

УДК 547.282:616.98:615.317

## СРАВНЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ САПОНИНА ТАУРОЗИДА Sx1 НА ВЫРОБОТКУ АНТИТЕЛ ПРИ ИММУНИЗАЦИИ РАЗЛИЧНЫМИ ПРОТИВОГРИППОЗНЫМИ ВАКЦИНАМИ

Малыгина В. Ю.<sup>1</sup>, Андроновская И. Б.<sup>1</sup>, Криворученко Ю. Л.<sup>1</sup>, Гришкорец В. И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Медицинская академия имени С.И.Георгиевского (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия

<sup>2</sup>Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия  
E-mail: vera.maligina@mail.ru

Исследовали влияние перорального введения тритерпенового сапонина таурозидов Sx1, полученного из плюща крымского *Hedera taurica* Сарт., на формирование гуморального иммунитета у мышей линии BALB/c при иммунизации противогриппозными вакцинами различного состава. С помощью реакции торможения гемагглютинации (РТГА) было изучено накопление анти-гемагглютининовых антител разной специфичности на 14 день после вакцинации и на 5 день после ревакцинации.

Было обнаружено, что 3х-дневное введение таурозидов Sx1 в дозе 200 мкг/день после иммунизации вакциной Гриппол, содержащей адъювант Полиоксидоний, достоверно повышало выработку антител к антигенам вирусов гриппа типов А и В при первичном иммунном ответе, и к гемагглютинином Н1 и Н3 вирусов гриппа типа А – при вторичном иммунном ответе. Подобного стимулирующего эффекта не было обнаружено при иммунизации безадъювантной вакциной Инфлювак.

**Ключевые слова:** сапонин; адъювант; вакцина; грипп.

### ВВЕДЕНИЕ

Угроза эпидемии гриппа продолжает оставаться одной из актуальных проблем человечества. По данным ВОЗ, во время эпидемий гриппа заболевает до 5–10 % взрослого и до 20–30 % детского населения, ежегодная летальность составляет 250000–500000 человек, а экономический ущерб доходит до 6 миллионов долларов на 100000 населения [1]. Пожилые старше 65 лет, дети до 5 лет жизни, а также лица с различными хроническими соматическими заболеваниями входят в группу риска по развитию осложнений после перенесенного гриппа. Отдельную группу риска составляют медицинские работники, работники транспорта и сферы обслуживания. При выработке стратегии борьбы с гриппозной инфекцией ведущее место отводится вакцинации. Её рассматривают как наиболее эффективный способ профилактики и снижения смертности населения, защищающий от заболевания до 80 % взрослых и детей [2]. Это связано с появлением амантадин-устойчивых вирусов А(Н3N2) и А(Н1N1), а также распространением вирусов гриппа А(Н1N1), резистентных к ингибитору вирусной нейраминидазы озелтамивиру, что снижает эффективность противовирусной терапии [3]. Существует более десятка разновидностей

российских и зарубежных вакцин, как живых, так и инактивированных. Последние приобрели большую популярность в связи с меньшей реактогенностью и высокой эффективностью, которая увеличивается при включении в них адьюванта. Наиболее часто в качестве адьюванта использовали гидроокись алюминия. В результате исследований последних лет разработаны и другие, более активные адьюванты, например MF59 и AS03, состоящие из сквалена, сурфактанта полисорбата 80 и сорбитана триолеата или витамина Е (соответственно), использующиеся в приготовлении противогриппозных вакцин [4]. Большой интерес отводится комплексным иммуноадьювантам ISCOMS и ISCOMATRIX, состоящим из сапонины, полученного из *Quillaja saponaria*, с добавлением холестерина и фосфолипида. Сапонины – это большая группа гликозидов чаще растительного происхождения. Они подавляют жизнедеятельность грибов, бактерий, вирусов и простейших, стимулируют гуморальный и клеточный иммунитет, но обладают гемолитической активностью, что ограничивает возможности использования сапонинов для лечения и профилактики заболеваний людей [5–8].

