

Ерш А.В.¹, Полтавченко А.Г.¹, Пьянков С.А.¹, Агафонов А.П.¹, Кривенчук Н.А.², Буторин Д.В.²

Метод комплексной оценки гуморального иммунитета к детским вакциноуправляемым вирусным инфекциям

¹ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, 630559, пос. Кольцово, Новосибирская обл.;
²ЗАО «ИмДи», 630559, пос. Кольцово, Новосибирская обл.

Представлены результаты лабораторных испытаний метода комплексной оценки гуморального иммунитета к краснухе, кори и эпидемическому паротиту на основе мультиплексного дот-иммуноанализа на плоских белковых матрицах (иммуночипах). Показано, что результаты дот-анализа хорошо коррелируют с данными, полученными с использованием коммерческих моноспецифических наборов для иммуноферментного анализа (ИФА). При этом мультиплексный анализ более оперативен и экономичен по сравнению с ИФА и может выполняться во внелабораторных условиях.

Ключевые слова: вирус кори; вирус паротита; вирус краснухи; поствакцинальный иммунитет; мультиплексный дот-иммуноанализ.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60(1): 41–45.

Ersh A.V.¹, Poltavchenko A.G.¹, Pyankov S.A.¹, Agaphonov A.P.¹, Krivenchuk N.A.², Butorin D.V.²

The multiplex method of estimation of humoral immunity to vaccine regulated childhood infections

¹ State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 630559, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russia; ²ImDi Ltd., 630559, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russia

The goal of this work was to present the results of the laboratory tests of the multiplex dot immunoassay method using protein microarray for complex estimation of humoral immunity to measles, mumps, and rubella viruses. It was shown that the obtained results were in a good agreement with data of commercial monospecific ELISA kits. The developed method is fast, requires fewer resources, and may be used in the field.

Key words: measles virus; mumps virus; rubella virus; vaccinal immunity; multiplex dot-immunoassay.

Citation: *Voprosy virusologii*. 2015; 60(1): 41–45. (In Russ.)

Среди болезней, управляемых средствами активной иммунизации, видное место занимают корь, краснуха и эпидемический паротит. Эти болезни относятся к вирусным антропонозным инфекциям с одинаковым путем передачи и сходной контагиозностью. Традиционно они считаются детскими инфекциями, однако в последнее время все чаще этим заболеваниям подвергается и взрослое население. Плановая и масштабная вакцинопрофилактика привела к существенному снижению показателей заболеваемости этими инфекциями. Особенно значительные успехи достигнуты за последнее десятилетие, что позволило в отдельных регионах мира прогнозировать ликвидацию этих болезней. В Российской Федерации действуют национальные проекты по снижению и элиминации этих инфекций, в результате реализации которых к 2009 г. удалось значительно снизить заболеваемость детского населения краснухой и эпидемическим паротитом, а заболеваемость корью снизилась до спорадических случаев. В 2010 г. в России – первой из стран Европейского региона – начата процедура сертификации территории как свободной от эндемичной (местной) кори [1], однако в 2011 г. в Европейских странах и ряде регионов России эпидемиологическая ситуация по кори осложнилась, отмечен рост заболеваемости краснухой и эпидемическим паротитом, в связи с чем в ряде стран Европы и СНГ 60-я сессия ЕРБ ВОЗ перенесла достижение региональных целей элиминации кори и краснухи с 2010 г. на 2015 г. [2].

Среди причин ухудшения эпидемиологической об-

становки наряду с неполным охватом вакцинацией выделяются недостаточная эффективность применяемых вакцин, нарушение правил обращения с вакцинами и истощение прививочного иммунитета в старших возрастных группах [1]. Вследствие этих причин, несмотря на массовые прививки, значительная часть населения не обладает защитным иммунитетом и нуждается в дополнительной вакцинации. Выявление таких лиц может быть произведено путем серологического обследования. В настоящее время для серологического обследования наиболее широко применяется иммуноферментный анализ (ИФА). В России для диагностики кори, эпидемического паротита и краснухи доступны моноспецифические отечественные и зарубежные ИФА-наборы, отвечающие современным требованиям, однако выполнение ИФА требует специального оборудования и персонала с навыками работы, а для анализа необходимы образцы плазмы или сыворотки крови, полученной из вены. Кроме того, стоимость анализа единичных образцов или небольших по количеству серий сывороток достаточно высока и становится экономически целесообразной только при массовых обследованиях, а результаты разных анализов трудно свести в единую систему для формирования персональных иммунологических профилей.

