



В ПОМОЩЬ ВИРУСОЛОГУ



ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-230>

© ИВАНОВ А.П., ДЗАГУРОВА Т.К., КУРАШОВА С.С., ТЕОДОРОВИЧ Р.Д., КЛЕБЛЕЕВА Т.Д., ТКАЧЕНКО Е.А., 2024

Система иммуноферментного анализа для серологической диагностики геморрагической лихорадки с почечным синдромом на основе инактивированного очищенного вируса Пуумала (*Hantaviridae: Orthohantavirus*)

Иванов А.П.✉, Дзагурова Т.К., Курашова С.С., Теодорович Р.Д., Клеблеева Т.Д., Ткаченко Е.А.

ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита)», 108819, г. Москва, Россия

Резюме

Введение. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) является наиболее распространенным зоонозным вирусным заболеванием человека на территории Российской Федерации. Более 98% заболеваемости ГЛПС вызвано ортохантавирусом Пуумала (ПУУ). Для лабораторной диагностики ГЛПС, в частности серодиагностики клинических случаев, требуются эффективные (высокочувствительные, специфичные, максимально объективные и быстрые в исполнении) серологические тесты, разработка которых является важнейшим элементом контроля данного вирусного заболевания.

Цель исследования. Конструирование системы иммуноферментного анализа (ИФА) для определения специфических антител с использованием стандартного антигена в виде высокоочищенного инактивированного вируса ПУУ в качестве иммуносорбента.

Материалы и методы. Получение препаратов высокоочищенного антигена вируса ПУУ, конструирование системы ИФА для определения специфических антител, отработка параметров системы ИФА, параллельное титрование сывороток крови больных ГЛПС методом флуоресцирующих антител (МФА) и новым вариантом ИФА.

Результаты и обсуждение. Впервые в лабораторной практике исследования ГЛПС была сконструирована система ИФА на основе очищенного инактивированного вируса ПУУ (целевой компонент экспериментальной вакцины против ГЛПС) в качестве стандартного антигена при прямой сорбции на твердую фазу (иммунопанель). Параллельное титрование 50 образцов сывороток крови больных ГЛПС методами МФА и разработанного варианта ИФА показало высокую чувствительность и специфичность данного варианта ИФА, отмечены 100% совпадение результатов тестов (на уровне положительный/отрицательный результат) и значительный уровень корреляции величин титров специфических антител двух тестов.

Заключение. Разработанный вариант ИФА для определения антител к вирусу ПУУ на основе очищенного инактивированного вируса ПУУ – целевого компонента вакцинного препарата против ГЛПС в качестве иммуносорбента – может быть эффективно использован для серодиагностики ГЛПС и массовых серо-эпидемиологических исследований.

Ключевые слова: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом; хантавирус Пуумала; хантавирусная вакцина; иммуноферментный анализ; метод флуоресцирующих антител

Для цитирования: Иванов А.П., Дзагурова Т.К., Курашова С.С., Теодорович Р.Д., Клеблеева Т.Д., Ткаченко Е.А. Система иммуноферментного анализа для серологической диагностики геморрагической лихорадки с почечным синдромом на основе инактивированного очищенного вируса Пуумала (*Hantaviridae: Orthohantavirus*). *Вопросы вирусологии.* 2024; 69(3): 285–289. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-230> EDN: <https://elibrary.ru/mgtslj>

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита)» (Протокол № 1906/8к от 19.06.2024).

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-230>

Enzyme immunoassay system for serological diagnosis of hemorrhagic fever with renal syndrome based on inactivated purified Puumala virus (Hantaviridae: *Orthohantavirus*)

Alexander P. Ivanov✉, Tamara K. Dzagurova, Svetlana S. Kurashova, Rostislav D. Teodorovich, Tatyana D. Klebleeva, Eugeny A. Tkachenko

Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of the Russian Academy of Sciences (Institute of Poliomyelitis), 108819, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. Hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) is the most common zoonotic human viral disease in the Russian Federation. More than 98% of the HFRS cases are caused by Puumala orthohantavirus (PUU). Effective serological tests are required for laboratory diagnosis of HFRS.

Objective. Construction of an enzyme immunoassay (ELISA) test system for detection of specific antibodies using standard antigen in the form of highly purified inactivated PUU virus as immunosorbent.

Materials and methods. Preparation of PUU virus antigen, designing the ELISA for detection of specific antibodies, developing parameters of the ELISA system, parallel titration of HFRS patients sera by fluorescent antibody technique (FAT) and the new ELISA.

