



Association of laboratory  
specialists and organizations  
«Federation of Laboratory Medicine»

Ассоциация специалистов  
и организаций лабораторной службы  
«Федерация лабораторной медицины»

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

# **Определение интерферонового статуса, как показателя неспецифической резистентности организма человека**

Тип практических рекомендаций:  
Правила проведения и интерпретации клинических лабораторных исследований

**Москва, 2018**

## **Разработчики:**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова» (ФГБНУ НИИВС им.И.И.Мечникова), Москва;

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им.Н.Ф.Гамалеи» (ФГБУ «НИЦЭМ им.Н.Ф.Гамалеи») Минздрава России, Москва

**Т.П. Оспельникова, Л.В. Колодяжная, В.Ю. Табаков**  
Под редакцией академика РАН, профессора **Ф.И.Ершова**

## **Ответственный разработчик:**

Ассоциация специалистов и организаций лабораторной службы «Федерация лабораторной медицины»

## **Рецензенты:**

**Кочетов А.Г.** – президент Ассоциации «ФЛМ», д.м.н., профессор РУДН, заместитель генерального директора ФГБУ «НМИЦ кардиологии» МЗ РФ, главный внештатный специалист МЗ РФ по клинической лабораторной диагностике

**Лянг О.В.** – вице-президент Ассоциации «ФЛМ», к.б.н., доцент РУДН, проректор АНО ДПО «Институт лабораторной медицины»

**Ключевые слова:** интерфероновый статус, врожденный иммунитет, заболевания инфекционной и неинфекционной этиологии

Настоящие практические рекомендации представляют собой изложение алгоритмов исследования и интерпретации определения количественной биологической оценки функциональной способности лейкоцитов цельной крови к продукции интерферонов (ИФН) I и II типов, определение ИФН в сыворотке крови у здоровых людей и пациентов с различными заболеваниями; подбор иммуноактивных препаратов для профилактики, лечения и оценки эффективности терапии этими препаратами.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений.....	4
Методология .....	5
ВВЕДЕНИЕ .....	8
Практический выход к методологии ИФН статуса после открытия ИФН .....	8
Исследования по применению метода.....	10
ОПИСАНИЕ МЕТОДА.....	13
Материально-техническое обеспечение.....	13
Анализируемые образцы.....	14
Подготовка реагентов .....	14
Проведение исследования .....	15
Расчет результатов.....	20
ПОКАЗАНИЯ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ МЕТОДА .....	21
ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ МЕТОДА .....	21
ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ .....	21
Критерии интерпретации результатов.....	24
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	25

## **Список сокращений**

ИФН – интерферон

ИФН статус – интерфероновый статус

КЭ – клиническая эффективность

ПС – поддерживающая среда

РС – ростовая среда

РКИ – рандомизированные контролируемые испытания

ФГА – фитогемагглютинин

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

ЦПД – цитопатическое действие тест-вируса

NDV – вирус болезни Ньюкасла

Vero – культура эпителиальных клеток почки обезьяны

VSV – тест-вирус везикулярного стоматита

## Методология

### Методы, использованные для сбора/селекции доказательств

Доказательной базой для составления рекомендаций явился поиск данных в электронных базах PubMed и Medline, электронной библиотеке ([www.e-library.ru](http://www.e-library.ru)), а также авторские исследования. Данные практические рекомендации подготовлены на основе согласованного мнения членов ассоциации специалистов и организаций лабораторной службы «Федерация лабораторной медицины», а также на основании международных и российских обзорных статей, статей с анализом результатов клинико-лабораторных исследований, обобщения опыта авторов, собственных рандомизированных и нерандомизированных исследований.

Оценка уровня доказательности и значимости рекомендаций проводилась в соответствии с рейтинговой системой – таблицы 1 и 2.

**Таблица 1.** Рейтинговая схема для оценки достоверности данных.

<b>Степень рекомендации</b>	<b>Описание уровней достоверности</b>
<b>А</b> Высокая достоверность	Основана на заключениях систематических обзоров рандомизированных контролируемых испытаний. Систематический обзор получают путём системного поиска данных из всех опубликованных клинических испытаний, критической оценки их качества и обобщения результатов методом мета-анализа
<b>В</b> Умеренная достоверность	Основана на результатах, по меньшей мере, одного независимого рандомизированного контролируемого клинического испытания
<b>С</b> Ограниченная достоверность	Основана на результатах, по меньшей мере, одного клинического испытания, не удовлетворяющего критериям качества, например, без рандомизации
<b>Д</b> Неопределённая достоверность	Утверждение основано на мнении экспертов; клинические исследования отсутствуют

### Клиническая информативность лабораторных исследований

Клиническая информативность лабораторного метода биологического тестирования активности интерферонов I и II типов позволяет оценивать состояние неспецифической резистентности организма, которое является значимым показателем врожденного иммунитета и служит интегральным критерием функционального состояния системы интерферона.

По оценке чувствительности лейкоцитов пациента к иммуноактивным препаратам метод дает возможность выбора терапевтически эффективного препарата и проведение дальнейшей оптимальной терапии с мониторингом показателей ИФН статуса в динамике лечения.

Метод **«ИФН статус»** входит в Программу Российского здравоохранения «Переход к персонализированной медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям здоровьесбережения, в том числе за счет рационального применения лекарственных препаратов».

**Таблица 2.** Рейтинговая схема для оценки силы доказательств.

<b>Уровни доказательств</b>	<b>Описание</b>
1++	Мета-анализы высокого качества, систематические обзоры рандомизированных контролируемых исследований (РКИ) или РКИ с очень низким риском систематических ошибок
1+	Качественно проведенные мета-анализы, систематические или РКИ с низким риском систематических ошибок
1-	Мета-анализы, систематические или РКИ с высоким риском систематических ошибок
2++	Высококачественные систематические обзоры исследований случай-контроль или когортных исследований. Высококачественные обзоры исследований случай-контроль или когортных исследований с очень низким риском эффектов смешивания или систематических ошибок и средней вероятностью причинной взаимосвязи
2+	Хорошо проведенные исследования случай-контроль или когортные исследования со средним риском эффектов смешивания или систематических ошибок и средней вероятностью причинной взаимосвязи
2-	Исследования случай-контроль или когортные исследования с высоким риском эффектов смешивания или систематических ошибок и средней вероятностью причинной взаимосвязи
3	Неаналитические исследования (например: описания случаев, серий случаев)
4	Мнение экспертов

### **Индикаторы доброкачественной практики**

Рекомендуемая доброкачественная практика базируется на клиническом и лабораторном опыте членов рабочей группы по разработке рекомендаций.

