification accelerates sequencing and vaccine production for classical and Swine origin human influenza A viruses. *J Virol.* 2009;83(19):10309-10313. doi: 10.1128/jvi.01109-09.
- Zhou B., Lin X., Wang W., et al. Universal influenza B virus genomic amplification facilitates sequencing, diagnostics, and reverse genetics. *J Clin Microbiol.* 2014;52(5):1330-1337. doi: 10.1128/JCM.03265-13.
- Львов Д.К., Яшкулов К.Б., Прилипов А.Г., и др. Обнаружение аминокислотных замен аспарагиновой кислоты на глицин и аспарагин в рецепторсвязывающем сайте гемагглютинина в вариантах пандемического вируса гриппа A/H1N1 от больных с летальным исходом и со среднетяжелой формой заболевания // *Вопросы вирусологии.* — 2010. — Т.55. — №3. — С. 15–28.
- Бурцева Е.И., Шевченко Е.С., Ленева И.А., и др. Чувствительность к ремантадину и Арбидолу вирусов гриппа, вызвавших эпидемические подъемы заболеваемости в России в сезоне 2004–2005 гг. // *Вопросы вирусологии.* — 2007. — Т.52. — №2. — С. 24–29.
- Бреслав Н.В., Шевченко Е.С., Абрамов Д.Д., и др. Эффективность применения антинейраминидазных химиопрепаратов

- во время пандемии гриппа и в постпандемический период // *Вопросы вирусологии*. — 2013. — Т.58. — №1. — С. 28–32.
17. Takashita E., Meijer A., Lackenby A., et al. Global update on the susceptibility of human influenza viruses to neuraminidase inhibitors, 2013–2014. *Antiviral Res.* 2015;117:27-38. doi: 10.1016/j.antiviral.2015.02.003.
 18. Breslav N., Krasnoslobodtsev K., Mukasheva E., et al. The facts of influenza antivirals susceptibility surveillance in Russia. Clinical sciences: therapeutics – antivirals: options X for the Control of Influenza; 28 Aug – 1 Sep 2019, Suntec Singapore, Abstract Book; 2019. 234 p.
 19. WHO. Weekly epidemiological record Relevé épidémiologique hebdomadaire. Review of the 2014–2015 influenza season in the northern hemisphere. Available from: <http://www.who.int/wer/2015/wer9023.pdf>.
 20. WHO. Flu News Europe. Weekly influenza overview. Available from: <http://flunewseurope.org>.
 21. WHO. Seasonal influenza in the WHO European Region, 2017–2018 early season (2018). Available from: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/communicable-diseases/influenza/publications/2018/seasonal-influenza-in-the-who-european-region,-2017-2018-early-season>.
 22. WHO. Influenza: Surveillance and monitoring (GISRS). Available from: https://www.who.int/influenza/surveillance_monitoring/en/.
 23. WHO. Influenza: FluNet summary. Available from: http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/updates/summaryreport/en.
 24. CDC. Weekly U.S. Influenza Surveillance Report. Available from: <https://www.cdc.gov/flu/weekly/>.
 25. Noshi T., Kitano M., Taniguchi K., et al. In vitro characterization of baloxavir acid, a first-in-class cap-dependent endonuclease inhibitor of the influenza virus polymerase PA subunit. *Antiviral Res.* 2018;160:109-117. doi: 10.1016/j.antiviral.2018.10.008.

