

На правах рукописи



Фалынскова Ирина Николаевна

**Изучение эффективности противогриппозных препаратов и вакцин на модели вторичной
бактериальной пневмонии мышей
после гриппозной инфекции**

1.5.10. Вирусология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И. И. Мечникова»

Научный руководитель:

доктор биологических наук

Ленева Ирина Анатольевна

Официальные оппоненты:

Васин Андрей Владимирович – доктор биологических наук, доцент, профессор РАН, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», директор Института биомедицинских систем и биотехнологий

Аракелов Сергей Александрович – кандидат биологических наук, Федеральное государственное унитарное предприятие «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток и предприятие по производству бактериальных препаратов» Федерального медико-биологического агентства России, советник директора по науке

Ведущая организация:

Федеральное государственное автономное научное учреждение «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), г. Москва

Защита состоится « » _____ 2026 года в ____ часов на заседании диссертационного совета 24.1.173.01 при ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова по адресу: 105064, Москва, Малый Казенный переулок, д.5А

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова и на сайте <https://instmech.ru/ru/>

Автореферат разослан « » _____ 2026 года

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат медицинских наук

Мурзина Алёна Андреевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Грипп является широко распространённым острым инфекционным заболеванием дыхательных путей, вызываемым вирусом гриппа и относящимся к группе острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ), нередко характеризующимся тяжёлым течением. Возбудитель гриппа циркулирует во всём мире, что обуславливает возможность инфицирования лиц любого возраста и социального статуса. В период эпидемий и пандемий гриппа отмечается рост заболеваемости и смертности, при этом наибольшему риску тяжёлого течения и летальных исходов подвержены пожилые люди, дети, беременные женщины, а также пациенты с иммунодефицитными состояниями и хроническими заболеваниями сердечно-сосудистой и дыхательной систем. Существенная доля неблагоприятных исходов гриппозной инфекции связана с развитием вторичных бактериальных осложнений, прежде всего пневмоний, значительно утяжеляющих клиническое течение заболевания и определяющих прогноз. Наиболее частыми этиологическими агентами вторичных бактериальных пневмоний при гриппе являются *Streptococcus pneumoniae* и *Staphylococcus aureus*, что подтверждается как клиническими, так и экспериментальными исследованиями.

Согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ежегодная вакцинация является наиболее эффективным способом профилактики гриппозной инфекции, а при развитии заболевания показано применение этиотропных противогриппозных препаратов. К таким препаратам относятся ингибиторы нейраминидазы (осельтамивир, занамивир), блокаторы М2-каналов вируса гриппа — производные адамантана (амантадин, римантадин), ингибитор слияния умифеновир, ингибитор вирусной полимеразы балоксавир, а также ряд других лекарственных средств.

В Российской Федерации, помимо препаратов, рекомендованных ВОЗ, в клинической практике используются индукторы интерферона и иммуномодуляторы. В настоящее время разработан и используется широкий перечень лекарственных средств для лечения гриппозной инфекции, как уже зарегистрированных, так и находящихся на различных этапах разработки. Применение этиотропной терапии в ранние сроки заболевания способствует сокращению его продолжительности, уменьшению выраженности клинических симптомов, снижению вирусной нагрузки и сокращению периода выделения вируса из верхних дыхательных путей, а также снижению частоты осложнений, включая пневмонии и летальные исходы. Вместе с тем, большинство клинических исследований, посвящённых оценке эффективности вакцин и противогриппозных препаратов, не были ориентированы на анализ их влияния на развитие вторичных бактериальных осложнений гриппозной инфекции несмотря на то, что снижение частоты постгриппозных пневмоний является одним из ключевых показателей эффективности как вакцинации, так и противовирусной терапии. Противогриппозный иммунитет определяет не только восприимчивость организма к вирусной инфекции, но и формирует условия для

развития вторичных бактериальных осложнений. Следовательно, ограничение репликации вируса гриппа может рассматриваться как один из возможных подходов к профилактике вторичных бактериальных суперинфекций, в том числе ассоциированных с *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae*.

Учитывая значение пневмонии как одной из причин смерти во время пандемического гриппа, возрастающая вероятность возникновения новой пандемии гриппа, связанной с высокопатогенными вирусами птичьего гриппа, подчёркивает необходимость исследования механизмов, лежащих в основе взаимодействия между вирусом гриппа и бактериальными патогенами.

Одним из приоритетных направлений совместного плана действий ВОЗ и ЮНИСЕФ по борьбе с пневмонией является расширение его положений с учётом пневмоний, ассоциированных с острыми респираторными вирусными инфекциями. ВОЗ также подчёркивает необходимость комплексного междисциплинарного подхода к изучению респираторных инфекций, включая разработку новых противовирусных методов терапии; исследование врождённых и адаптивных иммунных реакций в патогенезе заболеваний, в том числе роли вакцин против респираторных вирусов; а также оптимизацию клинического ведения, диагностики и стратегий общественного здравоохранения, особенно в условиях ограниченных ресурсов. В «Программе исследований ВОЗ по гриппу с позиции общественного здравоохранения» также подчёркивается приоритетность научных исследований, направленных на выявление прогностических маркеров тяжёлого течения пневмоний, развивающихся после гриппозной инфекции.

В связи с вышеизложенным, разработка модели вторичной бактериальной пневмонии, развивающейся после гриппозной инфекции, изучение на ней механизмов патогенеза вторичной бактериальной пневмонии, а также оценка эффективности лицензированных и инновационных вакцин, противовирусных и антибактериальных препаратов различных механизмов действия, включая их комбинированное применение, представляются актуальными и обоснованными направлениями исследований.

Степень разработанности темы исследования

Моделирование вторичной бактериальной пневмонии после гриппозной инфекции на животных выявляло синергизм вируса гриппа и *S. pneumoniae* или *S. aureus*, приводящий к повышенной летальности. Однако отсутствовали исследования, в которых экспериментальные модели вторичной бактериальной пневмонии после гриппа использовались бы для оценки эффективности противовирусных препаратов и вакцин, применяемых и разрабатываемых в Российской Федерации, а также вирусоподобных частиц.

Цель и задачи исследования

Цель исследования: изучение эффективности вакцин и противовирусных препаратов различного механизма действия на модели вторичной бактериальной пневмонии мышей после

гриппозной инфекции.

Задачи исследования:

1. Разработка модели вторичной бактериальной пневмонии мышей, вызванной штаммами вируса гриппа А с последующим заражением *Staphylococcus aureus* или *Streptococcus pneumoniae*.
2. Изучение эффективности противовирусных препаратов с различными механизмами действия и их комбинации с антибактериальными препаратами на модели вторичной бактериальной пневмонии мышей после гриппозной инфекции.
3. Изучение эффективности иммунизации вакцинами и вирусоподобными частицами на модели вторичной бактериальной пневмонии мышей после гриппозной инфекции.

Научная новизна

На момент начала настоящего исследования впервые была разработана экспериментальная модель вторичной бактериальной пневмонии мышей с использованием штамма, вызвавшего последнюю пандемию гриппа 2009 г. Впервые в Российской Федерации модель вторичной бактериальной пневмонии мышей, развивающейся после инфицирования различными штаммами вируса гриппа с последующим заражением *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae*, использована для изучения патогенеза заболевания и оценки эффективности препаратов и вакцин против гриппозной инфекции и ее осложнений, производимых в Российской Федерации. Впервые на модели вторичной бактериальной инфекции после гриппа была изучена эффективность вирусоподобных частиц.

Теоретическая и практическая значимость работы

Практическая значимость работы заключается в том, что выявленная на модели вторичной бактериальной пневмонии мышей эффективность вакцин и противогриппозных препаратов с различными механизмами действия подтверждает возможность использования данной модели для доклинического изучения инновационных лечебных и профилактических средств, разрабатываемых в Российской Федерации и за рубежом. Применяемая модель характеризуется воспроизводимостью получаемых эффектов, что подтверждает её пригодность для сравнительной оценки эффективности лечебных и профилактических подходов другими исследователями. Полученные результаты могут быть использованы при оптимизации дозировок и схем применения препаратов, направленных на профилактику и лечение вторичных бактериальных осложнений гриппозной инфекции.

