

Д.О.Галахова¹, Ар.А.Сергеев¹, Е.В.Шевцова¹, Ал.А.Сергеев¹, А.С.Замедянская¹, К.А.Титова¹, Л.Н.Шишкина¹, Л.Е.Булычев¹, С.В.Борисевич², В.Н.Подкуйко², А.П.Пирожков², А.В.Ковальчук², Я.В.Полянский², Е.Ю.Вахнов², В.В.Перекрест³, В.А.Шевцов³, А.П.Агафонов¹, А.Н.Сергеев¹

КУПИРОВАНИЕ ПОБОЧНОГО ДЕЙСТВИЯ ВИРУСА ВАКЦИНЫ У ОРАЛЬНО ПРИВИТЫХ МЫШЕЙ ПРОТИВ ОСПЫ

¹ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», п. Кольцово, Российская Федерация; ²ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны РФ, Сергиев Посад, Российская Федерация; ³ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», Москва, Российская Федерация

Целью работы являлось моделирование побочного действия вируса вакцины при оральном оспопрививании мышей и оценка эффективности купирования этого побочного действия с помощью препаратов. **Материалы и методы.** В работе использовали вирусологические и иммунологические методы исследований. **Результаты и выводы.** Воспроизведено побочное действие вируса вакцины у орально иммунизированных мышей. Схемы перорального применения препаратов метисазон, ликопид и соединения НИОХ-14 подтвердили способность купировать побочное действие вируса вакцины и защищать от гибели животных, орально инфицированных вирусом вакцины, штамм Нейровакцина-92. Все исследованные схемы применения препаратов, показавшие купирование побочного действия вируса вакцины, не влияли на показатели противооспенного иммунного ответа при их совместном использовании с ТЭОВак и могут быть использованы для разработки схем безопасного первичного оспопрививания таблетированными вакцинами. Рибомунил и иммудон могут быть использованы как средства усиления противооспенного иммунного ответа.

Ключевые слова: ортопоксвирус, вирус вакцины, первичное оспопрививание, вирус натуральной оспы, таблетированная оспенная вакцина, поствакцинальные осложнения.

Корреспондирующий автор: Галахова Дарья Олеговна, e-mail: gorbatovskaia_do@vector.nsc.ru

D.O.Galakhova¹, Ar.A.Sergeev¹, E.V.Shevtsova¹, Al.A.Sergeev¹, A.S.Zamedyanskaya¹, K.A.Titova¹, L.N.Shishkina¹, L.E.Bulychev¹, S.V.Borisevich², V.N.Podkuiko², A.P.Pirozhkov², A.V.Koval'chuk², Ya.V.Polyansky², E.Yu.Vakhnov², V.V.Perekrest³, V.A.Shevtsov³, A.P.Agafonov¹, A.N.Sergeev¹

Approaches to Reduce Adverse Effect of Vaccinia Virus in Orally Immunized Mice

¹State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector", Kol'tovo, Russian Federation; ²The 48th Central Research Institute of RF Ministry of Defense, Sergiev Possad, Russian Federation; ³Scientific Center for Medicines and Healthcare Products Expertise, Moscow, Russian Federation

Objective of the investigation was to model the adverse action of vaccinia virus (VV), caused by oral immunization of mice and to evaluate efficacy of its reduction, using therapeutic and prophylactic drugs. **Materials and methods.** Virological and immunological research methods were used. **Results and conclusions.** Reproduced was pathological action of VV in the orally infected mice. The ability to reduce the side effect and protect mice from lethal infection was demonstrated by such preparations as Metisazon, Likopid, and NIOCH-14 orally administered in the investigated schemes. Moreover preliminary single oral immunization with TEOVak smallpox vaccine before oral infection with Neurovaccine-92 strain of VV also lowered pathogenic effect and protected mice against death. All the investigated schemes of drug administration did not affect the immune response if used alongside with TEOVak smallpox vaccine and can be deployed to develop safe schemes of primary oral vaccination against smallpox. In addition, such drugs as Ribomunil, Immodon, Ingavirin can be used as means to enhance the immune response to smallpox vaccines.

