

Изучение местного действия, острой и хронической токсичности шприцевой формы инактивированной гриппозной вакцины Ультрикс на животных моделях

О.Г. Курская¹ (kurskaya_og@mail.ru), К.А. Шаршов¹, А.Ю. Алексеев¹, М.А. Гуляева^{1,2}, А.М. Шестопалов¹, Л.В. Шестопалова², Г.М. Игнатьев¹, В.А. Шкурूपий¹

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины», г. Новосибирск

²ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»

Резюме

Проведено исследование острой и хронической токсичности, а также местного действия новой шприцевой формы инактивированной гриппозной вакцины Ультрикс на животных моделях (морские свинки, мыши линии BALB/c). Показано, что шприцевая форма вакцины Ультрикс не оказывает токсического действия на экспериментальных животных при однократном внутривенном введении, при многократном внутримышечном введении, а также не вызывает раздражения в месте однократного внутримышечного введения.

Ключевые слова: инактивированная гриппозная вакцина, безопасность вакцины, Ультрикс, вакцинопрофилактика гриппа

The Study in Animal Models of Local Action, Acute and Chronic Toxicity of Inactivated Influenza Vaccine Ultrixs in Syringe

O.G. Kurskaya¹ (kurskaya_og@mail.ru), K.A. Sharshov¹, A.Yu. Alekseev¹, M.A. Gulyaeva^{1,2}, A.M. Shestopalov¹, L.V. Shestopalova², G.M. Ignatev¹, V.A. Shkurupiy¹

¹Federal State Scientific Institution «Scientific Research Institute of Experimental and Clinical Medicine», Novosibirsk

²Federal State Educational Institution of Higher Professional Education «Novosibirsk National Research State University»

Abstract

The evaluation of acute and chronic toxicity and local effect of the inactivated influenza vaccine Ultrixs in animal models (guinea pigs, mice BALB/c) was performed. No vaccine-related toxic effect after a single intraperitoneal injection, multiple intramuscular injections, and no local irritant effect after a single intramuscular injection were reported in experimental animals.

Key words: inactivated influenza vaccine, vaccine safety, Ultrixs, influenza vaccination

Введение

Несмотря на впечатляющие достижения современной медицины, грипп и другие острые респираторные инфекции (ОРВИ) по-прежнему сохраняют свою эпидемиологическую значимость, являясь самой частой патологией человека, независимо от его возраста, места проживания и социального статуса. На долю гриппа и ОРВИ в нашей стране приходится около 93% всей инфекционной патологии [1, 2].

Как правило, грипп в структуре респираторной вирусной заболеваемости составляет около 20%, однако в отличие от многих ОРВИ имеет более тяжелое течение с развитием осложнений, а в особо тяжелых случаях приводит к летальным исходам, число которых в мире достигает 250 000 – 500 000 в год [3]. Тяжелое течение болезни, развитие осложнений, летальные исходы в основном регистрируются среди лиц из групп риска (пожилые люди, дети

младшего возраста, лица с фоновыми заболеваниями, включая хроническую патологию дыхательной и сердечно-сосудистой систем, сахарный диабет и иммуносупрессию) [4].

Актуальность борьбы с гриппом определяется как социально-медицинскими факторами (инвалидизация, ухудшение качества жизни и др.), так и экономическими (экономический ущерб от ОРВИ в России составляет около 50 млрд рублей в год) [5].

Наиболее оптимальным методом профилактики гриппа считается вакцинация, которая сочетает в себе высокую специфичность, профилактическую эффективность и экономичность [6]. Гриппозные вакцины способны защитить от заболевания 70 – 90% взрослого населения, если антигены, содержащиеся в ней, совпадают с циркулирующими вирусными антигенами [7]. Для профилактики гриппа применяют живые и инактивированные вакцины.

Основные преимущества живых вакцин – простота технологии производства, неинвазивное введение, индуцирование всех звеньев иммунного ответа (местного, клеточного и гуморального), а также длительность создаваемого иммунитета [8, 9]. Однако данный вид вакцин имеет ряд противопоказаний и не может применяться у детей младше трех лет и пациентов из групп высокого риска, для которых рекомендуется использовать субъединичные и сплит-вакцины [6].

В настоящее время в практическое здравоохранение активно внедряют виросомальные вакцины, в которые введены мембранные антигены вируса гриппа. По данным ряда исследований, этот подход позволяет повысить иммуногенность вакцин через механизмы активации клеточного иммунитета, повышения титра и увеличения длительности циркуляции протективных антител [10].

Одной из таких вакцин является отечественная инактивированная расщепленная вакцина Ультрикс, полученная с помощью обработки вирусов гриппа детергентом β -октилгликозидом и содержащая в своем составе высокоактивные псевдовирусные частицы в виде виросом, поверхностные и внутренние антигены вирусов гриппа типов А (H1N1 – 15 мкг, H3N2 – 15 мкг) и В (15 мкг) [11, 12].

Несмотря на существование целого ряда сравнительных клинических исследований гриппозных вакцин, для более детального анализа безопасности вакцины непреложным является использование животных моделей [13].