## **Экономический анализ**

В данных методических рекомендациях предложена менее дорогостоящая культура клеток почки зеленой мартышки (Vero), культивируемая на бессывороточной питательной среде (заявка на патент №2017124353 от 10.07.2017), сохраняющая чувствительность к ИФН при длительном количестве пассажей. В результате многочисленных повторов метода «ИФН статус» на разных культурах клеток выявлено, что показатели продукции (биологической активности) ИФН I ( $\alpha\beta$ ) и II ( $\gamma$ ) типов были одинаковыми как на культуре клеток фибробластов эмбриона человека, так и на культуре клеток Vero, культивируемых на сывороточных и бессывороточных питательных средах. Обычно для культивирования культур клеток требуются питательные среды с добавлением высококачественной эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС). Качество ЭТС варьирует от партии к партии и существует постоянная потенциальная возможность контаминации вирусами, микоплазмами, бактериями и др., что делает невозможным стандартизировать процесс ведения клеточных культур. Преимущество использования клеточной культуры Vero, адаптированной к бессывороточной питательной среде, обеспечивает процесс ведения клеточной культуры в стандартных условиях и снижает себестоимость; не требует замены ростовой среды с 10 % ЭТС на поддерживающую с 2 % ЭТС; существенно сокращает время постановки метода. К тому же, поскольку культура клеток Vero, в отличие от других клеточных культур, не продуцирует свой эндогенный ИФН, то в самой постановке метода не требуется этапа инактивации индукторного вируса болезни Ньюкасла.

### **Метод валидации рекомендаций:**

В рамках организации контроля качества большое внимание необходимо уделять разработке и внедрению на рабочих местах стандартных операционных процедур (СОП).

- Внешняя экспертная оценка

Внешний контроль качества осуществляется в форме участия в межлабораторных сличениях. В случае неудовлетворительной оценки полученных результатов в лаборатории необходимо принимать экстренные меры по устранению ошибок.

- **Внутренняя экспертная оценка**

Внутрилабораторный контроль представляет собой систему внутрилабораторных сличений получаемых в лаборатории результатов. Для этого в каждой постановке тестируются контрольные образцы: К+ (тест-вирус) и К– (культура клеток).

Внутрилабораторный контроль включает следующие специализированные процедуры:

- постоянная оценка контрольных образцов К+ и К– в каждой постановке реакции,

- периодическое проведение повторного испытания при введении новых серий реагентов (выполняется двумя сотрудниками параллельно при введении новой серии реагентов),

- использование контрольных образцов К+ и К– для внутрилабораторного контроля качества (данный вид контрольных процедур рекомендуется проводить при введении нового набора реагентов).

## **ВВЕДЕНИЕ**

Настоящие практические рекомендации представляют собой изложение алгоритмов исследования и интерпретации метода определения продукции и оценки биологической активности интерферонов (ИФН) I и II типов у здоровых людей и пациентов с различными заболеваниями.

Метод «ИФН статус» позволяет *in vitro* проводить диагностику и контроль состояния врожденного иммунитета. Кроме того, оценка ИФН статуса с определением чувствительности к иммуноактивным препаратам может быть использована в специализированных лечебных заведениях с целью повышения эффективности лечения (при обоснованной тактике) персонифицированного применения в клинической практике иммуноактивных препаратов интерферонов, их индукторов, иммуномодуляторов, вакцин.

Исторически исследование многофункциональных белков ИФН началось с 50-х годов прошлого столетия, с открытия ИФН Isaacs A. и Lindenmann J. в 1957 году [1].

Первоначально тестирование продукции ИФН проводили «макрометодом» на выделенных лимфоцитах, что требовало больших количеств крови и не позволяло использовать этот метод в клинической практике [2, 3].



В 70-80-х годах прошлого столетия был предложен микрометод оценки функциональной продукции ИФН, преимуществом которого стало использование цельной крови пациента в минимальном количестве без выделения лимфоцитов [2-9], что позволило сократить время исследования, материалы и реактивы. Микрометод оказался применим для массовых исследований и особенно важен в педиатрии [10]. Также была показана возможность использования в реакции крови, взятой днём ранее и при сохранении её в холодильнике [9].

В России изучение системы ИФН связано с именами отечественных основоположников интерферонологии В.Д.Соловьева и Т.А.Бектемирова [2]. Академик Ф.И.Ершов продолжил исследования в направлении изучения интегрального критерия функционального состояния системы ИФН - **интерфероновый статус** [11-13].

В понятие ИФН статус входит определение биологической функциональной активности ИФН лейкоцитами крови и уровень ИФН в сыворотке крови, с возможным определением количественного синтеза ИФН при стимуляции лейкоцитов. На основании полученных результатов показано, что состояния с полным или частичным «выпадением» различных звеньев системы ИФН- $\alpha/\beta$ - или  $\gamma$ -ИФН являются причиной или следствием острых и хронически рецидивирующих вирусных инфекций [11-14]. При этом прослеживалась четкая взаимосвязь между показателями **ИФН статуса** и тяжестью заболевания.

Исторически, в существующих методах оценки ИФН статуса использовались дорогостоящие, чувствительные к интерферонам, диплоидные клеточные культуры (ФЛЭЧ, ЛЭЧ, ФЭЧ, М-19, М-22 и т.п.). Пригодный рабочий потенциал культуры клеток фибробластов эмбриона человека составляет ограниченное (6-14) число пассажей. Для ведения этих культур требуются питательные среды с добавлением высококачественной ЭТС (эмбриональной телячьей сыворотки). Так как качество ЭТС варьирует от партии к партии, существует потенциальная возможность контаминации вирусами, микоплазмами и бактериями, что делает невозможным воспроизводить процесс ведения клеточных культур.

