

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

«УТВЕРЖДАЮ»

Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневич

« 05 » 04 2013 г.

Регистрационный № 012-0213

**МЕТОД КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО  
ПРОТИВОГРИППОЗНОГО ИММУНИТЕТА**

инструкция по применению

**Учреждение-разработчик:**

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр  
эпидемиологии и микробиологии»

**Авторы:** Дашкевич А.М.; к.м.н. Гончаров А.Е.; д.м.н., профессор Титов Л.П.

Минск, 2013

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) представлена схема комплексной оценки поствакцинального противогриппозного иммунитета, включающая оценку переносимости, иммуногенности и эпидемиологической эффективности вакцинации против гриппа.

## **1 Область применения**

Инструкция предназначена для врачей-лаборантов лабораторий центров гигиены и эпидемиологии, клинико-диагностических лабораторий инфекционных больниц и диагностических центров, врачей-специалистов иных организаций здравоохранения, осуществляющих оценку поствакцинального иммунитета.

## **2 Показания к применению**

Комплексная оценка поствакцинального противогриппозного иммунитета: оценка переносимости, иммунологической и эпидемиологической эффективности вакцинации.

## **3 Перечень необходимого оборудования, реагентов и расходных материалов**

### **3.1 Оборудование:**

1. ламинарные боксы II класса защиты с бактерицидной лампой;
2. одноканальные и многоканальные автоматические дозаторы разных объемов;
3. центрифуга;
4. холодильник;
5. морозильник;
6. термостат (с рабочей температурой +37°C);
7. водяная баня;
8. проточный цитофлуориметр;

9. мерные колбы для приготовления растворов;
10. емкости для сброса биологического материала.

### **3.2 Расходные материалы:**

1. наконечники пластиковые на 1–5 мл, 0,01–0,1 мл, 0,1–1,0 мл;
2. одноразовые полипропиленовые пробирки объемом 1,5 мл, 15 мл;
3. пробирки для цитофлуориметра;
4. вакутайнеры с гепарином;
5. пластиковые микротитровальные 96-луночные планшеты.

### **3.3 Реагенты:**

1. Фосфатно-солевой буфер, pH 7,2-7,4;
2. Набор для постановки РТГА (диагностикумы гриппозные сухие);
3. 0,5% суспензия куриных эритроцитов
4. моноклональные антитела к CD3, CD69, ИНФ- $\gamma$ , CD45R0, CD45RA и изотипические контроли, конъюгированные с флуорохромами;
5. антигены вирусов гриппа из вакцин, не содержащих консерванты либо вирусы гриппа;
6. лизирующий раствор (10 $\times$  раствор, 100 мл): хлорид аммония – 8,29; гидрокарбонат калия – 1,0; тетранатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты – 0,37; воды аналитического качества до 100 мл.;
7. фиксирующий раствор (1 $\times$  раствор, 100 мл): параформальдегид – 4,0; фосфат калия однозамещенный безводный – 0,2; хлорид калия – 0,2; фосфат натрия двузамещенный двенадцативодный – 2,9; хлорид натрия – 8,0; воды аналитического качества до 100 мл.;
8. пермеабилзирующий раствор (1 $\times$  раствор, 100 мл): сапонин – 0,3; фосфат калия однозамещенный безводный – 0,2; хлорид калия – 0,2; фосфат натрия двузамещенный двенадцативодный – 2,9; хлорид натрия – 8,0; воды аналитического качества до 100 мл.;

9. DPBS (1× раствор, 1 л): фосфат калия однозамещенный безводный – 0,2; хлорид калия – 0,2; фосфат натрия двузамещенный двенадцативодный – 2,9; хлорид натрия – 8,0; тетранатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты – 0,2; азид натрия – 1,0; воды аналитического качества до 1 л.

Панель антител подбирают таким образом, чтобы антитела к CD69 и ИНФ-γ были конъюгированы с наиболее яркими из доступных флуорохромов: фикоэритрином (PE), аллофикоцианином (APC), тандемом фикоэритрина и Cy7 (PE-Cy7). Антитела к CD3, CD45R0, CD45RA молекулам могут быть конъюгированы с любым другим флуорохромом, который позволяет четко идентифицировать популяцию этих клеток, и требует минимальной спектральной компенсации (например, CD3 – APC, CD69 – PE, ИНФ-γ – PE; CD3 – APC, ИНФ-γ – PE, CD45RA – FITC, CD45R0 — PE-Cy7). Изотипическое антитело должно быть того же изотипа, что и антитело к ИНФ-γ и конъюгировано с тем же флуорохромом. Для уточнения списка флуорохромов, пригодных для использования, см. инструкцию по эксплуатации проточного цитофлуориметра.