Цель данной работы – изучение на животных моделях острой и хронической токсичности, а также местного действия новой шприцевой формы вакцины Ультрикс.

Материалы и методы

Исследование выполняли в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические лекарственные препараты)» [14].

Животные

Эксперименты на животных осуществляли в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» 2003 года, Приложением к Приказу МЗ СССР от 12.08.1977 г. № 775, с соблюдением международных принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным.

Проведение исследований на лабораторных животных было одобрено решением Комиссии по биотехнике НИОХ СО РАН от 13.11.2012 года.

В работе использовали половозрелых самок белых мышей линии BALB/c 6 – 8-недельного возраста массой 18 – 20 г и половозрелых самок морских свинок 8-недельного возраста массой 240 – 260 г. Для каждого эксперимента (изучение острой токсичности, хронической токсичности и местного действия) было сформировано

по две группы животных каждого вида (по 10 животных в группе): по одной экспериментальной и одной контрольной группе для каждого вида животных в каждом эксперименте.

Изучение острой токсичности вакцины

В 0-й день эксперимента всем животным экспериментальных групп однократно внутривенно вводили вакцину Ультрикс в объеме 0,5 мл/животное, животным контрольных групп внутривенно вводили 0,9% раствор хлорида натрия в объеме 0,5 мл/животное.

За животными в течение 7 суток осуществляли ежедневное наблюдение с целью регистрации гибели животных, определения массы тела и наличия клинических признаков интоксикации.

Через 24 часа и на 7-е сутки после введения вакцины 5 животных из каждой группы были подвергнуты эвтаназии путем цервикальной дислокации с последующей эвисцерацией внутренних органов для макро- и микроскопического исследования. Для каждого органа рассчитывали отношение его массы к массе тела животного с последующим вычислением средних величин показателей для животных экспериментальных и контрольных групп. На 7-е сутки у всех животных брали кровь для проведения гематологических исследований.

Изучение хронической токсичности вакцины

В течение 10 дней ежедневно всем животным экспериментальных групп внутримышечно вводили вакцину Ультрикс в объеме 0,5 мл/животное, животным контрольных групп внутримышечно – 0,9% раствор хлорида натрия в объеме 0,5 мл/животное.

За животными в течение всего периода введения вакцины и в течение 7 суток после последнего введения осуществляли ежедневное наблюдение с целью регистрации гибели животных, определения массы тела и наличия клинических признаков интоксикации.

Через 24 часа после последнего введения вакцины (10-е сутки эксперимента) и на 17-е сутки эксперимента 5 животных из каждой группы были подвергнуты эвтаназии для получения внутренних органов и последующих макро- и микроскопического исследований. Для каждого органа рассчитывали отношение массы органа к массе тела животного с последующим вычислением средних величин показателей для животных экспериментальных и контрольных групп. На 17-е сутки от всех животных была взята кровь для проведения гематологических исследований.

Изучение местного действия вакцины

В 0-й день эксперимента всем животным экспериментальных групп однократно внутримышечно вводили вакцину Ультрикс в объеме 0,5 мл/животное, животным контрольных групп внутримышечно – 0,9% раствор хлорида натрия в объеме 0,5 мл/животное.

За животными в течение 7 суток осуществляли ежедневное наблюдение с оценкой состояния места введения препарата (наличие воспалительных изменений).

Через 24 часа и на 7-е сутки после введения вакцины 5 животных из каждой группы были подвергнуты эвтаназии для последующего получения образцов тканей в месте введения и регионарных к месту введения лимфатических узлов для их дальнейших гистологических исследований.

Гистологические исследования

Для гистологического исследования при изучении острой и хронической токсичности у каждого животного были взяты следующие органы: печень, почки, надпочечники, селезенка, тимус, сердце, легкое. Для оценки местного действия вакцины были взяты ткани в месте введения и регионарные к нему лимфатические узлы. Органы и ткани фиксировали в 10% водном нейтральном формалине, обезвоживали в этиловом спирте с возрастающими концентрациями, бутаноле, ксилоле и заключали в гистамикс. Срезы толщиной 5 – 6 мкм получали на ротационном микротоме («К. Цейсс», Германия), окрашивали гематоксилином и эозином и исследовали с помощью микроскопа AxioImager A1 («К. Цейсс», Германия). Фотосъемку образцов осуществляли с помощью видеорегистратора AxioCam («К. Цейсс», Германия).

Статистическая обработка результатов исследования

Статистическая достоверность различий средних величин массы тела, коэффициентов массы внутренних органов и гематологических показателей у животных контрольных и экспериментальных групп оценивали с помощью критерия Стьюдента. Достоверными принимали различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты исследований острой токсичности вакцины

В ходе наблюдения за животными в течение 7 суток после однократного внутрибрюшинного введения

вакцины гибели животных не выявляли; не наблюдали изменений двигательной активности, пищевого поведения, состояния кожных покровов и видимых слизистых у животных экспериментальных групп по сравнению с контрольными. Отмечали положительную динамику изменения массы тела животных как в экспериментальных, так и в контрольных группах. Статистически значимых различий в массе тела у животных экспериментальных групп по сравнению с контрольными не обнаружено.