Keywords: orthopoxvirus, vaccinia virus, primary vaccination, variola virus, oral smallpox vaccine, adverse vaccine reactions.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Funding: The study was financially supported by the Ministry of Defense of the Russian Federation, under the State Contract No N/3/7/133f-11-DGOZ

Corresponding author: Daria O. Galakhova e-mail: gorbatovskaia_do@vector.nsc.ru

Citation: Galakhova D.O., Sergeev Ar.A., Shevtsova E.V., Sergeev Al.A., Zamedyanskaya A.S., Titova K.A., Shishkina L.N., Bulychev L.E., Borisevich S.V., Podkuiko V.N., Pirozhkov A.P., Koval'chuk A.V., Polyansky Ya.V., Vakhnov E.Yu., Perekrest V.V., Shevtsov V.A., Agafonov A.P., Sergeev A.N. Approaches to Reduce Adverse Effect of Vaccinia Virus in Orally Immunized Mice. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 1:84–89. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-84-89

Несмотря на ликвидацию натуральной оспы во всем мире, риск возникновения заболевания сохраняется до сих пор, благодаря возможности сохранения возбудителя в зоне вечной мерзлоты, либо вследствие появления нового патогенного для человека

ортопоксвирусного заболевания [6]. В пользу этого свидетельствует возрастание количества случаев других ортопоксвирусных инфекций [1]. Важно отметить, что в связи с отменой обязательного оспопрививания более 50 % населения планеты не имеет

иммунитета.

Вакцинация против натуральной оспы – единственный исторически проверенный и эффективный способ борьбы с этим заболеванием [1, 2]. Однако существующие лицензированные живые оспенные вакцины для парентерального применения обладают рядом существенных недостатков, связанных с высоким риском развития поствакцинальных осложнений, особенно среди лиц с заболеваниями кожи и иммунодефицитными состояниями, риском инфицирования другими патогенами, неконтролируемой передачей вируса вакцины не привитым [2, 13]. Таким образом, крайне важно разработать такие способы купирования побочного действия штаммов вируса вакцины (ВВ), которые позволят при их массовом использовании обеспечить безопасную вакцинацию населения.

Целью работы было моделирование побочного действия вируса вакцины при оральном осповивании белых мышей и оценка его эффективного купирования лечебно-профилактическими препаратами.

Материалы и методы

В работе использовали штамм Нейровакцина-92 ВВ, Биологическая активность образцов ВВ составила $(8,0 \pm 0,2)$ lg бляшкообразующих единиц (БОЕ)/мл. Для экспериментов использовали мышей обоего пола аутбредной популяции ICR 12–13, 18–19, 24–25 и 30–35-суточного возраста. Животные содержались на стандартном рационе в соответствии с требованиями по гуманному содержанию и использованию животных в экспериментальных исследованиях. В работе использовали культуру клеток Vero из коллекции ГНЦ ВБ «Вектор».

В исследовании использовали таблетированную эмбриональную оспенную вакцину (ТЭОВак) производства ФГБУ «48 ЦНИИИ» МО РФ (Россия), а также зарегистрированные в РФ препараты: арбидол (ОАО «Фармстандарт-Лексредства», Россия), амиксин (ОАО «Фармстандарт-Томскхимфарм», Россия), Реаферон-ЕС-липид (ЗАО «Вектор-Медика», Россия), рибомунил (Пьер Фабр Медикамент Продакшн, Франция), ликопид (ЗАО «Пептек», Россия), иммунал (ЗАО «Сандоз», Россия), имудон (Солвей Фармасьютикалс, Франция). Кроме того, исследовали химическое соединение НИОХ-14 (7-[N¹-(4-трифторметилбензоил)-гидразинокарбонил]-трицикло[3.2.2.0^{2,4}]нон-8-ен-6-карбоновая кислота), синтезированное в Новосибирском институте органической химии им. Н.Н.Ворожцова СО РАН, а также метисазон, который в начале 90-х годов производился ОАО «Химико-фармацевтический комбинат «Акрихин». Препараты вводили мышам перорально в объеме 100–200 мкл. [4]. Изучали следующие дозы и схемы применения лекарственных средств: арбидол, доза 10 мг/кг, амиксин, доза 125 мг/кг, реаферон-ЕС-липид, доза 4000 МЕ, метисазон, доза 60 мг/кг

вводили за сутки до заражения (д.з.) далее в день заражения и каждые 24 ч в течение 8 сут после инфицирования (п.з.); рибомунил, доза 12 мг/кг, имудон, доза 0,36 мг/кг, иммунал, доза 4 мг/кг, ликопид, доза 400 мг/кг вводили за сутки д.з., в день заражения и каждые 24 ч в течение 5 сут п.з.; соединение НИОХ-14, доза 50 мкг/г, вводили в день инфицирования и через 1, 2 сут п.з.; ТЭОВак вводили в дозе 6,0 lg БОЕ за 2 сут д.з. (схема 2), за 4 сут д.з. (схема 4), за 8 сут д.з. (схема 8) и за 16 сут д.з. (схема 16).

