

## ГОМОЛОГИЧНЫЙ И ГЕТЕРОЛОГИЧНЫЙ ГУМОРАЛЬНЫЙ И Т-КЛЕТОЧНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ ЛЮДЕЙ НА ЖИВЫЕ РЕАССОРТАНТНЫЕ ГРИППОЗНЫЕ ВАКЦИНЫ А(Н5N2) И А(Н7N3)

Найхин А.Н.<sup>1</sup>, Донина С.А.<sup>1</sup>, Лосев И.В.<sup>1</sup>, Петухова Г.Д.<sup>1</sup>,  
Кореньков Д.А.<sup>1</sup>, Стукова М.А.<sup>2</sup>, Ерофеева М.К.<sup>2</sup>, Коншина О.С.<sup>2</sup>,  
Смолоногина Т.А.<sup>1</sup>, Дорошенко Е.М.<sup>1</sup>, Григорьева Е.П.<sup>1</sup>,  
Руденко Л.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** С начала века периодически регистрируются среди людей вспышки гриппа А, вызванные птичьими вирусами с гемагглютинидами (НА) Н5, Н7 и Н9. Это не исключает, что данные вирусы могут стать возбудителями следующей пандемии. Поэтому создание резервных вакцин, включающих птичьих вирусы гриппа А является глобальным приоритетом для органов здравоохранения (меморандум ВОЗ). Нами изучен гуморальный и Т-клеточный иммунный ответ на живые реассортантные гриппозные вакцины (ЖГВ), приготовленные из птичьих вирусов гриппа А(Н5N2) и А(Н7N3). Тестировали сывороточные (РТГА, РМН, ИФА) и локальные (ИФА) антитела, а также вирусспецифические CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>Т-клетки центральной (Тсм) и эффекторной (Тем) иммунологической памяти. Изучали иммунный ответ к вакцинным и гетерологичным штаммам птичьих вирусов. Двухкратная прививка ЖГВ А(Н5N2) и ЖГВ А(Н7N3) индуцировали у волонтеров гомологичный и Т-клеточный иммунный ответ в виде конверсий сывороточных и локальных антител, а также вирусспецифических CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>Т-лимфоцитов пулов Тсм и Тем. Те же вакцины стимулировали гетерологичный иммунный ответ, отражавшийся в накоплении перекрестнореагирующих сывороточных и локальных IgА-антител, а также перекрестнореагирующих CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>Т-клеток иммунологической памяти. Выраженность гетерологичных иммунных ответов зависела от антигенной формулы вакцинного и гетерологичного вируса, а именно: от наличия или отсутствия в них общего НА.

*Ключевые слова:* птичьих вирусы гриппа, иммунный ответ к вирусам гриппа А, гуморальный иммунный ответ

### Адрес для переписки:

Кореньков Даниил Анатольевич  
ФГБУ «Научно-исследовательский институт  
экспериментальной медицины» СЗО РАМН  
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. акад. Павлова, 12.  
Тел.: 8 (812) 234-68-60.  
E-mail: d.korenkov@gmail.com

### Address for correspondence:

Korenkov Daniil A.  
Research Institute for Experimental Medicine of the North-West  
Branch of the Russian Academy of Medical Sciences  
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Pavlov str., 12.  
Phone: 7 (812) 234-68-60.  
E-mail: d.korenkov@gmail.com

### Образец цитирования:

А.Н. Найхин, С.А. Донина, И.В. Лосев, Г.Д. Петухова,  
Д.А. Кореньков, М.А. Стукова, М.К. Ерофеева, О.С. Коншина,  
Т.А. Смолонина, Е.М. Дорошенко, Е.П. Григорьева,  
Л.Г. Руденко, «Гомологичный и гетерологичный гуморальный  
и Т-клеточный иммунный ответ людей на живые  
реассортантные гриппозные вакцины А(Н5N2) и А(Н7N3)» //  
Медицинская иммунология, 2015. Т. 17, № 1. С. 59-70.  
doi: 10.15789/1563-0625-2015-1-59-70

© Найхин А.Н. и соавт., 2015

### For citation:

A.N. Naykhin, S.A. Donina, I.V. Losev, G.D. Petukhova,  
D.A. Korenkov, M.A. Stukova, M.K. Erofeeva, O.S. Konshina,  
T.A. Smolonogina, E.M. Doroshenko, E.P. Grigorieva,  
L.G. Rudenko, "Homological and heterological antibody and T cell  
immune responses to live attenuated influenza vaccine A (H5N2)  
and A (H7N3)", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya  
Immunologiya, 2015, Vol. 17, no. 1, pp. 59-70.  
doi: 10.15789/1563-0625-2015-1-59-70

DOI: http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2015-1-59-70

## HOMOLOGICAL AND HETEROLOGICAL ANTIBODY AND T CELL IMMUNE RESPONSES TO LIVE ATTENUATED INFLUENZA VACCINE A (H5N2) AND A (H7N3)

Naykhin A.N.<sup>a</sup>, Donina S.A.<sup>a</sup>, Losev I.V.<sup>a</sup>, Petukhova G.D.<sup>a</sup>,  
Korenkov D.A.<sup>a</sup>, Stukova M.A.<sup>b</sup>, Erofeeva M.K.<sup>b</sup>, Konshina O.S.<sup>b</sup>,  
Smolonogina T.A.<sup>a</sup>, Doroshenko E.M.<sup>a</sup>, Grigorieva E.P.<sup>a</sup>, Rudenko L.G.<sup>a</sup>

<sup>1</sup> Research Institute for Experimental Medicine of the North-West Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup> Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** From the beginning of 21<sup>st</sup> century outbreaks of H5, H7 and H9 avian flu are registered from time to time. These viruses are considered as one of the possible causes of the next pandemia. The development of avian influenza vaccines is one of the WHO priorities. The aim of this work was to study antibody and cellular immune responses to avian A (H5N2) and A (H7N3) live attenuated influenza vaccines (LAIVs). We examined serum antibodies (HAI assay, microneutralization assay, ELISA), local antibodies (ELISA) and virus-specific CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> central memory and effector memory T cells. Two doses vaccination of healthy volunteers with A (H5N2) and A (H7N3) LAIVs induced homological antibody and cellular immune responses (i. e. serum and local antibody conversions, virus-specific memory T cell growth). These vaccines also stimulated heterological immunity (heterological serum and local antibodies and T cells). Heterological immune response intensity depended on antigenic structure of vaccine strain and heterological virus, particularly on HA type.

*Keywords:* avian influenza viruses, immune response to influenza A viruses, humoral immune response

Работа выполнена при финансовой поддержке PATH Vaccine Solutions (США) и Российского фонда научных исследований. Авторы выражают благодарность сотрудникам фондового агентства PATH Vaccine Solutions (США) и ФГУП «Научно-производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген» МЗ РФ за активное участие в проведении клинических исследований ЖГВ А(Н5N2) и А(Н7N3).

