

**ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ ПОСЛЕ ИММУНИЗАЦИИ
МОРСКИХ СВИНОК ВАКЦИННЫМ ПРЕПАРАТОМ НА ОСНОВЕ
ВИРУСА ПУУМАЛА**

С. С. Курашова¹,
М. В. Баловнева¹,
А. А. Ишмухаметов^{1,2},
Р. Д. Теодорович¹,
Ю. В. Попова¹,
Е. А. Ткаченко¹,
Т. К. Дзагурова¹.

¹ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита),
Москва, Россия;

²Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва

**IMMUNE RESPONSE EVALUATION IN THE GUINEA PIGS AFTER
IMMUNIZATION WITH THE EXPERIMENTAL PUUMALA VIRUS
VACCINE**

S. S. Kurashova^a,
M. V. Balovneva^a,
A. A. Ishmukhametov^{a,b},
R. D. Teodorovich^a,
Yu. V. Popova^a,
E. A. Tkachenko^a,
T. K. Dzagurova^a.

^aChumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Резюме. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) занимает в РФ ведущее место среди природноочаговых инфекций. Вакцина против ГЛПС находится на стадии доклинических и клинических испытаний. Для возбудителей ГЛПС отсутствует лабораторная модель инфекции, поэтому иммуногенность вакцины определяют по индукции нейтрализующих вирус антител (нАТ). Цель исследования - анализ влияния схемы дозирования иммуногена на динамику титра нАТ на модели морских свинок после введения экспериментального хантавирусного вакцинного препарата (ХВП) на основе вируса Пуумала. Количественная оценка нейтрализующих антител в реакции нейтрализации по 50% подавлению фокусобразующих единиц (РН/ФОЕ₅₀) в культуре клеток Vero представлена в виде средней геометрической величины титра антител, выраженной в двоичных логарифмах (log₂). Двукратную иммунизацию морских свинок проводили с интервалом 14 дней, бустерное введение на 182 день, по 0,3 мл в мышечную ткань бедра в неразведенном виде (ХВП-н/р) и в разведении 1/10 (ХВП-1/10). Для определения нАТ кровь отбирали каждые 14 дней. Через 14 дней после первой иммунизации ХВП-н/р нАТ определялись в титре 5,5±0,3, а для ХВП-1/10 – 4,8±0,3 (p < 0,0001). После второй иммунизации максимальное увеличение нАТ до 9±0,2 наблюдали на 42 день, и 6,5±0,2 на 14 день, соответственно. В дальнейшем наблюдалось снижение титра нАТ до 6,2±0,3 и 5±0,3 к 308 дню после первой иммунизации. Бустерное введение ХВП-н/р индуцировало повышение уровня нАТ до 9,5±0,3, а ХВП-1/10 до 6,5±0,3. Стоит отметить, что после бустерного введения наблюдалась индукция статистически значимо более высоких значений нАТ на 238 день после первой иммунизации ХВП-н/р и на 294 день для ХВП-1/10, с последующей тенденцией их снижения. Результаты исследования свидетельствуют о раннем формировании иммунного ответа, интенсивность которого зависела от дозы вводимого иммуногена. Бустерное введение иммуногена через 3 месяца от начала иммунизации существенно усиливало иммунный ответ пропорционально вводимой дозе иммуногена. Длительное персистирование нАТ после двукратной иммунизации указывает на

возможность применения бустерного введения иммуногена через год. Данные эксперимента позволяют подобрать оптимальную схему вакцинации (дозу и время бустерного введения иммуногена). Иммунологическая эффективность и протективная активность такой схемы вакцинации может быть оценена только по результатам клинических испытаний.

Ключевые слова: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, вирус Пуумала, хантавирусный вакцинный препарат, схема вакцинации, нейтрализующие антитела, иммунный ответ.