Среди инактивированных вакцин, применяемых в России, наименее реактогенными считаются Инфлювак и Гриппол. Вакцина Инфлювак производства Abbott Biologicals B. V., Нидерланды, состоит из поверхностных антигенов гемагглютинаина (ГА) и нейраминидазы (НА) актуальных вирусов гриппа типа А и В, выращенных на куриных эмбрионах. В состав этой вакцины адьювант не входит. Трехвалентная инактивированная полимер-субъединичная вакцина Гриппол производства «Микроген», Москва, также содержит поверхностные антигены ГА и НА актуальных вирусов гриппа. Она соответствует международным требованиям по эффективности для гриппозных вакцин, не содержит консерванта и применяется для массовой иммунизации детей против гриппа с 6 месяцев. Эта вакцина продемонстрировала высокую эпидемическую и экономическую эффективность [9]. Вакцина Гриппол содержит синтетический полиэлектролит Полиоксидоний, введение которого в состав вакцины позволило снизить в 3 раза содержание вирусных антигенов по сравнению с зарубежными аналогами [10, 11].

Вакцина Гриппол обладает низкой реактогенностью, высокой безопасностью и может вводиться сочетанно с вакцинами Национального календаря профилактических прививок вне зависимости от соматической патологии ребенка. Местные и общие реакции слабой и средней степени возникают в единичных случаях, сочетанное введение вакцин не влияет на их частоту и выраженность [12].

Цель данной работы – изучить влияние перорального введения таурозида Sx1 на напряженность гуморального иммунитета при иммунизации противогриппозными вакцинами Инфлювак и Гриппол.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали таурозид Sx1 – тритерпеновый гликозид с формулой 3-O-a-L рамнопиранозил (1→2)-a-L-арабинопиранозид хедерагенина, выделенный из крымского плюща *Hedera taurica* Carr. (Araliaceae) как описано ранее [13]. В состав вакцины Гриппол 2005/2006, использованной в работе, входили штаммы: AIVR-116(H1N1) – подобный A/New Caledonia/20/99; NYMC X-157 (A/New

York/55/2004) – подобный A/California/7/2004(H3N2); B/Jiangsu/10/2003 – подобный B/Shanghai/361/2002. Доза (0,5 мл) вакцины содержала по 5 мкг гемагглютинина, вирусов гриппа типов A(H1N1), A(H3N2) и 11 мкг вируса типа В, а также Полиоксидоний 500 мкг. Вакцина Инфлювак сезона 2011–2012 состояла из поверхностных антигенов ГА и нейраминидазы (НА). В её состав входили штаммы A/California/7/2009(H1N1) – подобный NYMC X-181; A/Perth/16/2009(H3N2) – подобный A/Victoria/210/2009 NYMC X-187; B/Brisben/60/2008. Доза (0,5 мл) вакцины содержала по 15 мкг ГА вирусов гриппа типов A(H1N1), A(H3N2) и вируса типа В.

Уровни антигемагглютининовых антител у иммунизированных гриппозными вакцинами мышей определяли с помощью микроварианта реакции торможения гемагглютинации (РТГА) в 96-луночных пластиковых планшетах для осадочных реакций. Для постановки РТГА с формализированными эритроцитами кур использовали стандартные гриппозные диагностикумы: В/Хабаровск/14/05; А/Новая Каледония/20/99(H1N1); А/Нью-Йорк/55/04(H3N2), а также А/Калифорния/07/2009 (H1N1) А/Висконсин/67/2008(H3N2).

#### ***Подбор дозы вакцины Гриппол***

Эксперимент был проведен на 16 мышах линии BALb/c. Животные были разделены на четыре экспериментальные группы по 4 в каждой. Вакцину вводили внутримышечно в объеме 0,1 мл в бедро в различных разведениях в изотоническом растворе NaCl (ИР). На 7-й, 14-й и 21-й дни после введения вакцины у мышей определяли уровни антигемагглютининовых антител с помощью РТГА.

#### ***Схема вакцинации***

Группы мышей по 10 животных весом 25–30 г иммунизировали путем внутримышечного введения разведенной 1:10 вакцины по 0,1 мл в бедро. Контрольной группе животных по той же схеме вводили ИР. Через 14 дней у животных из хвостовой вены брали кровь для определения титров антигемагглютининов, используя микровариант РТГА с формализированными эритроцитами кур и стандартными гриппозными диагностикумами. Через 4 месяца после вакцинации проводили ревакцинацию. Через 5 дней у животных брали кровь из хвостовой вены для выявления титров антигемагглютининов. Исследование соответствовало принципам Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях.