### Введение

Вирусы гриппа А, кроме ежегодных сезонных эпидемий, вызывают пандемии. Этиологическими агентами таких пандемий являются сероподтипы вируса с обновленным гемагглютинином. В последнее столетие зафиксированы пандемии гриппа А(Н1N1), А(Н2N2) и А(Н3N2). С начала 21<sup>го</sup> века периодически регистрируются среди людей вспышки гриппа А, вызванные птичьими вирусами с гемагглютинами H5, H7 и H9 [12, 14, 15, 26, 29]. Вспышки гриппа А(Н5N1) сопровождалась тяжелыми клиническими проявлениями болезни с высокой летальностью [13]. Хотя невозможно предсказать возбудитель следующей пандемии, не исключено, что это будет птичий вирус гриппа А с одним из перечисленных выше гемагглютининов. Это диктует необходимость создания резервных вакцин, приготовленных из всех потенциально пандемических птичьих подтипов вирусов гриппа А. Согласно меморан-

думу ВОЗ [28], создание таких вакцин является глобальным приоритетом для органов здравоохранения. Известно, что живые реассортантные гриппозные вакцины (ЖГВ) имеют преимущество перед инактивированными вакцинами в защите от сезонных возбудителей гриппа А за счет индукции локального гуморального и клеточного иммунитета [13]. В США проведены первые фазы клинических испытаний на волонтерах резервных реассортантных ЖГВ А(Н5N1) [11], А(Н6N1) [21], А(Н7N3) [22] и А(Н9N2) [10], включающих оба поверхностных белка, то есть гемагглютинин (НА) и нейраминидазу (NA), от соответствующих птичьих вирусов, и внутренние белки от донора аттенуации А/Ann Arbor/6/60 А(Н2N2). Аналогичные клинические испытания прошла отечественная ЖГВ А(Н5N2), имеющая НА от апатогенного вируса А/утка/Потсдам/86/92(Н5N2), а NA и внутренние белки от донора аттенуации А/Leningrad/134/17/57 (Н2N2) [4, 9].

В настоящей работе представлены данные об иммуногенности двух других отечественных резервных ЖГВ, приготовленные на основе того же донора аттенуации. Изучали в разных лабораторных тестах поствакцинальную продукцию гомологичных и гетерологичных сывороточных и локальных антител, а также вирусспецифических Т-клеток иммунологической памяти.

## Материалы и методы

### Вакцины

Вакцинные штаммы для ЖГВ А(Н5N2) и А(Н7N3) разработаны в отделе вирусологии имени А.А. Смородинцева Научно-исследовательского института экспериментальной медицины Российской академии наук и произведены в НПО «Микроген». Штаммы получены классическим реассортантным методом. Первая из них включала НА Н5 от патогенного вируса А/индюк/Турция/1/2005 (Н5N1), а НА N1 и все внутренние белки – от донора аттенуации А/Ленинград/134/17/57 (Н2N2) – генетическая формула 1/7. Второй штамм содержал НА Н7 и НА N3 от апатогенного вируса А/селезень/Нидерланды/12/00 (Н7N3) и внутренние белки от того же донора аттенуации – генетическая формула 2/6. Для обеспечения безопасности лабораторных работ вакцинные НА Н5 и НА Н7 доктором J. Wood были модифицированы обратногогенетическим способом – вырезка полноосновного участка кливедж-сайта (National Institute for Biological Standartization and Control, United Kingdome). Это делало их апатогенными. Для удобства изложения материала далее ранее апробированная ЖГВ А/утка/Потсдам/86/92 (Н5N2) [4, 9] обозначается как ЖГВ А(Н5N2)-утка, а испытываемая ЖГВ А/индюк/Турция/1/2005 (Н5N2) – как ЖГВ А(Н5N2) – индюк.

### Волонтеры

Испытание вакцин на волонтерах проведены в полном соответствии с национальным стандартом Российской Федерации (ГОСТ Р52379-2005) «Надлежащая клиническая практика», отражающем международный этический и научный стан-

дарт планирования и проведения исследований с участием человека (Good Clinical Practice; GCP). Схема вакцинации и отбора биологических проб (венозная кровь, секреты носа) при испытании обоих штаммов была одинаковой: первая точка – до вакцинации, вторая – через 28 дней после первичной вакцинации, третья – через 28 дней после вторичной вакцинации, которую осуществляли через 28 дней после первичной. Аналогичная схема применялась и при обследовании контрольных групп добровольцев, получавших препарат плацебо (все ингредиенты наполнителя без вируса). Состав групп по числу, полу и возрасту существенно не отличался (табл. 1). Вакцины и плацебо вводили стандартным коммерческим распылителем в обе ноздри по 0,25 мл в каждую. По клиническим данным обе вакцины были ареактогенны.

### Реакция торможения гемагглютинации (РТГА)

РТГА воспроизводили по стандартной методике [17]. Сыворотки крови обрабатывали RDE (receptor destroid enzyme). Рабочая доза антигенов составляла 2АЕ, поскольку в предварительных исследованиях было показано ее преимущество перед 4АЕ. Применяли параллельно 1% взвесь человеческих эритроцитов 0(I) группы крови и эритроцитов лошади. Достоверной конверсией титров антител считали его поствакцинальное увеличение в 4 и более раза по отношению к довакцинальному.

### Реакция микронейтрализации (РМН)

РМН выполняли стандартным методом [17] на культуре клеток MDCK в концентрации 200 тыс. клеток/мл. Рабочее разведение вируса составляла 100 TCD<sub>50</sub>/50 мкл. Достоверным считали увеличение титра сывороточных антител в 4 и более раза в поствакцинальный период по отношению к довакцинальному.

### Иммуноферментный анализ (ИФА)

IgA- и IgG-антитела в сыворотке крови и IgA-антитела в секретах верхних дыхательных путей выявляли в ИФА по ранее описанной методике [1]. На планшете сорбировали 16АЕ вирусов, очищенных центрифугированием в градиенте плотности сахарозы (30-60%). За титр сывороточных

ТАБЛИЦА 1. ХАРАКТЕРИСТИКИ ВОЛОНТЕРОВ

Вакцина	Группа	Число лиц	Возраст (лет)		Пол	
			Средний	Колебания	Мужской	Женский
А(Н5N2) – индюк	Привитые вакциной	29	27,2	20-49	20 (69,0%)	9 (31,0%)
	Плацебо	10	29,2	20-46	6 (60,0%)	4 (40,0%)
	Всего	39	27,7	20-49	26 (66,7%)	13 (33,3%)
А(Н7N3)	Привитые вакциной	29	30,9	18-49	14 (48,3%)	15 (51,7%)
	Плацебо	10	39,0	20-48	6 (60,0%)	4 (40,0%)
	Всего	39	32,9	18-49	20 (51,3%)	19 (48,7%)

и локальных антител принимали наибольшее разведение исследуемого материала, при котором оптическая плотность (ОП) лунки с образцами превышала среднюю ОП в контрольных лунках (все ингредиенты реакции, не содержащие исследуемый материал) в 2 и более раза. За достоверный прирост титров антител в сыворотке крови и в СВДП принимали его увеличение в 4 и более раза.