Ранее мы сообщали о разработке мультиплексного (многопрофильного) теста для одновременного выявления антител к восьми возбудителям перинатальных инфекций [3–6]. Тест, основанный на дот-иммуноанализе на плоских белковых матрицах (иммуночипах), может

выполняться во внелабораторных условиях, а также более оперативен и экономичен по сравнению с ИФА. В настоящей работе представлены результаты лабораторных испытаний аналогичного экспериментального теста для комплексной оценки гуморального иммунитета к краснухе, кори и эпидемическому паротиту.

Материалы и методы

Материалы. В работе использовали: трис-HCl, твин-20, казеин, азид натрия, протеин А *Staphylococcus aureus* (SpA) («Sigma», США); химические реактивы отечественного производства с квалификацией не ниже чда.

Вирусные антигены. Антиген вируса краснухи, представлен композицией рекомбинантных белков E1, E2 и С производства фирмы «Капель» (Москва). Антиген вируса кори [7] получали из штамма НовО/96 вируса кори, а антиген вируса паротита [8] – из штамма Драгун вируса эпидемического паротита, депонированных в коллекции культур микроорганизмов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». Вирусы культивировали на монослой клеток Vero с последующей очисткой и концентрированием в градиенте плотности сахарозы, а также инактивацией вирусной активности прогреванием в течение 1 ч при 56°C.

Сыворотки. В работе использовали рабочую панель из донорских сывороток, предоставленную ЗАО «ИмДи», а также калибровочные образцы из наборов «ВекторКорь-IgG» и «ВекторРубелла-IgG» производства ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск).

Дот-иммуноанализ. Набор для комплексной оценки гуморального иммунитета к вирусам краснухи, кори и паротита рассчитан на 20 мультиплексных анализов. Он включал в себя 4 блока по 5 белковых матриц и 4 многоячеечные аналитические ванны, заполненные рабочими растворами и герметизированные фольгой. Технические детали изготовления набора аналогичны описанным в предыдущих публикациях [3–6]. Общий вид набора и

схема нанесения антигенов и контролей на иммуночип приведены на рис. 1.

Дот-анализ образцов сыворотки (5 мкл) или цельной крови (10 мкл) проводили в аналитических ваннах с применением коллоидного золота (20 нм), связанного с белком А *Staphylococcus aureus* (Au-SpA), с усилением (физическим проявителем) и стабилизацией (щелочным раствором тиомочевины) оптического сигнала. Принципиальная схема анализа и время, необходимое для выполнения его отдельных этапов, приведены на рис. 2.

После анализа иммуночипы подсушивали на воздухе и визуально учитывали результаты по наличию или отсутствию темных пятен в местах нанесения соответствующих антигенов. После этого изображение иммуночипов оцифровывали с использованием планшетного сканера и анализировали с применением специально разработанной компьютерной программы. Эта программа позволяет определять оптическую плотность в каждой зоне нанесения антигена и выражать ее в процентах диапазона от положительного контроля – IgG человека ($K+ = 100\%$) до отрицательного контроля – зоны свободной от антигенов ($K- = 0\%$), а также задавать отсекаемые значения – ОП_{крит}, определенные предварительно по панели отрицательных сывороток, и выдавать на печать протокол исследования. Корреляционный анализ выполняли с помощью программы Excel.

Иммуноферментный анализ. В качестве тестов сравнения при оценке показателей многопрофильного анализа использовали коммерческие наборы для ИФА: «ВекторКорь-IgG», «ВекторПаротит-IgG» и «ВекторРубелла-IgG» производства ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск); «Корь-IgG-ДС», «Мелиса Паротит-IgG» и «Мелиса Краснуха-IgG» производства ЗАО «МБС» (Новосибирск); «Корь-IgG-антитела», «Паротит-IgG-антитела» и «Краснуха-IgG-антитела» производства ООО «ИмДи-спектр» (Новосибирск). ИФА выполняли в