Теоретическая значимость работы заключается в расширении представлений о патогенезе вирусно-бактериальной пневмонии, развивающейся после гриппозной инфекции. Использование модели позволило сопоставить эффекты препаратов и вакцин различных механизмов действия на ключевые маркеры вирусной и бактериальной инфекции, а также уточнить роль вирус-индуцированных изменений в формировании бактериальных осложнений. Полученные данные углубляют понимание механизмов взаимодействия вируса гриппа с

бактериальными патогенами и могут служить теоретической основой для дальнейших исследований, направленных на оптимизацию терапии гриппозной инфекции и её осложнений.

Методология и методы диссертационного исследования

Методологической основой диссертационной работы послужил комплексный экспериментальный подход, соответствующий поставленной цели и задачам исследования. На всех этапах работы использовались общенаучные, вирусологические, иммунологические и микробиологические методы исследования. В экспериментальной части применялись методы работы с клеточными культурами и лабораторными животными, а также методы количественной и качественной оценки результатов с использованием статистической обработки данных.

Личный вклад автора

Основная часть экспериментальной работы, включая планирование экспериментов, работу с вирусами и клеточными культурами, инфицирование, вакцинацию и лечение лабораторных животных, забор органов, титрование вируса гриппа, статистическую обработку и анализ полученных результатов, подготовка публикаций по материалам исследования, выполнены лично автором либо при его непосредственном участии.

Положения, выносимые на защиту

1. Последовательное заражение мышей бактериальными патогенами *S. aureus* и *S. pneumoniae* после инфицирования штаммами вируса гриппа А подтипов H1N1 или H3N2 приводит к усилению инфекционного процесса.
2. Лечение противовирусными препаратами с различными механизмами действия эффективно на модели вторичной бактериальной пневмонии мышей после гриппозной инфекции.
3. Комбинация противовирусных препаратов с антибактериальными препаратами повышает их эффективность по сравнению с терапией каждым препаратом отдельно.
4. Применение живой интраназальной и инактивированной субъединичной противогриппозных вакцин блокирует развитие бактериальной инфекции в нижних отделах респираторного тракта.
5. Вирусоподобные частицы, содержащие гемагглютинин, обладают иммуногенной активностью в отношении гомологичного штамма, их протективная активность у мышей со вторичной бактериальной пневмонией выше после заражения гомологичным штаммом, чем после заражения гетерологичным штаммом вируса гриппа.
6. Иммунизация комбинацией вирусоподобных частиц, содержащих гемагглютинин и нейраминидазу, эффективнее применения препаратов, содержащих каждый вирусный белок отдельно, при вторичной бактериальной пневмонии мышей, вызванной инфицированием *S. aureus* или *S. pneumoniae* после заражения гетерологичным штаммом вируса гриппа.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Основные научные положения и выводы диссертационной работы соответствуют п. 11 «Противовирусные препараты. Интерфероны и индукторы интерферона: изучение механизма действия, получение и применение. Вирусные вакцины, в том числе живые (аттенуированные), инаktivированные, субъединичные, рекомбинантные (реплицирующиеся и нереплицирующиеся), векторные и вакцины на основе вирусоподобных частиц» паспорта научной специальности 1.5.10 — «Вирусология».

Степень достоверности и апробация результатов

Положения и выводы диссертационной работы являются научно обоснованными. Достоверность полученных результатов обеспечивается использованием современных экспериментальных методов исследования, достаточным объёмом экспериментального материала, применением подходящих методов статистической обработки данных, а также сопоставлением полученных результатов с данными отечественной и зарубежной научной литературы.

Апробация диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук была пройдена 22 сентября 2025 года на совместной научной конференции отдела иммунологии и аллергологии и отдела вирусологии им. О.Г. Анджапаридзе ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова (протокол №3).

Публикации по теме диссертации

Основные результаты диссертационной работы опубликованы в 7 научных статьях в отечественных и зарубежных изданиях, индексируемых в базах Web of Science и Scopus, а также представлены в виде тезисов и доклада на международной научной конференции.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 197 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы с результатами собственных исследований, обсуждения результатов, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Работа иллюстрирована 27 рисунками и содержит 22 таблицы. Список литературы включает 274 источника.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Работа была проведена на базе лаборатории экспериментальной вирусологии (заведующая лабораторией, д.б.н., Ленева И.А.) ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова.

Вирус гриппа. Штамм A/California/04/2009(H1N1)pdm09, полученный из Национального центра по гриппу ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева», адаптированный к мышам; титр стока 10^7 ТЦИД/0,1мл. Штаммы A/Puerto Rico/8/34/RG (H1N1) и A/Aichi/2/69(H3N2), адаптированные к мышам, получены из музея вирусных штаммов и клеточных культур ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского»; титр стока 10^7 ТЦИД/0,1мл. Реассортант NIBRG-121хр, получен из NIBSC (Великобритания); титр стока 10^4 ТЦИД/0,1мл. Холодоадаптированный вакцинный штамм A/17/California/2009/38 предоставлен ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева». Все штаммы вируса гриппа пассировали и накапливали в РКЭ, а для заражения животных использовали вирусосодержащую аллантоисную жидкость.

Бактерии. Бактериальные штаммы *Staphylococcus aureus* №1986, №329 и №884 и штамм *Streptococcus pneumoniae* №3405 получены из УНУ «Коллекция НИИВС им. И.И. Мечникова».

Культура клеток MDCK (эпителиальные клетки почки собаки), получены из коллекции НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи.

Терапевтические и вакцинные препараты. Субстанция умифеновира предоставлена производителем, АО «Отисифарм». Осельтамивир (Тамифлю, Делфарм Милано, капсулы); тилорон (Амиксин, АО «Отисифарм Про», таблетки); цефуроксим (ОАО «Красфарма», порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения); ципрофлоксацин (Ципринол, КРКА, таблетки); клиндамицин (Хемофарм, капсулы) приобретены в аптечной сети. Препараты VLPs предоставлены Miriam Klausberger (Департамент биотехнологии Университета природных ресурсов и прикладных наук г. Вена, Австрия).

Животные. Лабораторных мышей линии BALB/c, самок, массой тела 12–14 г, приобретали в филиале «Андреевка» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА России и в биопитомнике ООО «СМК СТЕЗАР». Все эксперименты с животными были одобрены Локальным этическим комитетом ФГБНУ НИИВС им И.И. Мечникова (протокол № 12/2025 от 10.09.2025).

Моделирование вторичной пневмонии мышей. Мышей инфицировали интраназально под наркозом штаммами вируса гриппа А в объеме 0,03 мл вирусосодержащей жидкости. Через 4 дня мышей интраназально инфицировали суспензией *S. aureus* или *S. pneumoniae* в объеме 0,03 мл. Наблюдения за животными вели ежедневно, вес учитывали один раз в два дня. Тяжесть инфекции оценивали по выживаемости, изменению массы тела и содержанию патогенов в легких. Изменение массы тела рассчитывали отдельно для каждой мыши и выражали в процентах, принимая за 100% массу тела животного перед инфицированием.

Изучение эффективности противовирусных и антибактериальных препаратов, также их комбинации. Лечение умифеновиром и тилороном начинали за 24 часа, а осельтамивиром за 4 часа до инфицирования вирусом, и продолжали в течение 5 дней. Антибиотики давали через 3 часа после заражения *S. aureus* или *S. pneumoniae* и продолжали в

течение 3 дней. Препараты готовили перед применением, при комбинации двух препаратов их давали последовательно. Дозы препаратов рассчитывали в мг/кг массы тела животных в сутки и вводили перорально в объеме 0,2 мл.

Изучение эффекта вакцинации холодоадаптированным штаммом. Мыши одной группы были иммунизированы холодоадаптированным вакцинным штаммом A/17/California/2009/38 (H1N1) (ЖГВ) по 15 мкл в каждую ноздрю в дозе 6 lg ЭИД₅₀/50 мкл, а другой группы КСЕ штамма A/California/04/2009(H1N1)pdm09. Через 21 день мышей заражали сублетальной дозой A/California/04/2009(H1N1)pdm09 (10^5 ТЦИД₅₀/мл), затем на 5 день *S. pneumoniae* ($1,25 \times 10^7$ КОЕ/мл). Легкие и носовые ходы забирали на 29 и 31 день от вакцинации.