Через 24 часа после введения вакцины 5 животных из каждой группы были подвергнуты эвтаназии, вскрыты и осмотрены. При макроскопическом осмотре не было выявлено изменений внутренних органов у животных экспериментальных групп по сравнению с контрольными.

Не было выявлено достоверных различий между значениями коэффициентов масс внутренних органов у животных экспериментальных групп по сравнению с таковыми в контрольных группах через 24 часа после введения вакцины.

Результаты гематологических исследований образцов крови, полученных через 7 суток после однократного внутрибрюшинного введения вакцины, представлены в таблицах 1 и 2. Как видно из таблиц, показатели состава периферической крови у животных всех групп находились в пределах физиологической нормы (достоверных различий в количестве форменных элементов крови у животных экспериментальных и контрольных групп не отмечено).

При макроскопическом осмотре животных, вскрытых на 7-е сутки после однократного внутрибрюшинного введения вакцины, также не было выявлено изменений внутренних органов у животных экспериментальных групп по сравнению с контрольными. Коэффициенты масс внутренних органов животных представлены в таблице 3.

Не было выявлено достоверных различий и между величинами коэффициентов масс внутренних органов у животных экспериментальных групп по сравнению с таковыми в контрольных группах через 7 суток после однократного внутрибрюшинного введения вакцины.

Таблица 1.

Показатели состава крови животных через 7 суток после однократного внутрибрюшинного введения вакцины

Группы животных	Показатель (M ± SE)			
	Эритроциты, 10 ¹² /л	Гемоглобин, г/л	Лейкоциты, 10 ⁹ /л	Тромбоциты, 10 ⁹ /л
	8,69 ± 0,25	152 ± 0,54	9,6 ± 0,21	285 ± 12,5
Мыши, контроль	8,42 ± 0,28	148 ± 0,33	9,8 ± 0,25	290 ± 14,8
Морские свинки, привитые	5,2 ± 0,18	135 ± 0,42	10,15 ± 0,31	135 ± 8,2
Морские свинки, контроль	5,35 ± 0,21	138 ± 0,45	9,98 ± 0,35	130 ± 9,5

Таблица 2.

Лейкоцитарная формула крови животных через 7 суток после однократного внутрибрюшинного введения вакцины

Группы животных	Показатель в % (M ± SE)						
	Базофилы	Эозинофилы	Лимфоциты	Нейтрофилы			Моноциты
				Юные	Палочко-ядерные	Сегментоядерные	
Мыши, привитые	0,8 ± 0,21	2,2 ± 0,4	64,4 ± 2,32	0	1,8 ± 0,25	27,4 ± 1,3	3,4 ± 0,88
Мыши, контроль	0	2,6 ± 0,3	64,8 ± 3,36	0	0,8 ± 0,32	28,6 ± 1,5	3,2 ± 0,64
Морские свинки, привитые	0,6 ± 0,15	6,2 ± 0,4	58,2 ± 1,84	0	1,0 ± 0,33	29,2 ± 1,1	4,8 ± 0,64
Морские свинки, контроль	1 ± 0,18	5 ± 0,3	59,1 ± 1,6	0	0,8 ± 0,32	28,9 ± 1,2	5,2 ± 1,04

Таблица 3.

Коэффициенты масс внутренних органов животных (% от массы тела ± SE), взятых через 7 суток после однократного внутрибрюшинного введения вакцины

Органы	Мыши, привитые	Мыши, контроль	Морские свинки, привитые	Морские свинки, контроль
Сердце	0,44 ± 0,01	0,45 ± 0,01	0,41 ± 0,01	0,41 ± 0,02
Легкие	0,69 ± 0,01	0,68 ± 0,01	0,72 ± 0,02	0,71 ± 0,01
Печень	5,1 ± 0,20	5,2 ± 0,14	3,9 ± 0,14	4,0 ± 0,12
Селезенка	0,66 ± 0,02	0,65 ± 0,01	0,58 ± 0,01	0,56 ± 0,01
Почки	1,4 ± 0,02	1,5 ± 0,01	1,1 ± 0,02	1,2 ± 0,01
Тимус	0,28 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,01

При гистологическом исследовании внутренних органов, взятых у животных экспериментальных и контрольных групп через 24 часа и 7 суток после однократного внутрибрюшинного введения вакцины не обнаружено морфологических различий в строении исследованных органов экспериментальных животных (мышей линии BALB/с и морских свинок). Однократное внутрибрюшинное введение вакцины не сопровождалось развитием дистрофических и деструктивных изменений в паренхиме и строении внутренних органов. При изучении гистологических препаратов внутренних органов контрольных животных и животных, получавших вакцину, различий между группами не было.