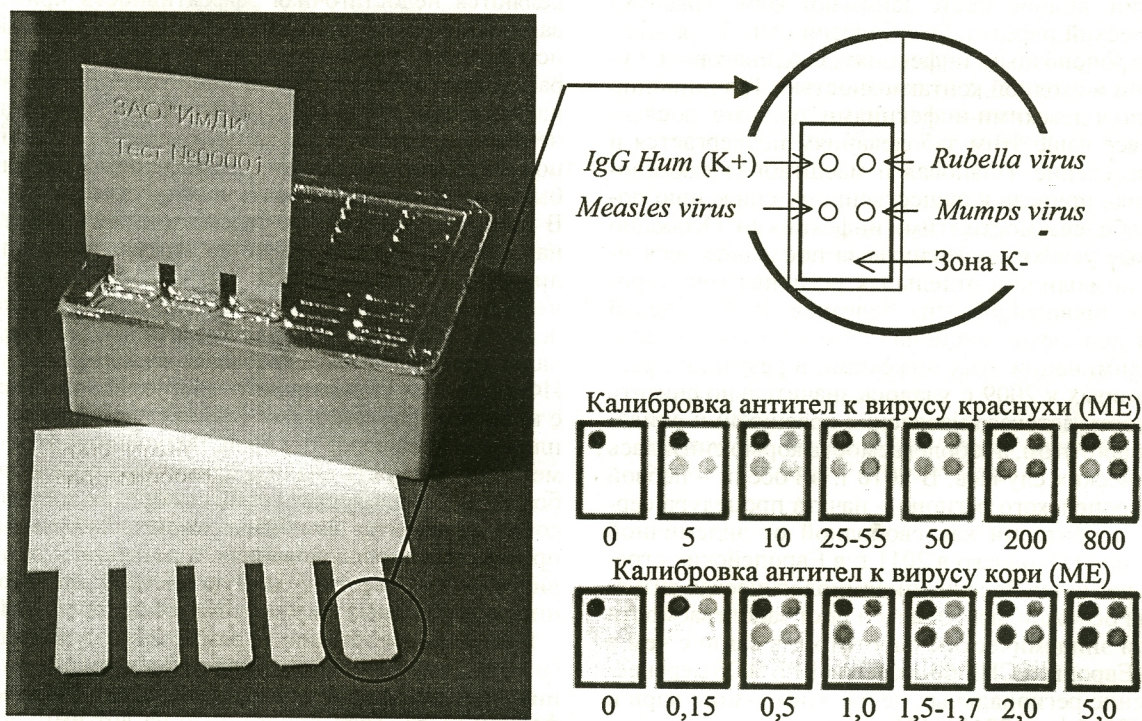


Рис. 1. Общий вид теста для комплексной оценки гуморального иммунитета к вирусам краснухи, кори и эпидемического паротита; схема нанесения антигенов на иммуночип; а также результаты определения чувствительности дот-иммуноанализа с использованием калибровочных образцов антител класса G к вирусам краснухи и кори из соответствующих наборов для ИФА, производства ЗАО «Вектор-Бест». Цифры под иммуночипами обозначают содержание (в МЕ) специфических антител в образце.

Результаты определения содержания антител класса G к вирусам кори, паротита и краснухи в образцах панели сывороток с применением моноспецифических наборов для ИФА и многопрофильного dot-анализа