Изучение эффекта вирусоподобных частиц, содержащих гемагглютинин вируса гриппа. Препараты HA-VLPs (0,05 мкг/мышь) вводили внутрибрюшинно в 0 и 14 день, через 21 день после второй иммунизации у 3 мышей из каждой группы брали кровь для определения антигенной активности и интраназально инфицировали 0,03 мл ВСЖ штаммов как гомологичного (антигенно идентичного) A/Puerto Rico/8/34/RG (H1N1) (100 ЭИД₅₀/0,1 мл), так и гетерологичного (антигенно отличного от вируса, входящего в состав VLPs) NIBRG-121xp (1000 ЭИД₅₀/0,1 мл), содержащего поверхностные белки HA и NA от штамма A/California/04/2009(H1N1)pdm09, а внутренние белки от A/Puerto Rico/8/34/RG (H1N1), что имитирует ситуацию несовпадения циркулирующих штаммов с вакцинными. На 5 день после вирусного заражения мышей инфицировали *S. pneumoniae* ($2,5 \times 10^7$ КОЕ/мл) или *S. aureus* 884 (2×10^{10} КОЕ/мл). На 4 и 8 день после вирусного заражения у 3 животных из каждой группы отбирали легкие для определения инфекционного титра вируса в РКЭ, а на 8 день бактериальной обсемененности.

Изучение эффекта вирусоподобных частиц, содержащих нейраминидазу вируса гриппа. Препараты VLPs вводили однократно, внутрибрюшинно, в объеме 0,2 мл, а животным контрольных групп ФСБ в соответствующие иммунизации сроки. Через 21 день животных интраназально инфицировали гетерологичным штаммом NIBRG-121xp в объеме 0,03 мл (0,5 МЛД₅₀/мл, 1000×10^7 ЭИД₅₀/0,1 мл). Через 4 дня после заражения вирусом у 4 животных из каждой группы извлекали легкие для определения инфекционного титра вируса и эффекта вирусной нейраминидазы, на 5 день проводили инфицирование *S. pneumoniae* в дозе 25×10^6 КОЕ/мл или *S. aureus* №884 в дозе 2×10^{10} КОЕ/мл. На 7 день после вирусного заражения у 5 животных из каждой группы извлекали легкие для определения инфекционного титра вируса в РКЭ и бактериальной обсемененности.

Определение титра вируса. Инфекционный титр вируса определяли методом 10-кратных разведений в культуре клеток MDCK (A/California/04/2009(H1N1)pdm09) и в РКЭ (A/Puerto Rico/8/34/RG (H1N1), NIBRG-121xp и A/Aichi /2/69 (H3N2)).

Определение количества бактерий в носоглоточных смывах и легких мышей.

Количество *S. aureus* и *S. pneumoniae* определяли, высевая 10-кратные разведения гомогенизированных легких или носоглоточных смывов на чашки Петри с питательной средой, а затем считая образовавшиеся колонии.

Патоморфологические исследования проводили, окрашивая легкие гематоксилином и эозином. Изучение эффекта НА-индуцированного расщепления сиаловой кислоты проводили методом лектинового окрашивания.

Исследования антигенной активности VLPs. Антигенную активность НА-VLPs в сыворотках крови определяли методом РТГА. Титры вирусспецифических иммуноглобулинов в сыворотках крови определяли методом ИФА.

Анализ данных. Количественные данные представлены как среднее $\pm$ стандартное отклонение. Нормальность распределения оценивали по критерию Шапиро–Уилка. Количество бактерий и титр вируса при отсутствии нормального распределения сравнивали с использованием критерия Манна–Уитни (для двух групп) или критерия Краскела–Уоллиса (для трех и более групп) с последующим тестом Данна и поправкой Бонферрони. Титр вируса в легких определяли методом Рида–Менча и выражали в lg ТЦИД₅₀/мл; различия ≥ 2 lg ТЦИД₅₀/мл считали значимыми. Выживаемость анализировали методом Каплана–Мейера с использованием лог-рангового критерия. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Моделирование вторичной бактериальной пневмонии мышей после гриппозной инфекции: выбор последовательности заражения. Одну группу мышей инфицировали A/California/04/2009(H1N1)pdm09, а через 4 дня *S. aureus* 1986 или *S. pneumoniae*, другую группу, наоборот, сначала *S. aureus* 1986 или *S. pneumoniae*, а через 4 дня A/California/04/2009(H1N1)pdm09. В группах мышей, зараженных только вирусом или бактериями, 90–100% животных остались живы; в группе, в которой бактериальное заражение предшествовало вирусному, выжило 80–90% животных. 0–10% выживаемости отмечали в группе, зараженной *S. aureus* или *S. pneumoniae* после A/California/04/2009(H1N1)pdm09 (Рисунок 1). Титр вируса и содержание бактерий в легких также были выше при последовательном бактериальном заражении после вирусного (Таблица 1). Вторичная бактериальная пневмония развивалась только, если бактериальное заражение следовало за вирусным, поэтому для исследования эффективности препаратов выбрали данную последовательность.

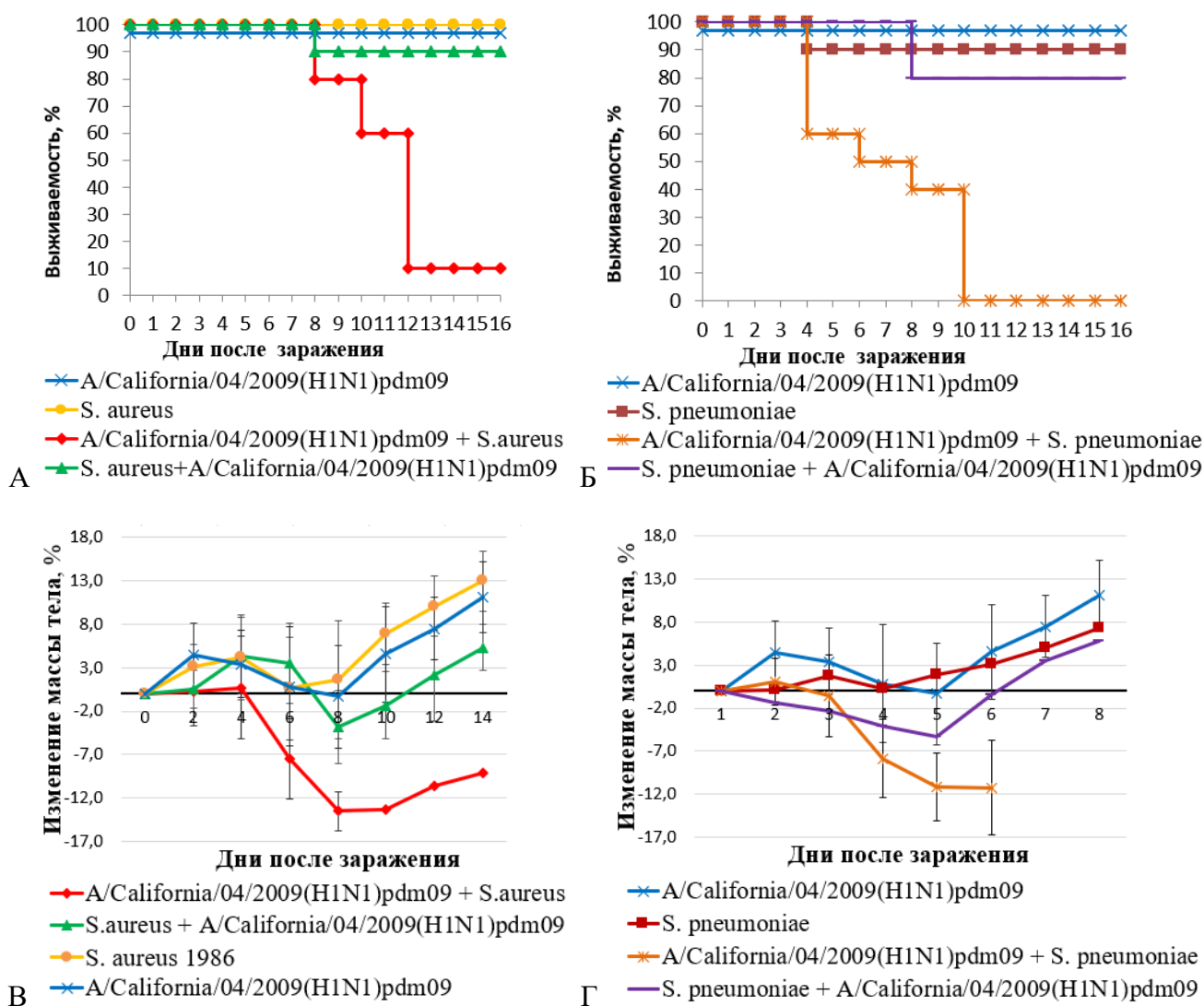


Рисунок 1 – Выживаемость (А, Б) и изменение массы тела (В, Г) при различной последовательности заражения A/California/04/2009(H1N1)pdm09, *S. aureus* 1986 (А, В), A/California/04/2009(H1N1)pdm09 и *S. pneumoniae* (Б, Г)