Результаты исследования хронической токсичности вакцины

В ходе наблюдения за животными в течение всего периода введения вакцины и в течение 7 суток после введения гибели животных не отмечали; не наблюдали изменений двигательной активности, пищевого поведения, состояния кожных покровов и видимых слизистых у животных экспериментальных групп по сравнению с контрольными. Отмечали положительную динамику изменения массы тела животных как в экспериментальных, так и в контрольных группах. Статистически значимых различий массы тела у животных эксперимен-

тальных групп по сравнению с контрольными не обнаружено.

Через 24 часа после последнего введения вакцины (10-й день эксперимента) 5 животных из каждой группы были подвергнуты эвтаназии, вскрыты и осмотрены. При макроскопическом осмотре не было выявлено изменений внутренних органов у животных экспериментальных групп по сравнению с контрольными. Также не было выявлено достоверных различий коэффициентов масс внутренних органов у животных экспериментальных групп по сравнению с контрольными.

Результаты гематологических исследований образцов крови, полученных через 7 суток после десятикратного внутримышечного введения вакцины (17-й день эксперимента), представлены в таблицах 4 и 5.

Анализ представленных данных (табл. 4, 5) выявил, что показатели состава периферической крови у животных всех групп находились в пределах физиологической нормы (достоверных различий в количестве форменных элементов крови у животных экспериментальных и контрольных групп не отмечено).

При макроскопическом осмотре не было выявлено изменений внутренних органов у животных экспериментальных групп по сравнению с контрольными. Коэффициенты масс внутренних органов животных представлены в таблице 6.

Таблица 4.

Величины показателей состава крови животных через 7 суток после десятикратного внутримышечного введения вакцины (17-й день эксперимента)

Группы животных	Показатель (M ± SE)			
	Эритроциты, 10 ¹² /л	Гемоглобин, г/л	Лейкоциты, 10 ⁹ /л	Тромбоциты, 10 ⁹ /л
Мыши, привитые	10,04 ± 0,32	152 ± 0,54	10,8 ± 0,27	285 ± 12,5
Мыши, контроль	9,89 ± 0,28	148 ± 0,33	9,8 ± 0,23	290 ± 14,8
Морские свинки, привитые	5,8 ± 0,26	141 ± 0,24	9,25 ± 0,25	125 ± 7,8
Морские свинки, контроль	6,0 ± 0,31	152 ± 0,35	9,48 ± 0,39	132 ± 8,6

Таблица 5.

Лейкоцитарная формула крови животных через 7 суток после десятикратного внутримышечного введения препарата (17-й день эксперимента)

Группы животных	Показатель в % (M ± SE)						
	Базофилы	Эозинофилы	Лимфоциты	Нейтрофилы			Моноциты
				Юные	Палочко-ядерные	Сегменто-ядерные	
Мыши, привитые	0,7 ± 0,12	1,7 ± 0,35	64,4 ± 2,5	0	1,7 ± 0,23	27,4 ± 1,3	4,2 ± 0,86
Мыши, контроль	0,3 ± 0,14	2,0 ± 0,3	64,8 ± 3,3	0	2,8 ± 0,35	28,6 ± 1,5	5,1 ± 0,37
Морские свинки, привитые	0,8 ± 0,16	7,4 ± 0,3	48,2 ± 1,7	0	1,0 ± 0,24	36,2 ± 1,3	5,8 ± 0,54
Морские свинки, контроль	0,7 ± 0,14	5,9 ± 0,35	49,1 ± 1,6	0	1,8 ± 0,23	41,9 ± 2,5	6,2 ± 1,12

Таблица 6.

Коэффициенты масс внутренних органов животных (% от массы тела ± SE), взятых через 7 суток после десятикратного внутримышечного введения препарата (17-й день эксперимента)

Органы	Мыши, привитые	Мыши, контроль	Морские свинки, привитые	Морские свинки, контроль
Сердце (% от массы тела ± SE)	0,5 ± 0,01	0,49 ± 0,02	0,42 ± 0,02	0,44 ± 0,02
Легкие	0,69 ± 0,02	0,71 ± 0,01	0,75 ± 0,02	0,73 ± 0,01
Печень	5,5 ± 0,25	5,7 ± 0,18	4,4 ± 0,13	4,2 ± 0,15
Селезенка	0,65 ± 0,01	0,67 ± 0,01	0,66 ± 0,02	0,65 ± 0,01
Почки	1,1 ± 0,02	1,3 ± 0,02	1,4 ± 0,01	1,2 ± 0,01
Тимус	0,29 ± 0,01	0,3 ± 0,02	0,07 ± 0,01	0,09 ± 0,02

В результате статистической обработки результатов не было выявлено достоверных различий между коэффициентами масс внутренних органов у животных экспериментальных групп по сравнению с контрольными, взятых на 17-й день эксперимента (через 7 суток после последнего введения вакцины).

Гистологическое исследование внутренних органов двух видов экспериментальных животных яв-

ных изменений тканевых структур не выявило. Десятикратное внутримышечное введение препарата не сопровождалось развитием дистрофических, деструктивных изменений в паренхиме и строме внутренних органов. При изучении гистологических препаратов внутренних органов контрольных животных и животных, получавших вакцину, гистологических различий не обнаружено.