Abstract. In the Russian Federation, the vaccine against hemorrhagic fever with renal syndrome is at the stage of preclinical and clinical trials. The aim of the study was to analyze an effect of vaccine schedule on neutralizing antibodies (nAB) dynamics in guinea pig models applied with experimental Puumala virus based hantavirus vaccine (HV). Quantitative evaluation of neutralizing antibodies was presented as antibody titer geometric mean expressed in binary logarithms (log₂) by the 50% reduction of focus-forming units (FRNT₅₀) in Vero cell in the focus reduction neutralization test. The HV dual inoculation to guinea pigs was carried out in 14 day intervals, booster injection was applied on day 182 after the onset, in the thigh muscle tissue by using 0.3 ml undiluted (HV-u/d) and in the 1/10 dilution (HV-1/10). nAB titer on day 14 after the first HV-u/d and HV-1/10 injection was measured to be at titer of 5.5±0.3 and 4.8±0.3, respectively. After the second injection, the nAB peak was as high as 9±0.2 on day 42 after the first HV-u/f injection, and 6.5±0.2 on day 14 after the HV-1/10 injection. nAB decreased down to 6.2±0.3 and 5±0.3, respectively, on day 364 after the first injection. The booster HV-u/d and HV-1/10 injection induced increase in nAB up to 9.5±0.3 and 6.5±0.3, respectively. After the booster injection, it induced significantly higher nAB observed on day 238 after the first HV-u/d injection and delayed up to the 294 day for the HV-1/10. The results of the study indicated the early formation of the immune response, long-term nAB persistence and significantly enhanced immune response

after the booster injection on day 182, which indicated a potential for the booster injection a year later. The immunological efficacy and protective activity of the vaccine schedule may be finally assessed according to the results of clinical trials.

Keywords: hemorrhagic fever with renal syndrome, Puumala virus, hantavirus vaccine, vaccination schedule, neutralizing antibodies, immune response.

1 **Введение.**

2 Хантавирус Пуумала является одним из шести возбудителей
3 геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС). Патогенные
4 хантавирусы в составе рода *Orthohantavirus* входят в семейство *Hantaviridae*,
5 порядок *Bunyavirales* [11]. Более 97% всех случаев геморрагической лихорадки
6 с почечным синдромом (ГЛПС) в России этиологически обусловлены вирусом
7 Пуумала, около 3% - другими 5 возбудителями ГЛПС - вирусами Хантаан, Сеул,
8 Амур, Куркино и Сочи [10], что указывает на ведущую этиологическую роль
9 вируса Пуумала в структуре заболеваемости ГЛПС в России.

10 Отсутствие тенденции к снижению заболеваемости ГЛПС, расширение
11 ареала инфекции, отсутствие специфических средств лечения и
12 малоэффективность неспецифической профилактики обуславливают
13 социальную и медицинскую значимость внедрения вакцины для профилактики
14 ГЛПС [10].

15 Успех вакцинации зависит от качества, величины и длительности
16 генерируемого адаптивного иммунного ответа, что в свою очередь зависит от
17 схемы дозирования иммуногена [5].

18 В последние годы наблюдается тенденция пересмотра схем дозирования
19 вакцин, используемых на регулярной основе, как это произошло с вакциной
20 Превенар 13® (Pfizer) для профилактики пневмококковой инфекции, с
21 установленной оптимальной схемой введения в 2 дозы с 2-х недельным
22 интервалом и третьей в виде бустерной [6]. Подобному пересмотру подверглись
23 схемы введения вакцин Imovax® (Sanofi Pasteur) против полиомиелита,
24 RabAvert® (Novartis Vaccines and Diagnostics GmbH) против бешенства человека
25 с целью сокращения количества доз вакцины с 5 до 4 доз [9]; для Gardasil®9
26 (Merck), четырехвалентной Gardasil® (Merck) и двухвалентной Cervarix®
27 (GlaxoSmithKline) против вируса папилломы человека - с 3 доз до 2 в возрасте до
28 15 лет [8].

29 В этой связи целесообразно подбирать оптимальную схему дозирования
30 вакцин, для поддержания приемлемого уровня защитных гуморальных антител,

31 до выхода на клинические испытания, позволив избежать пересмотра схемы
32 вакцинации в будущем. Как было показано в предыдущих исследованиях,
33 уровень нАТ у мышей BALB/c после иммунизации кандидатными вакцинами
34 для профилактики ГЛПС после двух иммунизаций с двухнедельными
35 интервалами не отличался от такового после трех иммунизаций с тем же
36 интервалом. В результате оптимальной схемой дозирования для последующих
37 экспериментов было принято применение двукратной иммунизации с третьей в
38 виде бустерного введения [7].