Таблица 1 – Титр вируса и содержание бактерий в легких мышей (среднее значение $\pm$ SD) при различной последовательности заражения A/California/04/2009(H1N1)pdm09 и *S. aureus* 1986 или *S. pneumoniae*

Группы	Титр вируса, lg ТЦИД ₅₀ /мл	Количество бактерий, lgКОЕ/мл
A/California/04/2009(H1N1)pdm09	1,6 $\pm$ 0,2	не выявлено
<i>S. aureus</i> 1986	не выявлено	0,7 $\pm$ 0,1 (0,8; 0,7; 0,7)
A/California/04/2009(H1N1)pdm09 + <i>S.aureus</i>	4,8 $\pm$ 0,4	3,5 $\pm$ 0,5
<i>S. aureus</i> + A/California/04/2009(H1N1)pdm09	2 $\pm$ 0,5	0,9 $\pm$ 0,1
<i>S. pneumoniae</i>	не выявлено	1,7 $\pm$ 0,3
A/California/04/2009(H1N1)pdm09 + <i>S. pneumoniae</i>	4,3 $\pm$ 1	8,2 $\pm$ 0,3
<i>S. pneumoniae</i> + A/California/04/2009(H1N1)pdm09	1,8 $\pm$ 0,3	1,9 $\pm$ 0,4

Моделирование вторичной бактериальной пневмонии мышей после гриппозной инфекции: выбор штаммов вируса гриппа А и *S. aureus*. Использовали сублетальные заражающие дозы (0,5 МЛД₅₀) трех штаммов вируса гриппа: A/California/04/2009(H1N1)pdm09, A/Puerto Rico/8/34/RG (H1N1), NIBRG-121xp (H1N1), A/Aichi/2/69(H3N2) и три штамма *S. aureus*: вакцинный *S. aureus* 1986, *S. aureus* 884 и *S. aureus* 329 дозе 2х10⁹ КОЕ/мл. Гибель отмечали в группах, зараженных штаммами *S. aureus* после инфицирования всеми штаммами вируса гриппа, за исключением вакцинного штамма *S. aureus* №1986, вызывающего гибель животных только при заражении A/California/04/2009(H1N1)pdm09 и A/Aichi/2/69(H3N2). Титр вируса и содержание бактерий в гомогенате легких животных при заражении каждым из патогеном отдельно во всех случаях были ниже, чем при последовательном инфицировании, однако при заражении штаммом *S. aureus* №1986, содержание патогенов были выше только при предварительном инфицировании штаммом A/California/04/2009(H1N1)pdm09 и A/Aichi/2/69(H3N2), что соответствовало данным о выживаемости животных (Таблица 2).

Таблица 2 – Выживаемость, титр вируса и количество бактерий в легких мышей, последовательно инфицированных вирусом гриппа и *S. aureus*

Штамм вируса гриппа	Штамм <i>S. aureus</i>	Выживаемость, %		Титр вируса, lg ТЦИД ₅₀ /мл	Количество бактерий, lgКОЕ/мл
		Жив./общ.	%		
A/California/04/2009(H1N1)pdm09	1986	2/10 (p=0,000011)	220	5,2±0,2 (p=0,07)	3,5±0,5 (p=0,175)
	329	1/10 (p=0,000001)	10	5,2±0,2 (p=0,07)	4,0±0,5 (p=0,2)
	884	2/10 (p=0,000011)	20	4,9±0,2 (p=0,07)	3,1±0,2 (p=0,05)
	Без бакт.	10/10	100	1,8±0,4	не выявлено
A/Puerto Rico/8/34/RG (H1N1)	1986	10/10	1100	2,5±0,5 (p=0,81)	0,5±0,5 (p=0,175)
	329	2/10	20	5,2±0,3 (p=0,09)	2,9±0,8 (p=0,97)
	884	0	20	5,3±0,7 (p=0,08)	4±0,5 (p=0,05)
	Без бакт.	10/10	100	1,2±0,6	-
Реассортант NIBRG-121xp	1986	10/10	1100	2,3±0,3 (p=0,39)	0,5±0,4 (p=0,175)
	329	3/10 (p<0,05)	30	4,8±0,7 (p=0,39)	2,9±0,7 (p=0,46)
	884	2/10 (p=0,000011)	20	4,7±0,8 (p=0,39)	3,0±0,6 (p=0,05)
	Без бакт.	10/10	100	0,8±0,8	не выявлено
A/Aichi/2/69(H3N2)	1986	0/10	0	5,0±0 (p=0,01)	не исслед.
	Без бакт.	10/10	100	2,8±0,7	не исслед.
Без вирусного заражения	1986	10/10	1100	не выявлено	0,7±0,1
	884	10/10	100	не выявлено	1,2±0,3
	329	10/10	100	не выявлено	0,9±0,3

На основании полученных данных, для дальнейшего моделирования выбрали штаммы *S. aureus* 1986 в сочетании с A/California/04/2009(H1N1)pdm09 и *S. aureus* № 884 в сочетании с A/Puerto Rico/8/34/RG (H1N1) или NIBRG-121xp в дозе 2×10^9 КОЕ/мл.

Моделирование вторичной бактериальной пневмонии мышей после гриппозной инфекции: выбор доз *S. pneumoniae* и комбинация их с различными штаммами вируса гриппа H1N1. Мышей инфицировали сублетальными дозами ($0,5 \text{ МЛД}_{50}/0,1 \text{ мл}$) штаммов A/California/04/2009(H1N1)pdm09, A/Puerto Rico/8/34/RG (H1N1) и NIBRG-121xp, а затем *S. pneumoniae*, в дозах $12,5 \times 10^6$ и 25×10^6 КОЕ/мл. Заражение *S. pneumoniae*, последовавшее за заражением штаммами вируса гриппа A/California/04/2009(H1N1)pdm09 или A/Puerto Rico/8/34/RG (H1N1), в обеих дозах вызывало полную гибель мышей. После заражения NIBRG-121xp, полную гибель животных регистрировали при заражении *S. pneumoniae* только в дозе 25×10^6 КОЕ/мл. Титр вируса и содержание бактерий при заражении всеми исследуемыми штаммами отдельно был ниже, чем при комбинированном заражении (Таблица 3).

