

Дешева Ю. А.^{1,2}, Смолоногина Т. А.¹, Дорошенко Е. М.¹, Руденко Л. Г.¹

РАЗРАБОТКА КВАДРИВАЛЕНТНОЙ ЖИВОЙ ГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНЫ, ВКЛЮЧАЮЩЕЙ РЕАССОРТАНТНЫЕ ВИРУСЫ ГРИППА В АНТИГЕННЫХ ЛИНИЙ ВИКТОРИЯ И ЯМАГАТА

¹ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 197376, г. Санкт-Петербург; ²Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, г. Санкт-Петербург

В настоящем исследовании изучали прививочные свойства живой гриппозной вакцины (ЖГВ), включающей 2 реассортантных вируса гриппа В антигенных линий Виктория и Ямагата, полученных на основе донора аттенуации В/СССР/60/69. На мышах линии СВА показана 100% защита от реинфекции эпидемическими вирусами гриппа В Виктория и Ямагата после сочетанной иммунизации двумя вакцинными вирусами гриппа В. На взрослых добровольцах продемонстрирована ареактогенность квадринальной ЖГВ, включающей 2 вакцинных вируса типа В. После однократной иммунизации квадринальной вакциной наблюдалось образование антител к двум антигенным линиям гриппа В.

Ключевые слова: живая гриппозная вакцина; вирусы гриппа В; иммуногенность.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2016; 61(1): 16–20. DOI 10.18821/0507-4088-2016-61-1-16-20

Desheva Yu.A.^{1,2}, Smolonogina T.A.¹, Doroshenko E.M.¹, Rudenko L.G.¹

DEVELOPMENT OF THE QUADRIVALENT LIVE ATTENUATED INFLUENZA VACCINE INCLUDING TWO INFLUENZA B LINEAGES – VICTORIA AND YAMAGATA

¹ Institute of Experimental Medicine, 197376, St. Petersburg, Russia;

² St. Petersburg State University, 199034, St. Petersburg, Russia

This work is devoted to the research of the live attenuated influenza vaccine (LAIV) comprising two reassortant B/USSR/60/69-based vaccine influenza viruses Victoria and Yamagata. The intranasal immunization of the CBA mice with both Victoria and Yamagata strains induced 100% lung protection against the subsequent infection with the wild-type influenza B viruses of any antigen lineage. The quadrivalent LAIV (qLAIV) comprising both reassortant influenza B viruses Victoria and Yamagata were safe and areactogenic in adult volunteers. Following qLAIV administration the immune response was achieved to both Victoria and Yamagata lineages.

This work has been supported by the grant of the St. Petersburg City Government for Scientific and Scientific-and-Technological Activities (project No. 444/12; November 23, 2012).

Key words: live influenza vaccine; influenza B; immunogenicity.

Citation: Voprosy virusologii. 2016; 61(1): 16–20. (in Russian). DOI 10.18821/0507-4088-2016-61-1-16-20

For correspondence: Yuliya Desheva, MD, PhD, DS; e-mail: desheva@mail.ru

Received 24.03.14

Вирусы гриппа В ежегодно вызывают до 23–24% подтвержденных случаев заболевания гриппом, при этом повышенному риску заболевания подвергаются дети [1]. Для активной иммунопрофилактики сезонного гриппа долгое время применяли тривалентные гриппозные вакцины, включающие актуальные вакцинные штаммы: 2 вируса гриппа типа А – А(Н1N1), А(Н3N2) и 1 вирус типа В. Однако в последнее время участились случаи одновременного появления в циркуляции вирусов гриппа В двух антигенных разновидностей, подобных эталонным штаммам В/Виктория/2/1987 или В/Ямагата/16/1988. С 2001 по 2011 г. в США и Европе в 5 из 10 эпидемических сезонов наблюдалось несовпадение вакцинного и эпидемического вирусов гриппа В [2]. В таких условиях иммунизация гриппозными вакцинами против одного антигенного варианта не создавала защиту против другого, особенно в случае применения инактивированных вакцин. Чтобы обеспечить более полную защиту населения от всех возможных антигенных вариантов циркулирующих вирусов гриппа, рекомендации ВОЗ на эпидемический сезон 2013–2014 гг. включают 2 вируса гриппа В. Квадринальные гриппозные вакцины, включающие 2 компонента В (Fluarix, Fluzone), рекомендованы для применения наряду с тривалентными препаратами [2].