В данных методических рекомендациях предложена культура клеток почки зеленой мартышки (Vero), культивируемая на бессывороточной питательной среде (заявка на патент №2017124353 от 10.07.2017), сохраняющая чувствительность к ИФН при длительном количестве пассажей. В результате многочисленных повторов метода ИФН статуса на разных культурах клеток выявлено, что показатели продукции

(биологической активности) ИФН I ( $\alpha\beta$ ) и II ( $\gamma$ ) типов были одинаковыми как на культуре клеток фибробластов эмбриона человека, так и на культуре клеток Vero, культивируемых на сывороточных и бессывороточных питательных средах. Преимущество использования клеточной культуры Vero, адаптированной к бессывороточной питательной среде, дает возможность оптимизировать и стандартизировать процесс ведения клеточной культуры для использования в массовых лабораторных исследованиях.

### ***Исследования по применению метода***

Для установления и уточнения диапазона значений нормы функциональных характеристик продукции ИФН I, II типов и сывороточного ИФН (ИФН статус) лейкоцитами крови для популяции здоровых людей были проведены исследования:

- Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им.Н.Ф.Гамалеи» (ФГБУ «НИЦЭМ») Минздрава России, Москва; 2008-2016 гг.; исследовали образцы гепаринизированной крови и сыворотки здоровых доноров-добровольцев (68 человек: 60 женщин и 8 мужчин в возрасте от 27-и до 65-и лет);
- Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток (ФГБНУ НИИВС) им.И.И.Мечникова», Москва; 2012-2015 гг.; исследовали образцы гепаринизированной крови и сыворотки здоровых доноров-добровольцев (21 человек: 19 женщин и 2 мужчин в возрасте от 27-и до 49-и лет).

Для оценки эффективности метода «ИФН статус» с целью характеристики врожденного иммунитета (неспецифической резистентности) при различных заболеваниях инфекционной и неинфекционной природы были проведены клинические испытания:

- Кафедра кожных и венерических болезней Российского Университета дружбы народов на базе ГКБ №52 совместно с ФГБУ «НИЦЭМ» им.Н.Ф.Гамалеи Минздрава России, Москва; 1998-1999 гг.; обследовали группу из 60-и пациентов с распространенным псориазом в прогрессирующей стадии (60 мужчин в возрасте от 19-и до 59-и лет) в динамике лечения с циклофероном; гепаринизированную кровь и сыворотки крови этих больных исследовали методом «ИФН статус».

Дизайн исследования: открытое ограниченное выборочное сравнительное (без контроля плацебо) клиническое исследование. Клиническая апробация препарата циклоферон с оценкой терапевтической эффективности препарата при псориазе.

- Кафедра гастроэнтерологии ММА им.И.М.Семашко совместно с ФГБУ «НИЦЭМ» им.Н.Ф.Гамалеи Минздрава России, Москва; 1999-2000 гг.; обследовали группу из 113 пациентов (мужчин- 52, женщин- 61) с неспецифическим язвенным колитом в возрасте от 19-и до 59-и лет (средний возраст  $34,5 \pm 5,8$  лет) в динамике лечения с циклофероном; гепаринизированную кровь и сыворотки крови больных исследовали методом «ИФН статус». Дизайн исследования: двойное слепое плацебо контролируемое исследование.
- Федеральное государственное бюджетное учреждение Научно-исследовательский институт ревматологии им.В.А.Насоновой (ФГБУ НИИР), Москва; совместно с ФГБУ «НИЦЭМ» им.Н.Ф.Гамалеи Минздрава России, Москва; 2000-2006 гг.; гепаринизированную кровь и сыворотки крови 124-х больных исследовали методом «ИФН статус». Дизайн исследования: открытое сравнительное (без контроля - плацебо) исследование.
- НИИ Вирусологии им. Д.И.Ивановского РАМН на базе ИКБ № 1, лаборатория острых респираторных вирусных инфекций с апробацией лекарственных средств, совместно с лабораторией отдела интерферонов ФГБУ «НИЦЭМ» им.Н.Ф.Гамалеи Минздрава России, Москва; 2000-2003 гг.; обследовали группу из 253-х пациентов с ОРВИ в возрасте от 18-и до 50-и лет в динамике лечения; гепаринизированную кровь и сыворотки крови больных исследовали методом «ИФН статус», а также определяли чувствительность лейкоцитов больных к препаратам кагоцел и циклоферон. Дизайн исследования: многоцентровое рандомизированное плацебо-контролируемое исследование по оценке эффективности и безопасности препарата Кагоцел таблетки 0,012 для лечения гриппа и других острых респираторных заболеваний у взрослых.
- Институт иммунологии Минздрава России совместно с ФГБУ «НИЦЭМ» им.Н.Ф.Гамалеи Минздрава России, Москва; 2000-2001 гг.; исследовали гепаринизированную кровь и сыворотки от 60-и больных с хроническим рецидивирующим генитальным герпесом в динамике лечения с препаратом Кагоцел таблетки 0,012 г. Дизайн: в рамках многоцентрового сравнительного

клинического исследования в параллельных контролируемых группах по оценке эффективности и безопасности препарата.