Таблица 3 – Выживаемость, титр вируса и количество бактерий в легких мышей при заражении двумя дозами *S. pneumoniae* после гриппозной инфекции, вызванной штаммами вируса гриппа H1N1

Штамм вируса гриппа	Доза <i>S. pneumoniae</i> , КОЕ/мл	Выживаемость, %		Титр вируса в легких, lg ТЦИД ₅₀	Количество бактерий в легких, lg КОЕ/мл
		Жив./общ.	%		
A/California/04/2009 (H1N1)pdm09	$12,5 \times 10^6$	0/10	0	$4,0 \pm 2,0$ ($p > 0,05$)	$8,5 \pm 0,2$ ($p > 0,05$)
	25×10^6	0/10	0	$4,5 \pm 2,3$ ($p > 0,05$)	$8,9 \pm 0,1$ ($p > 0,05$)
	Без бакт.	10/10	100	$1,8 \pm 0,4$	Не выявлено
A/Puerto Rico/8/34/RG (H1N1)	$12,5 \times 10^6$	0/10	0	$2,7 \pm 0,3$ ($p > 0,05$)	$8,6 \pm 0,2$ ($p > 0,05$)
	25×10^6	0/10	0	$3,7 \pm 0,8$ ($p > 0,05$)	$8,6 \pm 0,6$ ($p > 0,05$)
	Без бакт.	10/10	100	$1,5 \pm 0,5$	Не выявлено
NIBRG-121xp	$12,5 \times 10^6$	$\frac{2}{10}$ $p=0,000011$	20	$2,3 \pm 0,3$ ($p > 0,05$)	$8,2 \pm 0,2$ ($p > 0,05$)
	25×10^6	0/10	0	$3,2 \pm 1,0$ ($p > 0,05$)	$8,2 \pm 0,1$ ($p > 0,05$)
	Без бакт.	10/10	100	$1,0 \pm 1,0$	Не выявлено
Без вирусного заражения	$12,5 \times 10^6$	8/10	80	Не выявлено	$6,7 \pm 0,6$
	25×10^6	6/10	60	Не выявлено	$7,9 \pm 0,3$

Таким образом, была разработана и охарактеризована модель вторичной бактериальной пневмонии мышей после гриппозной инфекции, вызванной последовательным заражением вирусом гриппа А и бактериальными патогенами. Коинфекция приводила к более тяжёлому течению инфекционного процесса, сопровождавшемуся повышением летальности, увеличением вирусной и бактериальной нагрузки в лёгких по сравнению с моноинфекцией.

Эффективность противовирусных препаратов осельтамивира и умифеновира на модели вторичной бактериальной пневмонии мышей, вызванной *S. aureus* и *S. pneumoniae*, после гриппозной инфекции. Последовательное заражение A/California/04/2009(H1N1)pdm09 (10^5 ТЦИД₅₀/0,1 мл) и *S. aureus* 1986 (2×10^9 КОЕ/мл) вызвало гибель 90% мышей. Терапия умифеновиром в дозе 60 мг/кг защищала от гибели 44% животных, а осельтамивиром в дозе 20 мг/кг 50% животных, а также препятствовала потере массы тела животных. Титр вируса в посевах из гомогената легких был ниже титра вируса в легких контрольных животных при лечении обоими препаратами, а применение осельтамивира в 100 раз снижало количество бактерий в легких.

Заражение *S. pneumoniae* ($2,5 \times 10^7$ КОЕ/мл) после A/California/04/2009(H1N1)pdm09 (10^5 ТЦИД₅₀/0,1 мл), привело к полной гибели животных. Терапия как умифеновиром в дозе 60 мг/кг, так и осельтамивиром в дозе 20 мг/кг защищала от гибели 80% мышей, снижала титр вируса и количество бактерий в легких (Рисунок 2, Таблица 4).

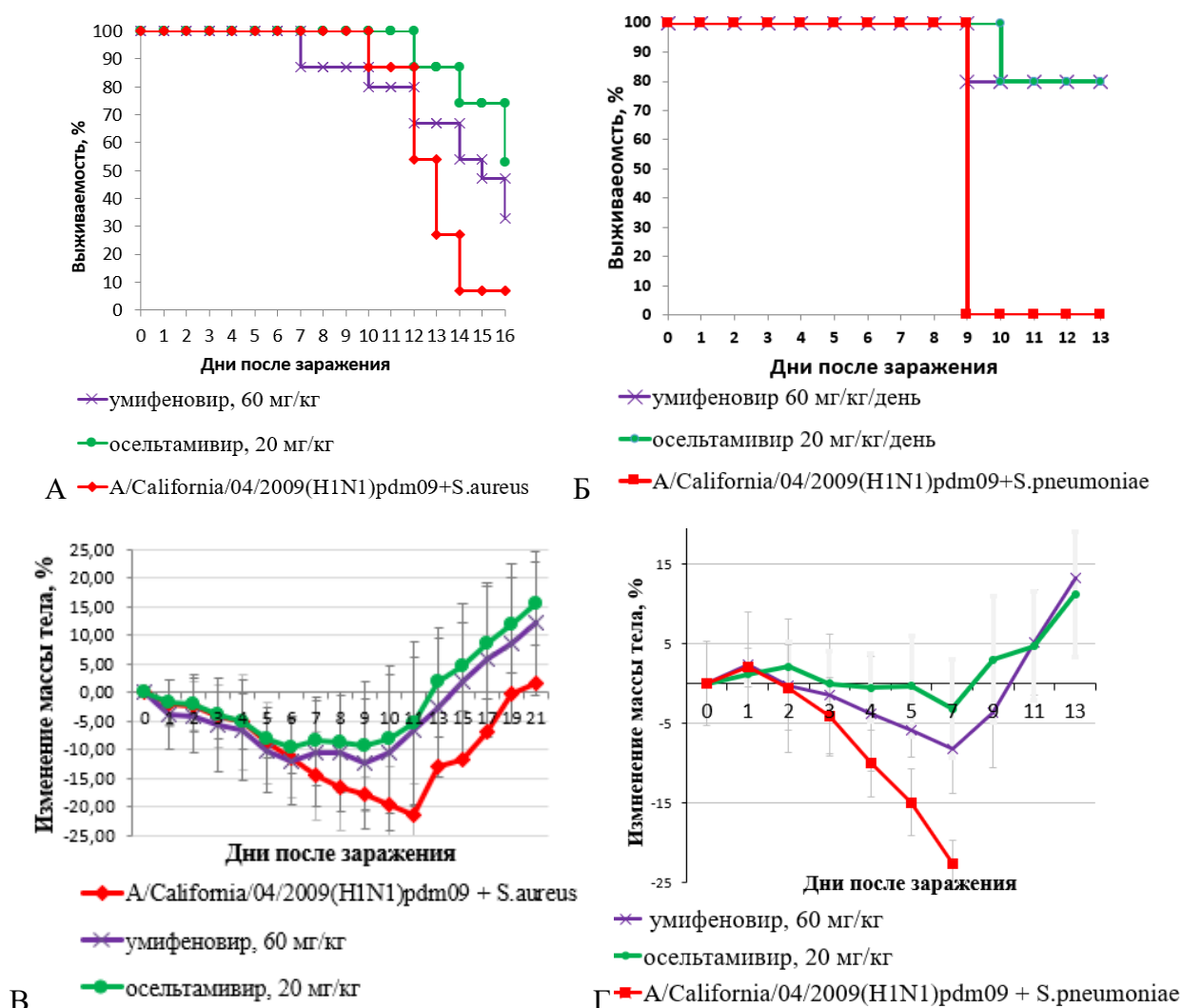


Рисунок 2 – Выживаемость (А, Б) и изменение массы тела (В, Г) мышей при лечении осельтамивиром и умифеновиром, на модели вторичной бактериальной пневмонии, вызванной *S. aureus* (А, В) или *S. pneumoniae* (Б, Г)

Таблица 4 – Титр вируса и количество бактерий в легких мышей при лечении осельтамивиром и умифеновиром

Препарат	Титр вируса, lg ТЦИД50/мл, при заражении		Количество бактерий, lg КОЕ/мл, при заражении	
	<i>S. aureus</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pneumoniae</i>
Умифеновир, 60 мг/кг	1±0,6 p<0,01	2,3±0,4 p=0,02	5,8±0,2 p=0,8	6,4±0,2 p=0,01
Осельтамивир, 20 мг/кг	2,1±0,2 p=0,01	2,1±0,2 p=0,01	3,1±0,2 p=0,03	6,7±0,3 p=0,04
Контроль A/California/04/2009 (H1N1)pdm09 + бактерия	6±0	5,3±0,4	5,8±0,2	8,9±0,1

Эффективность индуктора интерферонов тилорона была изучена на модели вторичной бактериальной пневмонии мышей, вызванной *S. aureus* (2×10^9 КОЕ/мл) после гриппозной инфекции A/California/04/2009(H1N1)pdm09 (10^4 ТЦИД50/0,1 мл). Лечение тилороном перорально в дозе 30 мг/кг предотвращало гибель 50% животных и подавляло репликацию вируса, тогда как внутрибрюшинное введение в дозе 10 мг/кг приводило к полной защите от гибели при выживаемости в группе контроля 10%, а также и уменьшению размножения обоих патогенов в легких.