#### 4 Этапы оценки

Комплексная оценка поствакцинального противогриппозного иммунитета состоит из 5 этапов.

**4.1 Первый этап** предусматривает определение популяции (когорты) лиц, среди которых планируется проведение исследований – необходимый объем выборки (в различных возрастных группах).

Расчет объема выборки проводят по формуле:

$$n = \frac{t^2 p(1-p)N}{\Delta^2 N + t^2 p(1-p)}, \text{ где}$$

$t$  – коэффициент, соответствующий выбранному уровню значимости. Если уровень значимости = 0,05 (доверительная вероятность 95%), то значение  $t=1,96$ ; для доверительной вероятности 99% значение коэффициента  $t=2,59$ .

$p$  – доля признака в изучаемой генеральной совокупности. Если доля признака для генеральной совокупности неизвестна, при расчете используют максимальное значение, которое достигается при  $p=0,5$ ; тогда  $0,5(1-05)=0,25$ .

$\Delta$  – величина допустимой ошибки в долях (т.е. приведенная к «1»). Если установить допустимую ошибку равную 3%, то допустимая ошибка в долях будет равна 0,03.

$N$  – объем генеральной совокупности.

Также на данном этапе разрабатывается протокол исследования, в котором отражаются конкретные цели и задачи, описывается методология и дизайн исследования.

**4.2 Второй этап** – осуществляют сбор информации об участниках исследования (пол, возраст, сопутствующая патология, прививочный анамнез в отношении гриппа) – на основании Карты участника исследования (приложение 1), проводят иммунизацию против гриппа.

Сведения о переносимости вакцин получают как в результате наблюдения за участниками исследования, так и путем анкетирования (образец анкеты-опросника – см. приложение 2). Формируется база данных, решается вопрос о создании популяционного регистра. Проводится забор материала для лабораторного исследования.

На протяжении 6-9 месяцев после иммунизации осуществляют медицинское наблюдение за состоянием здоровья участников исследования.

При возникновении у участника исследования симптомов острой респираторной инфекции проводят лабораторное обследование заболевшего с целью подтверждения/исключения заболевания гриппом.

#### **4.2.1. Забор материала, хранение и транспортировка образцов для лабораторного исследования**

**Забор крови для серологического исследования.** Кровь в количестве 0,5-1 мл забирают из вены или из пальца в стерильную центрифужную пробирку с соблюдением всех правил асептики.

**Получение сыворотки крови.** Кровь отстаивают при комнатной температуре в течение 30 минут до образования сгустка, затем центрифугируют в течение 10 минут при 3000 оборотах. Полученную сыворотку переносят в стерильные микропробирки, на этикетке указывают идентификационный номер. До проведения исследования сыворотка может храниться при температуре -20°C.

**Забор крови для иммунологического исследования.** Кровь в количестве 5 мл забирают из локтевой вены в вакутайнер с гепарином. Закрытый вакутайнер с кровью несколько раз переворачивают для смешивания крови с антикоагулянтом.

**Забор материала для диагностики гриппа** (назофарингеальный мазок, парные сыворотки крови) и транспортировку образцов проводят в соответствии с требованиями инструкции «Комплексная диагностика гриппа» (№ 121-1210 от 18.01.2011)

**Условия хранения и транспортировки образцов для лабораторного исследования.** Вакутайнеры с кровью доставляют в лабораторию непосредственно в день забора материала. Сыворотка крови до проведения исследования может храниться при температуре -20°C. Транспортировку осуществляют в соответствии с требованиями инструкции «Порядок учета,

хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов 1-4 групп патогенности» №11-713-2002.

#### **4.3 Третий этап** – лабораторное исследование клинического материала.

Серологические исследования (реакцию торможения гемагглютинации, реакцию микронеутрализации) проводят в соответствии с инструкцией «Комплексная диагностика гриппа» (№ 121-1210 от 18.01.2011).