№ образца	КОРЬ				ПАРОТИТ				КРАСНУХА			
	"ИмДи-спектр"	"МБС"	"Вектор-Бест"	иммуно-чип	"ИмДи-спектр"	"МБС"	"Вектор-Бест"	иммуно-чип	"ИмДи-спектр"	"МБС"	"Вектор-Бест"	иммуно-чип
1	0,088	0,065	0,078	6,0	0,073	0,142	0,086	3,3	> 2	0,669	> 2	67,0
2	0,087	0,082	0,120	25,0	0,081	0,148	0,194	2,6	> 2	1,214	> 2	83,0
3	0,112	0,262	0,237	16,0	0,079	0,167	0,123	11,0	> 2	0,753	> 2	57,0
4	0,096	0,099	0,279	8,8	0,095	0,186	0,083	1,2	0,263	0,218	0,489	16,0
5	0,087	0,079	0,128	7,2	0,073	0,172	0,112	5,5	> 2	1,105	> 2	49,0
6	0,977	1,808	> 2	68,0	1,539	1,268	1,564	85,0	1,839	0,830	> 2	65,0
7	0,114	0,083	0,096	8,8	1,364	1,141	0,987	55,0	> 2	0,566	1,945	45,0
8	1,253	1,235	1,464	50,0	0,761	0,649	0,738	37,0	1,632	0,412	1,929	36,0
9	1,620	1,665	> 2	58,0	0,626	1,180	0,913	51,0	1,444	0,355	0,999	22,0
10	0,218	0,311	0,529	16,0	1,369	1,706	1,720	75,0	> 2	0,854	> 2	55,0
11	0,084	0,173	0,086	1,3	0,108	0,165	0,072	1,0	0,246	0,168	1,539	21,0
12	0,085	0,176	0,129	3,6	0,083	0,145	0,070	4,1	> 2	0,832	> 2	81,0
13	0,091	0,071	0,113	1,0	0,140	0,348	0,483	18,0	0,533	0,103	0,797	30,0
14	0,086	0,071	0,119	6,9	0,110	0,168	0,172	13,0	0,643	0,173	1,274	35,0
15	0,085	0,075	0,095	4,6	0,116	0,143	0,139	3,2	> 2	0,667	> 2	74,0
16	1,909	1,733	1,868	66,0	0,276	0,394	0,441	16,0	> 2	1,365	> 2	82,0
17	0,414	1,246	1,673	49,0	0,106	0,257	0,182	11,0	0,093	0,046	0,089	2,4
18	0,475	1,224	1,024	46,0	0,111	0,164	0,121	9,3	0,249	0,070	0,427	8,2
19	0,095	0,403	0,542	12,0	0,126	0,176	0,149	5,0	0,982	0,268	0,893	21,0
20	0,812	1,591	1,648	59,0	0,408	0,415	0,661	21,0	1,602	0,488	> 2	39,0
21	0,575	1,503	> 2	24,0	0,224	0,372	0,407	8,1	0,843	0,234	0,642	20,0
22	0,540	0,451	0,832	22,0	0,111	0,284	0,258	3,7	1,222	0,424	1,266	45,0
23	0,137	0,317	0,668	34,0	0,113	0,325	0,304	7,8	> 2	0,920	> 2	87,0
24	0,181	0,762	1,112	29,0	0,359	1,308	0,753	19,0	1,484	0,690	1,911	46,0
25	0,715	1,576	> 2	60,0	0,634	> 2	0,698	29,0	1,519	0,729	1,646	49,0
26	0,102	0,191	0,446	7,8	0,130	0,173	0,312	5,7	> 2	0,985	> 2	61,0
27	0,580	1,277	1,999	40,0	0,148	0,611	0,333	14,0	0,446	0,219	0,758	24,0
28	0,661	1,133	1,650	28,0	0,162	0,355	0,291	4,5	0,462	0,191	1,026	34,0
29	1,442	1,822	> 2	47,0	0,160	0,444	0,401	8,1	0,074	0,040	0,079	1,9
30	0,100	0,078	0,230	1,4	0,111	0,187	0,104	0,7	0,072	0,036	0,079	0,4
31	0,276	0,151	0,512	11,0	0,151	0,303	0,369	9,8	0,064	0,041	0,092	0,3
32	0,323	0,467	0,423	13,0	0,742	1,475	0,804	20,0	0,069	0,040	0,082	1,7
33	0,111	0,131	0,357	4,6	0,164	0,209	0,366	4,3	0,099	0,037	0,112	1,0
34	0,269	0,537	0,999	22,0	0,329	1,042	0,582	22,0	0,080	0,042	0,118	0,2
35	0,129	0,139	0,492	4,5	0,230	0,907	0,426	11,4	0,128	0,057	0,081	0,9
36	0,207	0,386	0,121	4,0	0,247	0,499	0,348	1,6	0,215	0,041	0,078	0,5
37	0,569	0,828	1,469	27,0	0,092	0,218	0,080	3,0	> 2	1,645	> 2	54,0
38	0,474	0,878	0,957	25,0	0,101	0,212	0,085	9,0	1,125	0,836	0,639	29,0
39	> 2	> 2	> 2	62,0	0,070	0,112	0,074	4,0	> 2	> 2	> 2	70,0
40	1,671	1,826	1,678	39,0	0,068	0,113	0,077	7,0	0,657	0,438	0,535	26,0
41	0,673	0,997	0,829	30,0	0,556	0,685	0,414	44,0	> 2	> 2	> 2	69,0
42	1,157	0,865	1,936	39,0	0,332	0,429	0,256	26,0	> 2	> 2	> 2	63,0
43	0,633	0,752	1,347	34,0	0,338	0,514	0,499	26,0	1,959	> 2	> 2	89,0
44	0,315	0,412	0,646	24,0	0,274	0,385	0,422	20,0	0,076	0,123	0,159	2,4
45	0,666	0,964	0,809	28,0	0,432	0,574	0,471	26,0	> 2	> 2	> 2	62,0
ОП _{крит}	0,294	0,268	0,318	10,0	0,270	0,351	0,416	15,0	0,270	0,245	0,493	15,0