39 Морские свинки (*Cavia porcellus*) представляет собой ценную и
40 подтвержденную экспериментальную модель животных из-за ряда
41 биологических сходств с людьми [3]. Использование морских свинок позволяет
42 сократить количество экспериментальных животных, при этом позволяет
43 увеличить длительность эксперимента до 3 лет. Для возбудителей ГЛПС
44 отсутствует лабораторная модель инфекции, поэтому иммуногенную активность
45 вакцинного препарата определяют по индукции нейтрализующих вирус антител.
46 Таким образом целесообразность проведения экспериментов по оценке
47 иммуногенности вакцинного препарата на морских свинках обусловлена
48 возможностью оценить продолжительность иммунного ответа и влияние
49 бустерного введения вакцины.

50 Цель: Изучение динамики нейтрализующих антител в сыворотках крови
51 морских свинок в ответ на введение хантавирусного вакцинного препарата на
52 основе вируса Пуумала с разной схемой дозирования иммуногена.

53 **Методика исследования**

54 Хантавирусный вакцинный препарат (ХВП) был получен на основе
55 штамма PUU-TKD-VERO вируса Пуумала (ПУУ) по ранее описанной
56 технологии [1]. Хроматографически очищенный на сорбенте Capto Core 700 (GE
57 Healthcare) полуфабрикат с титром вируса $3,7 \pm 0,5$ Ig ФОЕ/мл и 2×10^4 копий
58 РНК/мл инаktivировали бета-пропиолактоном в разведении 1/6000. ХВП
59 вводили по 0,3 мл в мышечную ткань бедра морских свинок (*Cavia porcellus*) в
60 неразведенном виде (ХВП-н/р) и в разведении 1/10 (ХВП-1/10). Самки морских

61 свинок были рандомизировано распределены по 3 в каждой группе, содержались
62 согласно ГОСТ 33216-2014. Иммунизировали свинок по схеме: 2 иммунизации
63 (I-ИМ, II-ИМ) с двухнедельным интервалом и бустерное введение (БВ) на 182
64 день, забор крови каждые 14 дней, от момента первой иммунизации, пункцией
65 сердца. Каждая проба сыворотки крови трехкратно исследована в реакции
66 нейтрализации (РН) в культуре клеток Vero E6. Результат представлен в виде
67 среднегеометрического значения титра (СГТ) нАТ в двоичных логарифмах по
68 50% редукции числа фокусобразующих единиц (ФОЕ) [2]. Для количественной
69 оценки РНК в вакцинном материале использовали ПЦР в режиме реального
70 времени со штаммоспецифичными праймерами Ufa F_R, и зондом Ufa Z [4].

71 **Статистический анализ**

72 Полученные результаты анализировали в программе GraphPad Prism 9.4.1.
73 Статистическую значимость различий определяли с помощью одностороннего
74 ANOVA с тестом множественных сравнений Тьюка: ns – не значима, *p <0,05,
75 **p <0,01, ***p <0,005, ****p <0,0001.

76 **Результаты исследования**

77 В контрольных группах, так же, как и в экспериментальных группах, нАТ
78 до иммунизации не выявлены в сыворотках крови начиная с разведения 1/2. За
79 приемлемый уровень нАТ принимали СГТ выше $4,32 \pm 0,2 \log_2$ (рис. 1).
80 Нейтрализующие антитела были выявлены у 3/3 животных во всех
81 экспериментальных группах в ответ на введение ХВП.

82 **Рисунок 1.** Средние титры нАТ в сыворотках крови морских свинок после
83 первой (I-ИМ), второй (II-ИМ) иммунизаций и бустерного введения (БВ).
84 Образцы крови получали в указанные временные интервалы. В дни 0, 14 и 182
85 образцы крови собирали перед иммунизацией. Экспериментальные группы: А. -
86 ХВП-н/р; ХВП-н/р-БВ; Б - ХВП-1/10; ХВП-1/10-БВ и контрольная группа (КГ).
87 Титры нАТ определяли методом РН/ФОЕ₅₀. ns – несущественно, ****p <0,0001.
88 Данные показывают средние геометрические титры нАТ против вируса Пуумала
89 в группе с 95% доверительными интервалами.