**Интерпретация результатов РТГА:** титр специфических противогриппозных антител считают равным наибольшему разведению сыворотки, в котором наблюдается полное ингибирование гемагглютинации. Титр антител в РТГА 1:40 и выше свидетельствуют о защищенности индивидуума от соответствующего типа вируса гриппа. Титр 1:20 считается условно-защитным титром.

Иммунологические исследования (определение содержания антигенспецифических Т-лимфоцитов) проводят с использованием проточной цитометрии.

#### **Методика определения антигенспецифических Т-лимфоцитов (АСК):**

##### **1) Активация лимфоцитов периферической крови**

В пробирки на 1,5 мл вносят по 500 мкл крови и добавляют: 1) ФМА (25 нг/мл) и иономицин (1 мкг/мл) в качестве положительного контроля; 2) 100 мкл DPBS в качестве отрицательного контроля; 3) *вирусы гриппа* либо антигены вакцинных вирусов гриппа (по 10 мкг/мл каждого). Доводят содержимое пробирок средой RPMI-1640 до 1 мл и культивируют суспензию 2 часа при температуре 37°C. Через 2 часа в пробирки добавляют монензин (10 мкг/мл) и инкубируют 4 часа при температуре 37°C.

## 2) Пробоподготовка

Для каждой пробы отбирают 8 пробирок для цитофлуориметра. Маркируют пробирки №1–8. В пробирки №1-4 добавляют антитела к CD3 в необходимом количестве (согласно инструкции по применению антител). Затем в пробирки добавляют: №1 – антитело к CD69 и 200 мкл крови, инкубированной с ФМА (контроль активации); №2 – антитела к CD45RA, CD45R0 и 200 мкл крови, инкубированной в присутствии DPBS (отрицательный контроль для оценки спонтанной продукции ИНФ- $\gamma$ , «контрольный образец»); №3 – 200 мкл крови, инкубированной с ФМА (положительный контроль для проверки этапа пробподготовки); №4 – антитела к CD45RA, CD45R0 и 200 мкл крови, инкубированной с пептидами («опытный образец»). Пробирки №5-8 используют для подготовки single stain контроля. В них добавляют: № 5 – антитело к CD3 и 200 мкл крови, инкубированной с ФМА, №6 – антитело к CD45R0 и 200 мкл крови, инкубированной с ФМА, № 7 – антитело к CD45RA и 200 мкл крови, инкубированной с ФМА, № 8 – 200 мкл крови, инкубированной с ФМА.

Тщательно перемешивают пробирки и инкубируют смесь в течение 15 минут при 2–8°C в темноте. Затем эритроциты лизируют в 3 мл лизирующего раствора в течение 15 минут при комнатной температуре в темном месте. Клетки центрифугируют 5 минут при 200 g; супернатант удаляют переворачиванием пробирки. Отмывают клетки в 3 мл DPBS; супернатант удаляют переворачиванием пробирки.

Учитывают результаты экспрессии молекулы CD69 (пробирка №1) на проточном цитофлуориметре. Клетки в пробирках №2–8 фиксируют в течение 10 минут в 500 мкл фиксирующего раствора. Затем в каждую пробирку добавляют по 2 мл DPBS; центрифугируют 5 минут при 200 g для осаждения клеток; супернатант удаляют переворачиванием пробирки.

Ресуспендируют клетки в 500 мкл пермеабилизирующего раствора, инкубируют 15 минут, после чего отмывают клетки в 3 мл DPBS.

Для каждой пробы отбирают дополнительно 3 пробирки для цитофлуориметра. Маркируют пробирки №2И, 3И, 4И для постановки изотипического контроля («изотипический контрольный образец»). Разделяют суспензию клеток в пробирках №2–4 на две равные части и переносят их в пробирки №2И, 3И, 4И соответственно.

В пробирки №2–4 и №8 добавляют моноклональное антитело к ИНФ- $\gamma$ , а в пробирки №2И, 3И, 4И – изотипическое антитело и инкубируют 30 минут при 2–8°C. По истечении времени инкубации клетки отмывают от несвязавшихся антител в 2 мл DPBS, ресуспендируют клетки в 300 мкл DPBS и учитывают результаты на проточном цитофлуориметре.