Калибровочные образцы из соответствующих тест-систем производства ЗАО "Вектор-Бест"

Анти-тела к вирусу кори, МЕ	МЕ	БЕСТ	Чип	Антитела к вирусу краснухи, МЕ	МЕ	БЕСТ	Чип
	5	> 2	98,3		800	> 2	72,0
	2	1,317	97,0		200	> 2	63,0
	1,5-1,7	1,280	98,0		50	1,595	54,0
	1	0,906	57,0		25-55	1,176	26,0
	0,5	0,600	20,0		10	0,493	20,0
	0,15	0,218	5,6		5	Н.о.	19,0
	0	0,098	0,8		0	0,072	0,2

Примечание. Приведены оптические сигналы (ОП₄₅₀), полученные при анализе образцов с использованием моноспецифических наборов ООО «ИмДи-спектр», ЗАО «МБС» и ЗАО «Вектор-Бест», а также оптические сигналы (в отн. ед. доли положительного контроля), зарегистрированные с применением иммуночипов. Более темным фоном выделены образцы, положительные по результатам теста. Жирным шрифтом выделены образцы с протективными титрами антител. МЕ – международные единицы. Н.о. – анализ не проводили.

Таблица 2

Коэффициенты корреляции данных табл. 1, полученных с использованием разных наборов для определения антител класса G к вирусам кори, паротита и краснухи

Инфекция	Набор	"ИмДи-спектр"	"МБС"	"Вектор-Бест"	Иммуночип
Корь	"ИмДи"		0,870	0,814	0,808
	"МБС"	0,870		0,926	0,904
	"Вектор-Бест"	0,814	0,926		0,877
Паротит	"ИмДи"		0,818	0,924	0,935
	"МБС"	0,818		0,828	0,722
	"Вектор-Бест"	0,924	0,828		0,902
Краснуха	"ИмДи"		0,801	0,940	0,916
	"МБС"	0,801		0,799	0,814
	"Вектор-Бест"	0,940	0,799		0,913

соответствии с прилагаемыми инструкциями. Результаты регистрировали на сканирующем спектрофотометре «Multiscan 310С» («Titerteck», Финляндия) при λ 450 нм.

Результаты и обсуждение

Сравнение эффективности выявления антител класса G к вирусам краснухи, кори и паротита с применением моноспецифических наборов для ИФА и многопрофильного дот-иммуноанализа проводили на рабочей панели сывороток, предоставленной ЗАО «ИмДи», а оценку лимита определения – на серии калибровочных образцов из соответствующих ИФА тест-систем. Результаты сравнительного исследования приведены в табл. 1.

Видно, что использованные наборы по-разному классифицируют на положительные и отрицательные некоторые образцы панели. Так, при анализе 45 проб сывороток панели наборы ООО «ИмДи-спектр», ЗАО «МБС», ЗАО «Вектор-Бест» и наш многопрофильный тест относят к положительным образцам: по содержанию антител к вирусу кори – № 23, 29, 32 и 31, по содержанию антител к паротиту – № 16, 22, 16 и 17, а по наличию антител к вирусу краснухи – № 32, 27, 33 и 34 соответственно.

Следует отметить, что основные разночтения образцов перечисленными наборами установлены при анализе проб сывороток с низким содержанием определяемых антител.