#### Определение вирусспецифических CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>Т-клеток иммунологической памяти

Эти клетки тестировали в проточной цитометрии общепринятым методом внутриклеточного окрашивания цитокинов (IFN $\gamma$ ) после стимуляции клеток *in vitro* 12 MOI очищенного ультрацентрифугированием вакцинного штамма [4, 9]. Мононуклеары периферической крови выделяли стандартным способом на градиенте плотности HISTOPAQUE-1077, отмывали и хранили до проведения анализа в жидком азоте. Для определения спонтанной продукции IFN $\gamma$  вместо стимуляции вирусом к клеткам добавляли соответствующий объем питательной среды RPMI-1640 (отрицательный контроль). В качестве положительного контроля использовали стимуляцию клеток поликлональным стимулятором – стафилококковым энтеротоксином В. После разморозки порции клеток волонтеров, отобранные во всех временных интервалах, были способны к активации продукции IFN $\gamma$ . При анализе данных показатели отрицательного контроля вычитались из аналогичных показателей, полученных для вирусстимулированных клеток. Показатели всех контролей были адекватны.

В проточной цитометрии маркерами Т-лимфоцитов центральной (Т<sub>cm</sub>) и периферической (Т<sub>em</sub>) иммунологической памяти CD4<sup>+</sup>

и CD8<sup>+</sup> клеток служили меченные флюорохромом мононуклеарные антитела к, соответственно, CCR7<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup> и CDR7<sup>-</sup>CD45RA<sup>-</sup> (Beckman Coulter, Becton Dickinson). Достоверным увеличением уровня клеток у привитых считали 3 стандартных отклонения от уровня тех же клеток у лиц контрольной группы, получавших препарат плацебо.

#### Антигены

В РТГА, РМН и ИФА использовали апатогенные вакцинные штаммы вирусов NIBRG-23 (А/индюк/Турция/1/2005\*PR/8), А/17/утка/Потсдам/86/92 (H5N2), А/17/индюк/Турция/05/133 (H5N2), А/17/селезень/Нидерланды/00/95 (H7N3) и А/17/Ануи/2013/61 (H7N9).

#### Статистическая обработка результатов

Использовали программное обеспечение Statistica и Graph Pod Prizm 5. Для сравнения данных применяли Wilcoxon Mathed Paire Test, Friaman ANOVA и Fisher exact (two-tailed).

## Результаты

В таблице 2 представлены сведения о числе конверсий сывороточных и локальных антител у волонтеров, привитых ЖГВ А(H5N2) – индюк.

По суммарным данным, учитывающим конверсии антител во всех лабораторных тестах в совокупности, то есть наличие иммунной реакции на прививку, гуморальный иммунный ответ к вакцинному штамму зафиксирован после первой прививки у 28% волонтеров, после второй – у 76% (P < 0,001). К гетерологичным штаммам А(H5N2) – утка, А(H5N1) и А(H7N3) этот показатель составил, соответственно, 17 и 66%, 17 и 59% (P > 0,05), 10 и 24% (P < 0,01). Если к гетерологичным вирусам со сходными гемагглютинином (HA5) обнаруживались конверсии,

ТАБЛИЦА 2. ЧАСТОТА (%) ГОМОЛОГИЧНЫХ И ГЕТЕРОЛОГИЧНЫХ ГУМОРАЛЬНЫХ ИММУННЫХ ОТВЕТОВ НА ЖГВ А(H5N2) – ИНДЮК

Антитела и лабораторный тест		Конверсии антител у привитых добровольцев (n = 29) к вирусам*							
		А(H5N2) – индюк		А(H5N2) – утка		А(H5N1)		А (H7N3)	
		После 1 <sup>й</sup> прививки	После 1 <sup>й</sup> и/или 2 <sup>й</sup> прививки	После 1 <sup>й</sup> прививки	После 1 <sup>й</sup> и/или 2 <sup>й</sup> прививки	После 1 <sup>й</sup> прививки	После 1 <sup>й</sup> и/или 2 <sup>й</sup> прививки	После 1 <sup>й</sup> прививки	После 1 <sup>й</sup> и/или 2 <sup>й</sup> прививки
Сывороточные	РТГА	4 (14%)	11 (38%)	3 (10%)	14 (48%)	0	3 (10%)	0	0
	РМН	3 (10%)	14 (48%)	ни**	ни	3 (10%)	8 (28%)	ни	ни
	ИФА-IgA	0	2 (7%)	1 (3%)	2 (7%)	ни	ни	2 (7%)	3 (10%)
	ИФА-IgG	0	1 (3%)	0	0	ни	ни	0	0
Локальные	ИФА-IgA	2 (7%)	6 (21%)	2 (7%)	10 (35%)	4 (14%)	8(28%)	1 (3%)	5 (17%)
Кумулятивные данные по всем лабораторным тестам		8 (28%)	22 (76%)	5 (17%)	19 (66%)	5 (17%)	17 (59%)	3 (10%)	7 (24%)

**Примечание.** \* – у волонтеров, получивших препарат плацебо (n = 10), конверсии антител во всех тестах отсутствовали; \*\* – не исследовали.

как сывороточных (РТГА и ИФА-IgA), так и локальных IgA-антител (ИФА), то к гетерологичному вирусу с НА Н7 конверсии сывороточных антител (РТГА, ИФА-IgG) отсутствовали.

Таблица 3 содержит данные о конверсиях тех же антител у лиц, привитых ЖГВ А(Н7N3). В качестве гетерологичных использовали вирусы А(Н7N9) и А(Н5N2) – утка.

Как в случае с вакциной А(Н5N2) – индюк, наблюдали: (i) поствакцинальное накопление сывороточных антител (РТГА, ИФА-IgA, ИФА-IgG) и локальных антител (ИФА – IgA) к вакцинному штамму; (ii) поствакцинальную продукцию перекрестноореагирующих сывороточных (ИФА-IgA) и локальных (ИФА-IgA) антител к гетерологичным вирусам; (iii) значительное отставание в частоте индукции антител к гетерологичному вирусу с отличающимся НА Н5 по сравнению с вирусом со сходным НА Н7. Так, по суммарным данным, после первой и второй иммунизации число конверсий антител к вакцинному штамму А(Н7N3) составило, соответственно, 69 и 86%, а к гетерологичному штамму А(Н7N9) – соответственно, 31 и 69% ( $P < 0,05$ ), и ко второму гетерологичному штамму А(Н5N2) – утка – соответственно, 10 и 24% ( $P < 0,01$ ).

Таким образом, на вакцинацию ЖГВ А(Н5N2) – индюк и А(Н7N3) абсолютное большинство волонтеров отвечали конверсиями сывороточных и/или локальных антител к вакцинным штаммам (соответственно, 76 и 86%). При этом у значительной части волонтеров наблюдалась продукция тех же антител к гетерологичным вирусам со сходным с вакцинным штаммом гемагглютинином (соответственно, 66 и 69%). В случае, когда вакцинный и гетерологичные

штаммы полностью отличались по составу НА и NA, число таких конверсий антител было значительно ниже (соответственно, 24 и 21%;  $P < 0,01$ ). Последние выявляли только в ИФА (сывороточные и локальные IgA-антитела), но не в РТГА и РМН. Если в отношении частоты (%) гуморальных иммунных ответов у волонтеров на ЖГВ А(Н5N2)-индюк и А(Н7N3) результаты были вполне удовлетворительными, то данные об интенсивности продукции антител оказались более скромными (табл. 4). Так, после двукратной прививки СГТ всех антител хотя и увеличился в 1,5–3,0 раза, но их уровень оказался весьма низким (от 1:5,1 до 1:13,2 – к вакцинным штаммам и от 1:2,5 до 1:10,4 – к гетерологичным штаммам). Исключение составили выявляемые в РТГА сывороточные антитела к вирусу А(Н7N3) у привитых ЖГВ А(Н5N2), а также к вирусу А(Н5N2) у привитых ЖГВ А(Н7N3). В этих случаях СГТ антител после вакцинации не изменились.