Results and discussion. For the first time, ELISA based on purified inactivated PUU virus as standard antigen directly absorbed onto immunoplate was developed. Parallel titration of 50 samples from HFRS patients blood sera using FAT and the developed ELISA showed high sensitivity and specificity of this ELISA, with 100% concordance of testing results and significant level of correlation between the titers of specific antibodies in the two assays.

Conclusion. The ELISA based on purified inactivated PUU virus as an immunosorbent can be effectively used for HFRS serological diagnosis and for mass seroepidemiological studies.

Keywords: hemorrhagic fever with renal syndrome; Puumala hantavirus; hantavirus vaccine; enzyme immunoassay; fluorescent antibody technique

For citation: Ivanov A.P., Dzagurova T.K., Kurashova S.S., Teodorovich R.D., Klebleeva T.D., Tkachenko E.A. Enzyme immunoassay system for serological diagnosis of hemorrhagic fever with renal syndrome based on inactivated purified Puumala virus (Hantaviridae: *Orthohantavirus*). *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2024; 69(3): 285–289 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-230> EDN: <https://elibrary.ru/mgtslj>

Funding. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of the Russian Academy of Sciences (Institute of Poliomyelitis) (Protocol No 1906/8K dated June 19, 2024).

Введение

Лабораторная диагностика геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) – одного из ведущих зоонозных вирусных заболеваний человека на территории Российской Федерации (возбудители – ортохантавирусы, семейство *Hantaviridae*) – достаточно исследованная тема, начиная с 80-х годов XX века. Основой серологической диагностики ГЛПС был метод флуоресцирующих антител (МФА) [1], затем – различные варианты иммуносорбентных методов: иммуноферментного (ИФА) и радиоиммунного анализа, разработанные в том числе авторами данной публикации [2, 3]. Создание культуральной инактивированной хантавирусной вакцины, например, на основе вируса Пуумала (ПУУ), предусматривает высокую степень очистки вируса, что дает возможность

также использовать вакцинный препарат в качестве иммуносорбента для ИФА (в системах определения специфических антител), т.е. в виде прямой сорбции очищенного инактивированного вируса на твердую фазу (иммунопанель). Такая система ИФА представляет собой трехслойный «сэндвич»: иммуносорбент (стандартный антиген) – исследуемая сыворотка – антивидовой пероксидазный конъюгат, что обеспечивает более высокую специфичность теста, поскольку сенсibilизирующие антитела отсутствуют.

Цель исследования – разработка варианта ИФА на основе высокоочищенного инактивированного вируса ПУУ для определения антител к нему у больных ГЛПС (серологическая диагностика клинических случаев), а также для проведения массовых серо-эпидемиологических исследований на эндемичных территориях.

Материалы и методы

Сыворотки крови больных ГЛПС были получены из ФБУЗ ЦГиЭ Оренбургской области с целью серотипирования. Антитела к хантавирусам в сыворотках крови больных ГЛПС выявляли с помощью МФА, описанного ранее [1], с использованием моновалентных культуральных антигенов вирусов ПУУ и Добрава (ДОБ), а также Диагностикума ГЛПС культурального поливалентного для непрямого метода иммунофлюоресценции производства ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) по инструкции производителя. Сыворотки крови больных поступали из инфекционных больниц для проведения специфической диагностики. Информированное добровольное согласие пациенты подписывали при госпитализации. Таким образом, одобрения исследования Этическим комитетом не требовалось.

В качестве стандартного антигена в представленной ИФА-тест-системе использовали инаktivированный очищенный вирус ПУУ, представляющий собой полуфабрикат экспериментального инаktivированного цельновирioнного вакцинного препарата, полученного на основе штамма ПУУ-ТКД-VERO по ранее описанной технологии [4]. Коротко: культуральную жидкость клеток *Vero*, инфицированных вирусом ПУУ, осветляли фильтрацией (фильтр-патрон PPG060B01BA с фильтром Poly Pro XL 6,0), концентрировали методом ультрафильтрации в тангенциальном потоке (кассета Pellicon 2 mini.), инаktivировали β-пропиолактоном в разведении 1 : 6000, хроматографически очищали на сорбенте Carto Core 700 (GE Healthcare). Полученный очищенный инаktivированный препарат вируса ПУУ содержал $5,6 \times 10^4$ копий вирусной РНК/мл, 21,3 мкг/мл общего белка.