Результаты, полученные с использованием этих наборов, существенно различаются и по величине оптических сигналов на одинаковых образцах панели. Вероятно, это связано с различиями в антигенных композициях и/или в технологических приемах изготовления наборов, применяемых производителями. Данные корреляционного анализа оптических сигналов приведены в табл. 2. Корреляция результатов, полученных с применением иммуночипов, и данных, зарегистрированных тремя наборами для ИФА, сопоставима по своему значению с корреляцией данных между этими ИФА-наборами. При этом лучшее совпадение значений оптической плотности дот-анализа антител к паротиту и краснухе наблюдается с результатами, полученными с использованием наборов ООО «ИмДи-спектр», изготовленных с применением таких же антигенов.

Задачей оценки поствакцинального гуморального иммунитета является не только констатация наличия или отсутствия антител к инфекционному агенту, но и определение их уровня, достаточного для защиты от заболевания. Доступные в литературе данные относительно минимальных протективных уровней антител неоднозначны. Так, для краснухи этот уровень варьирует от 10 МЕ/мл [9] до 25 МЕ/мл [10], а для кори – от 0,2 МЕ/мл [11] до 0,5 МЕ/мл [12]. Вероятно, такая неоднозначность связана с различиями подходов авторов к комплексной оценке гуморальных и клеточных факторов иммунитета. Ряд наборов для ИФА-антител к вирусам краснухи и кори содержит калибровочные образцы с определенным содержанием специфических антител. Такие образцы из наборов ЗАО «Вектор-Бест» мы использовали для калибровки многопрофильного теста. Результаты приведены в нижней части таблицы 1, а вид иммуночипов после калибровки показан на рис. 1. Образцы с содержанием антител к вирусам кори и краснухи, превышающим протективные уровни (0,5 МЕ/мл для кори и 10 МЕ/мл для краснухи), выделены в табл. 1 жирным шрифтом. Видно, что результаты по определению защитных уровней

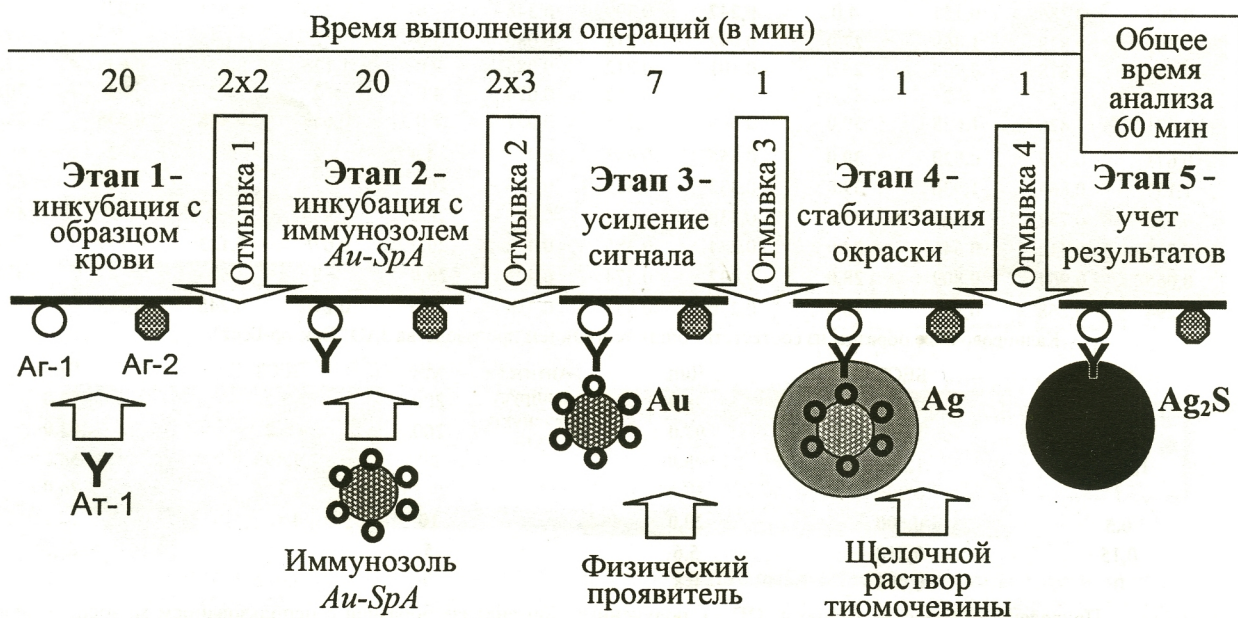


Рис. 2. Общая схема многопрофильного дот-иммуноанализа антител с применением иммунозоля золота, усилением сигнала физическим проявлением и стабилизацией окраски щелочным раствором тиомочевины.