Таким образом, как гомологичный, так и гетерологичный гуморальный иммунный ответ волонтеров на двукратную прививку ЖГВ А(Н5N2) – индюк и А(Н7N3) был хорошо выражен по частоте (% конверсий антител), но значительно слабее по интенсивности продукции антител (СГТ).

Таблица 5 содержит материалы, отражающие частоту конверсий вирусспецифических CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>T-клеток центральной (T<sub>cm</sub>) и эффекторной (T<sub>em</sub>) иммунологической памяти на ЖГВ А(Н5N2) – индюк и А(Н7N3) у тех же волонтеров. После первой прививки этими вакцинами число конверсий лимфоцитов CD4<sup>+</sup>IFN $\gamma$ <sup>+</sup>T<sub>cm</sub> и/или T<sub>em</sub> и CD8<sup>+</sup>IFN $\gamma$ <sup>+</sup>T<sub>cm</sub> и/или T<sub>em</sub> отмечено, соответственно, у 21–28% волонтеров, после второй – соответственно, у 24–55% волонтеров

**ТАБЛИЦА 3. ЧАСТОТА (%) ГОМОЛОГИЧНЫХ И ГЕТЕРОЛОГИЧНЫХ ГУМОРАЛЬНЫХ ИММУННЫХ ОТВЕТОВ НА ЖГВ А(Н7N3)**

Антитела и лабораторный тест		Конверсии антител у привитых добровольцев (n = 29) к вирусам*					
		А (Н7N3)		А (Н7N9)		А(Н5N2) – утка	
		После 1 <sup>й</sup> прививки	После 1 <sup>й</sup> и/или 2 <sup>й</sup> прививки	После 1 <sup>й</sup> прививки	После 1 <sup>й</sup> и/или 2 <sup>й</sup> прививки	После 1 <sup>й</sup> прививки	После 1 <sup>й</sup> и/или 2 <sup>й</sup> прививки
Сывороточные	РТГА	7 (24%)	13 (45%)	5 (17%)	12 (41%)	0	0
	РМН	5 (17%)	12 (41%)	2 (7%)	5 (17%)	ни**	ни
	ИФА-IgA	3 (10%)	8 (28%)	0	4 (14%)	1 (4%)	3 (10%)
	ИФА-IgG	1 (3%)	3 (10%)	0	0	0	0
Локальные	ИФА-IgA	12 (41%)	14 (48%)	5 (17%)	7 (24%)	2(7%)	5 (17%)
Кумулятивные данные по всем лабораторным тестам		20 (69%)	25 (86%)	9 (31%)	20 (69%)	3(10%)	6 (21%)

**Примечание.** \* – у волонтеров, получивших препарат плацебо (n = 10), конверсии антител во всех тестах отсутствовали; \*\* – не исследовали.

ТАБЛИЦА 4. ИНТЕНСИВНОСТЬ ГОМОЛОГИЧНЫХ И ГЕТЕРОЛОГИЧНЫХ ГУМОРАЛЬНЫХ ИММУННЫХ ОТВЕТОВ НА ЖГВ А(Н5N2) – ИНДЮК И А(Н7N3)

Лабораторный тест и антитела (АТ)	Средние геометрические титры (СГТ) и кратность прироста СГТ																				
	Привитые А(Н5N2) – индюк					Привитые А(Н7N3)					Привитые А(Н7N3)										
	А (Н5N2) – индюк		А(Н5N2) – утка			А(Н5N1)			А(Н7N3)			А (Н7N9)			А (Н5N2)						
	I*	II*	III*	I	II	III/	I	II	III/	I	II	III/	I	II	III/	I	II	III/			
РТГА (сывороточные АТ)	2,8	5,1	1,8	2,6	5,4	2,1	2,7	4,3	1,6	2,8	2,7	1,0	3,0	7,0	2,3	2,6	4,8	1,8	2,6	2,5	1,0
РМН (сывороточные АТ)	5,2	11,8	2,3	ни**	ни	ни	10,0	17,3	1,7	ни	ни	ни	4,2	12,4	3,0	3,0	5,1	1,7	ни	ни	ни
ИФА-локальные IgA – АТ	7,8	13,2	1,7	5,8	10,4	1,8	5,7	8,5	1,5	5,4	7,9	1,5	7,6	12,6	2,0	2,9	4,9	1,7	6,3	9,2	1,5

**Примечание.** \*I – СГТ антител до прививки, II – СГТ антител после 2-й прививки, III – СГТ антител после 2-й прививки по отношению к довакцинальному периоду (аналогичный показатель у лиц из контрольной группы плацебо (n = 10) колебался от 0,9 до 1,0); \*\* – не исследовали.

ТАБЛИЦА 5. ГОМОЛОГИЧНЫЙ Т-КЛЕТОЧНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ НА ЖГВ А(Н5N2) – ИНДЮК И А(Н7N3)

Популяция Т-клеток	Число (%) волонтеров с конверсиями Т-клеток*					
	А(Н5N2) – индюк, n = 29 чел.			А(Н7N3), n = 29 чел.		
	После 1 <sup>й</sup> прививки	После 1 <sup>й</sup> и/или 2 <sup>й</sup> прививки	После 1 <sup>й</sup> прививки	После 1 <sup>й</sup> и/или 2 <sup>й</sup> прививки	После 1 <sup>й</sup> прививки	После 1 <sup>й</sup> и/или 2 <sup>й</sup> прививки
CD4 <sup>+</sup> IFN <sup>+</sup>	Тсм	5 (17%)	8 (28%)	5 (17%)	7 (24%)	
	Тem	5 (17%)	11 (38%)	1 (4%)	3 (10%)	
	Тсм + Тem	8 (28%)	16 (55%)	6 (21%)	7 (24%)	
CD8 <sup>+</sup> IFN <sup>+</sup>	Тсм	2 (7%)	3 (10%)	1 (4%)	6 (21%)	
	Тem	6 (21%)	8 (28%)	5 (17%)	5 (17%)	
	Тсм + Тem	8 (28%)	10 (35%)	6 (21%)	13 (45%)	
Кумулятивные данные по всем Т-клеткам		11 (38%)	18 (62%)	9 (31%)	15 (52%)	

**Примечание.** \* – достоверным считали 3 стандартных отклонения (P ≤ 0,01) от данных по контрольной группе волонтеров, получивших препарат плацебо (n = 10 чел.).

( $P < 0,01$ ). Кумулятивные данные по конверсиям всех изученных популяций Т-клеток на иммунизацию ЖГВ А(Н5N2) – индюк и А(Н7N3) составили 38 и 31% (первая прививка) и 62 и 52% (вторая прививка).

Таким образом, обе вакцины индуцировали продукцию вирусспецифических CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>Т-клеток иммунологической памяти. Отмечено существенное увеличение числа конверсий этих клеток после второй прививки.

Таблица 6 дает представление о развитии гетерологичного Т-клеточного иммунного ответа к вирусу А(Н7N9) у лиц, привитых ЖГВ А(Н7N3). Двухкратная прививка этой вакциной стимулировала продукцию специфических к гетерологичному вирусу А(Н7N9) CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>Т-клеток, соответственно, у 35 и 10% волонтеров, а кумулятивный показатель для обоих типов клеток составил 38%.