В США зарегистрирована также квадринальная ЖГВ Flumist [3].

Настоящее исследование посвящено разработке отечественной квадринальной ЖГВ, включающей вакцинные штаммы, полученные на основе донора аттенуации В/СССР/60/69 [4]. Для этих целей были изучены прививочные свойства вакцинных штаммов вирусов гриппа В антигенных линий Виктория и Ямагата при сочетанном введении в эксперименте на мышах, а также в составе квадринальной ЖГВ в ограниченном клиническом исследовании на добровольцах.

Материал и методы

Вирусы. В работе были использованы штаммы вируса гриппа В из коллекции отдела вирусологии ФБГУ НИИЭМ СЗО РАМН: реассортантные вакцинные вирусы В/60/Флорида/04/181 и В/60/Висконсин/2010/125 (антигенная линия Ямагата); вакцинные штаммы В/60/Малайзия/04/898 и В/60/Брисбен/2008/83 (антигенная линия Виктория); эпидемические вирусы дикого типа В/Флорида/07/04 и В/Малайзия/2506/04 [5–7]. В исследовании также использовали реассортантные вакцинные вирусы гриппа А: А/17/Калифорния/2009/38 (Н1N1) и А/17/Виктория/2011/89 (Н3N2), подготовленные со-

Для корреспонденции: Дешева Юлия Андреевна, д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник; e-mail: desheva@mail.ru

гласно рекомендациям ВОЗ для профилактики гриппа во время эпидемического сезона 2012–2013 гг. Вирусы гриппа культивировали в 10-дневных развивающихся куриных эмбрионах (РКЭ) при 33°C 48 ч для вирусов гриппа А и 72 ч для вирусов гриппа В. Инфекционную активность вирусов определяли в РКЭ при 33°C, эмбриональную инфекционную дозу (ЭИД₅₀) рассчитывали по методу Рида и Менчф (1938).

Изучение репродукции вирусов в дыхательных путях мышей. Мышам линии СВА в возрасте 10–12 нед (питомник Рапполово, Ленинградская область) под легкой анестезией вводили интраназально 0,05 мл аллантоисной жидкости с содержанием вакцинного или эпидемического вируса 10¹-10⁷ ЭИД₅₀. Животным в контрольной группе в те же сроки вводили интраназально 0,05 мл фосфатно-солевого буферного раствора. Эвтаназию выполняли согласно «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 266 МЗ РФ от 19.06.03). Концентрацию вируса определяли в легких и носовых ходах на 3-и сутки по показателям титрования суспензии органов в РКЭ начиная с разведения 1:10 для легких и 1:2 для носовых ходов. 50% мышиную инфекционную дозу (МИД₅₀) рассчитывали по методу Рида и Менча.

Иммунизация и реинфекция на мышах. Подопытным животным (по 25 в группе) вводили интраназально 300 МИД₅₀ одного из вакцинных штаммов В/60/Флорида/04/181 или В/60/Малайзия/04/898 либо смесь указанных вакцинных штаммов по 300 МИД₅₀ каждого. Образцы крови (по 10 из каждой группы) были отобраны на 21-й день после иммунизации. Полученные сыворотки крови хранили при -20°C до проведения серологических тестов.

Реакцию торможения гемагглютинации (РТГА) с сыворотками крови проводили в 96-луночных панелях для серологических реакций с использованием 0,75% взвеси эритроцитов кур по описанным методикам [8]. Для удаления термолabile ингибиторов сыворотки прогревали при 56°C в течение 30 мин. Для удаления термостабильных ингибиторов гемагглютинации исследуемые сыворотки обрабатывали экстрактом нейраминидазы (НА) холерных вибрионов («Denka Seiken Co., Ltd.», Япония). Титры антигемагглютинирующих антител выражали как величину, обратную наибольшему разведению сыворотки, при котором наблюдалось торможение гемагглютинации. Реакцию микронейтрализации (МН) выполняли в клеточной культуре MDCK, как описано ранее [8]. Титры нейтрализующих антител выражали как величину, обратную наибольшему разведению образца, дающего 50% нейтрализации 100 50% культуральных инфекционных доз (КИД₅₀) вируса.