Мышей заражали интраназально, вводя вирус-содержащую жидкость (ВСЖ) в объеме 30 мкл/гол. суммарно в обе ноздри, предварительно наркотизировав животных. Оральную вакцинацию мышей проводили без наркоза, для этого в область их зева ротовой полости на 1–2 мин помещали поролоновую губку размером 0,5 см³, смоченную ВСЖ в объеме 100 мкл. Побочное действие ВВ, штамм Нейровакцина-92, для мышей оценивали путем определения величины ЛД₅₀ вируса при интраназальном и пероральном способах заражения [2].

Эффективность купирования патогенных свойств ВВ у животных при использовании препаратов оценивали с помощью определения коэффициента защиты (КЗ) [2]. Влияние препаратов на иммуногенность ТЭОВак оценивали в реакции нейтрализации [11]. Сероконверсию в группах определяли как процент сывороток животных с содержанием противооспепных антител $\geq 1:50$. Определение и сравнение показателей ЛД₅₀ проводили с помощью метода Спирмена-Кербера. Значимость защитного действия схем препаратов оценивали точным тестом Фишера так же, как и значимость сероконверсии в группах животных, получавших препараты. Значимость отличий подтверждали на 95 % уровне надежности [3].

Результаты и обсуждение

Для доклинической оценки свойств противовирусных и иммуномодулирующих препаратов, предупреждающих развитие возможных поствакцинальных осложнений таблетированными вакцинами, необходима модель, которая учитывает особенности течения вакцинального процесса, способ иммунизации, а также степень побочного действия ВВ. Известно, что мыши обладают чувствительностью к различным способам заражения ВВ [9, 10]. При этом вакцинальный процесс, вызванный вирусом в их организме, протекает так же, как у человека [7]. Мыши в качестве модельных животных предпочтительны в связи с простотой содержания, удобством и безопасностью работы с ними, а также возможностью включения в исследование достаточного числа животных для получения точных результатов. При моделировании побочного действия ВВ у мышей использовали штамм Нейровакцина-92 ВВ, так как известно, что этот штамм вызывает патогенное (летальное) побочное действие у кроликов, мышей, хлопковых крыс при интрацеребральном способе введения.

Таблица 1

Результаты оценки чувствительности мышей разных возрастов, инфицированных вирусом вакцины, штамм Нейровакцина-92 ($M \pm S_M$)

Возраст, сут	Масса, г	Величина ЛД ₅₀ при ... способе инфицирования (lg БОЕ)	
		интраназальном	оральном
12–13	9,0 ± 1,0	4,5 ± 0,3	5,3 ± 0,3*
18–19	13,0 ± 1,0	5,4 ± 0,2*	н.д.
24–25	19,0 ± 1,0	6,2 ± 0,2**	н.д.

* Значение ЛД₅₀ достоверно отличается от значения для интраназально зараженных мышей в возрасте 12–13 сут ($p < 0,05$); ** Значение ЛД₅₀ достоверно отличается от значения для двух групп мышей в возрастах 12–13 и 18–19 сут ($p < 0,05$).