Таким образом, вакцина А(Н7N3) индуцировала не только гомологичный, но и гетеросубтипический Т-клеточный иммунный ответ к вирусу с тем же гемагглютинином, но с отличающейся нейраминидазой.

## Обсуждение

К настоящему времени клинические испытания на волонтерах в общей сложности прошли семь резервных ЖГВ, приготовленных из птичьих вирусов гриппа А: четыре в США (Н5N1, Н6N1, Н7N3 и Н7N9) и три в России (Н5N2 – утка, Н5N2 – индюк и Н7N3). При оценке гуморального иммунного ответа волонтеров обе группы исследований использовали сходный набор лабораторных тестов. Это дает возможность провести сравнительный анализ полученных результатов.

По кумулятивным показателям иммуногенности российских и американских ЖГВ, отражающим в совокупности число достоверных конверсий сывороточных (РТГА, РМН, ИФА-IgG и ИФА-IgA) и локальных (ИФА-IgA) антител после двухкратных прививок, были близки

по значению: соответственно, 76-93% и 66-100% (табл. 2 и [4, 9, 10, 11, 22, 21]). В обоих случаях поствакцинальные титры сывороточных и локальных антител оказались существенно ниже, чем это наблюдалось после иммунизации сезонными ЖГВ [1, 16] и ЖГВ А(Н1N1) pdm2009 [6]. Более слабый по интенсивности гуморальный иммунный ответ на ЖГВ, приготовленные из птичьих вирусов гриппа А, гипотетически связывают с тормозящим влиянием на их репродукцию предсуществующих факторов иммунитета у прививаемых людей, а именно: (i) антител к общей NA у вакцинного и циркулирующего вирусов; (ii) моноклональных антител к консервативному иммунодоминантному эпитопу NA; (iii) перекрестно реагирующими ЦТЛ к консервативным последовательностям внутренних белковых структур вириона [9, 10, 11, 22]. Однако следует помнить, что все эти факторы присутствовали и при формировании более интенсивного гуморального иммунного ответа к сезонным ЖГВ и ЖГВ А(Н1N1) pdm2009. Вряд ли низкий уровень репродукции птичьих вирусов, и, следовательно, гуморального иммунного ответа людей на испытанные ЖГВ связан с отличительной от человеческих вирусов гриппа А способностью птичьих вирусов соединяться исключительно с эпителиальными клетками через рецептор 2,3 Gal [19], присутствие которого в данных клетках верхних дыхательных путей у людей ограничено. Аргументом тому может служить тот факт, что человеческий вирус парагриппа, который связывается с такими же клетками через тот же рецептор 2,3 Gal, прекрасно размножается в верхних отделах дыхательного тракта, и гуморальный иммунный ответ к нему достаточно интенсивный [7]. Объясняют влияние на гуморальный иммунный ответ людей на птичьи вирусы и особенностями его фенотипического рестриктирования, которое может возникать из-за констелляционных преобразований генома при реассортации птичьих и человеческих вирусов гриппа А [10]. Однако

**ТАБЛИЦА 6. ГЕТЕРОЛОГИЧНЫЙ Т-КЛЕТОЧНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ НА ВИРУС А(Н7N9) У ВОЛОНТЕРОВ, ПРИВИТЫХ ЖГВ А(Н7N3)**

Популяция Т-клеток	Число (%) волонтеров с конверсиями Т-клеток*		
	После 1 <sup>й</sup> прививки	После 2 <sup>й</sup> прививки	После 1 <sup>й</sup> и/или 2 <sup>й</sup> прививки
CD4 <sup>+</sup> IFN $\gamma$ <sup>+</sup>	9 (31,0%)	4 (13,8%)	10 (34,5%)
CD8 <sup>+</sup> IFN $\gamma$ <sup>+</sup>	3 (10,3%)	2 (6,9%)	3 (10,3%)
Кумулятивные данные по всем Т-клеткам	10 (34,5%)	5 (17,2%)	11 (37,9%)

**Примечание.** \* – достоверным считали 3 стандартных отклонения ( $P \leq 0,01$ ) от данных по контрольной группе волонтеров, получивших препарат плацебо (n = 10 чел.).

в литературе реальных подтверждений этому феномену мы не обнаружили.

Нам представляется, что ослабленный по интенсивности гуморальный иммунный ответ на ЖГВ, приготовленные из птичьих вирусов, связан не столько с их биологическими особенностями, сколько с фактом отсутствия у прививаемых лиц В-клеточной иммунологической памяти к данным возбудителям, поскольку эти люди контактировали с ними впервые. Такой же феномен наблюдался в 1977 году при рециркуляции вируса гриппа А(Н1N1) после двадцатилетнего перерыва. Так, в начале его пандемического цикла у молодых людей, впервые встретившихся с этим вирусом, постинфекционный и поствакцинальный антительный иммунный ответ был намного ниже, чем у более старших людей, которые перенесли грипп А(Н1N1) в период его предшествующего пандемического цикла [2, 3, 5]. Однако через 3 года после активной циркуляции вируса А(Н1N1) этот феномен нивелировался. Другим важным аргументом может служить тот факт, что у непривитых лиц 1969 г. рождения и младше гуморальный иммунный ответ на двукратную прививку ЖГВ А(Н2N2), приготовленную из циркулировавшего в 1957-1968 гг. пандемического вируса данного серотипа, был столь же низким по интенсивности, как и на ЖГВ, включавших птичьих вирусы [23]. И наконец, на ЖГВ А(Н1N1) pdm 2009 этот тип иммунного ответа у волонтеров был намного выше, поскольку у них вирусспецифические Т- и В-клетки памяти к данному вирусу обнаруживались еще до вакцинации [1, 6]. По-видимому, эти клетки, сформированные в период предшествующих контактов организма с вирусами серотипа А(Н1N1), и послужили причиной сравнительно низкой заболеваемости населения гриппом А(Н1N1) pdm 2009.

Помимо гуморального иммунного ответа нами проведено исследование индукции у тех же волонтеров Т-клеточной иммунологической памяти на вакцинацию ЖГВ А(Н5N2) – индюк и А(Н7N3). Тестировали вирусспецифические Т-клетки фенотипов CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>, относящихся к двум пулам: центральные (T<sub>cm</sub>) и эффекторные (T<sub>em</sub>). Оба типа клеток участвуют в формировании долговременной иммунологической памяти, но осуществляют это разными путями [18]. Ранее доказано два факта: первый – увеличение у людей уровня T<sub>cm</sub> и T<sub>em</sub> после заболевания гриппом А(Н1N1) pdm 2009, второй – наличие корреляции уровня этих клеток и снижение тяжести гриппозной инфекции, вызванной данным возбудителем [20]. Наши результаты показали, что ЖГВ А(Н5N2) – индюк и А(Н7N3) индуцирова-

ли достоверные конверсии этих клеток у большей части волонтеров (табл. 5).