антител при использовании наборов ЗАО «Вектор-Бест» и многопрофильным дот-анализом совпадают, за исключением образца № 2, определенного нашим тестом как сыворотка с протективным уровнем антител к вирусу кори, но отрицательного по этому показателю в других использованных тест-системах. На иммуночипах оптические сигналы от сывороток с протективными уровнями антител выглядят как отчетливо различимые невооруженным глазом темные пятна в местах нанесения соответствующих антигенов (см. рис. 1). Таким образом, учет результатов анализа таких образцов может легко и надежно осуществляться визуально.

В отношении эпидемического паротита достоверных сведений о защитных уровнях антител в литературе нам найти не удалось. В такой ситуации при оценке наличия защитного иммунитета, вероятно, следует ориентироваться просто на наличие специфических антител без количественного учета их содержания. Такие образцы, положительные по антителам к вирусу паротита, в табл. 1 также выделены жирным шрифтом.

Приведенные выше данные свидетельствуют о возможности использования мультиплексного набора для комплексной оценки поствакцинального иммунитета. При этом многопрофильный тест может значительно облегчить осуществление серомониторинга. Он не требует оборудования и энергообеспечения, поэтому может выполняться в сельских больницах, в отдаленных районах, где количество подлежащих обследованию невелико, а аппаратное обеспечение не позволяет провести ИФА-диагностику. По предварительным данным (ограниченное число экспериментов), для проведения этого теста можно использовать 10 мкл цельной крови, которую легко можно получить проколом пальца. Это обстоятельство особенно важно в педиатрической практике, поскольку у малолетних детей взятие даже 5 мл крови из вены считается значительной кровопотерей. По себестоимости комплексный тест незначительно превышает одно исследование в моноспецифическом ИФА. Таким образом, многопрофильный тест может служить инструментом для контроля коллективного и индивидуального иммунитета с целью коррекции мероприятий по борьбе с детскими вакциноуправляемыми инфекциями.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 12.04.2010 № 23 «О реализации Программы ликвидации кори в Российской Федерации к 2010 году в рамках стратегического плана Европейского региона ВОЗ 2005–2010.* Available at: <http://base.garant.ru/12178062>.
2. *Обновленная приверженность достижению к 2015 г. целей ликвидации кори и краснухи и профилактики синдрома врожденной краснухи и устойчивое поддержание свободного от полиомиелита статуса в Европейском регионе ВОЗ. Резолюция 60-й сессии Европейского регионального комитета ВОЗ. Москва, 13–16 сентября 2010 г.* Available at: <http://www.EUR/RC60/R12>.
3. Полтавченко А.Г., Яковченко А.М., Кривенчук Н.А., Зайцев Б.Н. Многопрофильная серодиагностика инфекционных заболеваний. 1. Выбор формата белковых чипов и материала для изготовления подложки. *Биотехнология.* 2006; 5: 77–87.
4. Полтавченко А.Г., Яковченко А.М., Кривенчук Н.А. Многопрофильная серодиагностика инфекционных заболеваний. 2. Иммуобилизация антигенов на подложке белкового чипа. *Биотехнология.* 2007; 1: 86–94.
5. Полтавченко А.Г., Яковченко А.М., Кривенчук Н.А., Карпышев Н.Н. Многопрофильная серодиагностика инфекционных заболеваний. 3. Визуализация результатов анализа. *Биотехнология.* 2007; 2: 63–71.
6. Полтавченко А.Г., Яковченко А.М. Многопрофильная серодиагностика инфекционных заболеваний. 4. Лабораторные испыта-