#### ***Введение таурозида Sx1***

Использовали терапевтическую схему введения сапонина. Животных поили дважды в день в течение 3 дней после вакцинации раствором сапонина с концентрацией 0,5 и 5 мг/мл (доза 20 и 200 мкг/мышь/день соответственно). В контрольной группе животным перорально вводили ИР.

#### ***Статистическая обработка***

Статистическая обработка полученных данных проведена с применением методов вариационной статистики с вычислением средних величин (M), оценкой вероятности расхождений (m), оценкой достоверности изменений с использованием t-критерия Стьюдента. За достоверную принималась разность средних значений при  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выраженность выработки антител против гемагглютинина стандартных штаммов вирусов гриппа при иммунизации различными разведениями гриппозной вакцины Гриппол приведена в таблицах 1 и 2. Как видно из таблицы 1, введение вакцины в разведении 1:10 формировало более выраженный и продолжительный иммунный ответ против антигенов, содержащихся в стандартном диагностикуме А/Москва/10/99(Н3N2), чем введение вакцины Гриппол, разведенной 1:100 и 1:1000. При введении неразведенной вакцины и вакцины в разведении 1:10 динамика образования и уровни антител не имели существенных различий, начиная с 14 дня наблюдения.

**Таблица 1**  
**Титры антигемагглютининовых антител против стандартного антигена вируса А/Москва/10/99(Н3N2) в сыворотках мышей, иммунизированных вакциной Гриппол при различных дозах введения вакцины**

Разведение вакцины	Обратные титры антител (среднее значение)		
	7 день	14 день	21 день
Цельная	640,0±0	140,0±40,0	266,7±323,3
1 : 10	320,0±0	140,0±40,0	280,0±80,0
1 : 100	440,0±240,0	160,0±0	50,0±20,0
1 : 1000	480,0±226,2	80,0±0	40,0±0

Сыворотка мышей контрольной группы имела фоновый титр антител в пределах 1:20 – 1:40.

Из таблицы 2 видно, что близкие титры антигемагглютининовых против антигенов, содержащихся в стандартном диагностикуме А/Новая Каледония/20/99(Н1N1), обнаруживались в сыворотках мышей после вакцинации различными разведениями вакцины.

**Таблица 2**  
**Титры антигемагглютининовых антител против стандартного антигена вируса А/Новая Каледония/20/99(Н1N1) в сыворотках мышей, иммунизированных вакциной Гриппол при различных дозах введения вакцины**

Разведение вакцины	Обратные титры антител (среднее значение)		
	7 день	14 день	21 день
1 : 10	100,0±69,3	70,0±20,0	140,0±40,0
1 : 100	160,0±0	426,7±184,7	115,0±138,9
1 : 1000	120,0±56,6	80,0±0	40,0±0

Сыворотка мышей контрольной группы имела фоновый титр антител в среднем 1:20 – 1:40.

## СРАВНЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ САПОНИНА ...

Поскольку к концу наблюдений наиболее высокие титры антигемагглютининов к антигенам Н3 и Н1 сохранялись при иммунизации вакциной Гриппол в разведении 1:10 для проведения дальнейших экспериментов было выбрано именно это разведение вакцины.

Результаты исследования с пероральным 3-х дневным терапевтическим введением сапонина таурозида Sx1 после внутримышечной иммунизации вакциной Гриппол приведены в таблице 3. Как видно из таблицы при введении таурозида Sx1 на 14 день после вакцинации в сыворотках мышей, получавших сапонин, статистически достоверно по сравнению с контролем возростал титр антител против Н1 антигена, содержащегося в стандартном диагностикуме А/Новая Каледония/20/99(Н1N1). На 5 день после ревакцинации у животных, получавших сапонин, титры антител, специфичных к Н1 и Н3 гемагглютинином диагностикумов А/Новая Каледония/20/99 (Н1N1) и А/Нью-Йорк/55/04 (Н3N2) соответственно, также были статистически выше, чем у животных контрольной группы.