Постоянный антигенный дрейф и неослабевающая угроза распространения новых пандемических вариантов вируса гриппа А привлекает особое внимание к проблеме формирования гетерологичного постинфекционного и поствакцинального иммунного ответа к разным штаммам и подтипам вируса гриппа А [5]. Основу данного процесса составляет способность тех или иных вирусов индуцировать продукцию перекрестно реагирующих антител, а также перекрестно реагирующих Т- и В-лимфоцитов. Накопление знаний по этому вопросу важно как с точки зрения понимания степени защищенности населения от новых антигенных вариантов возбудителя, так и с позиции обоснования использования в экстренных ситуациях уже имеющихся вакцин для защиты от новых вирусов.

У волонтеров, привитых ЖГВ А(Н5N2)-индюк, проведен анализ гуморального иммунного ответа к вирусу А(Н5N2)-утка (табл. 2). Этим мы попытались ответить на вопрос: отличает ли иммунная система человека птичьих вирусы одного серотипа, но выделенные в разное время от разных представителей? Кумулятивные данные о числе конверсий антител к обоим вирусам оказались близки по значению: к А(Н5N2) – индюк и А(Н5N2) – утка, соответственно, 76 и 66%. При этом в РТГА поствакцинальные конверсии сывороточных антител совпали в 100% случаев, а локальные IgА-антитела в ИФА – в 80%. Это свидетельствует, что у обоих штаммов имеется значительный набор общих иммунодоминантных эпитопов, связанных с индукцией у прививаемых лиц перекрестно реагирующих антител. Возможно, что данный феномен относится ко всем ЖГВ, приготовленным из антропонозных и зоонозных вирусов гриппа А одного серотипа. Так, по нашим неопубликованным данным, у лиц, привитых сезонной тривалентной ЖГВ, количество конверсий сывороточных антител в РТГА к свиному вирусу гриппа А/Ontario/RV1273/2005(Н3N2) существенно не отличалось от аналогичного показателя в отношении вакцинного человеческого вируса того же серотипа. Кроме того, у 60% обследованных добровольцев еще до вакцинации обнаруживались антитела к свиному вирусу в защитных титрах 1:40. В этих условиях, несмотря на то, что свиной вирус А(Н3N2) вызывал заболевания у людей [27], вряд ли он мог обладать какими-то эпидемическими, а тем более пандемическими потенциальными.

Нами проверена способность испытуемых ЖГВ индуцировать конверсии перекрестно реагирующих антител к двум типам гетерологич-

ных вирусов: с одинаковым с вакцинным штаммом НА и с полным отличием в антигенной формуле по НА и NA (табл. 2, 3). У привитых ЖГВ А(Н7N3) кумулятивный показатель числа конверсий антител к потенциально пандемическому вирусу А(Н7N9) приближался к аналогичному показателю в отношении вакцинного штамма – соответственно, 86 и 69% (табл. 3). ЖГВ А(Н5N2) – индюк активно индуцировала продукцию перекрестнореагирующих сывороточных антител к потенциально пандемическому вирусу А(Н5N1) (табл. 2). В этом случае кумулятивный показатель числа их конверсий к вакцинному и гетерологичному вирусу составил, соответственно, 76 и 59%. При различии антигенной формулы вакцинных и гетерологичных вирусов гриппа А по НА кумулятивные показатели числа конверсий перекрестнореагирующих антител оказались значительно ниже – 24 и 21%. При этом наблюдали конверсии только сывороточных (ИФА) и локальных IgA-антител, но не сывороточных (антигемагглютинирующих антител (РТГА), вируснейтрализующих (РМН) и сывороточных IgG-антител (ИФА)). Это объясняется, с одной стороны, штаммоспецифическими свойствами РТГА и РМН, с другой – повышенной кроссреактивностью антител класса А. В целом данные о гетерологичном гуморальном и клеточном иммунном ответе на испытываемые вакцины свидетельствуют, что они вполне успешно могут индуцировать иммунитет к птичьим вирусам со сходным НА.

Ранее нами обнаружена способность ЖГВ А(Н5N2) – утка стимулировать у людей гетеросубтипический Т-клеточный ответ к циркулирующему среди людей вирусу гриппа А(Н1N1) [4, 9]. Аналогичные свойства выявлены и в отношении ЖГВ А(Н7N3) – таблица 6. Эта вакцина вызывала продукцию CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>Т-клеток, специфичных к другому потенциально пандемическому вирусу – А(Н7N9). Частота гетерологичных иммунных ответов оказалась не намного ниже по сравнению с гомологичными (соответственно, 38 и 52%). Обнаруженные специфические к этому вирусу CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>Т-лимфоциты можно отнести к пулу клеток иммунологической

памяти, поскольку они обнаружены на отдаленные сроки после иммунизации (через 28 дней).

И в заключение необходимо остановиться на ключевом вопросе: каким образом оценивать потенциальную протективность ЖГВ, приготовленных из птичьих вирусов гриппа А? В настоящее время нет возможности предсказать поствакцинальное состояние иммунитета людей к птичьим вирусам гриппа А с точки зрения его воздействия на реальную защиту от этих возбудителей. Традиционно о протективных свойствах сезонных и пандемических вакцин судят по их способности индуцировать продукцию антигемагглютинирующих антител в защитных титрах  $\geq 1:40$ . Однако по нашим и зарубежным данным, ЖГВ, включающие птичьих вирусы, вызывают продукцию этих антител в данных титрах только в единичных случаях. Поэтому такой подход оценки резервных ЖГВ не приемлем. Кроме того, ЖГВ защищали людей от гриппа А и в ситуациях, когда у привитых антигемагглютинирующие антитела не определялись [8]. Поскольку противогриппозная иммунизация основана на успешности индукции долговременно функционирующей В- и Т-клеточной иммунологической памяти, возникает вопрос, могут ли ЖГВ, приготовленные из птичьих вирусов гриппа А, стимулировать у людей такую память в условиях высокого по частоте, но слабого по интенсивности иммунного ответа к вакцинным штаммам. Недавние американские исследования показали полную состоятельность в этом плане резервной ЖГВ А(Н5N1), а именно: у людей, прививавшихся год назад этой вакциной, отмечено мощное бустирование системного гуморального иммунного ответа на инактивированную вакцину А(Н5N1) по сравнению с непраймированными лицами [24]. Нами установлено такое же бустирование этого типа иммунного ответа на инактивированную вакцину А(Н5N1) у добровольцев, предварительно (9 месяцев назад) иммунизированных ЖГВ А(Н5N2) – индюк (материалы готовятся к печати). Кроме того, у этих лиц отмечена более интенсивная продукция CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>Т-клеток иммунологической памяти.

## Список литературы / References

1. Дони́на С.А., Петухова Г.Д., Кореньков Д.А., Григорьева Е.П., Кузнецова С.А., Лосев И.В., Руденко Л.Г., Найхин А.Н. Локальный и гуморальный иммунный ответ у больных гриппом и у лиц, привитых против сезонных и пандемических вирусов гриппа А // Вопросы вирусологии, 2013. Т. 58, № 3. С. 37-42. [Donina S.A., Petukhova G.D., Korenkov D.A., Grigorieva E.P., Kuznetsova S.A., Losev I.V., Rudenko L.G., Naykhin A.N. Local Antibody Immune Responses in Influenza Patients and Persons Vaccinated with Seasonal, Pre-pandemic, and Pandemic Live Attenuated Influenza Vaccines. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2013, Vol. 58, no. 3, pp. 37-42. (In Russ.)]