REFERENCES

1. Leneva IA, Russell RJ, Boriskin YS, Hay AJ. Characteristics of arbidol-resistant mutants of influenza virus: implications for the mechanism of anti-influenza action of arbidol. *Antiviral Res.* 2009;81(2):132-140. doi: 10.1016/j.antiviral.2008.10.009.
2. Burtseva EI, Breslav NV, Kirillova ES, et al. Influenza virus neuraminidase inhibitors: efficacy during post-pandemics period. *Effective pharmacotherapy. Epidemiology and infections.* 2016;44(2):32-36. (In Russ).
3. Beigel JH, Nam HH, Adams PL, et al. Advances in respiratory virus therapeutics – A meeting report from the 6th isriv Antiviral Group conference. *Antiviral Res.* 2019;167:45-67. doi: 10.1016/j.antiviral.2019.04.006.
4. Lackenby A, Besselaar TG, Daniels RS, et al. Global update on the susceptibility of human influenza viruses to neuraminidase inhibitors and status of novel antivirals, 2016–2017. *Antiviral Res.* 2018;157:38-46. doi: 10.1016/j.antiviral.2018.07.001.
5. Colman PM, Varghese JN, Laver WC. Structure of the catalytic and antigenic sites in influenza virus neuraminidase. *Nature.* 1983;303(5912):41-44. doi: 10.1038/303041a0.
6. L'vov DK, Burtseva EI, Prilipov AG, et al. The 24 May, 2009 isolation of the first A/HIV-Moscow/01/2009 (H1N1)swl strain similar to swine A(H1N1) influenza virus from the first Moscow case detected on May 21, 2009, and its deposit in the State Collection of Viruses (SCV No. 2452 dated May 24, 2009). *Problems of Virology.* 2009;54(5):10-14. (In Russ).
7. Sominina A, Burtseva E, Eropkin M, et al. Influenza surveillance in Russia based on epidemiological and laboratory data for the period from 2005 to 2012. *Am J Infect Dis.* 2013;9(3):77-93. doi: 10.3844/ajidsp.2013.77.93.
8. WHO Global Influenza Surveillance Network. Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. World Health Organization; 2011. 153 p.
9. Matrosovich M, Matrosovich T, Carr G, et al. Overexpression of the alpha-2,6-sialyltransferase in MDCK cells increases influenza virus sensitivity to neuraminidase inhibitors. *J Virol.* 2003;77(15):8418-8425. doi: 10.1128/jvi.77.15.8418-8425.2003.
10. Metodicheskie rekomendatsii "Vydelenie virusov sezonnogo i potentsial'no pandemicheskogo grippa v kletochnykh kul'turakh i kurinykh embrionakh i ikh identifikatsiya" (utverzhdenny FS po nadzoru v sfere zashchity prav potrebiteley i blagopoluchiya cheloveka 18 aprelya 2006 g. № 0100/4430-06-34). (In Russ). Available from: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/4082733/>.
11. Leang SK, Hurt AC. Fluorescence-based neuraminidase inhibition assay to assess the susceptibility of influenza viruses to the neuraminidase inhibitor class of antivirals. *J Vis Exp.* 2017;122:55570. doi: 10.3791/55570.
12. Zhou B, Donnelly ME, Scholes DT, et al. Single-reaction genomic amplification accelerates sequencing and vaccine production for classical and Swine origin human influenza A viruses. *J Virol.* 2009;83(19):10309-10313. doi: 10.1128/jvi.01109-09.
13. Zhou B, Lin X, Wang W, et al. Universal influenza B virus genomic amplification facilitates sequencing, diagnostics, and reverse genetics. *J Clin Microbiol.* 2014;52(5):1330-1337. doi: 10.1128/JCM.03265-13.
14. L'vov DK, Yashkulov KB, Prilipov AG, et al. Detection of amino acid substitutions of asparaginic acid for glycine and asparagine at the receptor-binding site of hemagglutinin in the variants of pandemic influenza A/H1N1 virus from patients with fatal outcome and moderate form of the disease. *Problems of Virology.* 2010;55(3):15-18. (In Russ).
15. Burtseva YeI, Shevchenko YeS, Leneva IA, et al. Rimantadine and arbidol sensitivity of influenza viruses that caused epidemic morbidity rise in Russia in the 2004–2005 season. *Problems of Virology.* 2007;52(2):24-29. (In Russ).
16. Breslav NV, Shevchenko ES, Abramov DD, et al. Efficacy of anti-neuraminidase drugs application during and after an influenza pandemic. *Problems of Virology.* 2013;58(1):28-32. (In Russ).
17. Takashita E, Meijer A, Lackenby A, et al. Global update on the susceptibility of human influenza viruses to neuraminidase inhibitors, 2013–2014. *Antiviral Res.* 2015;117:27-38. doi: 10.1016/j.antiviral.2015.02.003.
18. Breslav N, Krasnoslobodtsev K, Mukasheva E, et al. The facts of influenza antivirals susceptibility surveillance in Russia. Clinical sciences: therapeutics – antivirals: options X for the Control of Influenza; 28 Aug – 1 Sep 2019, Suntec Singapore, Abstract Book; 2019. 234 p.
19. WHO. Weekly epidemiological record Relevé épidémiologique hebdomadaire. Review of the 2014–2015 influenza season in the northern hemisphere. Available from: <http://www.who.int/wer/2015/wer9023.pdf>.
20. WHO. Flu News Europe. Weekly influenza overview. Available from: <http://flunewseurope.org>.
21. WHO. Seasonal influenza in the WHO European Region, 2017–2018 early season (2018). Available from: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/communicable-diseases/influenza/publications/2018/seasonal-influenza-in-the-who-european-region,-2017-2018-early-season>.
22. WHO. Influenza: Surveillance and monitoring (GISRS). Available from: https://www.who.int/influenza/surveillance_monitoring/en/.

23. WHO. Influenza: FluNet summary. Available from: http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/updates/summaryreport/en.
24. CDC. Weekly U.S. Influenza Surveillance Report. Available from: <https://www.cdc.gov/flu/weekly/>.
25. Noshi T, Kitano M, Taniguchi K, et al. In vitro characterization of baloxavir acid, a first-in-class cap-dependent endonuclease inhibitor of the influenza virus polymerase PA subunit. *Antiviral Res.* 2018;160:109-117. doi: 10.1016/j.antiviral.2018.10.008.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ
 AUTHORS DATA

***Бреслав Наталья Владимировна**, к.б.н., [**Natalia V. Breslav**, PhD]; адрес: 123098, Россия, Москва, ул. Гамалеи, д. 18 [address: 18, Gamaleya str., 123098, Moscow, Russia]; **e-mail:** n.belyakova1983@gmail.com, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6946-5119>

Краснослободцев Кирилл Геннадьевич [**Kirill G. Krasnoslobotsev**]; **e-mail:** kkg_87@mail.ru,
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1745-9128>

Мукашева Евгения Андреевна [**Evgeniya A. Mukasheva**]; **e-mail:** mukasheva_evgeniya@mail.ru,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5688-5309>

Кириллова Елена Сергеевна, к.м.н. [**Elena S. Kirillova**, MD, PhD]; **e-mail:** esshevchenko@yandex.ru,
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7977-7530>

Росаткевич Александра Георгиевна [**Alexandra G. Rosatkevich**]; **e-mail:** rosatkevich@me.com,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0008-8711>

Колобухина Людмила Васильевна, д.м.н., профессор [**Lyudmila V. Kolobukhina**, MD, PhD, professor];
e-mail: lkolobukhina@mail.ru, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-5775-3343>

Бурцева Елена Ивановна, д.м.н., профессор [**Elena I. Burtseva**, MD, PhD, Professor]; **e-mail:** elena-burtseva@yandex.ru,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2518-6801>

* Для корреспонденции / For correspondence

Поступила 08.10.20

Принята к печати 11.10.20

Received 08.10.20

Accepted 11.10.20