Вначале учитывают контрольный образец (пробирки №2И и №2), затем настраивают компенсацию, используя single stain контроли (пробирки №5–8), далее – образец клеток, активированных ФМА (пробирки №3И и №3), затем – опытный образец (пробирки №4И и №4). На цитограмме CD3/SSC выделяют регион CD3+ лимфоцитов. Создают цитограммы флуоресценции для анализа ИНФ- $\gamma$  в координатах ИНФ- $\gamma$ / CD45RA, CD45R0/ИНФ- $\gamma$  и, анализируя пробирку с изотипическим контрольным образцом (пробирка с литерой «И»), отмечают уровень фоновой флуоресценции. Затем анализируя пробирку с клетками, инкубированными с антителами к ИНФ- $\gamma$ , CD45RA, CD45R0 регистрируют относительное число клеток, содержащих ИНФ- $\gamma$ , а также клетки с коэкспрессией CD45R0/ИНФ- $\gamma$ , CD45RA/ИНФ- $\gamma$ .

Алгоритм проведения этапов пробоподготовки также представлен на рисунке 1.

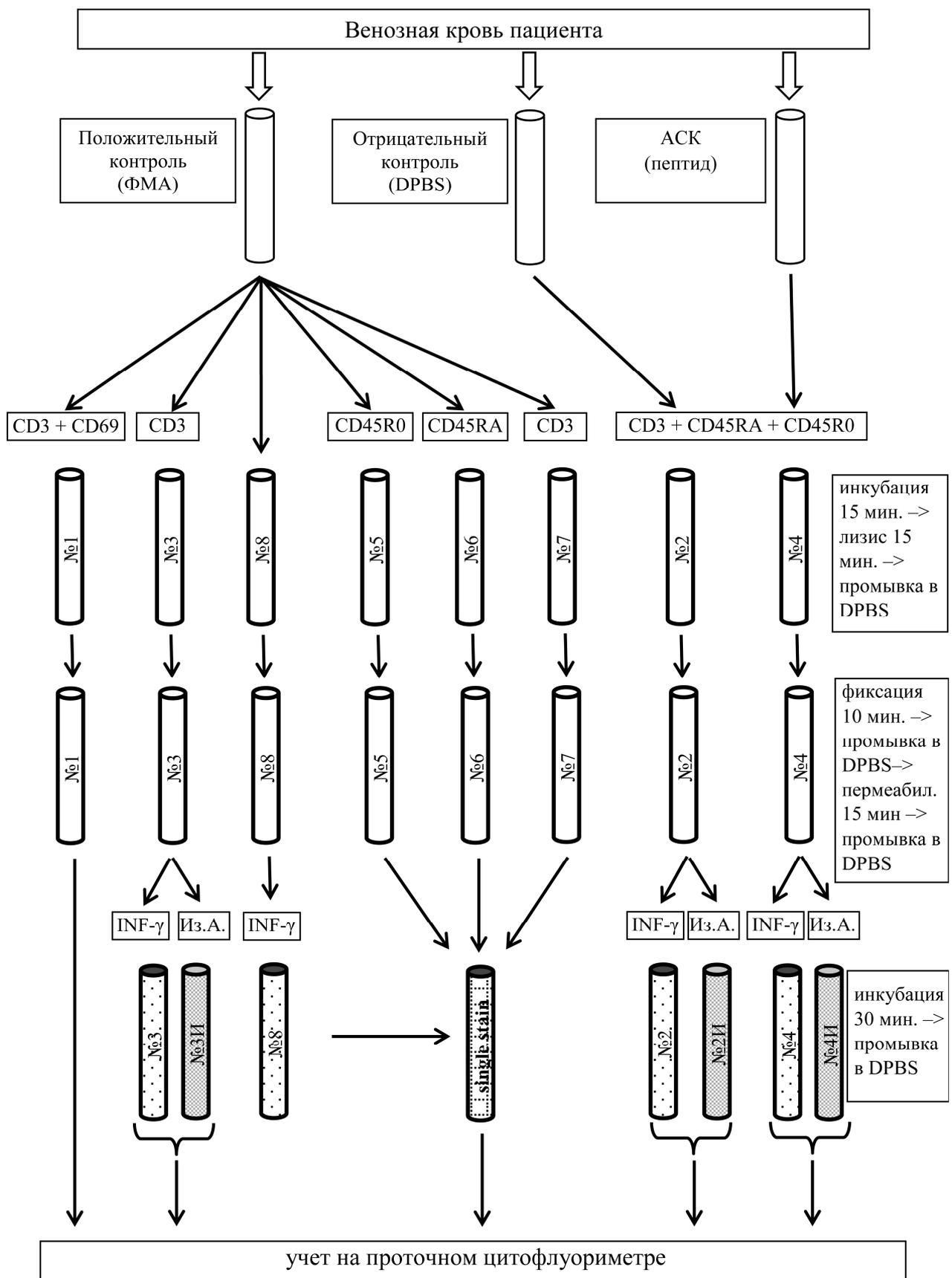


Рисунок 1 – Алгоритм проведения этапов пробоподготовки

### **3) Анализ полученных данных**

Вначале анализируют относительное число активированных ФМА клеток (контроль активации). Экспрессия молекулы CD69 на активированных ФМА и иономицином CD3+ Т-лимфоцитах должна составлять более 80%. В случае, если экспрессия молекулы составляет менее 80%, эксперимент повторяют с этапа 2).

Анализируют число Т-клеток, продуцирующих ИНФ- $\gamma$  при сокультивировании с ФМА (положительный контроль). Число ИНФ- $\gamma$ + Т-лимфоцитов должно составлять более 5%. Если данный показатель оказывается ниже 5%, эксперимент рекомендуется повторить с этапа 2).

Для расчета АСК, от числа Т-лимфоцитов, продуцирующих ИНФ- $\gamma$  под действием вирусов гриппа (опытный образец), вычитают число Т-лимфоцитов, спонтанно продуцирующих ИНФ- $\gamma$  (контрольный образец). Таким образом, расчет числа АСК проводят по следующей формуле:

$АСК = (N_{\#4} - N_{\#4И}) - (N_{\#2} - N_{\#2И})$ , где  $N_{\#x}$  – число CD3+ИНФ- $\gamma$ + клеток в пробирке  $N_{\#x}$ .

С целью анализа динамики иммунного ответа регистрируют число АСК до вакцинации и через  $28 \pm 7$  дней после иммунизации.

Прирост числа АСК рассчитывают по формуле:  $\text{прирост АСК} = \frac{\text{АСК после вакцинации} - \text{АСК до вакцинации}}{\text{АСК до вакцинации}} \times 100\%$

Прирост числа АСК от 0 до 20% расценивают как слабый, 30–50% – умеренный, > 50% – значительный.

У молодых лиц выявляют клетки памяти с фенотипом CD45RA, а у пожилых лиц – CD45R0 (Lisa A. Wagar, Beth Gentleman, Hanspeter Pircher et al., 2011).

### **4) Перечень возможных ошибок при выполнении метода оценки АСК и пути их устранения**

В таблице представлены проблемы и методические ошибки, которые могут возникнуть при выполнении метода с описанием причин возникновения и путей их устранения (таблица).