2. Найхин А.Н., Денисов Г.М., Исмагулов А.Т., Топурия Н.В., Платонов В.Г., Царицына И.М., Иванников Ю.Г. Формирование, длительность сохранения и защитная роль антигемагглютининов к ранее циркулировавшим вирусам гриппа А // Вопросы вирусологии, 1980. № 4. С. 408-412. [Naykhin A.N., Denisov G.M., Ismagulov A.T., Topurii N.V., Platonov V.G. Formation, persistence period and protective role of antihemagglutinins to earlier circulating influenza A viruses. *Voprosy virusologii = Problems of Virology* 1980, no. 4, pp. 408-412. (In Russ.)]
3. Найхин А.Н., Денисов Г.М., Иванников Ю.Г., Лисок Т.П., Олейникова Е.В., Царицына И.М. Итоги изучения коллективного иммунитета к вирусу гриппа А(Н1N1) в 1976-1980 гг. // Вопросы вирусологии, 1981. № 5. С. 553-557. [Naykhin A.N., Denisov G.M., Ivannikov Yu.G., Lisok T.P., Oleynikova E.V. Results of a study of collective immunity to influenza A virus (H1N1) from 1976 to 1980. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 1981, no. 5, pp. 553-557. (In Russ.)]
4. Найхин А.Н., Чиркова Т.В., Петухова Г.Д., Кореньков Д.А., Доница С.А., Руденко Л.Г. Стимуляция гомо- и гетерологичной Т-клеточной иммунологической памяти у волонтеров, привитых живой реассортантной гриппозной вакциной типа А(Н5N2) // Вопросы вирусологии, 2012. Т. 57, № 1. С. 38-42. [Naykhin A.N., Chirkova T.V., Petukhova G.D., Korenkov D.A., Donina S.A., Rudenko L.G. Stimulation of homo- and heterologic T-cell immunological memory in volunteers inoculated with live influenza A (H5N2) reassortant vaccine. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2012, Vol. 57, no. 1, pp. 38-42. (In Russ.)]
5. Найхин А.Н. Гетеросубтипический иммунитет к вирусам гриппа А: эпидемиологические данные, вовлеченность разных иммунологических факторов, вакцинация // Вопросы вирусологии, 2012. Т. 57, № 3. С. 4-9. [Naykhin A.N. Heterosubtypic immunity to influenza A viruses: epidemiological data, involvement of different immunological factors, vaccination. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2012, Vol. 57, no. 3, pp. 4-9. (In Russ.)]
6. Найхин А.Н., Доница С.А., Петухова Г.Д., Кореньков Д.А., Дорошенко Е.М., Григорьева Е.П., Суворова М.А., Руденко Л.Г. Гуморальный и клеточный иммунный ответ у людей к вирусу гриппа А/Калифорния/07/2009(Н1N1)pdm2009 // Вопросы вирусологии, 2013. Т. 58, № 2. С. 38-42. [[Naykhin A.N., Donina S.A., Petuhova G.D., Korenkov D.A., Doroshenko E.M., Grigorieva E.P., Suvorova M.A., Rudenko L.G. Humoral and Cell-mediated Immune Responses in Humans to the A/California/ 07/ 2009 (H1N1) Virus, A(H1N1) pdm2009. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2013, Vol. 58, no. 2, pp. 38-42. (In Russ.)]
7. Bartlett E.J., Hennessey M., Skiadopoulos M.N., Schmidt A.C., Collins P.L., Murphy B.R., Pickles R.J. .Role of interferon in the replication of human parainfluenza virus type 1 wild type and mutant viruses in human ciliated airway epithelium . *J. Virol.*, 2008, Vol. 82, no. 16, pp. 8059-8070.
8. Belshe R.B., Gruber W.C., Mendelman P.M., Mehta H.B., Mahmood K., Reisinger K., Treanor J., Zangwill K., Hayden F.G., Bernstein D.I., Kotloff K., King J., Piedra P.A., Block S.L., Yan L., Wolff M. Correlates of immune protection induced by live attenuated cold-adapted, trivalent, intranasal influenza virus vaccine. *J. Infect. Dis.*, 2000, Vol. 181, no. 3, pp. 1133-1137.
9. Chirkova T.V., Naykhin A.N., Petukhova G.D., Korenkov D.A., Donina S.A., Mironov A.N., Rudenko L.G. Memory T-cell immune response in healthy young adults vaccinated with live attenuated influenza A(H5N2) vaccine. *Clinical and vaccine Immunol.*, 2011, Vol. 18, no. 10, pp. 1710-1718.
10. Karron R.A., Callahan K., Luke C., Thumar B., McAuliffe J., Schappell E., Joseph T., Coelingh K., Jin H., Kemble G., Murphy B.R., Subbarao K. A live attenuated H9N2 influenza vaccine is well tolerated and immunogenic in healthy adults. *J. Infect. Dis.*, 2009, Vol.199, no. 5, pp. 711-716.
11. Karron R.A., Talaat K., Luke C., Callahan K., Thumar B., Dilorenzo S., McAuliffe J., Schappell E., Suguitan A., Mills K., Chen G., Lamirande E., Coelingh K., Jin H., Murphy B.R., Kemble G., Subbarao K. Evaluation of two live attenuated cold-adapted H5N1 influenza vaccines in healthy adults. *Vaccine*. 2009, Vol. 27, no. 36, pp. 4953-4960.
12. Meijer A., Bosman A., van de Kamp E.E., Wilbrink B., van Beest Holle Man R., Koopmans M. Measurement of antibodies to avian influenza virus A(H7N7) in human by hemagglutination inhibition test. *Virol. Methods*, 2006, Vol. 132, pp. 113-120.
13. Murphy B.K., Coelingh K. Principles underlying the development and use of live attenuated cold-adapted influenza A and B virus vaccines. *Viral. Immunol.*, 2002, Vol. 15, pp. 295-323.
14. Myers K.P., Setterquist S.F., Capuano A.W., Cray G.C. Infection due to 3 avian influenza subtypes in United States veterinarian. *Clin. Infect. Dis.*, 2007, Vol. 45, pp. 4-9.

