

Изучение эффективности Ингавирина® *in vitro* в отношении штаммов пандемического вируса гриппа А(Н1N1/09)ν

Л. Н. ШИШКИНА¹, В. Е. НЕБОЛЬСИН², А. С. КАБАНОВ¹, М. О. СКАРНОВИЧ¹, У. Б. ЭРДЫНЕЕВА¹,
Н. А. МАЗУРКОВА¹, О. А. СЕРОВА¹, Е. А. СТАВСКИЙ¹, И. Г. ДРОЗДОВ¹

¹ ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская обл.

² ОАО «Валента Фарм», Москва

In vitro Efficacy of Ingavirin® against the Pandemic Influenza Virus A(H1N1/09)ν

L. N. SHISHKINA, V. E. NEBOLSIN, A. S. KABANOV, M. O. SKARNOVICH, U. B. ERDYNEEVA,
N. A. MAZURKOVA, O. A. SEROVA, E. A. STAVSKY, I. G. DROZDOV

State Research Centre of Virology and Biotechnology VECTOR, Koltsovo, Novosibirsk Region
JSC Valenta Pharm, Moscow

Ингавирин® эффективно ингибирует размножение штаммов вируса гриппа A/California/04/2009 (H1N1)ν, A/California/07/2009 (H1N1)ν, A/Moscow/225/2009 (H1N1)ν, A/Moscow/226/2009 (H1N1)ν, а также штаммов A/Chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) и A/Aichi/2/68 (H3N2) в культуре клеток MDCK. При внесении Ингавирина® *in vitro* снижается гемагглютинирующая и цитопатическая активность этих штаммов вируса гриппа.

Ключевые слова: вирус гриппа A(H1N1/09)ν, Ингавирин®, противовирусная активность.

Ingavirin® was shown to be efficient in inhibition of the influenza virus strains A/California/04/2009 (H1N1)ν, A/California/07/2009 (H1N1)ν, A/Moscow/225/2009 (H1N1)ν and A/Moscow/226/2009 (H1N1)ν, as well as the strains A/Chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) and A/Aichi/2/68 (H3N2) in the MDCK cell culture. The hemagglutinin and cytopathic activity of the influenza virus strains decreased *in vitro*.

Key words: influenza virus A(H1N1/09)ν, Ingavirin®, antiviral activity.

В лаборатории Центра контроля за инфекционными заболеваниями (CDC, США) 15 апреля 2009 года у 10-летнего ребенка с клиническими признаками респираторного заболевания (лихорадка, кашель, рвота) был выделен новый вариант вируса гриппа А субтипа H1N1 [1]. Было показано, что новый вариант возник в результате реассортации в геноме штаммов вируса гриппа свиней Евроазиатской линии и штаммов вируса гриппа свиней Североамериканской линии, которая возникла в конце 1990-х после тройной реассортации субтипов H1N1, H3N2 и H1N2 внутри классических свиных штаммов [2].

По данным ВОЗ, к началу ноября 2009 г. было зарегистрировано более 400000 лабораторно подтвержденных случаев заболевания пандемическим гриппом H1N1/09, из которых свыше 4740 случаев закончились смертельным исходом [3]. В январе-феврале 2010 г. активность пандемического гриппа H1N1/2009 в странах Европейского региона сохранялась, несмотря на тенденцию к снижению. Наи-

более высокой она оставалась в таких странах, как Грузия, Польша, Сербия и Украина, а также в отдельных регионах РФ. При этом всего с апреля 2009 г. в Европе сообщалось о 4057 случаях смерти, связанных с лабораторно подтвержденным инфицированием вирусом пандемического гриппа A(H1N1/09) [4]. Международный опыт в области лечения пандемического гриппа H1N1/09 показывает, что плохие клинические результаты связаны с поздним обращением за медицинской помощью и задержкой начала противовирусной терапии [3, 5].

Наряду с пандемией гриппа A(H1N1/09) в январе 2010 г. появились сообщения о случаях заболевания, связанных с инфицированием вирусом гриппа птиц в Египте. Они подтверждены Центральными лабораториями общественного здравоохранения Египта, Национальным центром по гриппу в рамках Глобальной сети ВОЗ по эпиднадзору за гриппом (GISN) [6]. Из 97 лабораторно подтвержденных случаев заболевания птичьим гриппом A(H5N1), зарегистрированных в Египте, 27 закончились смертельным исходом. Во всех случаях имелся контакт с больными и мертвыми домашними птицами [6].