- ния многопрофильного теста. *Биотехнология.* 2007; 3: 88–94.
7. Пьянков С.А., Агафонов А.П., Лебедев Л.Р. и др. *Комплексный антиген вируса кори, используемый в качестве компонента иммуноферментной тест-системы для диагностики антител к вирусу кори.* Патент РФ, № 2441666; 2011.
8. Агафонов А.П., Пьянков С.А., Дутов В.Н. *Штамм вируса паротита Драгун для получения антигена – компонента тест-системы и иммуноферментная тест-система для диагностики антител к вирусу паротита.* Патент РФ № 2348691; 2010.
9. Юминова Н.В. Диагностика краснухи в Российской Федерации. *Вакцинация. Новости вакцинопрофилактики.* 2004; 6: 18–22.
10. *Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 28 июля 2011 г. № 108 «Об утверждении СП 3.1.2952–11 «Профилактика кори, краснухи и эпидемического паротита.* Available at: <http://bazazakonov.ru/doc/?ID=2866674>.
11. Arguelles M.H., Orellana M.L., Castello A.A., Villegas G.A., Masini M., Vera O.D. et al. Measles virus-specific antibody levels in individuals in Argentina WHO received a one-dose vaccine. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44: 2733–8.
12. Bouche F., Ammerlaan W., Berthet F., Houard S., Schneider F., Muller C.P. Immunosorbent assay based on recombinant hemagglutinin protein produced in a high-efficiency mammalian expression system for surveillance of measles immunity. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36: 721–6.

REFERENCES

1. *Resolution of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation dated April 12, 2010 No. 23 «On the implementation of the measles elimination program of in Russian Federation by 2010 as part of the strategic plan for the WHO European Region 2005–2010».* Available at: <http://base.garant.ru/12178062>.
2. *Renewed commitment to elimination of measles and rubella and prevention of congenital rubella syndrome by 2015 and Sustained support for polio-free status in the WHO European Region. Resolution of Sixtieth session WHO Regional Committee for Europe. Moscow, 13–16 September 2010.* Available at: <http://www.EUR/RC60/R12>
3. Poltavchenko A.G., Yakovchenko A.M., Krivenchuk N.A., Zaitsev B.N. Multiplexed serodiagnostics of infectious diseases. 1. Selection of the format of protein microarrays and the substrate material. *Biotechnologiya.* 2006; 5: 77–87. (in Russian)
4. Poltavchenko A.G., Yakovchenko A.M., Krivenchuk N.A. Multiplexed serodiagnostics of infectious diseases. 2. Immobilization of antigens on a protein microarray substrate. *Biotechnologiya.* 2007; 1: 77–87. (in Russian)
5. Poltavchenko A.G., Yakovchenko A.M., Krivenchuk N.A., Karpyshchev N.N. Multiplexed serodiagnostics of infectious diseases. 3. Visualization of the assay results. *Biotechnologiya.* 2007; 2: 63–71. (in Russian)
6. Poltavchenko A.G., Yakovchenko A.M. Multiplexed serodiagnostics of infectious diseases 4. Laboratory trials of the multiplexed test prototype. *Biotechnologiya.* 2007; 3: 88–94. (in Russian)
7. Pyankov S.A., Agaphonov A.P., Lebedev L.P. et al. *Combined antigen of Measles virus used as component ELISA-system for diagnostic of antibodies to Measles virus.* Patent RF, № 2441666; 2011 (in Russian)
8. Agaphonov A.P., Pyankov S.A., Dutov V.N. *Strain of Mumps virus Dragun for production of antigen – component ELISA-system for diagnostic of antibodies to Mumps virus.* Patent RF, № 2348691; 2010. (in Russian)
9. Yuminova N.V. Diagnostic of Rubella in Russian Federation. *Vaccinatsiya. Novosti vaksino profilaktiki.* 2004; 6: 18–22. (in Russian)
10. *Resolution of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation dated July 28, 2011 No. 108 «On approval of SR 3.1.2952–11 «Prevention of measles, rubella and mumps».* Available at: <http://bazazakonov.ru/doc/?ID=2866674>.
11. Arguelles M.H., Orellana M.L., Castello A.A., Villegas G.A., Masini M., Vera O.D. et al. Measles virus-specific antibody levels in individuals in Argentina WHO received a one-dose vaccine. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44: 2733–8.
12. Bouche F., Ammerlaan W., Berthet F., Houard S., Schneider F., Muller C.P. Immunosorbent assay based on recombinant hemagglutinin protein produced in a high-efficiency mammalian expression system for surveillance of measles immunity. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36: 721–6.

Поступила 07.10.13
Received 07.10.13