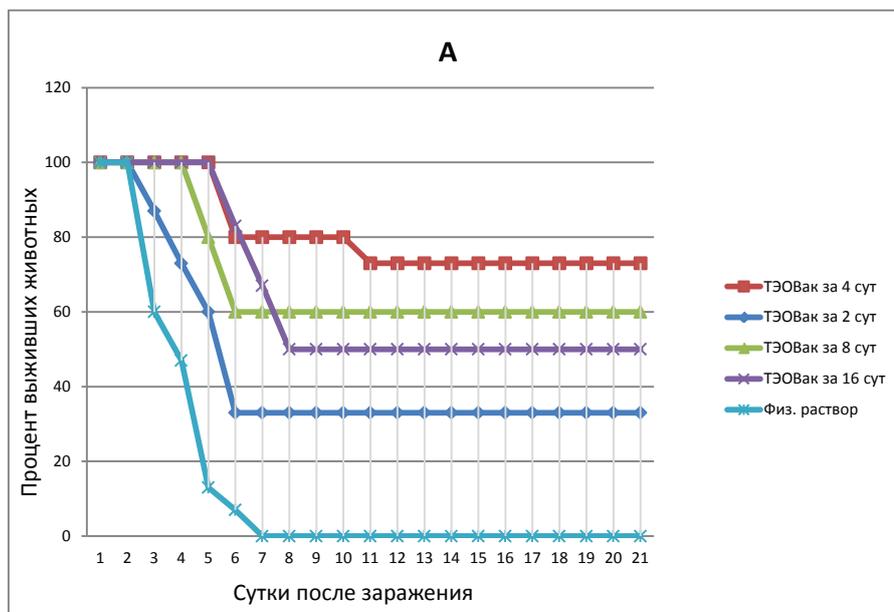
На первом этапе изучали патогенные свойства штамма Нейровакцина-92 ВВ у мышей в возрасте 12–13 сут при интраназальном и оральном способах их инфицирования. Данные представлены в табл. 1. ЛД₅₀ у мышей, интраназально инфицированных штаммом Нейровакцина-92 ВВ, была ниже на 0,8 lg в сравнении с ЛД₅₀ для мышей, инфицированных оральным способом. Судя по всему, в органах дыхательной системы у мышей содержится большее количество чувствительных клеток-мишеней для ВВ по сравнению со слизистой ротовой полости, поэтому мыши более чувствительны к ВВ при респираторном инфицировании. Тем не менее при оральном и интраназальном способах инфицирования штаммом Нейровакцина-92 ВВ у мышей развивалось сходное по клинической картине заболевание. Гибель животных наступала в среднем через 2–7 сут как после интраназального, так и после орального введения 10–100 ЛД₅₀ штамма Нейровакцина-92 ВВ. Вероятнее всего поствакцинальный инфекционный процесс, вызванный штаммом Нейровакцина-92 ВВ в организме интраназально и орально инфицированных мышей, протекает по сходной схеме, в которую вовлечены одни и те же органы-мишени. Гибель животных, вызываемая штаммом Нейровакцина-92 ВВ, можно рассматривать как крайнюю степень побочного действия ВВ. Выявление способности препарата снижать вероятность гибели мышей, инфицированных орально или интраназально штаммом Нейровакцина-92 ВВ, будет свидетельствовать о способности штамма купировать побочное действие вируса. Для оценки эффективности профилактических схем применения препаратов с использованием мышей также сравнительно изучена чувствительность животных разных возрастов к респираторному инфицированию штаммом Нейровакцина-92 ВВ. Результаты исследования, представленные в табл. 1, свидетельствуют о том, что мыши в возрасте 13 сут более чувствительны к штамму Нейровакцина-92 ВВ по сравнению с животными в возрасте 19 и 25 сут ($p < 0,05$). При этом меньшей чувствительностью к штамму Нейровакцина-92 ВВ ($p < 0,05$) обладали интраназально инфицированные мыши в возрасте 25 сут. Мыши в возрасте 13 сут относятся к катего-

рии молодых мышей – «отъемышей», которые имеют незрелую иммунную систему по сравнению с взрослыми особями. По всей видимости, незрелость иммунной системы влияет на чувствительность мышей к инфекции, вызванной штаммом Нейровакцина-92 ВВ. В то же время применительно к разрабатываемой модели побочного действия вируса вакцины использование мышей – «отъемышей» наиболее оправдано. Эффективность купирования побочного действия ВВ препаратами свидетельствует о их способности обеспечивать безопасное оспопрививание людей с иммунопатологическими процессами.

На втором этапе оценивали эффективность препаратов по купированию гибели зараженных мышей, инфицированных орально штаммом Нейровакцина-92 ВВ. Результаты исследований, представленные на рисунке, свидетельствуют о том, что схемы перорального применения препаратов ликолипид и экспериментального соединения НИОХ-14 значимо ($p < 0,05$) защищали мышей от гибели. Коэффициент защиты (КЗ) составил 31 % для схемы применения препарата ликолипид и 100 % для соединения НИОХ-14. Полученные результаты по способности схемы применения соединения НИОХ-14 защищать мышей от гибели, инфицированных патогенным штаммом ВВ, согласуются с данными исследований, проведенных ранее на других моделях ортопоксвирусных инфекций [4, 5]. Схема применения метисазона, используемого при глобальной иммунизации населения и доказавшего противооспенное действие, также достоверно подтвердила способность защищать мышей от летальной инфекции (КЗ = 85 %). Способность снижать гибель мышей, инфицированных орально штаммом Нейровакцина-92 ВВ, также была отмечена при оральном введении ТЭОВак за 2, 4, 8, 16 сут до инфицирования. Так, КЗ составил 33, 73, 60 и 50 % соответственно.