15. Nguyen-Van-Tam J.S., Nair P., Acheson P., Baker A., Barker M., Bracebridge S., Croft J., Ellis J., Gellertie R., Gent N., Ibbotson S., Joseph C., Mahgoub H., Monk P., Reghitt T.W., Sundkvist T., Sellwood C., Simpson J., Smith J., Watson J.M., Zambon M., Lightfoot N. Outbreak of low pathogenicity H7N3 avian influenza in UK, including associated case of human conjunctivitis. *Euro Surveill*, 2006, Vol. 11, F 0605042.
16. Petukhova G., Korenkov D., Chirkova T., Donina S., Rudenko L., Naykhin A. B- and T-cell memory elicited by seasonal live attenuated reassortant influenza vaccine: assessment of local antibody avidity and virus-specific memory T-cell using trogocytosis based method. *Influenza and other resp. viruses.*, 2012, Vol. 6, no. 2, pp. 1-8.
17. Rowe T., Abernathy R.A., Hu-Primmer J. Detection of antibody to avian influenza A(H5N1) virus in human serum by using a combination of serologic assay. *J. Clin. Microbiol.*, 1999, Vol. 37, pp. 937-943.
18. Sallusto F., Geginat J., Lanzavecchia A. Central memory and effector memory T-cell subsets: function, generation and maintenance. *Annu. Rev. Immunol.*, 2004, Vol. 22, pp. 745-763.
19. Shinya K., Ebina M., Yamada S., Kasai N., Kawaoka Y. Avian flu: Influenza virus receptors in the human airway. *Nature*, 2006, Vol. 440 (7083), pp. 435-436.
20. Sridhar S., Begom Sh., Bermingham A., Hoschler K., Adumson W., Carman W., Bean T., Barelay W., Deek J.J., Lalvani A. Cellular immune correlates of protection against symptomatic pandemic influenza. *Nat. Med.*, 2013, Vol. 19, pp. 1305-1313.
21. Talaat K.R., Karron R.A., Luke C.J., Thumar B., McMahon B.A., Chen G.L., Lamirande E.W., Jin H., Coelingh K.L., Kemble G., Subbarao K. An open label phase I trial of live attenuated H6N1 influenza virus vaccine in healthy adults. *Vaccine*, 2011, Vol. 29, no. 17, pp. 3144-3148.
22. Talaat K.R., Karron R.A., Callahan K.A., Luke C.J., DiLorenzo S.C., Chen G.L., Lamirande E.W., Jin H., Coelingh K.L., Murphy B.R., Kemble G., Subbarao K. A live attenuated H7N3 influenza virus vaccine is well tolerated and immunogenic in a Phase I trial in healthy adults. *Vaccine*, 2009, Vol. 27, no. 28, pp. 3744-3753.
23. Talaat K.R., Karron R.A., Liang P.H., McMahon B.A., Luke C.J., Thumar B., Chen G.L., Min J.Y., Lamirande E.W., Jin H., Coelingh K.L., Kemble G.W., Subbarao K. An open-label Phase I trial of a live attenuated H2N2 influenza virus vaccine in healthy adults. *Influenza and other resp. viruses.*, 2013, Vol. 7, no. 1, pp. 66-73.
24. Talaat K.R., Luke C.J., Khurana S., Manischewitz J., King L.R., McMahon B.A., Karron R.A., Lewis K.D., Qin J., Follmann D.A., Golding H., Neuzil K.M., Subbarao K. A live attenuated influenza A(H5N1) vaccine induce long-term immunity in the absence of primary antibody response. *J. Infect. Dis.*, 2014, Vol. 209, pp. 1860-1869.
25. Treanor J.J., Cambell J.D., Zangwill K.M., Rowe T., Wolff M. Safety and immunogenicity of an inactivated subvirion influenza A(H5N1) vaccine. *N. Engl. J. Med.*, 2006, Vol. 354, pp. 1343-1351.
26. Tweed S.A., Skowronski D.M., David S.T., Larder A., Petric M., Lees W., Li Y., Katz J., Krajden M., Tellier R., Halpert C., Hirst M., Astell C., Lawrence D., Mak A. Human illness from avian influenza H7N3, British Columbia. *Emerg. Infect. Dis.*, 2004, Vol. 10, pp. 2196-2199.
27. Update: influenza A(H3N2) transmission and guidelines – five states, 2011 Morb. Mort. Weekly Rep. January 6. 2012/60(51). pp. 1741-1744.
28. Who global action plan vaccine supple for influenza vaccine. 2006, Geneva, Belgium. WHO/IVB/06.13. WHO/ODS/EPR/GIP/2006.1.
29. (<http://www.who.int/csr/disease/avianinfluenza/country/cases.table2008.03.18/en/indexhtml>)

---

**Авторы:**

**Найхин А.Н.** – д.м.н., профессор, заведующий лабораторией иммунологии и профилактики вирусных инфекций отдела вирусологии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия

**Донина С.А.** – к.м.н., старший научный сотрудник, лаборатория иммунологии и профилактики вирусных инфекций отдела вирусологии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия

**Authors:**

**Naykhin A.N.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Immunology and Prophylactics of Viral Infections, Department of Virology, Research Institute of Experimental Medicine of the North-West Branch of the RAMS, St. Petersburg, Russian Federation

**Donina S.A.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Immunology and Prophylactics of Viral Infections, Department of Virology, Research Institute of Experimental Medicine of the North-West Branch of the RAMS, St. Petersburg, Russian Federation

**Лосев И.В.** — научный сотрудник, лаборатория иммунологии и профилактики вирусных инфекций отдела вирусологии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия

**Петухова Г.Д.** — к.б.н., старший научный сотрудник, лаборатория иммунологии и профилактики вирусных инфекций отдела вирусологии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия

**Кореньков Д.А.** — к.м.н., старший научный сотрудник, лаборатория иммунологии и профилактики вирусных инфекций отдела вирусологии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия

**Стукова М.А.** — ведущий научный сотрудник, лаборатория молекулярной вирусологии и генной инженерии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Ерофеева М.К.** — заведующая лабораторией испытаний новых средств защиты от вирусных инфекций, ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Коншина О.С.** — научный сотрудник, лаборатория испытаний новых средств защиты от вирусных инфекций, ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Смолоногина Т.А.** — к.б.н., старший научный сотрудник, отдел вирусологии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия

**Дорошенко Е.М.** — к.м.н., научный сотрудник, отдел вирусологии им. акад. РАМН А.А. Смородинцева, ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия

**Григорьева Е.П.** — к.м.н., старший научный сотрудник, отдел вирусологии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия

**Руденко Л.Г.** — д.м.н., профессор, руководитель отдела вирусологии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия

**Losev I.V.**, Research Associate, Laboratory of Immunology and Prophylactics of Viral Infections, Department of Virology, Research Institute of Experimental Medicine of the North-West Branch of the RAMS, St. Petersburg, Russian Federation

**Petukhova G.D.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Immunology and Prophylactics of Viral Infections, Department of Virology, Research Institute of Experimental Medicine of the North-West Branch of the RAMS, St. Petersburg, Russian Federation

**Korenkov D.A.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Immunology and Prophylactics of Viral Infections, Department of Virology, Research Institute of Experimental Medicine of the North-West Branch of the RAMS, St. Petersburg, Russian Federation

**Stukova M.A.**, Leading Research Associate, Laboratory of Molecular Virology and Genetic Engineering, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation

**Erofeeva M.K.**, Head, Laboratory of Trials of Novel Remedies for Antiviral Protection, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation

**Konshina O.S.**, Research Associate, Laboratory of Trials of Novel Remedies for Antiviral Protection, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation

**Smolonogina T.A.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of General Virology, Department of Virology, Research Institute of Experimental Medicine of the North-West Branch of the RAMS, St. Petersburg, Russian Federation

**Doroshenko E.M.**, PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory of Vaccine Strains, Department of Virology, Research Institute of Experimental Medicine of the North-West Branch of the RAMS, St. Petersburg, Russian Federation

**Grigorieva E.P.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of General Virology, Department of Virology, Research Institute of Experimental Medicine of the North-West Branch of the RAMS, St. Petersburg, Russian Federation

**Rudenko L.G.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Virology, Research Institute of Experimental Medicine of the North-West Branch of the RAMS, St. Petersburg, Russian Federation

Поступила 24.10.2014

Отправлена на доработку 30.10.2014

Принята к печати 14.12.2014

Received 24.10.2014

Revision received 30.10.2014

Accepted 14.12.2014