Иммунных мышей на 21-й день после вакцинации инфицировали эпидемическими вирусами гриппа В – В/Флорида/07/04 или В/Малайзия/2506/04 в заражающей дозе 100 МИД₅₀. Уровень репродукции заражающего вируса в дыхательных путях мышей на 3-и сутки после инфицирования определяли по результатам титрования суспензии легких в РКЭ начиная с разведения 1:10, ЭИД₅₀ и рассчитывали по методу Рида и Менча.

Изучение прививочных свойств квадριвалентной ЖГВ на добровольцах. Клиническое изучение проводили в октябре 2012 г. В исследовании в качестве добровольцев приняли участие здоровые лица мужского (14) и женского (18) пола в возрасте от 18 до 56 лет, давшие письменное добровольное информированное согласие на участие в клинических испытаниях. Живую гриппозную аллантоисную три- или квадριвалентную вакцину вводили интраназально однократно по 0,25 мл в каждый носовой ход с помощью распылителя-дозатора. У привитых в поствакцинальный период брали клинические

материалы (кровь, мазки из полости носа) для вирусологических и серологических исследований. Иммуногенность оценивали в РТГА на 28-й день после иммунизации с тестовыми антигенами, входившими в состав вакцин.

Обратнотранскриптазную полимеразную цепную реакцию (ОТ-ПЦР) с клиническими пробами (мазками из носовых ходов), полученными на 3-и и 5-е сутки после иммунизации, проводили в соответствии с протоколами, рекомендованными ВОЗ (2009). Выделение РНК выполняли при помощи наборов QIAamp® Viral RNA Mini Kit («Qiagen», Нидерланды). Качественный ПЦР-анализ проводили в режиме реального времени методом TaqMan с использованием амплификатора CFX384tm («BioRad», США). Обратную транскрипцию и амплификацию М-гена вирусов гриппа А и В выполняли согласно рекомендациям ВОЗ (2009). Для выявления М-гена вируса гриппа В компанией «Бигль» (Санкт-Петербург) были синтезированы следующие праймеры: MB-F 5'-AGAGCCCATAGCAGAGCAGC-3', MB-R 5'-TTTCCCATTCATTCATTCATG-3', MB-Pr 5'-(TAMRA)-AGTGCCTGGAGTGAGGCGAGAATG-(BHQ)-3'.

Статистическая обработка данных. Для описания результатов использовали такие показатели, как среднее, среднеквадратическое отклонение (СКО), среднегеометрические титры (СГТ). Обработку данных осуществляли с использованием статистического пакета Statistica 6.0. Для оценки различий между группами по количественным показателям титры антител выражали в log₂ и использовали параметрический (критерий Стьюдента) и непараметрический (*U*-критерий Манна–Уитни) критерии: первый при условии нормально распределенных внутри групп переменных, а также с последующей проверкой гипотезы о равенстве дисперсий двух выборок с помощью *F*-критерия Фишера; второй при отсутствии имплементации предположения о нормальности.

Результаты и обсуждение

Прививочные свойства вакцинных штаммов Виктория и Ямагата при изучении на мышах. Результаты изучения иммуногенности на мышах после однократного интраназального введения вакцинных вирусов В/60/Флорида/04/181 и В/60/Малайзия/04/898 в дозе 300 МИД₅₀ представлены в табл. 1. После однократной иммунизации подопытных животных смесью двух вирусов было достигнуто формирование сывороточных антигемагглютинирующих антител к двум штаммам в титрах 1:40 и более. В то же время после иммунизации вакцинным штаммом только одной линии показано полное отсутствие перекрестно-реагирующих антигемагглютинирующих антител к другой антигенной линии. В реакции МН обнаружен незначительный прирост перекрестно-реагирующих антител к вирусу В/60/Флорида/04/181 после иммунизации штаммом В/60/Малайзия/04/898 (см. табл. 1).