90

91 Через 2 недели после I-иммунизации наблюдали статистически значимый
92 подъём титра нАТ по сравнению с контрольной группой. Более выраженный
93 иммунный ответ наблюдали в группе ХВП-н/р (СГТ = $5,5 \pm 0,3$) в сравнении с
94 ХВП-1/10 (СГТ = $4,8 \pm 0,3$) с достоверной статистической разницей в титре нАТ
95 ($p < 0,0001$) (рис. 1).

96 После второй иммунизации в группе ХВП-н/р максимальное нарастание
97 нАТ зафиксировано на 56 день (СГТ = $9 \pm 0,2$) с постепенным снижением титра к
98 238 дню до $6,2 \pm 0,2$. На этом уровне антитела оставались до 322 дня с
99 последующим снижением до $5,2 \pm 0,3$ к концу срока наблюдения. Бустерное
100 введение ХВП на 182 день стимулировало иммунный ответ: максимальные
101 титры антител, зафиксированные через 56 дней (238 дней после I-ИМ),
102 достоверно превышали таковые после II-ИМ (СГТ = $9,48 \pm 0,3$) ($p = 0,001$). К концу
103 срока наблюдения уровень нАТ снижался до $7 \pm 0,3$, статистически достоверно
104 превышая таковой без бустерного введения ХВП-н/р (рис. 1 А).

105 В группе ХВП-1/10 после II-ИМ максимальное нарастание нАТ
106 зафиксировано на 28 день (СГТ = $6,5 \pm 0,3$), к 56 дню наблюдалось снижение титра
107 нАТ и далее, в течение 10 месяцев, наблюдалось некое плато с низким титром нАТ
108 (СГТ = $5 \pm 0,3$). Десятикратное снижение антигенной нагрузки все ещё
109 индуцировало иммунный ответ, хотя и на предельно низких значениях титра нАТ
110 (рис. 1 Б). Бустерное введение ХВП-1/10 характеризовалось медленным подъёмом
111 нАТ в течение 4-х месяцев до максимальных титров $7,5 \pm 0,2$ (на 294 день после I-
112 ИМ), которые оставались достоверно ниже таковых после бустерного введения
113 ХВП-н/р. Также постепенно снижался титр нАТ и к концу наблюдения составил
114 $5 \pm 0,2$, сравнявшись с титром нАТ после двукратного введения ХВП-н/р без
115 бустерного введения.

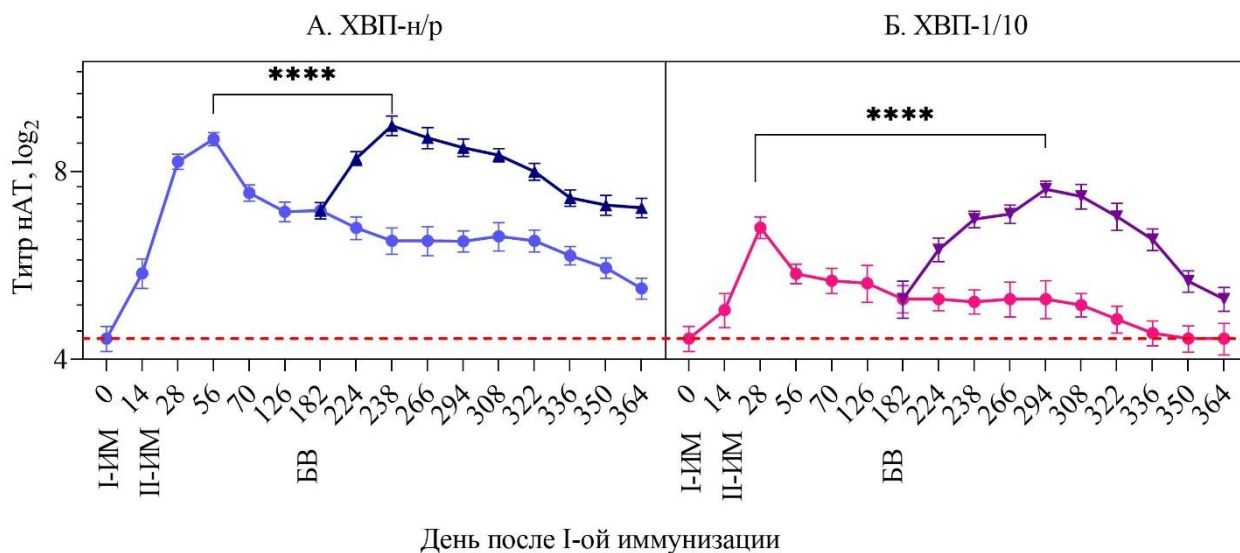
116 Полученные результаты позволяют сделать следующие выводы:
117 Интенсивность гуморального иммунного ответа прямо пропорциональна дозе
118 вводимого иммуногена. 2) Выраженная динамика нарастания нАТ после
119 бустерного введения в сравнении с ответом после I-ИМ и II-ИМ, указывает на
120 формирование устойчивой иммунной памяти. 3) Бустерное введение