Применяли систему ИФА для определения антител класса G (IgG) к вирусу ПУУ в сыворотках крови больных ГЛПС. Иммунопанели (Costar, кат. № 9018) сенсibilизировали очищенным антигеном вируса ПУУ (вакцинный препарат) в концентрации 2,5 мкг/мл (подобрана шахматным титрованием) в карбонат-бикарбонатном буфере, pH 9,6 (Sigma, кат. № C3041-100CAP), по 0,1 мл/лунка и инкубировали 18 ч при температуре +4 °С. После 3-кратной отмывки 0,05% Tween-20 в фосфатно-солевом буфере (Т-ФСБ) и блокирования свободных сайтов 1% fetalной бычьей сывороткой (Gibco, Великобритания) по 0,2 мл/лунка в течение 1 ч при +37 °С и 3-кратной отмывки вносили (0,1 мл/лунка) разведения анализируемых сывороток, начиная с 1 : 100 в ИФА-буфере (Т-ФСБ-1% fetalная бычья сыворотка). Параллельно вносили положительную и отрицательную контрольные сыворотки крови больных. Сыворотки инкубировали 1 ч при +37 °С. После 5-кратной отмывки вносили (0,1 мл/лунка) пероксидазный конъюгат против IgG человека (Sigma, кат. № А-6029-1ML) в оптимальном разведении (в ИФА-буфере), подобранном шахматным титрованием. Инкубировали 1 ч при +37 °С. После 5-кратной отмывки вносили (0,1 мл/лунка)

субстрат ТМВ (Sigma, кат. № T0440-100ML, США), инкубировали 30 мин в темноте при комнатной температуре. Реакцию останавливали 2М раствором серной кислоты (0,05 мл/лунка). Оптическую плотность (ОП) измеряли при 450 нм (Thermo Scientific Multiscan FC ELISA reader, Thermo LabSystems, Финляндия). Результат считали положительным при значении P/N (ОП опыта/ОП контроля в максимальных разведениях сыворотки) 2,1 и более [2].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Excel.

Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита)» (Протокол 1906/8к от 19.06.2024).

Результаты и обсуждение

Результаты определения антител (IgG) к возбудителю ГЛПС с использованием варианта ИФА на основе высокоочищенного инаktivированного вируса ПУУ и МФА с различными антигенами указывают на высокую чувствительность и специфичность предлагаемого метода ИФА, что обусловлено, во-первых, качеством очистки антигена и, во-вторых, дизайном предлагаемого варианта ИФА, предусматривающего нанесение антигена на твердую фазу без предварительной ее сенсibilизации антителами. Система определяет антитела исключительно к вирусу ПУУ, поскольку антиген представляет собой цельновирioнную структуру, в реакции фактически принимают участие эпитопы вирусной оболочки, обладающие типоспецифичностью [4]. Коэффициент корреляции (*r*) величин титров по данным МФА и ИФА имел высокое значение: 0,7.

В таблице представлены результаты параллельного титрования сывороток крови больных ГЛПС в МФА и ИФА.

Отсутствие ложноположительных результатов подтверждено отрицательными результатами исследования 50 сывороток крови из не эндемичных по ГЛПС районов в параллельном скрининге посредством МФА и ИФА.

Заключение

Таким образом, показано 100% совпадение результатов МФА ИФА при более высокой чувствительности ИФА (в 8–16 раз по титру антител). Разработанный вариант ИФА не является функциональным тестом (в отличие от реакции нейтрализации и МФА), однако благодаря достаточной простоте, скорости исполнения и возможности обследования значительного количества образцов сывороток крови он может использоваться для серодиагностики ГЛПС, при оценке эффективности разрабатываемых хантавирусных вакцин и для массовых серо-эпидемиологических исследований.

Таблица. Результаты параллельного титрования сывороток крови больных ГЛПС в МФА и ИФА