**Таблица 3**

**Титры антигемагглютининов после иммунизации вакциной Гриппол одновременно с пероральным введением таурозида Sx1 в дозе 200 мкг/день**

Дни после введения вакцины	Группы животных	Обратные титры антител, специфичных к антигенам диагностикумов:		
		В/Хабаровск/14/05	А/Новая Каледония/20/99 (Н1N1)	А/Нью-Йорк/55/04 (Н3N2)
Вакцинация, 14 день	контроль	626,7±220,9	120,0±25,3	160,0±0,0
	таурозид Sx1	600,0±233,4	1280,0±286,2**	426,6±173,6
Ревакцинация, 5 день	контроль	8,0±8,0	480,0±92,4	720,0±201,3
	таурозид Sx1	16,0±16,0	1536,0±256,0*	2048,0±313,5**

\*– достоверная разница между контролем и опытом  $P \leq 0,01$

\*\*– достоверная разница между контролем и опытом  $P \leq 0,05$

Результаты исследования с пероральным 3-х дневным терапевтическим введением сапонина таурозида Sx1 после внутримышечной иммунизации вакциной Инфлювак приведены в таблице 4. Как видно из таблицы, пероральное введение таурозида Sx1 ни в одной из изученных концентрациях не влияло на накопление антител к Н1 и Н3 гемагглютинином, содержащимся в диагностикумах А/Калифорния/7/2009 (Н1N1) и А/Висконсин/67/2008(Н3N2) соответственно. Это было показано как после вакцинации на 14 день, так и после ревакцинации на 5 день эксперимента.

Таблица 4

Титры антигемагглютининов при первичном иммунном ответе после иммунизации вакциной Инфлювак

Дни после введения вакцины	Группы животных, доза таурозида Sx1	Обратные титры антител, специфичных к антигенам диагностикумов:	
		A/Калифорния/07/2009 (H1N1)	A/Висконсин/67/2008(H3N2)
Вакцинация, 14 день	контроль	31,2±19,4	14,4±7,3
	таурозид Sx1, 20 мкг/день	15,2±2,5	6,6±2,3
	таурозид Sx1, 200 мкг/день	30,4±14,0	10,0±4,4
Ревакцинация, 5 день	контроль	6,0±2,1	8,5±3,3
	таурозид Sx1, 20 мкг/день	4,0±3,0	4,0±0,0
	таурозид Sx1, 200 мкг/день	8,7±5,8	7,3±1,6

В последнее время, учитывая разнообразие вакцин, присутствующих на международном рынке средств профилактики гриппа, стал возрастать интерес к вопросу о сравнительной активности адъювантных и безадъювантных вакцин различного состава и антигенной нагрузки, а также об их влиянии на врожденный и приобретенный иммунитет. Было показано, что вакцина Гриппол мощнее индуцирует формирование эффекторов как врожденного так и приобретенного иммунитета по сравнению с безадъювантными вакцинами, несмотря на меньшее количество антигена в вакцинирующей дозе у адъювантной вакцины [14]. Наши исследования также показали, что при одинаковой схеме введения титры антигемагглютининов в сыворотках мышей, иммунизированных вакциной Гриппол, на порядок или два порядка выше, чем после введения вакцины Инфлювак.

Некоторые растительные продукты при их пероральном и парентеральном введении усиливают иммунный ответ на антигены вакцин, вводимых другим путем. Так Бетулин (компонент экстракта бересты березы) при пероральном введении в сочетании с иммунизацией против лептоспироза и фузобактериоза животных усиливал выработку антител, специфичных к вакцинным антигенам [15].

Известно, что сапонины, обладающие адъювантными свойствами и рассматриваемые как потенциальные компоненты вакцин, например Quil A, обладают гемолитической активностью, вызывают местную воспалительную реакцию и проявляют системную токсичность. Это ограничивает возможности их использования для человека, но не препятствует применению в составе вакцин для животных [16, 17]. Сообщалось, что внутрибрюшинное введение антирабической вакцины при пероральном введении мышам 10 мг *Quillaja*-сапонины до 90–100 % увеличивало выживаемость мышей, зараженных вирусом бешенства, по сравнению с животными, которых не иммунизировали, или иммунизировали вакциной без

сапонины. Этот эффект авторы исследования связывали с усилением выработки противовирусных антител при совместном введении вакцины и сапонины [18].