Рисунок 1.

Фрагмент мышечной ткани мыши (А) и морской свинки (Б) в области введения вакцины Ультрикс через сутки после однократного внутримышечного введения. В подлежащих мышечных волокнах отсутствуют признаки дезорганизации, слабовыражен стромальный отек. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: ок. х 16, об. х 10.

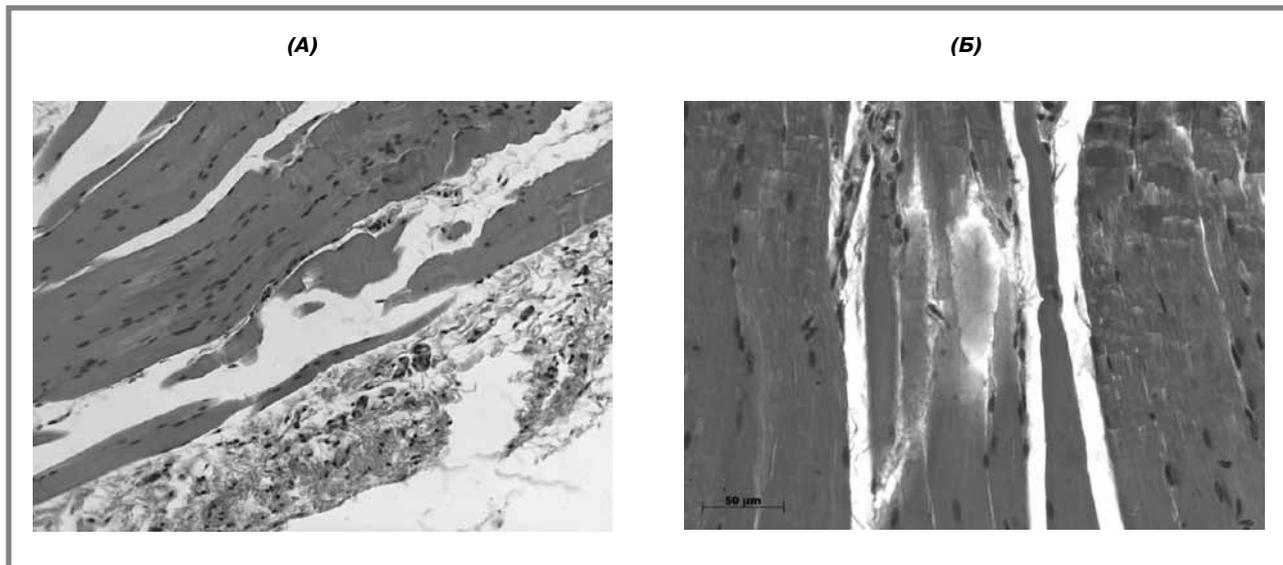
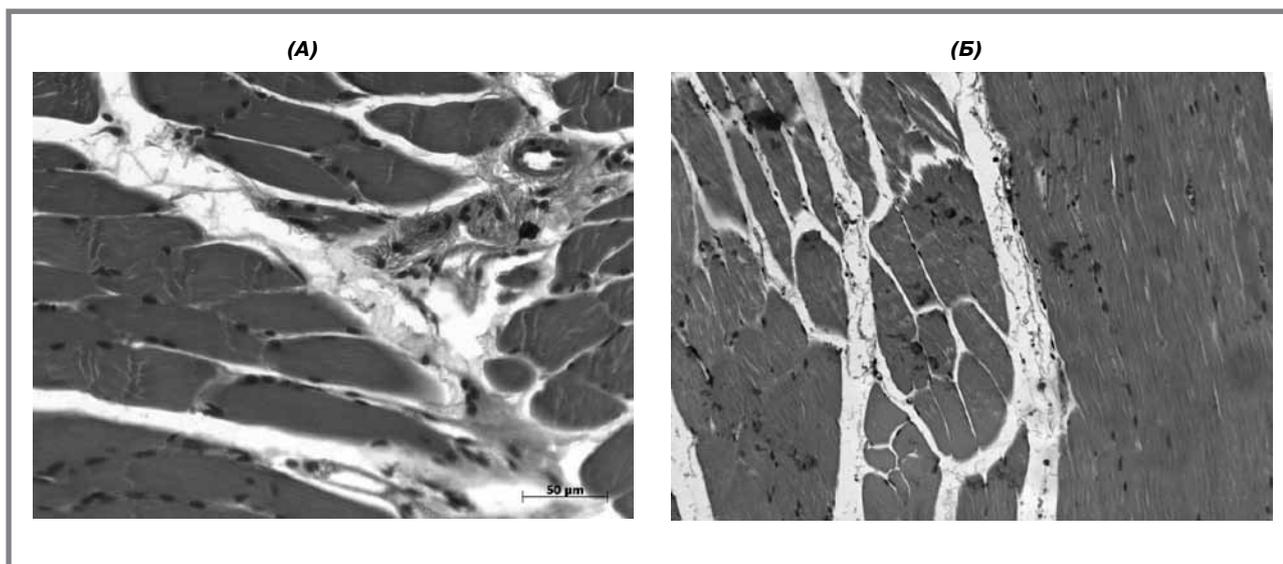


Рисунок 2.