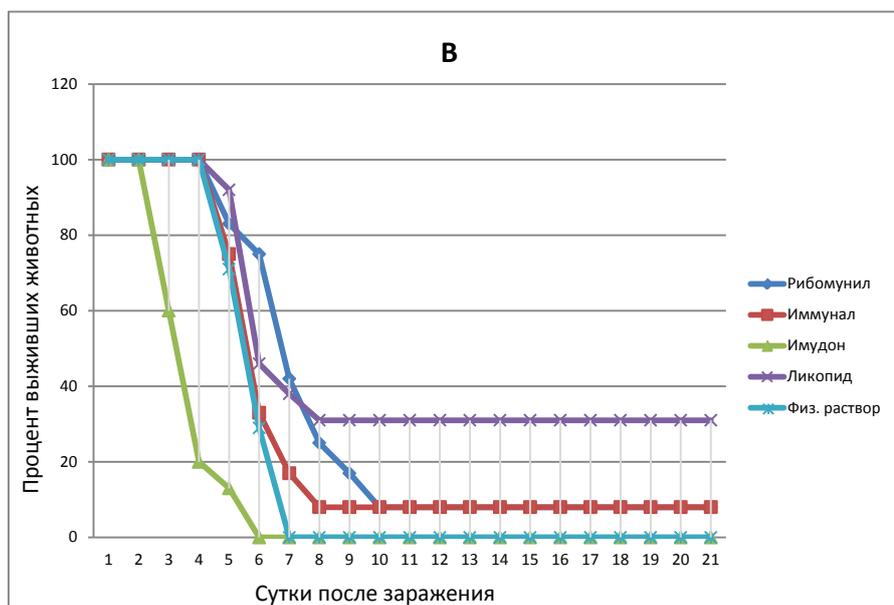
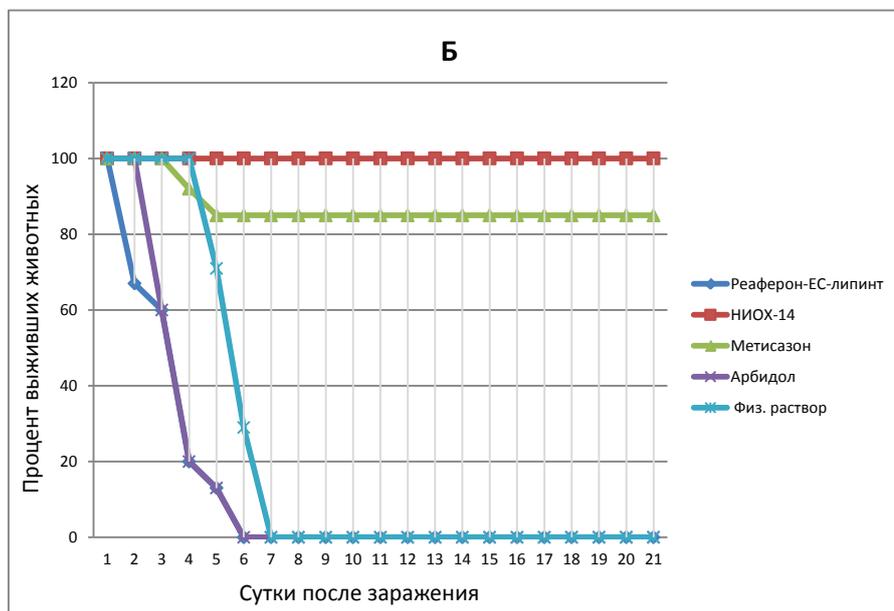
На следующем этапе изучали возможное влияние схем применения препаратов у мышей, орально иммунизированных ТЭОВак, на уровень накопления противооспенных антител и сероконверсию в группах. Результаты, представленные в табл. 2, свидетельствуют о том, что все исследуемые схемы применения препаратов не снижали иммуногенность ТЭОВак. При этом иммуномодулирующие препараты, такие как рибомунил и иммудон в схемах их применения значимо ($p < 0,05$) повышали в 2 раза процент сероконверсии в группах иммунизированных мышей в сравнении с группой контроля (табл. 2).