Эффективность комбинированного применения противовирусных и антибактериальных препаратов на модели вторичной бактериальной пневмонии мышей, вызванной *S. aureus*, после гриппозной инфекции. Для изучения были выбраны антибактериальные препараты цефуроксим подкожно (20 мг/кг), клиндамицин внутрибрюшинно (90 мг/кг) и ципрофлоксацин перорально (50 мг/кг) и противовирусные препараты осельтамивир (20 мг/кг) и умифеновир (60 мг/кг) перорально. В контрольной группе все мыши, инфицированные A/California/04/2009(H1N1)pdm09 (10^5 ТЦИД50/0,1 мл) и *S. aureus* (2×10^9 КОЕ/мл), погибли. Комбинирование противовирусных препаратов с каждым из антибактериальных препаратов привело к усилению их эффективности, все комбинации полностью предотвращали гибель животных, снижение ими массы тела и уменьшали содержание патогенов в легких (Таблица 5).

Таблица 5 – Выживаемость, титр вирусов и содержание бактерий в легких при лечении комбинацией противовирусных и антибактериальных препаратов

Противовирусный препарат	Антибактериальный препарат	Выживаемость		Титр вируса, lg ТЦИД50	Количество бактерий, КОЕ/мл
		Жив./общ.	%		
Без противовирусного препарата	Цефуроксим, 20 мг/кг	3/12 (p=0,069)	25	5,0±0,4 p=0,1	3,2±0,2 p=0,03
	Ципрофлоксацин, 50 мг/кг	7/12 (p=0,0007)	58	4,3±0,3 p=0,8	3,2±0,2 p=0,02
	Клиндамицин, 90 мг/кг	8/12 (p=0,0001)	66	3,5±0,4 p=0,1	4,4±0,3 p=0,3

Продолжение таблицы 5

Противовирусный препарат	Антибактериальный препарат	Выживаемость		Титр вируса, lg ТЦИД ₅₀	Количество бактерий, КОЕ/мл
		Жив./общ.	%		
Осельтамивир, 20 мг/кг	Цефуроксим, 20 мг/кг	12/12	100	0; 0; 0	не выявлено
	Ципрофлоксацин, 50 мг/кг	12/12	100	0; 0; 0	не выявлено
	Клиндамицин, 90 мг/кг	12/12	100	0; 0; 0	не выявлено
	Без антибакт. Препарата	5/12 (p=0,01)	42	2,1±0,2 p<0,01	3,2±0,3 p=0,01
Умифеновир, 60 мг/кг	Цефуроксим, 20 мг/кг	12/12	100	0;0;0	не выявлено
	Ципрофлоксацин, 50 мг/кг	12/12	100	0;0;0	не выявлено
	Клиндамицин, 90 мг/кг	12/12	100	0;0;0	не выявлено
	Без антибакт. Препарата	8/12 (p<0,01)	67	2,3±0,4 p<0,01	3,1±0,2 p=0,02
Контроль A/California/04/2009(H1N1)pdm09+ <i>S.aureus</i>		0/12	0	6,5±0	5,4±0,3

При исследовании комбинированного действия тилорона (15 мг/кг) с цефуроксимом (20 мг/кг) было показано, что применение как тилорона, так и цефуроксима отдельно повышало выживаемость на 20%, не препятствовало снижению массы тела и не влияло на размножение вируса в легких. Комбинация тилорона с цефуроксимом повышала выживаемость до 80% и полностью подавляла размножение обоих патогенов в легких.

Эффект вакцинации живой и инактивированной противогриппозными вакцинами на развитие осложнений на модели вторичной бактериальной пневмонии мышей, вызванной *S. pneumoniae* после гриппозной инфекции. Несмотря на высокую эффективность современных ЖГВ, способность формировать перекрёстную защиту против дрейфовых вариантов вируса и возможность интраназального введения, высказываются опасения, что иммунизация ЖГВ может приводить к увеличению бактериальной колонизации носоглотки с последующим распространением бактерий в нижние отделы респираторного тракта. Поэтому была оценена возможность влияния иммунизации живой вакциной на основе холодоадаптированного аттенуированного штамма A/17/California/2009/38 (H1N1) на развитие вторичной бактериальной пневмонии и исход заболевания в сравнении с инактивированной вакциной (KCE A/California/04/2009(H1N1)pdm09). Иммунизация как живой, так и инактивированной вакцинами обеспечивала полную защиту животных от летального исхода, предотвращала потерю массы тела и полностью подавляла репродукцию вируса в лёгких. У животных группы контроля отмечали увеличение вирусной нагрузки в лёгочной ткани после бактериального заражения. Вакцинация обеими вакцинами не влияла на бактериальную колонизацию верхних дыхательных путей: бактериальный рост в носовых смывах полностью

подавлялся к 5-м суткам после инфицирования во всех группах. Рост бактериальных колоний в лёгких регистрировали на 3-и сутки после заражения во всех группах. Однако к 5-м суткам в группе невакцинированных животных отмечали увеличение бактериальной нагрузки в лёгких, что свидетельствовало о распространении инфекционного процесса в нижние отделы респираторного тракта и развитии пневмонии. В обеих вакцинированных группах бактериальный рост в легких отсутствовал, что указывает на способность как живой интраназальной, так и инактивированной вакцин предотвращать развитие инфекции нижних дыхательных путей (Таблица 6).

Таблица 6 – Выживаемость, титр вируса и содержание бактерий в дыхательных путях мышей при иммунизации живой и инактивированной вакцинами

Группы	Выживаемость, %		Титр вируса в легких, lgТЦИД50/мл		Обсеменённость <i>S. pneumoniae</i> после бактериального заражения, lgКОЕ/мл			
					гомогенат легких		носовые смывы	
	Жив./ общ.	%	4 д.в.*/ 0 д.б.**	7 д.в./ 3 д.б.	7 д.в./ 3 д.б.	11 д.в./ 5д.б.	7 д.в./ 3 д.б.	11 д.в./ 5д.б.
Контроль A/California/04/2009 (H1N1)pdm09 + <i>S. pneumoniae</i>	0/10	0	4,5±2,3	6,2 ± 2,3	4,6 ±0,2	6,1±0,2	4,7±0,1	0
Живая вакцина	10/10	10	0	0	4,4±0,1	0	3,6±0,2 p>0,05	0
Инактивированная вакцина	10/10	100	0	0	4,3±0,2 p>0,05	0	3,2±0,1 p>0,05	0
Примечание: *д.в. — день от вирусного заражения; **д.б. — день от бактериального заражения.								

Изучение эффекта вирусоподобных частиц, содержащих гемагглютинин, на модели вторичной бактериальной пневмонии мышей после гриппозной инфекции. Использование вирусоподобных частиц (VLPs), представляющих собой копию вирусной оболочки, не содержащую генетического материала, может служить перспективным направлением быстрого создания противогриппозных вакцин и изучения роли отдельных вирусных белков в патогенезе инфекции. Была изучена иммуногенная и протективная (выживаемость, динамика массы тела, вирусная и бактериальная нагрузка в лёгких) активность HA-VLPs при гомологичном и гетерологичном заражении, а также патоморфологические изменений легких. Результаты РТГА (средний титр 71,3) и ИФА (средний титр специфических IgG 810) свидетельствовали о способности препаратов HA-VLPs индуцировать выработку антител к гемагглютнину гомологичного вируса, но не к гетерологичного. Препарат HA-VLPs обеспечивал полную защиту мышей от потери массы тела и размножения вирусных и бактериальных агентов в легких при заражения гомологичным вирусом A/Puerto Rico/8/34/RG (H1N1) и последующей бактериальной суперинфекцией. При заражении гетерологичным штаммом NIBRG121

иммунизация мышей HA-VLPs защищала часть мышей от гибели, не влияла на вирусную репродукцию, а снижение количества бактерий в легких отмечали только при суперинфекции *S. aureus*. При патоморфологическом исследовании в лёгких мышей невакцинированных групп, инфицированных как A/Puerto Rico/8/34/RG (H1N1) + *S. pneumoniae*, так и NIBRG-121xp (H1N1) + *S. pneumoniae*, были выявлены очаги бронхопневмонии с нейтрофильно-макрофагальным воспалительным инфильтратом. Вакцинация HA-VLPs при гомологичном заражении снижала относительную площадь воспалительных очагов, а при гетерологичном заражении значимых различий данного показателя между вакцинированными и невакцинированными группами не выявлено (Рисунок 3).