© Коллектив авторов, 2010

Адрес для корреспонденции: 630559 р.п. Кольцово Новосибирского района Новосибирской области. ГНЦ ВБ «Вектор»

Существует четыре противовирусных препарата, которые рекомендованы ВОЗ для лечения гриппа: амантадин и римантадин (ингибиторы вирусного М2), осельтамивир и занамивир (ингибиторы вирусной нейраминидазы). Недавние исследования показали, что вирус гриппа А(Н1N1/09)v, который был выявлен у людей, устойчив к амантадину и римантадину, в то же время этот вирус восприимчив к осельтамивиру и занамивиру [7].

В связи с ежегодными эпидемиями гриппа, возможностью заражения людей вирусом гриппа животного происхождения и возникновением пандемии гриппа среди людей, остро встаёт вопрос о создании надёжных средств для его профилактики и лечения.

Целью настоящего исследования является изучение эффективности отечественного препарата Ингавирин® *in vitro* в отношении штаммов «мексиканского» пандемического вируса гриппа А(Н1N1) 2009 г., а также штаммов вируса гриппа А(Н5N1) и А(Н3N2).

Материал и методы

Вирус. В работе использовали следующие штаммы вируса гриппа (ВГ): А/California/04/2009 (Н1N1)v и А/California/07/2009 (Н1N1)v, полученные в мае 2009 г. из CDC (США); А/Moscow/225/2009 (Н1N1)v и А/Moscow/226/2009 (Н1N1)v, выделенные и охарактеризованные в ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» в июне 2009 г.; А/Chicken/Kurgan/05/2005 (Н5N1) и А/Aichi/2/68 (Н3N2), полученные из «Коллекции микроорганизмов» ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор». Штаммы А/California/07/2009 (Н1N1)v, А/Moscow/226/2009 (Н1N1)v, А/Chicken/Kurgan/05/2005 (Н5N1) и А/Aichi/2/68 (Н3N2) были наработаны на развивающихся куриных эмбрионах (РКЭ), штаммы А/California/04/2009 (Н1N1)v и А/Moscow/225/2009 (Н1N1)v были наработаны в культуре клеток MDCK. Концентрацию вируса в исследуемых образцах определяли путём титрования на РКЭ или клетках MDCK [8], рассчитывали и выражали в лгЭИД₅₀/мл (десятичных логарифмах 50% эмбриональных инфицирующих доз в мл) или в лгТЦД₅₀/мл (десятичных логарифмах 50% тканевых цитопатических доз в мл) по методу Спирмана-Кербера [9]. Наработанные и использованные в работе серии вирусосодержащей аллантоисной жидкости (ВАЖ) и культуральной жидкости со штаммами вируса гриппа хранили при -70°C.

Клеточная культура. Для тестирования противовирусной активности препаратов использовали перевиваемую культуру клеток MDCK (клетки почки собаки). По 100 мкл суспензии клеток MDCK с концентрацией $1,0-1,5 \times 10^5$ кл/мл вносили в лунки 96-луночных планшетов. Планшеты с клетками помещали в термостат при температуре 37°C, 5% CO₂ и 100% влажности на 1—2 сут до образования сплошного клеточного монослоя.

Исследуемые препараты. В работе использован Ингавирин® производства Открытого Акционерного Общества «Валента Фармацевтика» (Россия) и Ремантадин® (ООО «Розфарм», Россия). При проведении исследования препараты вносили в культуральную среду через 1 час после адсорбции вируса на клетках в следующих конечных концентрациях в среде культивирования: Ингавирин® — 200 мкг/мл, Ремантадин® — 10 мкг/мл.

Инфицирование клеток MDCK вирусом гриппа. Готовили разведения исходных образцов вируса гриппа с 1-го по 7-е с десятикратным шагом с использованием среды MDCK StemAlpha (Франция), содержащей 2 мкг/мл трипсина ТРСК (Sigma, США). По 50 мкл разведений вируса вносили в лунки с монослоем клеток MDCK (по 6 лунок на каждое разведение).

Адсорбцию вируса проводили в течение 1 ч при комнатной температуре. Затем в каждую лунку с инфицированными клетками MDCK вносили исследуемые препараты в объёме 50 мкл и по 50 мкл питательной среды MDCK StemAlpha с 2 мкг/мл трипсина ТРСК.

В контрольные лунки с инфицированными клетками вносили по 100 мкл питательной среды MDCK StemAlpha с 2 мкг/мл трипсина ТРСК. Клетки инкубировали 4 сут при температуре 37°C в атмосфере 5% CO₂ в термостате ТС-1/80 СПУ (Россия).