Согласно результатам двух тестов, сочетанное введение двух вирусов вызывало прирост антител через 21 день после иммунизации в титрах не ниже, чем после раздельного введения каждого вакцинного штамма ($p > 0,05$).

Однократная интраназальная иммунизация вакцинными штаммами В/60/Флорида/04/181 или В/60/Малайзия/04/898 защищала мышей от легочной инфекции, вызванной гомологичными эпидемическими вирусами гриппа В дикого типа в заражающей дозе 100 МИД₅₀ (табл. 2). При этом иммунизация вакцинным штаммом В/60/Малайзия/04/898 (Виктория) на 100% защищала от реинфекции другим антигенным вариантом В/Флорида/07/04 (Ямагата), по данным выделения заражающего вируса из легких. В случае иммунизации

Иммуногенность вакцинных вирусов В/60/Флорида/04/181 и В/60/Малайзия/04/898 при интраназальном введении мышам

Вакцинные группы	Число мышей в группе	Иммуногенность на 21-е сутки после иммунизации к антигенам:					
		В/60/Малайзия			В/60/Флорида		
		РТГА		МН (СГТ)	РТГА		МН (СГТ)
		СГТ	титры $\geq 1:40$, всего (в %)		СГТ	титры $\geq 1:40$, всего (в %)	
В/60/Малайзия	10	24,6	5 (50)	121,3*	5,0	0 (0)	5,4***
В/60/Флорида	9	5,0	0 (0)	5,0	46,7	7 (78)	217,7**
В/60/Флорида + В/60/Малайзия	10	26,4	6 (60)	65,0*	65,0	10 (100)	160,0**,***
Контроль (ФБ)	10	5,0	0 (0)	5,0	5,0	0 (0)	5,0

Примечание. *,** – $p > 0,05$; *** – $p = 0,0029$. Здесь и в табл. 2: ФБ – фосфатный буфер.

вакцинным штаммом В/60/Флорида/04/181 перекрестная защита выражалась в снижении среднего титра выделения заражающего вируса В/60/Малайзия/04/898 из легких в 5000 раз, при этом вирус был выделен у двух животных из пяти (см. табл. 2).

Сочетанная иммунизация смесью вакцинных штаммов В/60/Флорида/04/181 и В/60/Малайзия/04/898 в эквивалентных дозах полностью защищала животных от реинфекции эпидемическими штаммами В/Флорида/07/04 и В/Малайзия/2506/04.

Изучение прививочных свойств квадринагентной ЖГВ на добровольцах. На протяжении всего периода наблюдения во всех группах привитых добровольцев после вакцинации не зарегистрировано как местных, так и общих клинических реакций (табл. 3). Таким образом, применение двух реассортантных штаммов вируса гриппа В антигенных линий В/Виктория и В/Ямагата в составе квадринагентной ЖГВ не приводило к повышению реактогенности по сравнению с тривалентными препаратами.

Через 4 нед после иммунизации у вакцинированных лиц, которые были серонегативными до прививки (титры антигемагглютинирующих антител к соответствующим антигенам 1:20 и менее), наблюдалось увеличение СГТ-антител к антигенам А(Н3N2), В/Брисбен и В/Висконсин (табл. 4). Достоверные приросты СГТ после иммунизации наблюдались как в группах, получивших тривалентные препараты, так и у реципиентов квадринагентной вакцины. При этом СГТ к вирусам гриппа типа А и В после однократного введения квадринагентной вакцины были не ниже, чем в двух других группах ($p > 0,05$). Двукратный прирост СГТ к антигену А(Н3N2) в 1-й группе, получившей тривалентную вакцину, оказался статистически незначим по причине малого числа оснований ($n = 3$), так

как до прививки в этой группе большинство участников оказались серопозитивными к вирусу А(Н3N2) в отличие от 3-й группы, получившей квадринагентную.