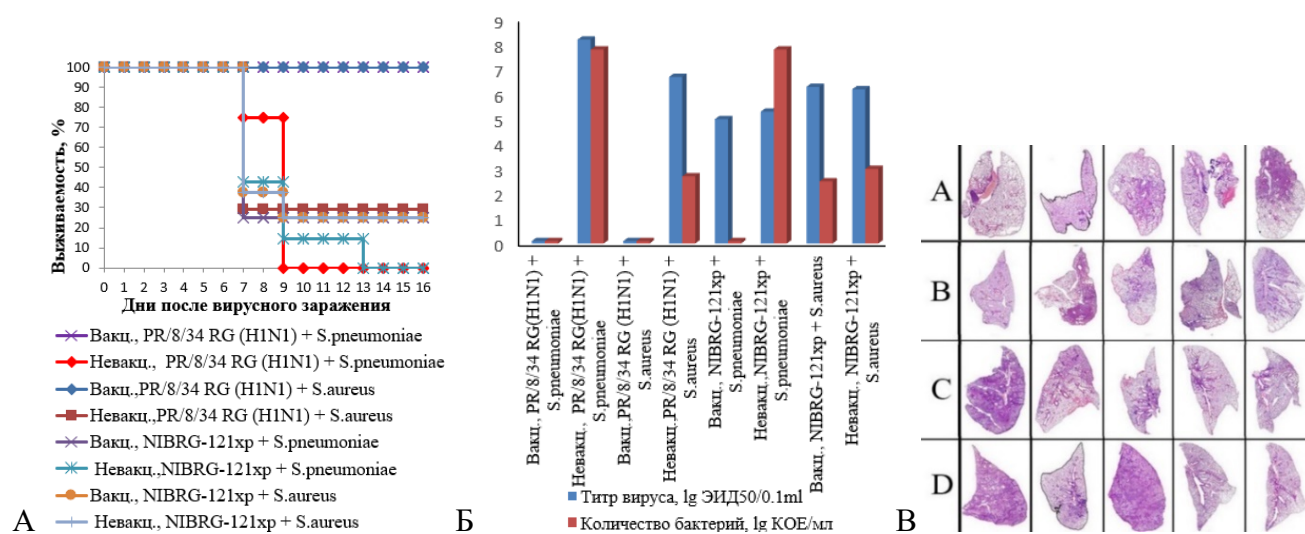


Рисунок 3 – Выживаемость (А), титр вируса и количество бактерий (Б), патоморфологическое состояние легких (В)* при вакцинации HA-VLPs

Примечание: * Воспалительная инфильтрация в лёгких мышей: А – вакцинированных HA-VLPs и инфицированных A/Puerto Rico/8/34/RG (H1N1) + *S. pneumoniae*; В – невакцинированных и инфицированных A/Puerto Rico/8/34/RG (H1N1) + *S. pneumoniae*; С – вакцинированных HA-VLPs и инфицированных A/NIBRG-121xp (H1N1) + *S. pneumoniae*; Д – невакцинированных и инфицированных A/NIBRG-121xp (H1N1) + *S. pneumoniae*.

Изучение эффекта вирусоподобных частиц, содержащих нейраминидазу вируса гриппа, на модели вторичной бактериальной пневмонии мышей, вызванной *S. pneumoniae* и *S. aureus* после заражения гетерологичным штаммом. Роль нейраминидазы в формировании протективного иммунитета оценивали по выживаемости, динамике массы тела, вирусной и бактериальной нагрузке в лёгких и состоянию ткани легких. Мышей иммунизировали как коктейлем VLPs (HA-VLPs 100 нг + NA-VLPs 20 нг), так и каждый компонентом отдельно. В контрольных группах не вакцинированных животных, инфицированных NIBRG-121xp + *S. pneumoniae* или NIBRG-121xp + *S. aureus* отмечали полную гибель животных при снижении массы тела, а размножение вируса и бактерий в легких на 7 день были самыми высоким среди изученных групп. Полную гибель наблюдали при

вакцинации только NA-VLPs. Несмотря на заражение гетерологичным вирусом, вакцинация как отдельно HA-VLPs, так и коктейлем HA-VLPs + NA-VLPs приводила к повышению выживаемости, уменьшению снижения массы тела, размножения вируса и бактерий в легких (Таблица 7).

Таблица 7 – Выживаемость, титр вируса и количество бактерий в легких при иммунизации VLPs с HA и NA, а также их коктейля на модели вторичной бактериальной пневмонии, индуцированной *S. pneumoniae* и *S. aureus* после инфицирования гетерологичным вирусом NIBRG-121xp (H1N1)

Заражение	Вакцинация	Выживаемость		Титр вируса в легких животных, lg ЭИД _{50/0.1ml}	Количество бактерий в легких, lg КОЕ/ml
		Выж./общ.	%		
NIBRG-121xp + <i>S. pneumoniae</i>	HA-VLPs + NA-VLPs	6/10 (p=0,002)	60	6,4±0,6 p>0,05	1,7±2,4 p=0,01
	HA-VLPs	4/10 (p=0,024)	40	7,2±0,8 p>0,05	2,5±2,3 p=0,01
	NA-VLPs	0/10	0	7±1 p>0,05	4,7±0,6 p=0,8
	Без вакцинации	0/11	0	7,8±0,5	8,4±0,9
NIBRG-121xp + <i>S. aureus</i>	HA-VLPs + NA-VLPs	6/10 (p=0,002)	60	4,3±0,5 p=0,02	5±1 p<0,01
	HA-VLPs	4/10 (p=0,025)	40	4,8±1 p=0,2	7±1 p=1
	NA-VLPs	0/11	0	6,3±0,5 p=1	6,2±0,5 p=0,2
	Без вакцинации	0/11	0	6,5±0,6	7,8±0,5

Для оценки повреждения легочной ткани при вирусной инфекции проводили патоморфологическое исследование с окрашиванием гематоксилином/эозином (Н/Е), а также гистохимическое исследование интенсивности связывания лектина, меченого ФИТЦ с клетками легкого, при котором интенсивность флуоресценции коррелировала со степенью тяжести патологии легких. В группе неинфицированных мышей интенсивность флуоресценции была самой низкой – 5,1. Невакцинированные мыши, зараженные вирусом NIBRG121, демонстрировали наивысший уровень связывания лектина – 28,2. Иммунизация мышей как коктейлем HA-VLPs + NA-VLPs, так и только HA-VLPs при последующем заражении приводила к снижению сигнала связывания лектина (15,6 и 10 соответственно). Гистохимические данные были подтверждены патоморфологическим изучением легких с окрашиванием Н/Е: в группах животных, вакцинированных коктейлем VLPs, а также компонентами коктейля отдельно, с последующим заражением гетерологичным вирусом NIBRG121, степень выраженности и площадь повреждений ткани легких были ниже, чем в группах невакцинированных животных (Рисунок 4).