- НИИ пульмонологии ФМБА совместно с ФГБУ «НИЦЭМ» им.Н.Ф.Гамалеи Минздрава России, Москва; 2004-2012 гг.; исследовали гепаринизированную кровь и сыворотки 205-и больных с аллергией (бронхиальная астма, аллергический ринит) и хроническими респираторными заболеваниями (хроническая обструктивная болезнь легких) в динамике лечения. Мониторинг исследования в динамике лечения иммуноактивными препаратами (вакцина ВП-4, циклоферон, рузам, интерферон- $\alpha 2$  сублингвального применения), наблюдение в течение 12 месяцев. Дизайн исследования: открытое сравнительное проспективное в параллельных группах контролируемое исследование.
- ГБУЗ МО МОНИКИ им Н.Ф.Владимирского совместно с ФГБУ «НИЦЭМ» им.Н.Ф.Гамалеи Минздрава России и ФГБНУ НИИВС, Москва; 2003-2017 гг.; исследовали гепаринизированную кровь и сыворотки 252-х больных с аутоиммунным заболеванием (рассеянный склероз) в динамике лечения. Дизайн исследования: одноцентровое рандомизированное контролируемое клиническое исследование.
- ФГБУ «НИЦЭМ» им.Н.Ф.Гамалеи Минздрава России, лаборатория острых респираторных вирусных инфекций с апробацией лекарственных средств, совместно с лаб. отдела интерферонов, Москва; 2008-2010 гг.; обследовали: 1. Группу из 100 пациентов с ОРВИ в возрасте от 22-х до 53-х лет в динамике лечения с ингавирином; гепаринизированную кровь и сыворотки крови больных исследовали методом «ИФН статус». Дизайн исследования: двойное слепое рандомизированное плацебо контролируемое многоцентровое исследование по оценке клинической эффективности и безопасности препарата ингавирин в дозе 90 мг в сутки для лечения гриппа и других острых респираторных вирусных инфекций у взрослых (II фаза). 2. В исследование включено 256 человек; гепаринизированную кровь и сыворотки крови больных исследовали методом ИФН статуса в рамках "Открытого не сравнительного исследования по оценке клинической эффективности и безопасности препарата Ингавирин в дозе 90 мг в сутки для лечения гриппа А(H1N1)sw1 у взрослых",

- На базе КПО ФГБНУ НИИВС им.И.И.Мечникова, Москва; 2008 - 2017 гг.; исследовали гепаринизированную кровь и образцы сыворотки крови обследуемых людей (> 2500 детей и взрослых), а также чувствительность их лейкоцитов к назначаемым иммуноактивным препаратам.
- На базе испытательной лаборатории ФГБУ «НИЦЭМ» им.Н.Ф.Гамалеи Минздрава России, Москва; 2008-2016 гг.; исследовали гепаринизированную кровь и сыворотки обследуемых взрослых людей (> 9000 человек), а также чувствительность их лейкоцитов к назначаемым иммуноактивным препаратам.

## ОПИСАНИЕ МЕТОДА

Метод «ИФН статус» включает определение в крови пациентов уровней индуцированной продукции ИФН I, II типов и циркулирующего (сывороточного) ИФН. Биологическая функциональная активность ИФН оценивается в чувствительных к ИФН культурах клеток с тест-вирусом [15].

### *Материально-техническое обеспечение*

Для осуществления метода ИФН статуса используется следующее оборудование и расходные материалы (с возможной заменой на аналогичное оборудование и реагенты):

#### Оборудование и лабораторная посуда/пластик.

- CO<sub>2</sub>-инкубатор SaNyо;
- Холодильник Atlant 5013-016;
- Центрифуга лабораторная BioSan с центробежным ускорением 1000-1500g;
- Инвертированный микроскоп Nikon E200F;
- Ламинарный шкаф II класса с вертикальной подачей стерильного воздуха БМБ-II-«Ламинар-С.»-1.2 (ЗАО «Ламинарные системы», Россия);
- Пробирки стерильные с литий-гепарином;
- Планшеты стерильные кругло- и плоскодонные 96-луночные SPL Life Sciences;
- Чашки Петри стерильные SPL Life Sciences;
- Пробирки центрифужная, полипропиленовые, на 15 мл, стерильные;
- Серологические пипетки на 5 и 10 мл, стерильные;
- Автоматические пипетки Biohit или Sartorius с переменным объемом на 20-200, 1000 мкл;
- Наконечники к автоматическим пипеткам Biohit или Sartorius.

#### Реагенты и материалы.

- Среда RPMI-1640 с глутамином (ПанЭко, Россия);
- Бессывороточная среда (ГибриС-1-II (ПанЭко, Россия); и др.);
- Среда DMEM, DMEM/F12 с глутамином;

- Ростовая добавка BioVer;
- Гентамицин 40 мг/мл;
- Фитогемагглютинин Р (ФГА) 10 мг/мл (ПанЭко, Россия);
- Эмбриональная телячья сыворотка (Life Techn., Netherlands и т.п.);
- Вирус болезни Ньюкасла (NDV), штамм Канзас, с активностью используемого вируса не менее  $10^8$  ЦПД<sub>50</sub> или 512 ГАЕ;
- Вирус везикулярного стоматита с активностью не менее  $10^5$  ТЦД/мл (VSV, штамм Индиана) из коллекции ФГБУ «НИЦЭМ им.Н.Ф.Гамалеи» МЗ РФ;
- Клетки почки зелёной мартышки Vero из коллекции ФГБУ «НИЦЭМ им.Н.Ф.Гамалеи» МЗ РФ, ЦКП "Биобанк" ФГБНУ МГНЦ, Москва;
- Препараты индукторов интерферонов, препараты иммуномодуляторы.

### ***Анализируемые образцы***

Биоматериалом для исследования является гепаринизированная кровь.

Взятие проб цельной крови следует производить путем обычной венопункции в объеме 4 мл (для детей - от 1 мл). Цельную кровь набирают в соответствующие стерильные пробирки с литий-гепарином для дальнейшего проведения реакции ИФН статуса и определения чувствительности лейкоцитов к иммуноактивным препаратам. Из оставшейся в пробирке после пробоподготовки и отстоявшейся в холодильнике при температуре (2– 8)° С крови берут стерильно 100 мкл сыворотки крови для титрования.

### ***Подготовка реагентов***

1. а) Подготовка рабочих растворов питательных сред RPMI-1640, DMEM, DMEM/F12: к 450 мл каждой среды добавляют 1 мл антибиотика гентамицина.
  - б) При культивировании клеток Vero на сывороточной питательной среде готовят ростовую среду (РС), добавляя в DMEM 10 % ЭТС.
  - в) При титровании ИФН на этих же клетках готовят поддерживающую среду (ПС), добавляя в DMEM 2 % ЭТС.
  - г) При культивировании клеток Vero бессывороточного ведения используют готовую питательную среду ГибриС-1-П или готовят среду DMEM/F12 с добавлением ростовой добавки BioVer.
2. Подготовка рабочего раствора вируса NDV.  
Вирус разводят в 10 раз рабочим раствором питательной среды RPMI-1640.
  3. Подготовка рабочего раствора ФГА.  
Сухой порошок ФГА разводят в 100 раз стерильной водой для инъекций.