Таблица – Возможные ошибки или осложнения при выполнении метода и пути их устранения

| Проблема   | Возможная причина                                  | Пути устранения  |
|--|--|--|
| Отсутствие активации клеток                                | Неправильные условия хранения веществ              | Правильно готовить и хранить растворы  |
|  | Неподходящий антикоагулянт                         | Использовать только гепарин (цитрат натрия, ЭДТА не используют)                |
|  | Неподходящие условия культивирования               | Тщательно соблюдать режим инкубации  |
| Слабая интенсивность свечения, плохое разделение популяций | Низкая концентрация антител                        | Подобрать достаточную концентрацию   |
|  | Клетки не отмыты после этапа пермеабиллизации      | Тщательно отмывать клетки в DPBS   |
|  | Непригодные растворы                               | Правильно готовить растворы, соблюдать условия хранения.                       |
|  | «Выгорание» флуорохромов                           | Инкубация клеток в темноте, сведение времени манипуляций с клетками к минимуму |
|  | «Тусклые» флуорохромы                              | Использовать более яркие флуорохромы (PE, APC, PE-Cy7)                         |
|  | Плохое смешивание антител с пробой                 | Тщательно смешивать антитела с клетками  |
| Высокая фоновая флуоресценция                              | Отсутствие отмывки клеток после этапа фиксации     | Тщательно отмывать клетки в DPBS   |
|  | Отсутствие отмывки антител                         |  |
|  | Чрезмерно длительная фиксация и пермеабиллизация   | Следить за временем инкубации  |
|  | Наличие свободных флуорохромов в растворах антител | Использовать другие антитела   |
|  | Чрезмерная концентрация изотипического антитела    | Подобрать концентрацию антитела  |
| Чрезмерные потери клеток                                   | Недостаточное время центрифугирования              | Следить за временем центрифугирования  |
|  | Некорректное удаление супернатанта                 | Правильно удалять супернатант  |
|  | Непригодные растворы, длительное время инкубации   | Следовать пунктам инструкции   |
|  | Адгезия клеток                                     | Работать с охлажденными растворами   |
| Недостаточный лизис эритроцитов                            | Неправильно приготовленный раствор                 | Правильно готовить и хранить раствор   |
|  | Некорректный температурный режим                   | Лизис при комнатной температуре  |
|  | Недостаточное перемешивание                        | Двухкратное перемешивание на вортексе  |