Фрагмент мышечной ткани мыши (А) и морской свинки (Б) в области введения вакцины Ультрикс через 7 суток после однократного внутримышечного введения. В рядом расположенных мышечных волокнах отсутствуют признаки дезорганизации, отмечено появление элементов фиброзной ткани. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: ок. х 16, об. х 10



Результаты исследования местного действия вакцины

В ходе ежедневного наблюдения за животными в течение 7 суток после однократного внутримышечного введения вакцины не наблюдали изменений волосяного покрова и наличия воспалительных изменений в месте введения препарата.

При макроскопическом осмотре через 24 часа и через 7 суток после однократного внутримышечного введения вакцины видимых изменений в мышечной ткани в месте введения и в регионарных

к нему лимфоузлах у животных экспериментальных и контрольных групп не обнаружено.

После гистологического исследования ткани в месте введения вакцины и регионарных к нему лимфатических узлов, взятых через 24 часа и через 7 суток после однократного внутримышечного введения вакцины, были получены следующие результаты:

Мышцы. Состояние мышечной ткани в месте инъекции в начале наблюдений свидетельствовало о появлении небольшого отека и начале клеточной экссудации в периваскулярной зоне. Однако мышечные волокна не имели признаков дезорганизации и характеризовались отчетли-

Рисунок 3.

Фрагмент корковой зоны лимфатического узла мыши (А) и морской свинки (Б) через сутки после однократного внутримышечного введения вакцины Ультрикс. Кровеносные сосуды гиперемированы, расширены, отчетливы герминативные центры лимфоидных узелков. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: ок. х 16, об. х 10

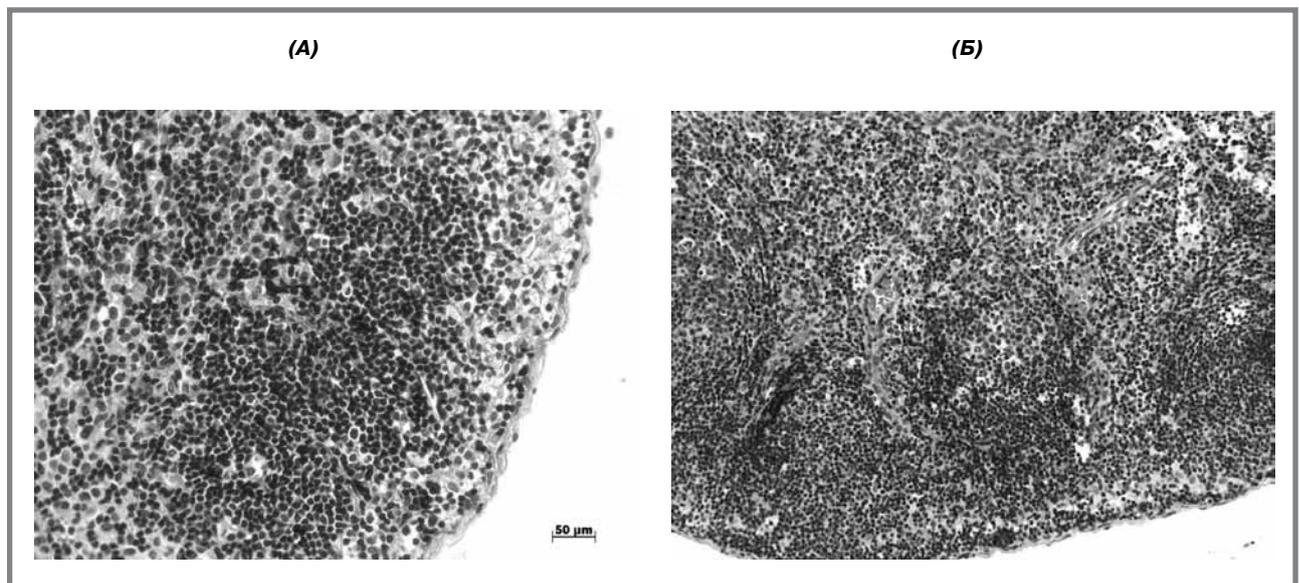
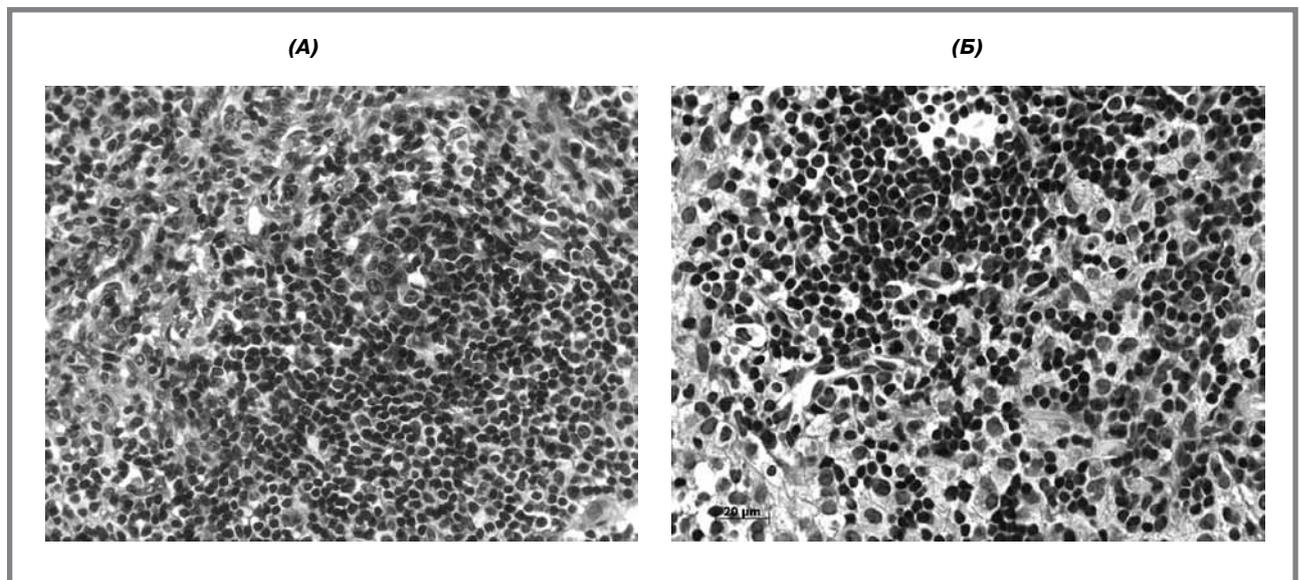