Таким образом, в результате проведенных исследований воспроизведено побочное действие ВВ для мышей в возрасте 13 сут, инфицированных интраназально или орально штаммом Нейровакцина-92 ВВ. Препараты метисазон, ликолипид и соединение НИОХ-14 в использованных схемах применения защищали мышей от гибели. Однократная оральная иммунизация ТЭОВак, начиная от 2 до 16 сут до орального введения штамма Нейровакцина-92 ВВ, защищает мышей от гибели. В то же время данные препараты



Результаты оценки защитной эффективности различных препаратов на белых мышах, интраназально инфицированных вирусом вакцины, штамм Нейровакцина-92 в дозе 10 ЛД₅₀:

А – динамика защитной эффективности в группах, предварительно иммунизированных ТЭОВак в разные сроки до заражения; *Б* – динамика защитной эффективности противовирусных препаратов; *В* – динамика защитной эффективности иммуномодулирующих препаратов



Результаты оценки антителиобразования ТЭОВак у белых мышей при однократном оральном оспопрививании после применения противовирусных и иммуномодулирующих препаратов

Наименование препарата	Количество животных в группе, шт.	Показатели гуморального противооспенного иммунного ответа у мышей после однократной оральной иммунизации ТЭОВак в дозе 6,5 Ig БОЕ		
		Сероконверсия #, %	Уровень надежности отличий, p	СГТ (I ₉₅ min-max)
Контроль (раствор Хенкса)	10	50		250 (12–615)
Рибомунил	10	100*	0,016	213 (47–968)
Ликопид	10	60	0,500	473 (7–735)
Имудон	10	100*	0,016	512 (61–1398)
Реаферон	10	100*	0,016	125 (72–2390)
Амиксин	10	50	0,671	560 (2–20475)
Спарфлоксацин	8	37,5	0,479	178 (18–348)
Иммунал	8	50	0,681	125 (23–290)
Арбидол	10	50	0,671	125 (7–289)
НИОХ-14	9	66	0,395	214 (16–511)

Примечания: белые мыши в группах имели массу тела (25,0 ± 3,0) г; СГТ – обратная величина среднего геометрического титра противооспенных антител (ПОА) в группе животных, получавших препараты по схеме; * – достоверное отличие сероконверсии (p < 0,05) в сравнении с контролем при использовании точного теста Фишера; # – сероконверсию оценивали при определении доли мышей в группе с титром ПОА ≥ 1:50.

не влияют на показатели противооспенного иммунного ответа, что указывает на перспективность их использования для разработки схем безопасного первичного оспопрививания таблетированными вакцинами. Кроме того, рибомунил и имудон могут быть использованы как средства усиления противооспенного иммунного ответа, что позволит снизить дозы таблетированных вакцин и повысить безопасность первичного оспопрививания.

Финансирование. Данная научная работа проведена при финансовой поддержке Министерства обороны Российской Федерации в рамках Государственного контракта № Н/3/7/133ф-11-ДГОЗ

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Борисевич С.В., Маренникова С.С., Махлай А.А., Терентьев А.И., Логинова С.Я., Перекрест В.В., Краснянский В.П., Бондарев В.П. Оспа обезьян: особенности распространения после отмены обязательного оспопрививания. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2012; 2:69–73.
2. Воробьев А.А., Подкуйко В.Н., Максимов В.А. Пероральная вакцинация против оспы (к вопросу о возврате оспопрививания). *Вестник РАМН.* 2003; 1:5–10.
3. Закс Л. Статистическое оценивание. М.: Статистика; 1976. 598 с.
4. Кабанов А.С., Сергеев Ал.А., Шишкина Л.Н., Булычев Л.Е., Скарнович М.О., Сергеев Ар.А., Бормотов Н.И., Пьянков О.В., Серова О.А., Боднев С.А., Селиванов Б.А., Тихонов А.Я., Агафонов А.П., Сергеев А.Н. Сравнительное изучение противовирусной активности химических соединений в отношении ортопоксвирусов в экспериментах *in vivo*. *Вопр. вирусол.* 2013; (4):39–43.
5. Логинова С.Я., Борисевич С.В., Максимов В.А., Бондарев В.П., Перекрест В.В., Шустер А.М. Купирование поствакцинальных осложнений после оспопрививания индукторами интерферона. *Химиотерапия и антибиотика.* 2010; 1–2:6–11.
6. Онищенко Г.Г., Сандахчиев Л.С., Нетесов С.В., Мартынюк Р.А. Биотерроризм: национальная и глобальная угроза. *Вестник РАН.* 2003; 73(3):195–204.
7. Berhanu A., King D.S., Mosier S., Jordan R., Jones K.F., Hruby D.E., Grosenbach D.W. ST-246 inhibits *in vivo* poxvirus dissemination, virus shedding, and systemic disease manifestation. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53(12):4999–5009. DOI: 10.1128/AAC.00678-09.
8. Elsendoorn A., Agius G., Le Moal G., Aajaji F., Favier A-L., Wierzbicka-Hainault E., Béraud G., Flusin O., Crance J-M., Roblot F. Severe ear chondritis due to cowpox virus transmitted by a pet rat. *J. Infect.* 2011; 63(5):391–3. DOI: 10.1016/j.jinf.2011.06.004.