Через 4 сут в каждой лунке регистрировали ЦПД в монослое клеток с помощью инвертированного микроскопа и наличие вируса в среде культивирования по реакции гемагглютинации (РГА) с 0,5% эритроцитов кур. На основании этого определяли титры вируса в лгТЦД₅₀/мл в контроле (ИД₅₀ *in vitro* без препарата) и в опыте (ИД₅₀ *in vitro* с препаратом) и высчитывали индекс нейтрализации (ИН) вируса под влиянием препарата: $ИН = ИД_{50} \text{контроль} - ИД_{50} \text{опыт} (лг)$.

Далее определяли, могут ли препараты оказывать влияние на репродукцию и инфекционную активность вируса гриппа. С этой целью собирали культуральную жидкость из одного или двух рядов лунок с клетками, инфицированными одним или двумя наибольшими разведениями вируса, т. е. его наименьшими дозами, при которых вирус был зарегистрирован по РГА в ≤100% лунок в контроле и в опыте (в присутствии и без препарата). После этого оценивали продукцию вируса в объединённых пробах из лунок каждого ряда по гемагглютинирующей (титр в РГА) и инфекционной (титр в лгТЦД₅₀/мл) активности, а также рассчитывали индекс подавления его продукции под влиянием препарата *in vitro* на основании разницы между титрами вируса в контрольных и опытных лунках.

Оценка противовирусной эффективности препаратов осуществлялась в соответствии с рекомендациями Фармакологического государственного комитета РФ [10]. Между контрольными и опытными образцами инфицированных клеток MDCK оценивали достоверность различий ($p=0,05$) по ИД₅₀ штаммов вируса гриппа *in vitro* и по показателям репродукции вируса гриппа.

Статистическая обработка результатов. Статистическую обработку данных проводили общепринятыми методами для биологических исследований [9] с помощью метода Спирмана-Кербера с оценкой достоверности отличий ($p=0,05$) для 95% доверительного уровня (I₉₅).

Результаты и обсуждение

При внесении Ингавирина® в клеточную культуру MDCK, инфицированную штаммами вируса гриппа, было показано, что инфекционность всех исследованных штаммов под его влиянием достоверно уменьшалась (табл. 1). Наблюдаемый диапазон индексов нейтрализации исследованных штаммов находился в пределах от 0,5 до 1,7. При этом наиболее высокий индекс нейтрализации достигался при инкубировании Ингавирина® со штаммом вируса гриппа А/Aichi/2/68 (Н3N2) (табл. 1).

После оценки ИН на основании результатов РГА определяли продукцию каждого штамма вируса гриппа в лунках с клетками, инфицированными наиболее низкими дозами вируса, при которых наблюдалась РГА в ≤100% лунок. Было обнаружено, что при инкубировании инфицированных клеток MDCK с Ингавирином® продукция исследованных штаммов вируса гриппа достоверно уменьшалась и по показателям их титров в РГА, и по пока-

Таблица 1. Влияние Ингавирина на инфекционность (50% инфицирующая доза — ИД₅₀ в клетках MDCK) штаммов вируса гриппа А(H1N1)v *in vitro* в контроле и при инкубировании с Ингавирином® через 4 сут после заражения

| Штаммы вируса гриппа | ИД ₅₀ штамма <i>in vitro</i> в контроле (в лгТЦД ₅₀ /мл, ±I ₉₅) | ИД ₅₀ штамма <i>in vitro</i> при инкубировании с Ингавирином® (в лгТЦД ₅₀ /мл, ±I ₉₅) | Индекс нейтрализации (в лг) |
|---------------------------------|---|---|-----------------------------|
| A/California/04/2009 (H1N1)v | 4,3±0,4 | 3,8±0,0* | 0,5* |
| A/California/07/2009 (H1N1)v | 5,0±0,5 | 3,8±0,5* | 1,2* |
| A/Moscow/225/09 (H1N1)v | 5,6±0,3 | 5,1±0,4* | 0,5* |
| A/Moscow/226/09 (H1N1)v | 5,8±0,6 | 5,1±0,4* | 0,7* |
| A/Chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) | 7,3±0,7 | 6,1±0,4* | 1,2* |
| A/Aichi/2/68 (H3N2) | 7,6±0,7 | 5,9±0,3* | 1,7* |

Примечание. * — отличия от контроля по ИД₅₀ при $p=0,05$.