В нашем исследовании было показано, что протективный эффект таурозида Sx1 был подобен действию сапонины из *Quillaja saponaria*, поскольку усиливал выработку противовирусных антител при его введении отдельно от антигенов адъювантной вакцины Гриппол. Подобный эффект отсутствовал при введении мышам безадъювантной вакцины Инфлювак. Это указывает на то, что иммунопотенцирующее действие сапонины таурозида Sx1 зависит от наличия в составе вакцины адъюванта Полиоксидония. Таким образом, установлена зависимость иммуностимулирующего действия сапонины, вводимого перорально, от наличия в составе вакцины адъюванта определенного типа (полиэлектролита Полиоксидония).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом было установлено, что пероральное 3х-дневное введение сапонины таурозида Sx1 в дозе 200 мкг/день после внутримышечной иммунизации вакциной Гриппол, содержащей адъювант Полиоксидоний, повышало выработку антител к гемагглютинином H1 и H3, входящим в состав вакцины, при первичном и вторичном иммунном ответе. Пероральное 3х-дневное введение сапонины таурозида Sx1 в дозах 20 и 200 мкг/день после иммунизации безадъювантной вакциной Инфлювак не повышало выработку антител к вирусным гемагглютинином.

Вероятно, проявление иммунопотенцирующего эффекта при пероральном введении сапонины таурозида Sx1 на фоне внутримышечной иммунизации гриппозной вакциной зависит от наличия адъюванта в составе вакцины, например Полиоксидония в вакцине Гриппол.

### Список литературы

1. Пинегин Б. В. Влияние тривалентной конъюгированной полимер-субъединичной вакцины Гриппол на иммунный статус привитых добровольцев / Б. В. Пинегин, А. С. Иванова, С. В. Климова [и др.] // Иммунология. – 2003. – № 3. – С. 8–15.
2. CDC. Prevention and control of influenza with vaccines: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2010 // MMWR. – 2010. – №59 (RR–8).
3. Hayden F. G. Emerging influenza antiviral resistance threats / F. G. Hayden, de Jong M. D // The Journal of Infectious Diseases. – 2011. – Vol. 203, №1. – P. 6–10.
4. Jalilian B. Properties and prospects of adjuvants in influenza vaccination – messy precipitates or blessed opportunities? / B. Jalilian, S. H. Christiansen, H. B. Einarsson, M. R. Pirozyan // Molecular and Cellular Therapies. – 2013. – №1. – P. 2.
5. Sparg S. G. Biological activities and distribution of plant saponins / S. G. Sparg, M. T. Light, van Staden J. // Journal of Ethnopharmacology. – 2004. – № 94. – P. 219–243.
6. Sindambiwe J. B. Evaluation of biological activities of triterpenoid saponins from *Maesa lanceolata* / J. B. Sindambiwe, M. Calomme, S. Geerts [et al.] // Journal of Natural Products. – 1998. – №61. – P. 585–590.
7. Baedr G. Cytotoxicity of triterpenoid saponins / Relationships between the structures of glycosides of polygalacic acid and their activities against pathogenic *Candida* species / G. Baedr, M. Seibold, K. Tintelnot [et al.] // Pharmazie. – 2000. – №55. – P. 72–74.
8. Mshvildadze V. Antifungal and antiprotozoal activities of saponins from *Hedera colchica* / V. Mshvildadze, A. Favel, F. Delmas [et al.] // Pharmazie. – 2000. – №55. – P. 325–326.