10.1128/AAC.00678-09.

8. Elsendoorn A., Agius G., Le Moal G., Aajaji F., Favier A-L., Wierzbicka-Hainault E., Béraud G., Flusin O., Crance J-M., Roblot F. Severe ear chondritis due to cowpox virus transmitted by a pet rat. *J. Infect.* 2011; 63(5):391–3. DOI: 10.1016/j.jinf.2011.06.004.

9. Fisher R.W., Reed J.L., Snoy P.J., Mikolajczyk, Bray M., Scott D.E., Kennedy M.C. Postexposure prevention of progressive vaccinia in SCID mice treated with vaccinia immune globulin. *Clin. Vaccine Immunol.* 2011; 18(1):67–74. DOI: 10.1128/CVI.00280-10.

10. Goulding J., Bouge R., Tahiliani V., Croft M., Salek-Ardakani S. CD8 T cells are essential for recovery from a respiratory vaccinia virus infection. *J. Immunol.* 2012; 189(5):2432–40. DOI: 10.4049/jimmunol.1200799.

11. Green S., Ennis F.A., Mathew A. Long term recall of memory CD8 T cells in mice to first and third generation smallpox vaccines. *Vaccine.* 2011; 29(8):1666–76. DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.12.036.

12. Reed K.D., Melski J.W., Graham M.B., Regnery R.L., Sotir M.J., Wegner M.V., Kazmierczak J.J., Stratman E.J., Li Y., Fairley J.A., Swain G.R., Olson V.A., Sargent E.K., Kehl S.C., Frace M.A., Kline R., Foldy S.L., Davis J.P., Damon I.K. The detection of monkeypox in humans in the Western Hemisphere. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350(4):342–50. DOI: 10.1056/NEJMoa032299.

13. Vellozzi C., Averhoff F., Lane J.M., Wen X., Moore A.C., Santibanez S., Kroger A., Hasbrouck L.M., Kennedy A., Casey C.G. Superinfection following smallpox vaccination (Vaccinia), United States: surveillance January 2003 through January 2004. *Clin. Infect. Dis.* 2004; 39(11):1660–6. DOI: 10.1086/425617.

References

1. Borisevich S.V., Marennikova S.S., Makhlay A.A., Terent'ev A.I., Loginova S.Ya., Perekrest V.V., Krasnyanskiy V.P., Bondarev V.P. [Monkeypox: peculiarities of dissemination after cancellation of the obligatory smallpox vaccination]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2012; 2:69–73.
2. Vorob'ev A.A., Podkuiko V.N., Maksimov V.A. [Oral vaccine against smallpox (concerning the return of smallpox vaccination)]. *RAMS Bulletin.* 2003; 1:5–10.
3. Zaks L. [Statistical Evaluation]. M.: "Statistika"; 1976. 598 p.
4. Kabanov A.S., Sergeev A.I., Shishkina L.N., Bulychev L.E., Skarnovich M.O., Sergeev Ar.A., Bormotov N.I., P'yankov O.V., Serova O.A., Bodnev S.A., Selivanov B.A., Tikhonov A.Ya., Agafonov A.P., Sergeev A.N. [Comparative analysis of anti-viral activity of chemical compositions towards Orthopoxviruses experimentally *in vivo*]. *Vopr. Virusol.* 2013; (4):39–43.
5. Loginova S.Ya., Borisevich S.V., Maksimov V.A., Bondarev V.P., Perekrest V.V., Shuster A.M. [Relief of post-vaccinal complications after smallpox immunization with interferon inducers]. *Khimioterapiya i Antibiotiki.* 2010; 1–2:6–11.
6. Onishchenko G.G., Sandakhchiev L.S., Netesov S.V., Martynyuk R.A. [Bioterrorism: national and global threat]. *RAS Bulletin.* 2003; 73(3):195–204.
7. Berhanu A., King D.S., Mosier S., Jordan R., Jones K.F., Hruby D.E., Grosenbach D.W. ST-246 inhibits *in vivo* poxvirus dissemination, virus shedding, and systemic disease manifestation. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53(12):4999–5009. DOI: 10.1128/AAC.00678-09.
8. Elsendoorn A., Agius G., Le Moal G., Aajaji F., Favier A-L., Wierzbicka-Hainault E., Béraud G., Flusin O., Crance J-M., Roblot F. Severe ear chondritis due to cowpox virus transmitted by a pet rat. *J. Infect.* 2011; 63(5):391–3. DOI: 10.1016/j.jinf.2011.06.004.