Таблица 2. Показатели репродукции (титры) штаммов вируса гриппа А(H1N1)v в клетках MDCK в контроле и при инкубировании с Ингавирином® через 4 сут после заражения

| Штаммы вируса гриппа | Доза заражения штамма вируса гриппа в лгТЦД ₅₀ /50 мкл | Репродукция штаммов вируса гриппа <i>in vitro</i> в контроле | | Репродукция штаммов вируса гриппа <i>in vitro</i> при инкубировании с Ингавирином® | | Индекс подавления продукции вируса <i>in vitro</i> (в лг) |
|---------------------------------|---|--|---|--|---|---|
| | | Титры в РГА | Титры в лгТЦД ₅₀ /мл, ±I ₉₅ | Титры в РГА | Титры в лгТЦД ₅₀ /мл, ±I ₉₅ | |
| A/California/04/2009 (H1N1)v | 2,0 | 1:32 | 4,0±0,6 | 1:16 | 1,5±0,0* | 2,5 |
| | 1,0 | 1:32 | 4,0±0,6 | 1:8* | 1,5±0,0* | 2,5 |
| A/California/07/2009 (H1N1)v | 1,7 | 1:512 | 7,5±0,0 | 1:256 | 6,5±0,8* | 1,0 |
| | 0,7 | 1:256 | 6,5±0,0 | 1:64* | 5,3±0,8* | 1,2 |
| A/Moscow/225/09 (H1N1)v | 1,3 | 1:32 | 2,5±0,0 | 1:32 | 2,5±0,0 | 0,0 |
| | 0,3 | 1:32 | 2,5±0,0 | 1:16 | 1,5±0,0* | 1,0 |
| A/Moscow/226/09 (H1N1)v | 2,5 | 1:16 | 3,0±0,6 | 1:16 | 2,3±0,5* | 0,7 |
| | 1,5 | 1:16 | 2,5±0,0 | 1:4* | 1,8±0,5* | 0,7 |
| A/Chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) | 2,0 | 1:256 | 6,0±0,6 | 1:64* | 2,8±0,5* | 3,2 |
| | 1,0 | 1:256 | 6,0±0,6 | 1:64* | 2,8±0,5* | 3,2 |
| A/Aichi/2/68 (H3N2) | 2,3 | 1:256 | 5,5±0,0 | 1:32* | 2,8±0,5* | 2,7 |
| | 1,3 | 1:256 | 5,0±0,6 | 1:16* | 2,8±0,5* | 2,2 |

Примечание. * — отличия от контроля при $p=0,05$.

Таблица 3. Инфекционность (50% инфицирующая доза — ИД₅₀ в клетках MDCK) штаммов вируса гриппа А(H1N1)v *in vitro* в контроле и при инкубировании с Ремантадином® через 4 сут после заражения

| Штаммы вируса гриппа | ИД ₅₀ штамма <i>in vitro</i> в контроле (в лгТЦД ₅₀ /мл, ±I ₉₅) | ИД ₅₀ штамма <i>in vitro</i> при инкубировании с Ремантадином® (в лгТЦД ₅₀ /мл, ±I ₉₅) | Индекс нейтрализации (в лг) |
|---------------------------------|---|--|-----------------------------|
| A/California/04/2009 (H1N1)v | 4,3±0,4 | 4,1±0,4 | 0,2 |
| A/California/07/2009 (H1N1)v | 5,0±0,5 | 5,0±0,5 | 0,0 |
| A/Moscow/225/09 (H1N1)v | 5,6±0,3 | 5,6±0,3 | 0,0 |
| A/Moscow/226/09 (H1N1)v | 5,8±0,6 | 5,8±0,5 | 0,0 |
| A/Chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) | 7,3±0,7 | 5,1±0,4* | 2,2* |
| A/Aichi/2/68 (H3N2) | 7,6±0,7 | 5,6±0,7* | 2,0* |

Примечание. * — отличия от контроля по ИД₅₀ при $p=0,05$.

зателям их инфекционности при титровании на клетках MDCK (табл. 2). Как следует из таблицы 2, индексы подавления продукции штаммов вируса гриппа под влиянием Ингавирина® *in vitro* колебались в диапазоне от 0,7 до 3,2 лг. При этом наиболее высокое значение индекса подавления продукции вируса *in vitro* наблюдалось при инкубировании Ингавирина® со штаммом вируса гриппа А/Chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) (табл. 2).