121 иммуногена можно рассматривать через год от начала иммунизации, принимая
122 во внимание тот факт, что нАТ все ещё выявляются в эти сроки после двукратной
123 иммунизации. Подтверждение этого положения должно быть получено в ходе
124 клинических испытаний. 4) Для определенных групп населения (дети, пожилые
125 люди, лица, имеющие хронические заболевания) возможно будет целесообразно
126 использование низких доз иммуногена. Ограничением является величина
127 протективной дозы вакцинного препарата, определить которую возможно только
128 по результатам клинических испытаний.

РИСУНКИ

Рисунок_1. Средние титры нАТ в сыворотках крови морских свинок после первой (I-ИМ), второй (II-ИМ) иммунизаций и бустерного введения (БВ).

Figure 1. Mean nAb titers in guinea pigs blood sera after the first (I-IM), second (II-IM) and booster (BV) inoculation



Средние титры нАТ в сыворотках крови морских свинок после первой (I-ИМ), второй (II-ИМ) иммунизаций и бустерного введения (БВ). Образцы крови получали в указанные временные интервалы. В дни 0, 14 и 182 образцы крови собирали перед иммунизацией. Экспериментальные группы: А. - ХВП-н/р; ХВП-н/р-БВ; Б - ХВП-1/10; ХВП-1/10-БВ и контрольная группа (КГ). Титры нАТ определяли методом РН/ФОЕ₅₀. ns – несущественно, ****p <0,0001. Данные показывают средние геометрические титры нАТ против вируса Пуумала в группе с 95% доверительными интервалами.

Mean nAb titers in guinea pigs blood sera after the first (I-IM), second (II-IM) immunizations and booster administration (BV). Blood samples were collected at the indicated time intervals. On days 0, 14 and 182, blood samples were collected prior to immunization. Experimental groups: A. - HV-u/d; HV-u/d-BV; B. - HV-1/10; HV-1/10-BV and control group (CG). nAb titers were measured by the FRNT₅₀ method. ns – not significant, ****p <0.0001. The data are shown as geometric mean nAb titers against Puumala virus in the group with 95% confidence intervals.

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ ПОСЛЕ ИММУНИЗАЦИИ МОРСКИХ СВИНОК ВАКЦИННЫМ ПРЕПАРАТОМ НА ОСНОВЕ ВИРУСА ПУУМАЛА

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Курашова Светлана Сергеевна, кандидат медицинских наук по специальности вирусология, ведущий научный сотрудник лаборатории геморрагических лихорадок ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита),
Москва, Россия

Почтовый адрес для переписки: 108819, Российская Федерация, город Москва, поселение Московский, посёлок Института полиомиелита, домовладение 8, корпус 1

108819, Russian Federation, Moscow city, Moskovsky settlement, Polio Institute settlement, household 8, building 1; +7 965 309 32 41, svetlanak886@yandex.ru

Блок 2. Информация об авторах

Курашова Светлана Сергеевна, кандидат медицинских наук по специальности вирусология, ведущий научный сотрудник лаборатории геморрагических лихорадок ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Kurashova Svetlana Sergeevna, PhD (Medicine), Leading Researcher of the Laboratory of Hemorrhagic Fevers “Chumakov FSC R&D IBP RAS” (Institute of Poliomyelitis). Почтовый адрес для переписки: 108819, Российская Федерация, город Москва, поселение Московский, посёлок Института полиомиелита, домовладение 8, корпус 1

108819, Russian Federation, Moscow city, Moskovsky settlement, Polio Institute settlement, household 8, building 1; +7 965 309 32 41, svetlanak886@yandex.ru

Баловнева М.В., кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории геморрагических лихорадок ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Balovneva M.V., PhD (Biology), Leading Researcher of the Laboratory of Hemorrhagic Fevers “Chumakov FSC R&D IBP RAS” (Institute of Poliomyelitis).