9. Fisher R.W., Reed J.L., Snoy P.J., Mikolajczyk, Bray M., Scott D.E., Kennedy M.C. Postexposure prevention of progressive vaccinia in SCID mice treated with vaccinia immune globulin. *Clin. Vaccine Immunol.* 2011; 18(1):67–74. DOI: 10.1128/CVI.00280-10.

10. Goulding J., Bouge R., Tahiliani V., Croft M., Salek-Ardakani S. CD8 T cells are essential for recovery from a respiratory vaccinia virus infection. *J. Immunol.* 2012; 189(5):2432–40. DOI: 10.4049/jimmunol.1200799.

11. Green S., Ennis F.A., Mathew A. Long term recall of memory CD8 T cells in mice to first and third generation smallpox vaccines. *Vaccine.* 2011; 29(8):1666–76. DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.12.036.

12. Reed K.D., Melski J.W., Graham M.B., Regnery R.L., Sotir M.J., Wegner M.V., Kazmierczak J.J., Stratman E.J., Li Y., Fairley J.A., Swain G.R., Olson V.A., Sargent E.K., Kehl S.C., Frace M.A., Kline R., Foldy S.L., Davis J.P., Damon I.K. The detection of monkeypox in humans in the Western Hemisphere. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350(4):342–50. DOI: 10.1056/NEJMoa032299.

13. Vellozzi C., Averhoff F., Lane J.M., Wen X., Moore A.C., Santibanez S., Kroger A., Hasbrouck L.M., Kennedy A., Casey C.G. Superinfection following smallpox vaccination (Vaccinia), United States: surveillance January 2003 through January 2004. *Clin. Infect. Dis.* 2004; 39(11):1660–6. DOI: 10.1086/425617.

Authors:

Galakhova D.O., Sergeev Ar.A., Shevtsova E.V., Sergeev A.I.A., Zamedyanskaya A.S., Titova K.A., Shishkina L.N., Bulychev L.E., Agafonov A.P., Sergeev A.N. State Research Centre of Virology and Biotechnology

“Vector”. Kol’tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Borisevich S.V., Podkuiko V.N., Pirozhkov A.P., Koval’chuk A.V., Polyansky Ya.V., Vakhnov E.Yu. The 48th Central Research Institute of the RF Ministry of Defense. Sergiev Possad, Russian Federation.

Perekrest V.V., Shevtsov V.A. Scientific Center for Expertise of Medical Products. 8, Petrovsky Bulvar, Moscow, 127051, Russian Federation. E-mail: perekrest@expmed.ru

Об авторах:

Галахова Д.О., Сергеев Ар.А., Шевцова Е.В., Сергеев А.И.А., Замедянская А.С., Титова К.А., Шишкина Л.Н., Бульчев Л.Е., Агафонов А.П., Сергеев А.Н. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Борисевич С.В., Подкуйко В.Н., Пирожков А.П., Ковальчук А.В., Полянский Я.В., Вахнов Е.Ю. 48 Центральный научно-исследовательский институт Министерства обороны Российской Федерации. Российская Федерация, Сергиев Посад.

Перекрест В.В., Шевцов В.А. Научный центр экспертизы средств медицинского применения. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8. E-mail: perekrest@expmed.ru

Поступила 24.06.15.