Показано, что при внесении Ремантадина® в клеточную культуру MDCK, инфицированную штаммами вируса гриппа, достоверно уменьша-

лась инфекционность только двух исследованных штаммов: А/Chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) и А/Aichi/2/68 (H3N2) при достижении соответствующих индексов нейтрализации 2,2 и 2,0 (табл. 3). Как следует из таблицы 3, штаммы вируса гриппа А/California/04/2009 (H1N1)v, А/California/07/2009 (H1N1)v, А/Moscow/225/09 (H1N1)v и А/Moscow/226/09 (H1N1)v не изменяли своей инфекционности в клеточной культуре MDCK при инкубировании с Ремантадином®.

Определение продукции вируса гриппа в лунках с клетками, инфицированными наиболее

Таблица 4. Показатели репродукции (титры) штаммов вируса гриппа А(Н1N1)v в клетках MDCK в контроле и при инкубировании с Ремантадином® через 4 сут после заражения

| Штаммы вируса гриппа | Доза заражения штамма вируса гриппа в lgТЦД ₅₀ /50 мкл | Репродукция штаммов вируса гриппа <i>in vitro</i> в контроле | | Репродукция штаммов вируса гриппа <i>in vitro</i> при инкубировании с Ремантадином® | | Индекс подавления продукции вируса <i>in vitro</i> (в lg) |
|----------------------------------|---|--|---|---|---|---|
| | | Титры в РГА | Титры в lgТЦД ₅₀ /мл, ±I ₉₅ | Титры в РГА | Титры в lgТЦД ₅₀ /мл, ±I ₉₅ | |
| A/California/04/2009 (H1N1)v | 2,0 | 1:32 | 4,0±0,6 | 1:32 | 4,0±0,6 | 0,0 |
| | 1,0 | 1:32 | 4,0±0,6 | 1:32 | 3,8±0,5 | 0,2 |
| A/California/07/2009 (H1N1)v | 1,7 | 1:512 | 7,5±0,0 | 1:512 | 7,5±0,0 | 0,0 |
| | 0,7 | 1:256 | 6,5±0,0 | 1:256 | 6,5±0,0 | 0,0 |
| A/Moscow/225/09 (H1N1)v | 1,3 | 1:32 | 2,5±0,0 | 1:32 | 2,5±0,0 | 0,0 |
| | 0,3 | 1:32 | 2,0±0,6 | 1:32 | 2,0±0,6 | 0,0 |
| A/Moscow/226/09 (H1N1)v | 2,5 | 1:16 | 3,0±0,6 | 1:16 | 3,0±0,6 | 0,0 |
| | 1,5 | 1:16 | 2,5±0,0 | 1:16 | 2,3±0,5 | 0,2 |
| A/Chicken/Kurgan/ 05/2005 (H5N1) | 3,0 | 1:256 | 6,3±0,5 | 1:64* | 4,8±0,5* | 1,5 |
| | 2,0 | 1:256 | 6,0±0,6 | 1:32* | 4,3±0,5* | 1,7 |
| A/Aichi/2/68 (H3N2) | 2,3 | 1:256 | 5,5±0,0 | 1:64* | 4,3±0,5* | 1,2 |
| | 1,3 | 1:256 | 5,0±0,6 | 1:32* | 4,1±0,4* | 0,9 |

Примечание. * – отличия от Контроля при $p=0,05$.

низкими дозами штаммов вируса гриппа, при которых наблюдалась РГА в $\leq 100\%$ лунок в контроле и в опыте, также показало отсутствие чувствительности к Ремантадину® штаммов вируса гриппа А(Н1N1)v (табл. 4). Так, для штаммов вируса гриппа А/California/04/2009 (H1N1)v, А/California/07/2009 (H1N1)v, А/Moscow/225/09 (H1N1)v и А/Moscow/226/09 (H1N1)v не было обнаружено снижения продукции при инкубировании инфицированных клеток MDCK с Ремантадином® ни по титрам объединенных проб в РГА, ни по их инфекционности в культуре клеток MDCK (табл. 4). При этом наработка штаммов вируса гриппа А/Chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) и А/Aichi/2/68 (H3N2) достоверно снижалась под воздействием Ремантадина® (табл. 4). Как видно из табл. 4, при инкубировании инфицированных клеток MDCK с Ремантадином® индексы подавления продукции штамма А/Chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) достигали значений 1,5 и 1,7 lg при соответствующих дозах заражения 3,0 и 2,0 lgТЦД₅₀/50 мкл, а индексы подавления продукции штамма А/Aichi/2/68 (H3N2) были равны 1,2 и 0,9 lg при дозах заражения 2,3 и 1,3 lgТЦД₅₀/50 мкл соответственно.