Таким образом, введение двух вирусов гриппа типа В антигенных линий В/Виктория и В/Ямагата в состав поливалентной ЖГВ не приводило к снижению продукции антител к компонентам вакцины А и В по сравнению с тривалентными препаратами, содержащими только 1 вакцинный штамм гриппа В.

Положительные результаты ОТ-ПЦР в реальном времени с праймерами, специфичными к гриппу В, получены как у волонтеров с последующим 4-кратным приростом антител к вирусу гриппа В, так и без прироста. Тем не менее результаты обнаружения вакцинных вирусов гриппа В методом ОТ-ПЦР в реальном времени согласуются с результатами определения иммуногенности. Так, вирус гриппа В выявлен в группе привитых тривалентной, содержащей вакцинный вирус В/60/Висконсин, и в группе привитых квадринагентной (табл. 5), т. е. в тех группах, где впоследствии наблюдались достоверные приросты антител к вирусам гриппа В.

Включение в состав сезонной гриппозной вакцины двух антигенных вариантов вируса гриппа В должно устранить антигенное несоответствие между вакцинными и эпидемическими вирусами гриппа В и повысить эффективность вакцинопрофилактики этого заболевания. По прогнозам Центра по контролю и предупреждению заболеваний США, замена тривалентной на квадринагентную гриппозную вакцину позволит предотвратить дополнительно 2,74 млн случаев заболевания гриппом В [9].

Включение в состав ЖГВ нескольких разновидностей вирусов гриппа всегда было связано с изучением возможного интерферирующего влияния вакцинных вирусов друг на друга, а также поиском путей

Таблица 2

Защитное действие вакцинных вирусов В/60/Флорида/04/181 и В/60/Малайзия/04/898 против реинфекции эпидемическими вирусами В/Малайзия/2506/04 и В/Флорида/07/04 на мышах

Вакцинные группы	Число мышей в группе	Выделение из легких на 3-и сутки после инфекции заражающих вирусов:			
		В/Малайзия/2506/04		В/Флорида/07/04	
		средние титры, Ig ЭИД ₅₀ /мл	с выделением вируса/всего	средние титры, Ig ЭИД ₅₀ /мл	с выделением вируса/всего
В/60/Малайзия	5	$\leq 1,5^*$	0/5	$\leq 1,5$	0/5
В/60/Флорида	5	$2,4 \pm 1,3^{***}$	2/5	$\leq 1,5$	0/5
В/60/Флорида + В/60/Малайзия	5	$\leq 1,5^{**}$	0/5	$\leq 1,5$	0/5
Контроль (ФБ)	5	$6,1 \pm 0,3^{*,***}$	5/5	$5,9 \pm 0,6^{\#}$	5/5

Примечание. **,*** – $p = 0,032$; *** – $p = 0,28$; # – титр вируса в группе контроля выше, чем во всех трех вакцинированных группах ($p > 0,05$).

преодоления как гомологичной, так и гетерологичной вирусной интерференции. Так, при конструировании дивалентной ЖГВ, включающей вакцинные штаммы вируса гриппа А(Н1N1) и А(Н3N2), было показано отсутствие взаимного интерферирующего действия вакцинных вирусов при условии равенства инфекционных доз и использовании единого донора аттенуации для подготовки вакцинных штаммов [10]. В процессе изучения прививочных свойств тривалентной, объединяющей реассортантные штаммы А(Н1N1), А(Н3N2) и В, было показано сохранение высокой иммуногенности вакцинных штаммов А(Н1N1) и А(Н3N2) в составе поливалентного препарата: 63,3 и 69,8% сероконверсий среди серонегативных детей (аналогичные показатели для моновакцин