**4.4 Четвертый этап** предусматривает использование методов статистической обработки полученной информации. В первую очередь, дают

демографическую оценку изучаемой популяции, проводят анализ состояния здоровья и прививочного анамнеза участников исследования. На основании данных анкетирования оценивают реактогенность применяемых вакцинных препаратов.

Для оценки иммунологической эффективности вакцин используют следующие критерии:

- серопротекция (процент лиц с защитными титрами специфических антител (1:40 и выше);
- сероконверсия (число диагностических приростов титров антител (в 4 и более раза) по сравнению с фоновой сывороткой);
- кратность нарастания среднегеометрических титров антител.

**Определение среднегеометрических титров антител (СГТ).** Титр антител в РТГА менее 1:10 принимают равным 1:5. Для определения СГТ титры антител переводят в логарифмы с основанием 2, суммируют и делят на число сывороток с антителами. Значения логарифмов с основанием 2 представлены в таблице.

| Титр антител | Значение $\log_2$ |
|--------------|-------------------|
| 1:5          | 2,321928          |
| 1:10         | 3,321928          |
| 1:20         | 4,321928          |
| 1:40         | 5,321928          |
| 1:80         | 6,321928          |
| 1:160        | 7,321928          |
| 1:320        | 8,321928          |
| 1:640        | 9,321928          |
| 1:1280       | 10,321928         |

Образец расчета СГТ: из 20 исследованных сывороток 3 имели титр 1:5; 2 – титр 1:20; 8 - титр 1:40; 6 - титр 1:80 и 1 - титр 1:160. Переведя

абсолютные значения титров в логарифмы с основанием 2, получим следующую величину средней геометрической титра антител:

$$\frac{3 \times 2,321928 + 2 \times 4,321928 + 8 \times 5,321928 + 6 \times 6,321928 + 1 \times 7,321928}{20} = \frac{103,4386}{20} = 5,17$$

### **Оценка эпидемиологической эффективности вакцинации.**

Для оценки эпидемиологической эффективности вакцинопрофилактики используют коэффициент эпидемиологической эффективности (коэффициент защищенности) и индекс эффективности, которые рассчитывают по следующим формулам:

Коэффициент эпидемиологической эффективности (Е) – показывает, на сколько процентов заболеваемость привитых ниже заболеваемости непривитых:

$$E = 100(b-a / b (\%)),$$

Индекс эпидемиологической эффективности (К) – величина, показывающая, во сколько раз заболеваемость привитых ниже заболеваемости непривитых:

$$K = b/a, \text{ где}$$

a - заболеваемость среди лиц, иммунизированных против гриппа;

b - заболеваемость среди лиц, не иммунизированных против гриппа.

**4.5 Пятый этап** – формирование заключения о реактогенности, иммунологической и эпидемиологической эффективности применяемых противогриппозных вакцин, состоянии популяционного противогриппозного иммунитета.

Схема комплексной оценки представлена также на рисунке 2.