Table. Results of parallel titration of HFRS patient blood sera in FAT and ELISA

№ п/п Sample #	№ per. Registration #	День болезни Day from disease onset	Титр антител Antibody titer			Серотип Serotype (ПУУ, ДОБ) (PUU, DOB)
			МФА FAT		ИФА ELISA	
			ПУУ/ДОБ PUU/DOB	Поливалент* Polyvalent	ПУУ PUU	
1	9089a	12	1024/4096**	4096	0	ДОБ
2	9086	15	2048/16 000	16 000	0	ДОБ
3	9092	9	64 000/256	64 000	409 600	ПУУ
4	9093	7	16 000/128	16 000	51 200	ПУУ
5	9094	10	16 000/64	16 000	51 200	ПУУ
6	9097	11	16 000/128	16 000	102 400	ПУУ
7	9098	10	16 000/64	16 000	51 200	ПУУ
8	9099	6	4096/32	4096	12 800	ПУУ
9	9100	6	16 000/64	16 000	102 400	ПУУ
10	9101	16	Отр. Negative	Отр. Negative	Отр. Negative	
11	9103	14	64/отр (negative)	64	3200	ПУУ
12	9104	14	16 000/128	16 000	25 600	ПУУ
13	9107	18	32 000/256	32 000	51 200	ПУУ
14	9112	12	64 000/128	64 000	102 400	ПУУ
15	9114	13	16 000/64	16 000	51 200	ПУУ
16	9115	12	16 000/64	16 000	102400	ПУУ
17	9118	15	16 000/128	16 000	102 400	ПУУ
18	9119	10	8000/64	8000	51200	ПУУ
19	9120	4	16 000/64	16 000	102 400	ПУУ
20	9126	16	16 000/128	16 000	102 400	ПУУ
21	9127	9	Отр. Negative	Отр. Negative	Отр. Negative	
22	9129	12	16 000/128	16 000	102 400	ПУУ
23	9131	4	64 000/128	64 000	102 400	ПУУ
24	9132	19	16 000/128	16 000	102 400	ПУУ
25	9133	8	16 000/64	16 000	25 600	ПУУ
26	9134	13	16 000/64	16 000	102 400	ПУУ
27	9135	11	Отр. Negative	Отр. Negative	Отр. Negative	
28	9137	17	32 000/128	32 000	102 400	ПУУ
29	9138	13	16 000/64	16 000	25 600	ПУУ
30	9139	10	16 000/64	16 000	12 800	ПУУ
31	9141	12	32 000/128	32000	51 200	ПУУ
32	9142	23	8000/64	8000	25 600	ПУУ
33	9144	9	16 000/64	16 000	51 200	ПУУ
34	9145	9	16 000/128	16 000	25 600	ПУУ
35	9147	11	64 000/128	64 000	51 200	ПУУ
36	9148	9	4096/32	4096	12 800	ПУУ
37	9149	3	16 000/64	16 000	25 600	ПУУ
38	9150	7	16 000/128	16 000	51 200	ПУУ
39	9151	17	Отр. Negative	Отр. Negative	Отр. Negative	
40	9152	9	64 000/128	64 000	102 400	ПУУ
41	9153	6	16 000/64	16 000	102 400	ПУУ
42	9154	23	16 000/128	16 000	25 600	ПУУ
43	9156	17	64 000/256	64 000	409 600	ПУУ
44	9157	12	64 000/128	64 000	409 600	ПУУ
45	9158	14	1024/32	1024	3200	ПУУ
46	9160	7	32 000/128	32 000	51 200	ПУУ
47	9161	12	16 000/128	16 000	102 400	ПУУ
48	9162	8	64 000/64	64 000	204 800	ПУУ
49	9164	5	512/отр. (negative)	512	6400	ПУУ
50	9165	8	16 000/128	16 000	102 400	ПУУ

Примечание. * – Диагностикум ГЛПС; ** – обратная величина титра.

Note. * – HFRS Test system; ** – reciprocal.


ЛИТЕРАТУРА

1. Дзагурова Т.К., Ткаченко Е.А., Петров В.А. Эффективность применения культуральных антигенов для серодиагностики ГЛПС с помощью метода иммунофлюоресценции. *Вопросы вирусологии.* 1988; 33(1): 71–5. EDN: <https://elibrary.ru/jfmqvh>
2. Ivanov A.P., Tkachenko E.A., Petrov V.A., Pashkov A.J., Dzagurova T.K., Vladimirova T.P., et al. Enzyme immunoassay for the detection of virus specific Ig G and Ig M antibody in patients with hemorrhagic fever with renal syndrome. *Arch. Virol.* 1988; 100: 1–7. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01310902>
3. Резапкин Г.В., Ткаченко Е.А., Иванов А.П., Башкирцев В.Н., Дзагурова Т.К. Определение аренавирусных антигенов и антител методом твёрдофазного радиоиммунологического анализа. *Вопросы вирусологии.* 1981; 26(4): 459–63.
4. Ткаченко Е.А., Ишмухаметов А.А., Дзагурова Т.К., Синюгина А.А., Коротина Н.А., Набатников П.А. и др. Разработка экспериментально-промышленной технологии производства вакцины против геморрагической лихорадки с почечным синдромом. *Ремедиум.* 2015; (6): 47–54. EDN: <https://elibrary.ru/uabrmj>