Рисунок 4.

Фрагмент корковой зоны лимфатического узла мыши (А) и морской свинки (Б) через 7 суток после однократного внутримышечного введения вакцины Ультрикс. Отмечается увеличение количества лимфобластов, макрофагов, плазмочитов. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: ок. х 16, об. х 40



вой поперечно-полосатой исчерченностью, упорядоченностью миофибрилл и периферическим расположением ядер в саркоплазме (рис. 1). На 7-е сутки наблюдений признаков отека ткани выявлено не было, визуально количество гранулоцитов резко уменьшалось. В отдельных случаях отмечали увеличение волокнистых стромальных элементов, признаки дезорганизации рядом расположенных мышечных волокон отсутствовали (рис. 2).

Лимфатические узлы. От соединительнотканной

капсулы внутрь органа отходили тонкие соединительнотканые трабекулы, анастомозирующие между собой в глубоких частях узла. В лимфатическом узле различались периферически расположенное более плотное корковое вещество, состоящее из многочисленных лимфатических фолликулов с герминативными центрами, паракортикальная зона и центральное более светлое мозговое вещество, образованное мозговыми тяжами и синусами. Ретикулярные элементы лимфатических узлов имели четко видимые ядра и

хорошо выраженную «многоотростчатую» форму, образовывали сеть, в ячейках которой находилось умеренное количество лейкоцитов, макрофагов и плазматических клеток (количество последних визуально было увеличено к 7-м суткам наблюдений). Наблюдали полнокровие сосудов (рис. 3, 4).

Таким образом, однократное внутримышечное введение шприцевой формы вакцины Ультрикс лабораторным животным не вызывает деструкции тканей в месте введения. При этом состояние лимфатических узлов может свидетельствовать о развитии иммунного ответа на введение вакцинного антигена.

Вывод

1. Шприцевая форма вакцины Ультрикс не оказывает токсического действия на экспериментальных животных при однократном внутрибрюшинном введении, при многократном внутримышечном введении, а также не оказывает местнораздражающего действия при однократном внутримышечном введении. ■

Работа выполнена с применением оборудования центра коллективного пользования «Современные оптические системы» НИИЭКМ.