9. Салтыкова Т. С. Эпидемиологическая и экономическая эффективность иммунизации взрослого работоспособного населения коммерческой гриппозной вакциной «Гриппол® плюс» / Т. С. Салтыкова, В. В. Романенко, О. В. Минаева // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2015. – № 5. – С. 65–71.
10. Сенцова Т. Б. Острые респираторные вирусные инфекции и их профилактика у детей с atopическими болезнями / Т. Б. Сенцова, И. И. Балаболкин, Л. А. Булгакова [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2003. – Т. 2, № 3. – С. 8–15.
11. Хаитов Р. М. Вакцины нового поколения и проблемы биобезопасности / Р. М. Хаитов // Цитокины и воспаление. – 2005. – № 3. – С. 70–75.
12. Харит С. М. Результаты исследования уровней специфических антител на сочетанное введение вакцин против гриппа, кори, краснухи и паротита и АДС-М у детей с хроническими соматическими заболеваниями / С. М. Харит, А. А. Рулева, О. В. Голева [и др.] // Детские инфекции. – 2014. – Т. 13, № 3. – С. 29–35.
13. Гришковец В. И. Тритерпеновые гликозиды из *Hedera Taurica*. X. Структура соединений F4, I и J из листьев крымского плюща / В. И. Гришковец, Н. В. Толкачёва, А. С. Шашкова, В. Я. Чирва // Химия природ. соед. – 1992. – № 6. – С. 683–686.
14. Хромова Е. А. Сравнительная активность вакцин против гриппа: влияние на субпопуляционную структуру лимфоцитов / Е. А. Хромова, И. А. Семочкин, Э. А. Ахматова [и др.] // Журн. Микробиол. – 2016. – № 6. – С. 61–65.
15. Красиков А. П. Стимуляция иммунного ответа с помощью Бетулина при его сочетанном применении с вакцинами против лептоспироза и фузобактериоза животных / А. П. Красиков, И. Г. Алексеева, А. В. Ушаков // Ветеринарная патология. – 2014. – № 2 (48). – С. 45–50.
16. Sun H. X. Advances in saponin-based adjuvants / H. X. Sun, Y. Xie., Y. P. Ye // Vaccine. – 2009. – № 27 (March (12)). – P. 1787–1796.
17. Kensil C. R. Separation and characterization of saponin with adjuvant activity from *Quillaja saponaria* Molina cortex. / C. R. Kensil, U. Patel, M. Lennick // *J. Immunol.* – 1991. – № 146 (January (2)). – P. 431–437.
18. Chavali S. R. Immunopotentiality by orally-administered *Quillaja* saponins: effects in mice vaccinated intraperitoneally against rabies / S. R. Chavali, L. D. Barton, J. B. Campbell // *J. Clin. Exp. Immunol.* – 1988. – № 74. – P. 339–343.

## **A COMPARISON OF THE EFFECTS OF SAPONIN TAUROSIDE Sx1 ORAL ADMINISTRATION ON ANTIBODY PRODUCTION DURING IMMUNIZATION WITH DIFFERENT ANTI-INFLUENZA VACCINES**

***Maligina V. Yu., Andronovskaja I. B., Krivorutchenko Yu. L., Grishkovets V. I.***

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia  
E-mail: vera.maligina@mail.ru*

The effect of oral administration of triterpene saponin Tauroside Sx1, derived from Crimean ivy tree *Hedera taurica* Carr., on the humoral immune response development in BALB/c mice immunized with different anti-influenza vaccines has been investigated. Rising of anti-hemagglutinin antibody titers has been studied with the help of hemagglutination inhibition assay (HIA) on the day 14 after vaccination and the day 5 after re-vaccination.

It has been found that Tauroside Sx1 oral administration in a dose of 200 mkg/mouse/day within 3 days after immunization with Grippol vaccine, containing

Polyoxidonium adjuvant, has significantly increased antibody production against both type A and type B influenza virus antigens in primary immune response, and against type A influenza viruses hemagglutinins H1 and H3 in secondary immune response. No stimulating effect has been seen with adjuvant-free Influvac vaccine.