Отсутствие клинических реакций у добровольцев, привитых ЖГВ

Вакцинные группы	Валентность-вакцины	Состав вакцинных штаммов	Всего	Температурная реакция, °C								Катаральные явления		
				37,0		37,1–37,5		37,6–38,5		≥ 38,6		абс.	%	
				абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%			
1-я	3	A/17/Калифорния/2009/38 (H1N1) A/17/Виктория/2011/89 (H3N2) В/60/Брисбен/2008/83	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2-я	3	A/17/Калифорния/2009/38 (H1N1) A/17/Виктория/2011/89 (H3N2) В/60/Висконсин/2010/125	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3-я	4	A/17/Калифорния/2009/38 (H1N1) A/17/Виктория/2011/89 (H3N2) В/60/Брисбен/2008/83 В/60/Висконсин/2010/125	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Таблица 4

Иммуногенность тривалентной и квадριвалентной ЖГВ при введении добровольцам (группа серонегативных)

Антиген	РТГА с сыворотками крови привитых ЖГВ:								
	A(H1N1)+A(H3N2)+B/Брисбен			A(H1N1)+A(H3N2)+B/Висконсин			A(H1N1)+A(H3N2)+B/Брисбен+B/Висконсин		
	СГТ		кратность прироста	СГТ		кратность прироста	СГТ		кратность прироста
	до прививки	после прививки		до прививки	после прививки		до прививки	после прививки	
A(H1N1)	16,8	20,0	1,2	12,6	17,8	1,4	16,8	21,8	1,3
A(H3N2)	12,6	25,2	2,0	17,4	26,4	1,5	14,1	32,5	2,3*
В/Брисбен	12,3	15,2	1,2	11,7	13,6	1,2	9,4	14,6	1,6**
В/Висконсин	14,1	17,4	1,2	11,9	25,9	2,2***	8,7	16,3	1,9#

Примечание. ** – $p = 0,012$; * – $p = 0,043$; *** – $p = 0,028$; # – $p = 0,012$.

составили 61 и 73,3%). Достоверные приросты титров антител к компоненту В тривакцины составили 43,7%. Показатели снижения заболеваемости гриппом и ОРЗ в группах детей, привитых тривалентной ЖГВ, были не ниже, чем среди привитых моновалентными препаратами [11].

В нашем исследовании был решен ряд задач, поставленных в связи с необходимостью разработки и апробации отечественной квадριвалентной ЖГВ. На модели мышей показано низкое перекрестное реагирование

антител к вирусам гриппа В линий Виктория и Ямагата. Только при одновременном введении двух вакцинных вирусов гриппа типа В наблюдались приросты антигеммагглютинирующих антител как к Викторианской линии, так и к линии Ямагата.

В случае применения ЖГВ защита обеспечивается не только штаммоспецифическими антителами, но и факторами местного иммунитета, цитокинового и клеточного ответа на введение вакцины. В эксперименте на мышах показано, что применение каждого вакцинного штамма

обеспечивало защиту от последующего заражения как гомологичным вирусом дикого типа, так и антигенно отличающимся вариантом. Полученные экспериментальные данные позволили разработать программу клинического изучения квадριвалентной ЖГВ.

В ограниченном клиническом исследовании установлено, что введение в состав ЖГВ наряду с двумя вакцинными штаммами типа А – A(H1N1), A(H3N2), двух вирусов типа В – Виктория и Ямагата – не оказывало негативного влияния на реактогенность квадριвакцины по сравнению с тривалентными препаратами, содержащими только 1 из антигенных вариантов вирусов гриппа В. В то же время в отличие от тривалентных препаратов введение добровольцам квадριва-

Таблица 5

Результаты качественной ОТ-ПЦР в реальном времени с клиническими пробами

Группа привитых	Число в группе	Состав вакцины	Количество положительных проб в разные сроки после вакцинации			
			А, n (%)		В, n (%)	
			3-и сутки	5-е сутки	3-и сутки	5-е сутки
1-я	10	A/17/Калифорния/2009/38 (H1N1) A/17/Виктория/2011/89 (H3N2) В/60/Брисбен/2008/83	1 (10)	0(0)	0 (0)	0 (0)
2-я	10	A/17/Калифорния/2009/38 (H1N1) A/17/Виктория/2011/89 (H3N2) В/60/Висконсин/2010/125	0 (0)	0 (0)	1 (8)	2 (16)
3-я	12	A/17/Калифорния/2009/38 (H1N1) A/17/Виктория/2011/89 (H3N2) В/60/Брисбен/2008/83 В/60/Висконсин/2010/125	1 (8,3)	0(0)	2 (16)	2 (16,7)

лентной ЖГВ позволило стимулировать выработку сывороточных антигемагглютинирующих антител к вирусам гриппа В двух антигенных линий.