4. Подготовка рабочего раствора препаратов. Используемые иммуноактивные препараты разводят стерильной водой для инъекций до конечных концентраций, соответствующих рассчитанным опытным путем, согласно их терапевтическим дозам.

## **ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ИФН статуса**

Исследование ИФН статуса должно проводиться в лабораторных условиях с использованием бокса биологической безопасности II класса.

### **Этапы определения биологической активности интерферона методом «ИФН статус»**

#### **1. Постановка реакции.**

1. У обследуемых людей асептически берут кровь из локтевой вены в стерильную пробирку с гепарином.
2. Реакцию проводят с использованием стерильных 96-луночных круглодонных планшетов, в лунки которых вносят по 160 мкл рабочей среды RPMI-1640.
3. Для синтеза ИФН I типа к 160 мкл среды RPMI-1640 в лунку вносят 20 мкл NDV.
4. Для синтеза ИФН II типа к 160 мкл среды RPMI-1640 в лунку вносят 20 мкл ФГА.
5. Затем во все лунки добавляют по 20 мкл цельной гепаринизированной крови и хорошо перемешивают содержимое каждой лунки пипетированием.
6. Планшеты закрывают крышками и инкубируют в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 37°C 48 ч.
7. После инкубации супернатанты отбирают в стерильные круглодонные планшеты и хранят в холодильнике при температуре (2 – 8)° C в течение недели до титрования.

*На этом этапе в супернатантах и сыворотке крови возможно количественное определение белков ИФН I и II типов методом ИФА при использовании соответствующих тест-систем «ИФНальфа», «ИФНбета», «ИФНгамма».*

На круглодонном планшете для постановки реакции можно разместить пробы от нескольких пациентов, в зависимости от того, ставится ли у пациентов чувствительность к препаратам и от количества заявленных препаратов. В таблице 3: на данном планшете размещены пробы крови от 8-и пациентов на ИФН статус (индукция крови NDV, ФГА), причем, у 6-и пациентов (№№1-6) – с определением чувствительности к иммуноактивным препаратам.

**Таблица 3.** Схематичное расположение проб на планшете при постановке реакции.

<b>A</b> NDV	<b>B</b> NDV	<b>C</b> NDV	<b>D</b> NDV	<b>E</b> NDV	<b>F</b> NDV	<b>G</b> NDV	<b>H</b> 1
							2
ФГА	ФГА	ФГА	ФГА	ФГА	ФГА	ФГА	3
ФГА	ФГА	ФГА	ФГА	ФГА	ФГА	ФГА	4
						Кровь Пациента 7	5
ФГА+a	ФГА+a	ФГА+a	ФГА+a	ФГА+a	ФГА+b		6
ФГА+a	ФГА+a	ФГА+a	ФГА+a	ФГА+a	ФГА+b	NDV	7
ФГА+b	ФГА+b	ФГА+cб	ФГА+b	ФГА+c	ФГА+c		8
ФГА+b	ФГА+b	ФГА+b	ФГА+b	ФГА+c	ФГА+c	ФГА	9
ФГА+c	ФГА+c	ФГА+c	ФГА+c	ФГА+d	ФГА+d	ФГА	10
ФГА+c	ФГА+c	ФГА+c	ФГА+c	ФГА+d	ФГА+d		11
Кровь Пациента 1	Кровь Пациента 2	Кровь Пациента 3	Кровь Пациента 4	Кровь Пациента 5	Кровь Пациента 6	Кровь Пациента 8	12

Примечание. В рабочем разведении: **NDV**- вирус болезни Ньюкасла; **ФГА**- фитогемагглютинин; препараты: **а, б, с, д** и др. – заявленные пациентом препараты индукторов ИФН и иммуномодуляторы для определения чувствительности лейкоцитов крови к ним.

## **2. Определение биологической активности ИФН клетками крови**

проводят путем титрования стимулированных супернатантов и сыворотки крови пациента на предварительно выращенном монослое клеток Vero в 96-луночных плоскодонных планшетах. Обязательным условием определения активности ИФН является постановка контроля тест-вируса (положительный контроль) и контроля клеток (отрицательный контроль).

1. Перед титрованием ИФН из планшетов с монослоем клеток удаляют ростовую среду и в каждую лунку вносят по 100 мкл поддерживающей среды. В планшетах с бессывороточной питательной средой замены среды не требуется. Для титрования



ИФН I типа первое разведение соответствует 1:10, ИФН II типа и сыворотки - 1:2. Дальнейшее титрование проводят с последующими 2-х-кратными разведениями.

2. В день титрования проб на монослое клеток 10-кратно титруют тест-вирус VSV от  $10^{-1}$  до  $10^{-6}$  для подтверждения активности и выявления рабочего титра вируса VSV.

3. Планшет с протитрованными стимулированными супернатантами, сывороткой крови пациента, а также тест-вирусом закрывают и помещают в CO<sub>2</sub>-инкубатор на 24 ч при температуре 37°C и 5 % CO<sub>2</sub>.

4. Через 24 ч при просмотре результатов титрования тест-вируса в инвертированном микроскопе выявляют его рабочую дозу, при которой деструкция монослоя клеток достигает 100 % (#). В требуемом объеме заражения готовят суспензию вируса, содержащую от 1 до 10 ЦПД (цитопатических доз). Удаляют содержимое планшета после 24-х-часового инкубирования и вносят приготовленную вирусную суспензию по 100 мкл в каждую лунку планшета, кроме контроля клеток. Планшет с содержимым закрывают и помещают в CO<sub>2</sub>-инкубатор на 24 ч при температуре 37°C и 5 % CO<sub>2</sub>.

5. На следующие сутки при положительном контроле дозы вируса (#) проводят визуальный учет результатов в инвертированном микроскопе по ЦПД тест-вируса.

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КЛЕТОК КРОВИ К ИММУНОПРЕПАРАТАМ**

Внедрение в медицинскую практику иммуноактивных препаратов обуславливает изучение механизмов действия этих препаратов и предусматривает определение их влияния на биологическую активность ИФН лейкоцитами крови человека.