**1 этап (подготовительный)**

- выбор изучаемой популяции;
- разработка протокола исследования,

**2 этап**

- получение информации об участниках исследования;
  - формирование базы данных;
  - создание популяционного регистра;
- взятие материала для лабораторного исследования;
- наблюдение за состоянием здоровья участников исследования (при возникновении симптомов ОРИ – организация лабораторного обследования)

**3 этап**

- проведение лабораторного исследования материала:
  - серологические исследования,
  - иммунологические исследования,
  - молекулярно-биологические исследования

**4 этап**

- статистическая обработка данных и их оценка;
- демографическая характеристика изучаемой популяции;
- анализ состояния здоровья изучаемой популяции;
- анализ прививочного анамнеза изучаемой популяции;
- оценка безопасности применяемых микробиологических препаратов

**5 этап**

Подготовка заключения по проведенным исследованиям

Рисунок 2 – Схема комплексной оценки поствакцинального противогриппозного

## Карта участника исследования

ФИО \_\_\_\_\_

Дата рождения \_\_\_\_\_ Возраст \_\_\_\_\_ Пол \_\_\_\_\_

Контактный телефон \_\_\_\_\_

Домашний адрес \_\_\_\_\_

Поликлиника по месту жительства \_\_\_\_\_

Место работы \_\_\_\_\_

Сопутствующие заболевания:

- Острая и хроническая патология сердечно-сосудистой системы
- Острая и хроническая патология дыхательной системы
- Острая и хроническая патология пищеварительной системы
- Острая и хроническая патология эндокринной системы
- Острая и хроническая патология мочеполовой системы
- Острая и хроническая патология нервной системы
- Иммунодефицитные состояния, в т.ч. ВИЧ-инфицированные
- Другая острая и хроническая патология

Вакцинация против гриппа в предэпидемический период 20\_\_/20\_\_ г.:

 нет  да Название вакцины \_\_\_\_\_ Дата вакцинации \_\_\_\_\_

Оценка переносимости вакцины (в течение 5 дней после прививки):

- местные и общие реакции не отмечались;
- местные реакции:  болезненность в месте прививки; длительность \_\_\_\_ дней
  - покраснение в месте прививки; длительность \_\_\_\_ дней
  - припухлость в месте прививки; длительность \_\_\_\_ дней
- общие реакции:
  - повышение температуры тела до 37,5°C; длительность \_\_\_\_ дней
  - повышение температуры тела до 38,5°C; длительность \_\_\_\_ дней
  - повышение температуры тела выше 38,6°C; длительность \_\_\_\_ дней
  - общее недомогание; длительность \_\_\_\_ дней
  - катаральные явления; длительность \_\_\_\_ дней
  - головная боль; длительность \_\_\_\_ дней

Даты забора крови для лабораторного исследования: \_\_\_\_\_

Прием средств неспецифической профилактики (в период с октября \_\_\_\_ г. по март \_\_\_\_ г.):     *нет*     *да*

Сведения о респираторной заболеваемости (в течение 9 мес. после вакцинации) *указать даты болезни по листкам нетрудоспособности:*

ОРВИ \_\_\_\_\_

грипп \_\_\_\_\_

бронхит \_\_\_\_\_

пневмония \_\_\_\_\_

Прочее (тонзиллит, фарингит и т.д.) \_\_\_\_\_

Результаты лабораторного исследования: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Медицинский работник, заполнивший карту \_\_\_\_\_

Анкета-опросник  
по вакцинации против гриппа

1.

|                  |                 |                                 |   |   |
|------------------|-----------------|---------------------------------|---|---|
| Возраст<br>_____ | Пол<br>М      Ж | № Вашей<br>поликлиники<br>_____ | Тел. для связи<br>(по желанию)<br>_____ | Дата заполнения<br>анкеты<br>____/____/20__ |
|------------------|-----------------|---------------------------------|---|---|

2. Прививались ли Вы против гриппа в 20\_\_\_\_ году?

нет  да

3. Отмечались ли у Вас в течение 5 дней после вакцинации следующие симптомы:

болезненность в месте прививки, длительность \_\_\_\_ дней

покраснение в месте прививки, длительность \_\_\_\_ дней

припухлость в месте прививки, длительность \_\_\_\_ дней

повышение температуры тела до \_\_\_\_ °С (*указать*), длительность \_\_\_\_ дней

головная боль, длительность \_\_\_\_ дней

общее недомогание, длительность \_\_\_\_ дней

насморк, длительность \_\_\_\_ дней

кашель, длительность \_\_\_\_ дней

боли в суставах и мышцах, длительность \_\_\_\_ дней

другое (*указать*) \_\_\_\_\_

4. Применяли ли Вы лекарственные препараты в связи с нежелательными явлениями после прививки?

нет  да

5. Сколько лет подряд Вы прививаетесь против гриппа?

сделал(а) прививку впервые

2 года

3 года

4 года

5 и более лет

не помню