REFERENCES

1. Dzagurova T.K., Tkachenko E.A., Petrov V.A. The effectiveness of the use of cultural antigens for serodiagnostics of GLPS using the immunofluorescence method. *Voprosy virusologii.* 1988; 33(1): 71–5. EDN: <https://elibrary.ru/jfmqvh> (in Russian)
2. Ivanov A.P., Tkachenko E.A., Petrov V.A., Pashkov A.J., Dzagurova T.K., Vladimirova T.P., et al. Enzyme immunoassay for the detection of virus specific Ig G and Ig M antibody in patients with hemorrhagic fever with renal syndrome. *Arch. Virol.* 1988; 100: 1–7. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01310902>
3. Rezapkin G.V., Tkachenko E.A., Ivanov A.P., Bashkirtsev V.N., Dzagurova T.K. Determination of arenavirus antigens and antibodies by solid-phase radioimmunological analysis. *Voprosy virusologii.* 1981; 26(4): 459–63. (in Russian)
4. Tkachenko E.A., Ishmukhametov A.A., Dzagurova T.K., Sinyugina A.A., Korotina N.A., Nabatnikov P.A., et al. Manufacturing techniques and methods of control of the inactivated Vero cell-derived vaccine against HFRS has been developed in Russia. *Remedium.* 2015; (6): 47–54. EDN: <https://elibrary.ru/uabrmj> (in Russian)

Информация об авторах:

Иванов Александр Петрович  – д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии вирусов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита)» Москва, Россия. E-mail: ivanovalexander1@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-4576-7136>

Дзагурова Тамара Казбековна – д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории геморрагических лихорадок ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита)», Москва, Россия. E-mail: dzaguron@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-6656-1682>

Курашова Светлана Сергеевна – канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории геморрагических лихорадок ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита)», Москва, Россия. E-mail: svetllanak@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9934-699X>

Теодорович Ростислав Дмитриевич – научный сотрудник лаборатории геморрагических лихорадок ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита)», Москва, Россия. E-mail: rostislavteo@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2117-597X>

Клеблеева Татьяна Дмитриевна – научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии вирусов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита)», Москва, Россия. E-mail: klebleeva_td@chumakovs.su; <https://orcid.org/0000-0003-4288-6818>

Ткаченко Евгений Александрович – д-р мед. наук, профессор, руководитель научного направления ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита)», Москва, Россия. E-mail: evgeniytkach@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6829-1241>


Участие авторов: Иванов А.П. – идея и конструирование новой системы ИФА, написание и редактирование рукописи; Дзагурова Т.К. – идея и конструирование новой системы ИФА, написание и редактирование рукописи; Клеблеева Т.Д. – идея и конструирование новой системы ИФА; Курашова С.С. – получение очищенного инактивированного вируса ПУУ; Теодорович Р.Д. – получение очищенного инактивированного вируса ПУУ; Ткаченко Е.А. – написание и редактирование рукописи.

Поступила 09.02.2024

Принята в печать 05.04.2024

Опубликована 30.06.2024

Information about the authors:

Alexander P. Ivanov  – D. Sci. (Med), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Biology of Viruses, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of the Russian Academy of Sciences (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia. E-mail: ivanovalexander1@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-4576-7136>

Tamara K. Dzagurova – D. Sci. (Med), Leading Researcher, Laboratory of Hemorrhagic Fevers, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of the Russian Academy of Sciences (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia. E-mail: dzaguron@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-6656-1682>

Svetlana S. Kurashova – PhD (Med), Leading Researcher, Laboratory of Hemorrhagic Fevers, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of the Russian Academy of Sciences (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia. E-mail: svetllanak@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9934-699X>

Rostislav D. Teodorovich – Research Fellow, Laboratory of Hemorrhagic Fevers, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of the Russian Academy of Sciences (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia. E-mail: rostislavteo@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2117-597X>

Tatyana D. Klebleeva – Research Fellow, Laboratory of Molecular Biology of Viruses, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of the Russian Academy of Sciences (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia. E-mail: klebleeva_td@chumakovs.su; <https://orcid.org/0000-0003-4288-6818>

Eugeny A. Tkachenko – D. Sci. (Med), Professor, head of the scientific direction of the Institution, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of the Russian Academy of Sciences (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia. E-mail: evgeniytkach@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6829-1241>

Contribution: Ivanov A.P. – the idea and design of new ELISA system, writing and editing the manuscript; Dzagurova T.K. – the idea and design of new ELISA system, writing and editing the manuscript; Klebleeva T.D. – the idea and design of new ELISA system; Kurashova S.S. – obtaining purified inactivated virus PUU; Teodorovich R.D. – obtaining purified inactivated virus PUU; Tkachenko E.A. – writing and editing the manuscript.

Received 09 February 2024

Accepted 05 April 2024

Published 30 June 2024