Поэтому дополнением к определению ИФН статуса является разработанный метод определения индивидуальной чувствительности клеток крови конкретного пациента к иммуноактивным препаратам. Чувствительность клеток оценивают по нарастанию титров ИФН I типа или особенно II типа после воздействия указанных препаратов на лейкоциты периферической крови *in vitro* [16, 17]. Клиническое наблюдение и лабораторное исследование ИФН статуса в динамике помогают оценить правильность тактики лечения и прогнозировать исход заболевания.

**Определение чувствительности лейкоцитов к иммуноактивным препаратам** проводится по оценке биологической активности ИФН. На 1-м этапе постановки реакции вносят 140 мкл RPMI-1640, 20 мкл ФГА (или 20 мкл NDV), 20 мкл крови и 20 мкл исследуемого препарата в концентрации, подобранной опытным путем. Эмпирический скрининг подбора разведений препаратов, проведенный нами, от 100 до 10000 раз, позволил определить рабочий диапазон разведения каждого препарата. Для определения чувствительности к иммуноактивным препаратам использован подход, основанный на способности препаратов стимулировать сниженную продукцию гамма-ИФН лейкоцитами крови больного.

**Гамма-ИФН-** ключевой цитокин, уровень продукции которого лейкоцитами крови отражает напряженность клеточного противовирусного и антибактериального иммунного ответа. В зависимости от значения показателя продукции гамма-ИФН лейкоцитами по данным ИФН статуса конкретного больного различают следующие степени чувствительности:

- **Сильно выраженная-** если в присутствии препаратов уровень продукции гамма-ИФН увеличивается более чем в 4 раза;
- **Выраженная-** если в присутствии препаратов уровень продукции гамма-ИФН увеличивается в 3-4 раза;
- **Слабо выраженная-** если в присутствии препаратов уровень продукции гамма-ИФН увеличивается в 2 раза;
- **Отсутствие чувствительности-** если в присутствии препаратов уровень продукции гамма-ИФН не изменяется.

Оценка активности препарата проводится в сравнении с активностью ИФН II типа без этого препарата, что позволяет судить о чувствительности лейкоцитов крови человека к исследуемому препарату.

**К иммуноактивным препаратам** относятся:

Препараты интерферона: -альфа: Виферон, Гриппферон, Интрон, Реальдирон, Реаферон, Роферон и др.; -бета: Бетаферон, Генфаксон, Ребиф, Ронбетал, Синновекс и др.; -гамма: Ингарон. Все эти препараты интерферонов для терапии используются по показаниям, описанным в Инструкциях к препарату.

Индукторы ИФН: аллокин-альфа, амиксин, кагоцел, неовир, ридостин, циклоферон и другие.

Иммуномодуляторы: арбидол, галавит, глутоксим, изопринозин, иммунал, иммуномакс, имунорикс, имунофан, ликопид, панавир, полиоксидоний, тактивин, тимоген и другие.

Терапевтические вакцины.

**Таблица 4.** Схематичное расположение проб на плоскодонном планшете с монослоем клеток при биологическом титровании.

<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>E</b>	<b>F</b>	<b>G</b>	<b>H</b>
ИФН I типа <b>10</b>	ИФН I типа <b>10</b>	ИФН I типа <b>10</b>	Пациент 1 ИФН II типа <b>2</b>	Пациент 2 ИФН II типа <b>2</b>	Пациент 3 ИФН II типа <b>2</b>	Пациент 2 ФГА+a <b>4</b>	<b>1</b> КК
<b>20</b>	<b>20</b>	<b>20</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>8</b>	<b>2</b> КК
<b>40</b>	<b>40</b>	<b>40</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>16</b>	<b>3</b> КК
<b>80</b>	<b>80</b>	<b>80</b>	<b>16</b>	<b>16</b>	<b>16</b>	<b>32</b>	<b>4</b> КК
<b>160</b>	<b>160</b>	<b>160</b>	<b>32</b>	<b>32</b>	<b>32</b>	<b>64</b>	<b>5</b> КВ <sup>-1</sup>
<b>320</b>	<b>320</b>	<b>320</b>	<b>64</b>	<b>64</b>	<b>64</b>	<b>128</b>	<b>6</b> КВ <sup>-1</sup>
<b>640</b>	<b>640</b>	<b>640</b>	ФГА+a <b>4</b>	ФГА+b <b>4</b>	ФГА+c <b>4</b>	ФГА+b <b>4</b>	<b>7</b> КВ <sup>-1</sup>
Сыворотка крови <b>2</b>	Сыворотка крови <b>2</b>	Сыворотка крови <b>2</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>8</b> КВ
<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>16</b>	<b>16</b>	<b>16</b>	<b>16</b>	<b>9</b> КВ
<b>8</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>32</b>	<b>32</b>	<b>32</b>	<b>32</b>	<b>10</b> КВ
<b>16</b>	<b>16</b>	<b>16</b>	<b>64</b>	<b>64</b>	<b>64</b>	<b>64</b>	<b>11</b> КВ
<b>32</b>	<b>32</b>	<b>32</b>	<b>128</b>	<b>128</b>	<b>128</b>	<b>128</b>	<b>12</b> КВ
Пациент 1	Пациент 2	Пациент 3	Пациент 1	Пациент 1	Пациент 1	Пациент 2	

Примечание. КК- контроль клеток; КВ- контроль вируса; КВ<sup>-1</sup> -10-кратное разведение контроля вируса.

На планшете показан вариант расположения проб от 3-х пациентов.

Пациент 1. Титрование простимулированной NDV пробы (ИФН I типа) от 10 до 640 ед/мл; ряд А (1-7). Здесь же ниже титрование сыворотки от 2 до 32 ед/мл; ряд А(8-12). Титрование простимулированной ФГА пробы (ИФН II типа) от 2 до 64 ед/мл; ряд D(1-6). Чувствительность к препаратам, титрование от 4 до 128 ед/мл: **а** (ряд D (7-12)), **б** (ряд E (7-12)), **с** (ряд F (7-12)).

Пациент 2. Титрование простимулированной NDV пробы (ИФН I типа) от 10 до 640 ед/мл; ряд В (1-7). Здесь же ниже титрование сыворотки от 2 до 32 ед/мл; ряд В (8-12). Титрование простимулированной ФГА пробы (ИФН II типа) от 2 до 64 ед/мл; ряд E

(1-6). Чувствительность к препаратам, титрование от 4 до 128 ед/мл: **а** (ряд G (1-6), **б** (ряд G (7-12)).