**Keywords:** saponin, adjuvant, vaccine, influenza.

#### References

1. Pinegin B. V., Ivanova A. S., Klimova S. V. i dr. Vlijanie trivalentnoj kon'jugirovannoj polimer-subedinichnoj vakciny Grippol na immunnyj status privityh dobrovol'cev, *Immunologija*, **3**, 8 (2003). (in Russ.).
2. CDC. Prevention and control of influenza with vaccines: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2010. *MMWR*, **59** (2010).
3. Hayden F. G., de Jong M. D. Emerging influenza antiviral resistance threats, *The Journal of Infectious Diseases*, **203**(1), 6 (2011).
4. Jalilian B., Christiansen S. H., Einarsson H. B., Pirozyan M. R., Petersen E., Vorup-Jensen T. Properties and prospects of adjuvants in influenza vaccination – messy precipitates or blessed opportunities?, *Molecular and Cellular Therapies*, **1**, 2 (2013).
5. Sparg S. G., Light M. T., van Staden J. Biological activities and distribution of plant saponins, *Journal of Ethnopharmacology*, **94**, 219 (2004).
6. Sindambiwe J. B., Salomme M., Geerts S. et al. Evaluation of biological activities of triterpenoid saponins from *Maesa lanceolata*, *Journal of Natural Products*, **61**, 585 (1998).
7. Bader G., Seibold M., Tintelnot K. et al. Cytotoxicity of triterpenoid saponins. Relationships between the structures of glycosides of polygalacic acid and their activities against pathogenic *Candida* species, *Pharmazie*, **55**, 72 (2000).
8. Mshvildadze V., Favel A., Delmas F. et al. Antifungal and antiprotozoal activities of saponins from *Hedera colchica*, *Pharmazie*, **55**, 325 (2000).
9. Saltykova T. S., Romanenko V. V., Minaeva O. V. Epidemiological and economic efficiencies of immunization with the commercial influenza vaccine Grippol® plus in the able-bodied adult population. *Epidemiology and Infectious diseases. Current Items*, **5**, 65 (2015) (in Russ.).
10. Sencova T. B., Balabolkin I. I., Bulgakova L. A. i dr. Ostrye respiratornye virusnye infekcii i ih profilaktika u detej s atopicheskimi boleznjami, *Vopr. sovremennoj pediatrii*, **2**(3), 8 (2003). (in Russ.).
11. Haitov R. M. Vakciny novogo pokolenija i problemy biobezopasnosti, *Citokiny i vospalenie*, **3**, 70 (2005). (in Russ.).
12. Harit S. M., Ruleva A. A., Goleva O. V., Kalinogorskaja O. S., Aprjatina V. A. Rezul'taty issledovanija urovnej specificheskikh antitel na sochetannoe vvedenie vakcin protiv gripa, kori, krasnuhi i parotita i ADS-M u detej s hronicheskimi somaticheskimi zabolevanijami. *Detskie infekcii*, **13**(3), 29 (2014). (in Russ.).
13. Grishkovec V. I., Tolkachjova N. V., Shashkova A. S., Chirva V. Ja. Triterpenovye glikozidy iz *Hedera Taurica*. H. Struktura soedinenij F4, I i J iz list'ev krymskogo pljushha, *Himija prirod. Soed.*, **6**, 683 (1992). (in Russ.).
14. Hromova E. A., Semochkin I. A., Ahmatova Je. A., Stolpnikova V. N., Shodova S. A., Sorokina E. V., Ahmatova N. K., Kostinov M. P. Sravnitel'naja aktivnost' vakcin protiv gripa: vlijanie na subpopuljacionnuju strukturu limfocitov, *Zhurn. Mikrobiol.*, **6**, 61 (2016). (in Russ.).
15. Krasikov A. P., Alekseeva I. G., Ushakov A. V. Stimuljacija immunnogo otveta s pomoshh'ju Betulina pri ego sochetannom primenenii s vakcinami protiv leptospiroza i fuzobakterioza zhivotnyh, *Veterinarnaja patologija*, **2**(48), 45 (2014). (in Russ.).
16. Sun H. X., Xie Y., Ye Y. P., Advances in saponin-based adjuvats, *Vaccine*, **27**, 1787 (2009).
17. Kensil C. R., Patel U., Lennick M. Separation and characterization of saponin with adjuvant activity from *Quillaja saponaria* Molina cortex, *J. Immunol.*, **146**, 431 (1991).
18. Chavali S. R., Barton L. D., Campbell J. B. Immunopotential by orally-administered *Quillaja* saponins: effects in mice vaccinated intraperitoneally against rabies, *J. Clin. Exp. Immunol.*, **74**, 339 (1988).