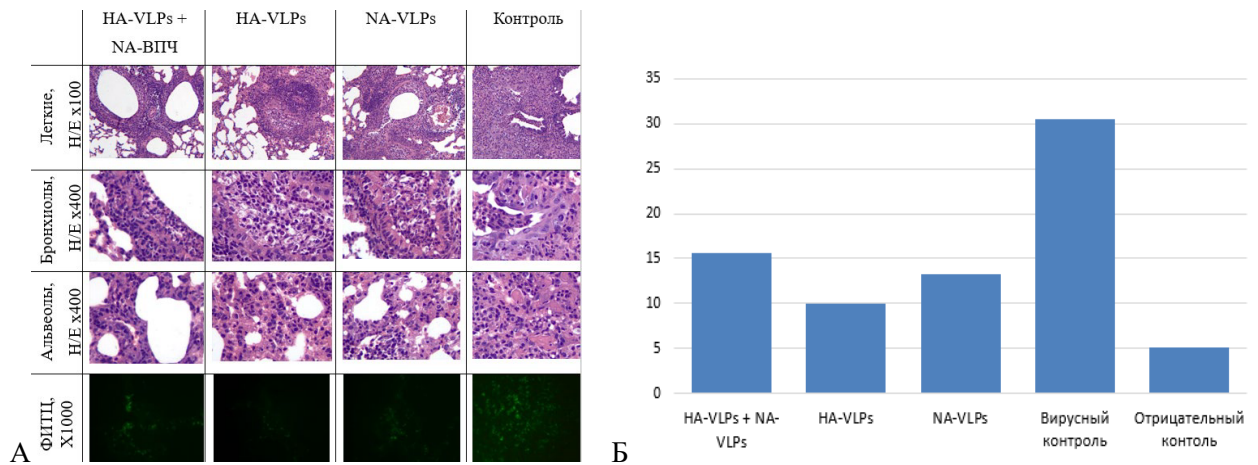


Рисунок 4 – Состояние легочной ткани при окрашивании гематоксилином/эозином и при гистохимическом исследовании (А) и интенсивность флуоресценции при гистохимическом исследовании состояния легких мышей, иммунизированных VLPs и зараженных NIBRG-121xp (Б)

ВЫВОДЫ

1. Разработана и охарактеризована экспериментальная модель вторичной бактериальной пневмонии мышей, индуцированной штаммами вируса гриппа A/California/04/2009(H1N1)pdm09 и A/Puerto Rico/8/34/RG (H1N1) подтипа H1N1, их реассортантом NIBRG-121xp, а также штаммом A/Aichi/2/69(H3N2) подтипа H3N2, и двумя бактериальными патогенами, *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae*. Выявлен синергизм вирусов гриппа и бактерий, выражающийся в увеличении смертности мышей и потери ими массы тела, усилении размножения обоих патогенов в легких при комбинированном заражении по сравнению с моноинфекцией.

2. Этиотропные противовирусные препараты умифеновир и осельтамивир, а также индуктор интерферонов тилорон были эффективны на модели вторичной бактериальной пневмонии мышей, вызванной заражением A/California/04/2009(H1N1)pdm09 с последующим заражением *Staphylococcus aureus* или *Streptococcus pneumoniae*.

3. Комбинированное лечение умифеновиром, осельтамивиром и тилороном с антибактериальными препаратами цефуроксимом, клиндамицином и ципрофлоксацином было эффективнее, чем лечение каждым препаратом отдельно на модели вторичной бактериальной пневмонии, вызванной заражением A/California/04/2009(H1N1)pdm09 с последующим заражением *Staphylococcus aureus*.

4. Иммунизация мышей живой (холодоадаптированный аттенуированный штамм A/17/California/2009/38 (H1N1)) и инактивированной гриппозной вакцинами (концентрат субъединиц A/California/04/2009(H1N1)pdm09) блокирует бактериальную инфекцию в нижних отделах респираторного тракта у мышей со вторичной бактериальной пневмонией, вызванной

инфицированием A/California/04/2009(H1N1)pdm09 с последующим заражением *Streptococcus pneumoniae*.

5. Вирусоподобные частицы, содержащие гемагглютинин вируса гриппа, обладают иммуногенной активностью в отношении гомологичного штамма A/Puerto Rico/8/34/RG (H1N1), а протективная активность этих частиц у мышей со вторичной пневмонией, индуцированной *Streptococcus pneumoniae* или *Staphylococcus aureus* после заражения гомологичным штаммом A/Puerto Rico/8/34/RG (H1N1), выше, чем после заражения гетерологичным штаммом A/NIBRG-121xp (H1N1).

6. Иммунизация комбинацией вирусоподобных частиц, содержащих гемагглютинин и нейраминидазу, эффективнее, чем вакцинация каждым из компонентов по отдельности, на модели вторичной бактериальной пневмонии мышей, индуцированной *Streptococcus pneumoniae* или *Staphylococcus aureus* после заражения гетерологичным штаммом вируса гриппа A/NIBRG-121xp (H1N1).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Модель вторичной бактериальной пневмонии мышей после гриппозной инфекции рекомендуется использовать при проведении исследований, направленных на оптимизацию доз и схем применения средств профилактики и лечения постгриппозных осложнений.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Эффект вакцинации вирусоподобными частицами, экспрессирующими гемагглютинин, на развитие постгриппозной бактериальной пневмонии у мышей: патоморфологические, вирусологические, микробиологические и клинические данные / **И.Н. Фалынскова**, А.Ю. Егоров, А.В. Поддубиков [и др.] // **Вопросы вирусологии.** – 2020. – Т. 65, № 3. – С. 150–158. – DOI: 10.36233/0507-4088-2020-65-3-150-158. [Scopus]

2. Патогенез гриппозной инфекции и вирусно-бактериальной пневмонии, индуцированных различными подтипами вируса гриппа А, у мышей / А.А. Поромов, Н.Р. Махмудова, **И.Н. Фалынскова** [и др.] // **Медицинская иммунология.** – 2020. – Т. 22, № 1. – С. 99–110. – DOI: 10.15789/1563-0625-IVI-1840. [Scopus]

3. Исследование влияния NS1-специфических антител на гриппозную инфекцию и вторичную бактериальную пневмонию у мышей / Н.П. Карташова, И.А. Ленева, **И.Н. Фалынскова**, А.В. Поддубиков // **Российский иммунологический журнал.** – 2020. – Т. 23, № 4. – С. 383–388. – DOI: 10.46235/1028-7221-438-ЕЕО. [Scopus]

4. Изучение защитной эффективности вирусоподобных частиц, содержащих NA вируса гриппа, в мышинной модели постгриппозной бактериальной пневмонии, вызванной *Staphylococcus aureus* / Е.А. Глубокова, И.А. Ленева, **И.Н. Фалынскова**, А.В. Поддубиков //

Российский иммунологический журнал. – 2020. – Т. 23, № 4. – С. 389–394. – DOI: 10.46235/1028-7221-441-EPF. [Scopus]

5. Off-target effects of an insect cell-expressed influenza HA-pseudotyped Gag-VLP preparation in limiting postinfluenza *Staphylococcus aureus* infections / M. Klausberger, I.A. Leneva, **I.N. Falynskova** [et al.] // **Vaccine.** – 2020. – Vol. 38, № 4. – P. 859–867. – DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.10.083. [Scopus, Web of Science]

6. Изучение роли иммунитета к нейраминидазе вируса гриппа в защите от вторичной бактериальной пневмонии, индуцированной *S. aureus* после гриппозной инфекции у мышей / И.А. Ленева, **И.Н. Фалынскова**, Н.П. Карташова [и др.] // **Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.** – 2020. – Т. 97, № 6. – С. 564–577. – DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-6-7. [Scopus]

7. Эффективность индуктора интерферонов тилорона и его комбинации с антибактериальными препаратами на модели вторичной бактериальной пневмонии мышей, вызванной *S. aureus* после гриппозной инфекции / **И.Н. Фалынскова**, А.А. Поромов, Н.А. Михайлова [и др.] // **Вопросы вирусологии.** – 2026. – Т. 71, № 1. – С. 76–85. – DOI: 10.36233/0507-4088-363. [Scopus]

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ВСЖ – вируссодержащая жидкость

ЖГВ – живая гриппозная вакцина

ИФА – иммуноферментный анализ

КОЕ – колониеобразующие единицы

КСЕ – концентрат субъединиц

РГА – реакция гемагглютинации

РКЭ – развивающийся куриный эмбрион

РТГА – реакция торможения гемагглютинации

ТЦИД – тканевая цитопатическая инфекционная доза

ФИТЦ – флуоресцеин изотиоцианат

ФСБ – фосфатно-солевой буфер

ЭИД – эмбриональная инфекционная доза

НА – гемагглютинин

НА – нейраминидаза

VLPs – вирусоподобные частицы