Пациент 3. Титрование простимулированной NDV пробы (ИФН I типа) от 10 до 640 ед/мл; ряд С (1-7). Здесь же ниже титрование сыворотки от 2 до 32 ед/мл; ряд С (8-12). Титрование простимулированной ФГА пробы (ИФН II типа) от 2 до 64 ед/мл; ряд F (1-6). Чувствительность к препаратам не заявлена.

### ***Расчет результатов***

Результаты анализа записываются на жесткий диск персонального компьютера и имеют возможность быть распечатанными на принтере при выборе оператором соответствующей опции в окне вывода результатов.

1. **За единицу биологической (функциональной) активности ИФН (ед/мл)** принимается величина обратного разведения его титра, при котором задерживается деструкция монослоя клеток от внесенного тест-вируса VSV, т.е. то максимальное разведение, при котором наблюдается 50 % защита клеток монослоя от ЦПД VSV.

#### **2. Показатели нормы биологической активности ИФН**

За средние показатели ИФН в норме у взрослых принимаются значения ИФН I типа от 640 ед/мл, ИФН II типа – от 64 ед/мл, сывороточного ИФН <2-8 ед/мл. В отношении детей до 1 года следует отметить повышенные значения уровня ИФН в сыворотке крови, что является физиологической возрастной нормой, а также 2-кратно сниженные показатели продукции ИФН I и II типов по сравнению с показателями нормы взрослых.

Референтные значения ИФН статуса представлены в таблице 5.

**Таблица 5.** Референтные значения ИФН статуса человека.

<b>Показатель биологической активности продукции ИФН лейкоцитами крови</b>	<b>Норма для взрослых (в ед/мл)</b>	<b>Норма для детей до 14 лет (в ед/мл)</b>
<b>ИФН в сыворотке крови</b>	<b>&lt;2-8</b>	<b>&lt;2-8</b>
<b>ИФН I типа</b>	<b>≥640</b>	<b>≥320</b>
<b>ИФН II типа</b>	<b>≥64</b>	<b>≥32</b>

## **ПОКАЗАНИЯ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ МЕТОДА**

Метод «ИФН статус» рекомендуется к применению в здоровой популяции для оценки врожденного иммунитета, при заболеваниях различной этиологии, а также в динамике лечения для коррекции проводимой терапии.

Показания, при которых необходимо исследование ИФН статуса:

1. вирусные инфекции: острые и хронические формы;
2. аллергические и аутоиммунные заболевания;
3. рецидивирующие оппортунистические инфекции;
4. часто болеющие дети;
5. врожденные и приобретенные дефекты системы ИФН;
6. клинические испытания препаратов ИФН, индукторов ИФН и иммуномодуляторов;
7. клиническое применение вышеназванных препаратов и оценка эффективности терапии;
8. разработка индивидуальных схем лечения препаратами ИФН, его индукторами и другими иммуноактивными препаратами.

## **ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ МЕТОДА**

Противопоказаний нет.

## **ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Многолетние исследования ИФН статуса при различных формах патологии позволили установить, что острые воспалительные заболевания часто характеризуются дефицитом продукции  $\alpha$ -ИФН (ИФН I типа), хронические, рецидивирующие инфекционные и неинфекционные воспалительные процессы - дефицитом продукции  $\gamma$ -ИФН (ИФН II типа).

Лабораторные исследования крови больных с различными формами патологии, индивидуальной чувствительности лейкоцитов к иммуноактивным препаратам по разработанной методике использованы в диагностике ИФН-дефицитных состояний и отборе для их лечения наиболее активных ИФН-продуцирующих иммуноактивных препаратов. Это позволяет своевременно разрабатывать индивидуально-оптимальные схемы применения этих препаратов с целью повышения эффективности персонализированного лечения.

При длительном клиническом применении иммуномодулирующих препаратов существует необходимость проведения мониторинга показателей ИФН статуса, как критерия эффективности и контроля предложенной терапии.

При выявлении функциональной неполноценности системы ИФН в различных возрастных группах повышенного риска и при различных патологических состояниях необходима коррекция системы ИФН.

Клинически обоснованная тактика профилактической и лечебной коррекции дефектов системы ИФН с помощью иммуноактивных препаратов (ИФН и его индукторы, вакцины, иммуномодуляторы), позволяет повысить неспецифическую резистентность организма при различных патологических состояниях. Нормализация показателей ИФН статуса обычно совпадает по времени с процессами выздоровления.

Следует заметить, что результаты исследования продукции ИФН необходимо рассматривать в комплексе с остальными лабораторными и клинико-anamnestическими данными.

В целом, определение показателей ИФН статуса, особенно в условиях применения иммунотерапии, имеет важное значение, и может быть включено в общую оценку иммунного статуса как здорового, так и больного человека.

На данный момент сила рекомендаций использования метода «ИФН статус» в целях оценки биологической функциональной активности системы интерферона у здоровых людей и при патологии соответствует силе рекомендаций «В» и «С» (наличие рандомизированных и нерандомизированных клинических исследований). Уровень доказательности и данные клинических испытаний с оценкой рейтинга исследований приведены в таблице 6.