Полученные нами данные согласуются с ранее описанными результатами изучения противовирусной активности Ингавирина® [11]. Так, авторами было обнаружено подавление гемагглютинирующей активности штаммов А/California/04/2009 (H1N1)v и А/California/07/2009 (H1N1)v под влиянием Ингавирина®. Причем показатель эффективности Ингавирина® по подавлению гемагглютинирующей активности этих штаммов был сопоставим с таковым в отношении штамма вируса гриппа А/Aichi/2/68

(H3N2). Изучение эффективности Ингавирина® в культуре клеток MDCK по подавлению цитопатической активности штаммов вируса гриппа А/California/04/2009 (H1N1)v и А/California/07/2009 (H1N1)v также свидетельствовало о том, что Ингавирин® эффективно ингибировал размножение вируса *in vitro*. При этом эффективность Ингавирина® в культуре клеток MDCK в отношении подтипов вируса гриппа А(Н1N1) по подавлению цитопатической активности была сопоставима с таковыми показателями в отношении штаммов вируса гриппа А/Chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) и А/Aichi/2/68 (H3N2) [11].

Подавление гемагглютинирующей и цитопатической активности вируса гриппа А под влиянием Ингавирина® в экспериментах *in vitro* может осуществляться благодаря противовирусному механизму действия препарата, который основан на подавлении репродукции вируса гриппа на этапе ядерной фазы, задержке миграции нового синтезированного нуклеопротеида вируса из цитоплазмы в ядро [12, 13].

Заключение

Таким образом, при изучении влияния Ингавирина® и Ремантадина® в культуре клеток MDCK на показатели гемагглютинирующей и цитопатической активности штаммов вируса гриппа А(Н1N1/09)v была показана эффективность Ингавирина® и отсутствие эффективности Ремантадина® в отношении этих штаммов. В то же время Ингавирин® и Ремантадин® проявляли противовирусную эффективность в отношении используемых в работе референс-штаммов вируса гриппа А(H5N1) и А(H3N2).

ЛИТЕРАТУРА

1. Dawood F. S., Jain S., Finelli L. et al. Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus Investigation Team. *New Engl J Med* 2009; 360: 2605—2615.
2. Zimmer S. M., Burke D. S. Historical perspective — emergence of influenza A (H1N1) viruses. *Ibid* 2009; 361: 279—285.
3. Пандемия гриппа (H1N1) — 2009: обзор ситуации в Европейском регионе ВОЗ. http://www.euro.who.int/influenza/AH1N1/20091026_1?language=Russian.
4. Снижение уровня пандемического гриппа в Европе 01—07 февраля 2010. http://www.euro.who.int/influenza/AH1N1/20100105_1?language=Russian.
5. Пандемический грипп (H1N1) — 2009, Украина. http://www.who.int/csr/don/2009_11_01/ru/index.html.
6. Птичий грипп — ситуация в Египте — обновлённая информация 29. http://www.who.int/csr/don/2010_02_10/ru/index.html
7. WHO Guidelines for Pharmacological Management of Pandemic (H1N1) 2009 Influenza and Other Influenza Viruses. 20 August 2009. http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/h1n1_guidelines_pharmaceutical_mngt.pdf.
8. Вирусология. Методы. Пер. с англ. Мейхи Б. М.: 1988; 344.
9. Закс Л. Статистическое оценивание. М.: 1976; 598.
10. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Хабриева Р. У. М.: 2005; 832.
11. Логинова С. Я., Борисевич С. В., Лыков М. В. и др. Изучение эффективности Ингавирина® *in vitro* в отношении «мексиканского» пандемического подтипа H1N1 вируса гриппа А, штаммы А/California/04/2009 и А/California/07/2009. *Антибиотики и химиотер* 2009; 54: 3—4: 15—17.
12. Небольсин В. Е., Новиков Ф. Н., Строганов О. Л. и др. Поиск терапевтических мишеней и исследование механизма противовирусной активности нового препарата Ингавирин. Тезисы докладов IV Российского симпозиума «Белки и пептиды», Казань, 23—27 июня 2009; 103.
13. Семенова Н. П., Прокудина Е. Н., Львов Д. К., Небольсин В. Е. Влияние противовирусного препарата Ингавирин® на внутриклеточные преобразования и импорт в ядро нуклеокапсидного белка (NP) вируса гриппа. *Вопр вирусол* 2010 (в печати).