Литература

1. Зайцев А.А. Лечение острых респираторных вирусных инфекций. Лечащий врач. 2008; 8: 42 – 45.
2. Осидак Л.В., Дринецкий В.П., Ерофеева М.К., Еропкин М.Ю., Коновалова Н.И., Смородинова Е.А. и др. Грипп как проблема XXI века. Детские инфекции. 2009; 8 (3): 3 – 9.
3. WHO. Influenza (seasonal). 2009. Доступно на: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/index.html>.
4. Harper S.A., Bradley J.S., Englund J.A., File T.M., Gravenstein S., Hayden F.G. et al. Seasonal influenza in adults and children—diagnosis, treatment, chemoprophylaxis, and institutional outbreak management: clinical practice guidelines of the infectious diseases society of America. Clinical Infectious Diseases. 2009; 48: 1003 – 1032.
5. Лыткина И.Н., Малышев Н.А. Профилактика и лечение гриппа и острых респираторных вирусных инфекций среди эпидемиологически значимых групп населения. Лечащий врач. 2010; 10: 66 – 69.
6. Медуницын Н.В. Вакцинология. Изд. 2-е, перераб. и доп. Москва: Триада-Х; 2004.
7. Weekly epidemiological record, no. 43, 28 october 2005. Доступно на: <http://www.who.int/wer>
8. Доница С. А., Найхин А. Н. Григорьева Е. П., Дешева Ю.А., Баренцева И.Б., Рекстин А.Р. и др. Местный иммунный ответ на живую холодадаптированную реассортантную гриппозную вакцину у детей, взрослых и престарелых лиц. Вопросы вирусологии. 2003; 2: 29 – 31.
9. Petukhova G., Korenkov D., Chirkova T., Korenkov D., Naykhin A., Rudenko L. B- and T-cell memory elicited by a seasonal live attenuated reassortant influenza vaccine: assessment of local antibody avidity and virus-specific memory T-cells using trogocytosisbased method. Influenza and Other Respiratory Viruses. 2012; 6 (2): 119 – 126.
10. Bruljn I.A., Nauta J., Gerez L. Virosomal influenza vaccine: a save and effective influenza vaccine with high efficacy in elderly and subjects with low prevaccination titers. Virus Research. 2004; 103: 139 – 145.
11. Зверков И.В., Ерофеева М.К., Максакова В.Л., Коровкин С.А., Михайлова Н.А., Миронов А.Н. и др. Разработка и внедрение в практику здравоохранения РФ новой отечественной расщепленной виросомальной вакцины против гриппа. Лечащий врач. 2008; 9: 68 – 70.
12. Маркова Т.П., Ярилина Л.Г., Ким М.Н. Вакцинопрофилактика гриппа. Новая отечественная вакцина Ультрикс. Русский медицинский журнал. 2014; 6: 1 – 5.
13. Margine I., Krammer F. Animal models for influenza viruses: implications for universal vaccine development. Pathogens. 2014; 3 (4): 845 – 874.
14. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические лекарственные препараты). А.Н. Миронов, ред. Москва: Гриф и К; 2012.

References

1. Zaytsev A.A. Treatment of acute respiratory viral infections. Lechashiy vrach. 2008; 8: 42 – 45 (in Russian).
2. Osidak L.V., Drinevsky V.P., Erofeeva M.K., Eroпкиn M.Yu., Konovalova N.I., Smorodintseva E.A. et al. Influenza as a problem of the XXI century. Detskie Infektsii. 2009; 8(3): 3 – 9 (in Russian).
3. WHO. Influenza (seasonal) 2009. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/index.html>.
4. Harper S.A., Bradley J.S., Englund J.A., File T.M., Gravenstein S., Hayden F.G. et al. Seasonal Influenza in Adults and Children—Diagnosis, Treatment, Chemoprophylaxis, and Institutional Outbreak Management: Clinical Practice Guidelines of the Infectious Diseases Society of America. Clinical Infectious Diseases. 2009; 48: 1003 – 1032.
5. Lytkina I.N., Malyshev N.A. Prevention and treatment of influenza and acute respiratory viral infections among epidemiologically relevant groups. Lechashiy vrach. 2010; 10: 66 – 69 (in Russian).
6. Medunitsyn N.V. Vaccinology. Vol. 2nd, revised. and ext. Moscow: Triada-X; 2004 (in Russian).
7. Weekly epidemiological record, no. 43, 28 october 2005. Available at: <http://www.who.int/wer>
8. Donina S.A., Naykhin A.N., Grigoriev E.P., Desheva Yu.A., Barenceva I.B., Rekstin A.R. et al. The local immune response to live cold-adapted reassortant influenza vaccine in children, adults and the elderly. Voprosy Virusologii. 2003; 2: 29 – 31 (in Russian).
9. Petukhova G., Korenkov D., Chirkova T., Korenkov D., Naykhin A., Rudenko L. B- and T-cell memory elicited by a seasonal live attenuated reassortant influenza vaccine: assessment of local antibody avidity and virus-specific memory T-cells using trogocytosisbased method. Influenza and Other Respiratory Viruses. 2012; 6 (2): 119 – 126.
10. Bruljn I.A., Nauta J., Gerez L. Virosomal influenza vaccine: a save and effective influenza vaccine with high efficacy in elderly and subjects with low prevaccination titers. Virus Research. 2004; 103: 139 – 145.
11. Zverkov I.V., Erofeeva M.K., Maksakova M.L., Korovkin S.A., Mikhailova N.A., Mironov A.N. et al. Development and introduction of the new national health RF virosomal split influenza vaccine. Lechashiy vrach. 2008; 9: 68 – 70 (in Russian).
12. Markova T.P., Yarilina L.G., Kim M.N. Vaccine prophylaxis of influenza. New domestic vaccine Ultriiks. Russkiy Medicinskiy Jurnal. 2014; 6: 1 – 5 (in Russian).
13. Margine I., Krammer F. Animal models for influenza viruses: implications for universal vaccine development. Pathogens. 2014; 3 (4): 845 – 874.
14. Guidelines for preclinical studies of drugs (immunobiological drugs). Eds.: A.N. Mironov, Moscow: Grief and K; 2012 (in Russian).