Ишмухаметов А.А., доктор медицинских наук, профессор, Академик РАН, генеральный директор ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Ishmukhametov A.A., PhD (Medicine), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, General Director of the “Chumakov FSC R&D IBP RAS” (Institute of Poliomyelitis).

Теодорович Р.Д., научный сотрудник лаборатории геморрагических лихорадок ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Teodorovich R.D., Researcher of the Laboratory of Hemorrhagic Fevers “Chumakov FSC R&D IBP RAS” (Institute of Poliomyelitis).

Попова Ю.В., научный сотрудник лаборатории геморрагических лихорадок ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Popova Yu.V., Researcher of the Laboratory of Hemorrhagic Fevers “Chumakov FSC R&D IBP RAS” (Institute of Poliomyelitis).

Ткаченко Е.А., доктор медицинских наук, профессор, руководитель научного направления ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Тkachenko E.A., PhD (Medicine), Professor, Head of the scientific direction of the “Chumakov FSC R&D IBP RAS” (Institute of Poliomyelitis).

Дзагурова Т.К. доктор медицинских наук, заведующая лаборатории геморрагических лихорадок ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Dzagurova T.K. PhD (Medicine), Head of the Laboratory of Hemorrhagic Fevers “Chumakov FSC R&D IBP RAS” (Institute of Poliomyelitis).

Блок 3. Метаданные статьи

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ВАКЦИНА ПРОТИВ ГЛПС И ИММУНИТЕТ
HFRS VACCINE AND IMMUNITY

Ключевые слова: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, вирус Пуумала, хантавирусный вакцинный препарат, схема вакцинации, нейтрализующие антитела, иммунный ответ.

Keywords: hemorrhagic fever with renal syndrome, Puumala virus, hantavirus vaccine, vaccination schedule, neutralizing antibodies, immune response.

Краткие сообщения

Количество страниц текста – 4, количество рисунков – 1.

24.05.2022

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или doi
1	Бархалева О. А. Воробьева, М. С., Ладыженская, И. П., Ткаченко, Е. А., Дзагурова, Т. К. Вакцина против геморрагической лихорадки с почечным синдромом // <i>БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение</i> . 2011. Т. 41, №. 1. С. 27-30.	Barkhaleva O. A., Vorobyeva M. S., Ladizhenskaya I. P., Tkachenko E. A., Dzagurova T. K. Vaccine against hemorrhagic fever with kidney syndrome. <i>Biopreparations</i> , 2011. vol. 1, pp. 27-30 (in Russ.)	https://cyberleninka.ru/article/n/vaktsina-protiv-gemorragicheskoy-lihoradki-s-pochechnym-sindromom
2	Дзагурова, Т. К., Ткаченко, Е. А., Башкирцев, В. Н., Окулова, Н. М., Апекина, Н. С., Коротина, Н. А., Малкин Г.А., Бернштейн А.Д., Юничева Ю.В., Худякова И.А., Соцкова С.Е., Транквиловский Д.В. Выделение и идентификация штаммов хантавирусов— возбудителей ГЛПС в Европейской части России // <i>Инфекция и</i>	Dzagurova T.K., Tkachenko, E. A., Bashkirtsev, V. N., Okulova, N. M., Apekina, N. S., Korotina, N. A., Malkin G.A., Bernstein A.D., Yunicheva Yu.V., Khudyakova I.A., Sotskova S.E., Tranquilevsky D.V. Isolation and identification of strains of hantaviruses, causative agents of HFRS in the European part	https://cyberleninka.ru/article/n/vydelenie-i-identifikatsiya-shtammov-hantavirusov-vozbuditeley-glps-v-evropeyskoy-chasti-rossii