Ранее при изучении на мышах субъединичной тривалентной инактивированной гриппозной вакцины (ИГВ) было показано, что после парентерального введения ИГВ, содержащей гемагглютинин (НА) вируса Ямагата, СГТ антигемагглютинирующих антител к вакцинному вирусу был в 8 раз выше, чем после введения аналогичной вакцины, содержащей НА штамма линии Виктория [12]. Однако при бустировании иммунных мышей ИГВ с компонентом В из другой антигенной линии (Ямагата) оказалось, что в группе Виктория – Ямагата наблюдался напряженный иммунный ответ сразу к двум антигенным линиям, в то время как в группе Ямагата – Виктория иммунный ответ наблюдался только к вирусам Ямагата. Авторы делают вывод об антигенном доминировании вирусов линии Ямагата, при этом отмечая более развернутое праймирующее свойство Викторианской линии [12]. Наши результаты до некоторой степени согласуются с этими данными, так как в текущем исследовании вирусы линии Ямагата в целом вызывали образование поствакцинальных антител более высоких уровней. В то же время даже при отсутствии перекрестно-реагирующих антител после иммунизации мышей Викторианским вирусом защита от легочной инфекции эпидемическим штаммом Ямагата была полной. Поскольку в составе вакцинных вирусов присутствует НА, в этом случае могут быть задействованы иные механизмы антигенной конкуренции, которая для вирусов гриппа типа В остается еще недостаточно изученной. В качестве одного из объяснений подобного эффекта можно привести данные молекулярно-генетического анализа двух антигенных линий вирусов гриппа В, которые свидетельствуют, что в 2002 г. между двумя антигенными вариантами вирусов гриппа В произошла реассортация, в результате которой вирусы, содержащие НА Викторианской ветви, приобрели ген НА, происходящий от вирусов Ямагата [13].

Недавние исследования американской квадριвалентной ЖГВ Flumist, проведенные с участием 1800 взрослых и 2312 детей от 2 лет, показали, что введение в состав вакцины двух компонентов В было безвредным для всех возрастных контингентов, включая детей 2–8 лет. Среди серонегативных детей, получивших квадριвалентную ЖГВ, 4-кратные и большие сероконверсии к вирусам гриппа В составили 69–83%. Авторы делают заключение, что применение квадριвалентной ЖГВ не только безвредно для детей, но и будет иметь особое преимущество при применении в этой возрастной категории, поскольку дети раннего возраста наиболее чувствительны к гриппу В [14].

Полученные в нашем исследовании данные свидетельствуют, что включение в состав ЖГВ двух антигенных вариантов вакцинных вирусов гриппа В на основе отечественного донора аттенуации В/СССР/60/69 не только является безвредным, но и оказывает положительное влияние на иммуногенность.

Работа поддержана грантом Правительства Санкт-Петербурга в сфере научной и научно-технической деятельности за 2012 г., № 444/12 от 23.11.2012.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1–4, 8, 9, 12–14 см. REFERENCES)

5. Ларионова Н.В., Киселева И.В., Руденко Л.Г., Александрова Г.И. Вакцинный штамм вируса гриппа В/60/Малайзия/04/898 для производства живой гриппозной интраназальной вакцины для взрослых и для детей. Патент РФ № 2416639, 2009.