**Таблица 6.** Перечень исследований по клинической интерпретации метода ИФН статус.

Год	Автор и место проведения	N	n	Группы	Комментарий	Рейтинг
1998-1999	Проф.Левашов, Проф.Ершов Москва	60	60	Псориаз	Отдаленные результаты на протяжении 1 года после включения циклоферона в терапию	2+
1999-2000	Проф. Маев, Проф. Ершов Москва	113	113	Неспецифический язвенный колит	В динамике лечения амиксином, циклофероном	2+
2000-2010	Проф.Колобухина Проф.Ершов Москва	609	253	ОРВИ, в т.ч. грипп	Оценка клинической эффективности (КЭ) кагоцела, циклоферона	2+
			100	Грипп Сезонный	Оценка КЭ ингавирина	
			256	Грипп «свиной»	Оценка КЭ ингавирина	
2004-2014	Проф.Чучалин, Проф. Ершов Москва	205	86	Бронхиальная астма	Оценка КЭ вакцины ВП-4, циклоферона	2++
			60	Аллергический ринит	Оценка КЭ сублингвального ИФН- $\alpha$ 2	
			59	Бронхиальная астма ассоциированная с ХОБЛ	Оценка КЭ вакцины ВП-4, рузама	
2003-2017	Проф.Котов. Д-р Оспельникова Москва	252	252	Рассеянный склероз	Оценка КЭ препаратов ИФН $\beta$ -1a/-1b	2+
2008-2017	Проф.Зверев, Д-р Оспельникова Москва	2593	21	Здоровые		2+
			2572	Аллергические заболевания	Подбор препаратов индукторов ИФН, иммуномодуляторов	1-
2008-2016	Проф. Ершов, Д-р Оспельникова Москва	9598	145	Здоровые		2+
			9453	Популяционный анализ взрослого населения	Подбор препаратов индукторов ИФН, иммуномодуляторов	1-

N – общее количество обследованных

n – число обследованных в группе

## **Критерии интерпретации результатов**

Любой воспалительный процесс инфекционной и неинфекционной природы характеризуется недостаточной способностью лейкоцитов к индуцированной выработке ИФН (ед/мл) в биологическом культуральном методе ИФН статус. В зависимости от тяжести заболевания, клинических проявлений выявляется недостаточность функциональной активности ИФН *разной степени выраженности* (таблица 7).

**Таблица 7.** Степени недостаточности системы ИФН.

<b>ИФН I типа (ед/мл)</b>	<b>ИФН II типа (ед/мл)</b>	<b>Степени недостаточности системы интерферона</b>
<b>640, 640-1280</b>	<b>64, 64-128</b>	<b>Норма</b>
320-640, 320	32-64, 32	Недостаточность системы ИФН 1 степени по продукции ИФН I и II типов лейкоцитами крови
160-320	16-32	Недостаточность системы ИФН 1-2 степени по продукции ИФН I и II типов лейкоцитами крови
160, 80-160	16	Недостаточность системы ИФН 2 степени по продукции ИФН I и II типов лейкоцитами крови
80, 40-80	8-16	Недостаточность системы ИФН 2-3 степени по продукции ИФН I и II типов лейкоцитами крови
40	8	Недостаточность системы ИФН 3 степени по продукции ИФН I и II типов лейкоцитами крови
20-40	4-8	Недостаточность системы ИФН 3-4 степени по продукции ИФН I и II типов лейкоцитами крови
≤20	≤4	Недостаточность системы ИФН 4 степени по продукции ИФН I и II типов лейкоцитами крови

Повышение ИФН в сыворотке крови >8 ед/мл свидетельствует об остроте воспалительного процесса. В норме уровень ИФН в сыворотке крови, определенный по методу ИФН статуса, соответствует <2-8 ед/мл.

Врачи клинической лабораторной диагностики консультируют практикующих врачей и помогают в интерпретации результатов исследований. Врач-клиницист на основании анамнеза больного, клинических проявлений, лабораторных анализов и исследований, в т.ч. и ИФН статуса, ИФН статуса с определением чувствительности к препаратам, делает общее заключение и назначает соответствующую терапию.



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Isaacs A., Lindenmann J. Virus interference. I. The interferon. Proc R Soc Lond B Biol Sci. 1957 Sep 12; 147(927): 258-67.
2. Соловьев В.Д. и Бектемиров Т.А. Интерфероны в теории и практике медицины. М., Медицина, 1979, 1981.
3. Doldi K, Leroux M, Augustin R, Kirchner H, Kalden JR. Proliferation and interferon production in whole blood samples and isolated lymphocyte preparations. J Interferon Res. 1985; 5(1): 55-64.
4. Campbell JB, Grunberger T, Kochman MA, White SL. A microplaque reduction assay for human and mouse interferon. Can J Microbiol. 1975; 21(8): 1247-53.
5. Ferreira PC, Peixoto ML, Silva MA, Golgher RR. Assay of human interferon in Vero cells by several methods. J ClinMicrobiol.1979; 9(4): 471-5.
6. Richmond J.Y., Polatnick J., and Knudsen R.C. Microassay for interferon, using [3H]uridine, microculture plates, and a multiple automated sample harvester. Appl Environ Microbiol. 1980; 39(4): 823–827.
7. Bocci V. Production and role of interferon in physiological conditions. Biol Rev Camb Philos Soc. 1981; 56(1): 49-85.
8. Rubinstein S, Familletti PC, Pestka S. Convenient assay for interferons. J Virol. 1981; 37(2): 755-8.
9. Kirchner H, Kleinicke C, Digel W. A whole-blood technique for testing production of human interferon by leukocytes. J Immunol Methods. 1982; 48(2): 213-9.
10. Tilles J.G., Finland M. Microassay for Human and Chick Cell Interferons. Applied Microbiology. 1968; 16 (11): 1706-1707
11. Ершов Ф.И., Готовцева Е.П., Носик Н.Н. Интерфероновый статус в норме. Иммунология. 1986; 3: 52-54.
12. Ершов Ф.И., Готовцева Е.П., Лаврухина Л.А. Интерфероновый статус при различных заболеваниях. Вопросы вирусологии. 1990; 6: 444-448.
13. Ершов Ф.И. Система интерферона в норме и при патологии. М., Медицина. 1996, 239 с
14. Григорян С.С., Майоров И.А., Иванова А.М., Ершов Ф.И. Оценка интерферонового статуса людей по пробам цельной крови. Вопросы вирусологии. 1988; 4: 433-436.

15. Государственная Фармакопея РФ, XIII издание, Том II. М., 2015. ОФС.1.7.2.0002.15 Биологические методы испытания препаратов интерферона с использованием культур клеток.
16. Григорян С.С., Оспельникова Т.П., Ершов Ф.И. Определение индивидуальной чувствительности людей к индукторам интерферона и другим препаратам (по воздействию на интерфероновый статус). Методические рекомендации. Москва. 2000; 14с
17. Оспельникова Т.П., Григорян С.С., Ершов Ф.И. Новый подход к отбору иммуноактивных препаратов для лечения. Медицинская иммунология. 2001; 3(2): 332-333.