	<i>иммунитет</i> , 2012. Т. 2, №. 1-2. С. 137-138.	of Russia. <i>Russ. J. Infect. Immun.</i> , 2012, vol. 2, no. 1–2, pp. 137-138 (in Russ.)	
3	Рыбакова А. В., Макарова М. Н. Использование морских свинок в биомедицинских исследованиях // <i>Международный вестник ветеринарии</i> . 2018. №. 1. С. 132-137.	Rybakova A.V., Makarova M.N. Ispol'zovanie morskikh svinok v biomeditsinskikh issledovaniyakh. <i>Mezhdunarodnyi vestnik veterinarii</i> , 2018; vol. 1, pp. 132-137 (In Russ.)	https://vetjournal.spbguvvm.ru/jour/article/view/445
4	Egorova M.S., Kurashova S.S., Ishmukhametov A.A., Balovneva M.V., Devyatkin A.A., Safonova M.V., Ozherelkov S.V., Khapchaev Yu.Kh., Balkina A.S., Belyakova A.V., Dzagurova T.K., Tkachenko E.A. Real-time PCR assay development for the control of vaccine against hemorrhagic fever with renal syndrome <i>Probl. Viral.</i> , 2021. Vol. 66, no. 1, pp. 65-73.		https://virusjour.elpub.ru/jour/article/view/479?locale=en_US [doi: 10.36233/0507-4088-30.]
5	Ghimire T. R. The mechanisms of action of vaccines containing aluminum adjuvants: an <i>in vitro</i> vs <i>in vivo</i> paradigm. Springerplus, 2015, vol. 4, no 1, pp. 1-18.		https://springerplus.springeropen.com/articles/10.1186/s40064-015-0972-0

6	<p>Goldblatt D., Southern J., Andrews N. J., Burbidge P., Partington J., Roalfe L., Pinto V.M., Thalasselis V., Plestedd E., Richardson H., Snape M.D., Miller E. Pneumococcal conjugate vaccine 13 delivered as one primary and one booster dose (1+1) compared with two primary doses and a booster (2+1) in UK infants: a multicentre, parallel group randomised controlled trial. <i>Lancet Infect Dis.</i>, 2018, vol. 18, no 2, pp. 171-179.</p>		<p>https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1473309917306540 [doi: 10.1016/S1473-3099(17)30654-0]</p>
7	<p>Kurashova S. S. Various adjuvants effect on immunogenicity of Puumala virus vaccine / S. S. Kurashova, A. A. Ishmukhametov, T. K. Dzagurova, et al. // <i>Front Cell Infect Microbiol.</i>, 2020, vol. 10, pp. 545371.</p>	-	<p>https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2020.545371/full [doi: 10.3389/fcimb.2020.545371]</p>
8	<p>Meites E. Szilagyi P. G., Chesson H. W., Unger E. R., Romero J. R., Markowitz L. E. Human papillomavirus vaccination for adults: updated recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. <i>Am. J. Transplant.</i>, 2019, vol. 19, no 11, pp. 3202-3206.</p>	-	<p>https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ajt.15633 [https://doi.org/10.1111/ajt.15633]</p>

9	Mittal M. K. Revised 4-dose vaccine schedule as part of postexposure prophylaxis to prevent human rabies. <i>Pediatr Emerg Care.</i> , 2013, vol. 29, no 10, pp. 1119-1121.	-	https://journals.lww.com/pec-online/Abstract/2013/10000/Revised_4_Dose_Vaccine_Schedule_as_Part_of.15.aspx [doi: 10.1097/PEC.0b013e3182a63125]
10	Tkachenko E. A., Ishmukhametov A. A., Dzagurova T. K., Bernshtein A. D., Morozov V. G., Siniugina A. A., Kurashova S.S., Balkina A.S., Tkachenko P.E., Kruger D.H., Klempa B. Hemorrhagic fever with renal syndrome Russia. <i>Emerging Infect. Dis.</i> , 2019, vol. 25, no 12, pp. 2325 – 2328.	-	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6874259/ [doi: 10.3201/eid2512.181649]
11	Vaheri A., Strandin T., Hepojoki J., Sironen T., Henttonen H., Mäkelä S., Mustonen J. Uncovering the mysteries of hantavirus infections. <i>Nat. Rev. Microbiol.</i> , 2013, vol. 11, no. 8, pp. 539-550.	-	https://www.nature.com/articles/nr-micro3066