6. Ларионова Н.В., Руденко Л.Г., Александрова Г.И. Вакцинный штамм вируса гриппа В/60/Флорида/04/181 для производства живой гриппозной интраназальной вакцины для взрослых и для детей. Патент РФ № 2422519, 2010.
7. Ларионова Н.В., Руденко Л.Г., Александрова Г.И. Вакцинный штамм вируса гриппа В/60/Брисбен/08/83 для производства живой гриппозной интраназальной вакцины для взрослых и для детей. Патент РФ № 2422517, 2010.
10. Романова Ю.Р., Александрова Г.И. Интерференция и ее преодоление при репродукции двух штаммов вируса гриппа А в эксперименте. *Вопросы вирусологии.* 1993; 38(4): 149–52.
11. Руденко Л.Г., Рамирес А., Барро М., Гушчина М.И., Арманд Р.Е., Ермаченко Т.А. и др. Прививочные свойства живой гриппозной рекомбинантной вакцины типов А и В при раздельном и совместном применении детям 3–14 лет. *Вопросы вирусологии.* 1991; 36(6): 472–4.

REFERENCES

1. Belshe R.B. The need for quadrivalent vaccine against seasonal influenza. *Vaccine.* 2010; 28 (Suppl. 4): D45–53.
2. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention and control of seasonal influenza with vaccines. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices—United States, 2013–2014. *MMWR Recomm. Rep.* 2013; 62 (RR-07): 1–43.
3. Toback S.L., Levin M.J., Block S.L., Belshe R.B., Ambrose C.S., Falloon J. Quadrivalent Ann Arbor strain live attenuated influenza vaccine. *Expert Rev. Vaccines.* 2012; 11(11): 1293–303.
4. Alexandrova G.I., Maassab H.F., Kendal A.P., Medvedeva T.E., Egorov A.Y., Klimov A.I. et al. Laboratory properties of cold-adapted influenza B live vaccine strains developed in the US and USSR, and their B/Ann Arbor/1/86 cold-adapted reassortant vaccine candidates. *Vaccine.* 1990; 8: 61–4.
5. Larionova N.V., Kiseleva I.V., Rudenko L.G., Aleksandrova G.I. Vaccine strain of B/60/Malaysia/04/898 influenza virus for preparing live influenza intranasal vaccine for adults and children. Patent RF № 2416639, 2009. (in Russian)
6. Larionova N.V., Rudenko L.G., Aleksandrova G.I. Vaccine strain of B/60/Florida/04/181 Influenza virus for preparing live influenza intranasal vaccine for adults and children. Patent RF № 2422519, 2010. (in Russian)
7. Larionova N.V., Rudenko L.G., Aleksandrova G.I. Vaccine strain of B/60/Brisbane/08/83 influenza virus for preparing live influenza intranasal vaccine for adults and children. Patent RF № 2422517, 2010. (in Russian)
8. World Health Organization Global Influenza Surveillance Network. Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. WHO; 2011. Available at: http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241548090_eng.pdf
9. Ambrose C.S., Levin M.J. The rationale for quadrivalent influenza vaccines. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2012; 8(1): 81–8.
10. Romanova Yu.R., Aleksandrova G.I. Interference and its overcoming in the reproduction of two strains of influenza A virus in the experiment. *Voprosy virusologii.* 1993; 38(4): 149–52. (in Russian)
11. Rudenko L.G., Ramirez A., Barro M., Gushchina M.I., Armanda R.E., Ermachenko T.A. et al. The inoculation properties of live recombinant influenza vaccine types A and B used separately and jointly in children 3 to 14. *Voprosy virusologii.* 1991; 36(6): 472–4. (in Russian)
12. Skowronski D.M., Hamelin M.E., Janjua N.Z., De Serres G., Gardy J.L., Rhéaume C. et al. Cross-Lineage Influenza B and Heterologous Influenza A Antibody Responses in Vaccinated Mice: Immunologic Interactions and B/Yamagata Dominance. *PLoS One.* 2012; 7(6): e38929.
13. Xu X., Lindstrom S.E., Shaw M.W., Smith C.B., Hall H.E., Mungall B.A. et al. Reassortment and evolution of current human influenza A and B viruses. *Virus Res.* 2004; 103(1–2): 55–60.
14. Block S.L., Falloon J., Hirschfield J.A., Krilov L.R., Dubovsky F., Yi T. et al. Immunogenicity and safety of a quadrivalent live attenuated influenza vaccine in children. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2012; 31(7): 745–51.

Поступила 24.03.14