

ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Соснина О.Ю.¹, Николаева А.М.¹, Вязникова Т.В.¹, Фельдблум И.В.², Субботина К.А.²

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПРОТИВОКОКЛЮШНОГО ИММУНИТЕТА

¹Филиал АО «НПО «Микроген», 614089, Пермь, Россия;

²ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А.Вагнера» Минздрава РФ, 614089, Пермь, Россия

Цель исследования – изучить возможность применения разработанной иммуноферментной тест-системы «ИФА Анти-К» для оценки противокклюшного иммунитета. Проведена сравнительная оценка содержания коклюшных антител в сыворотках крови взрослых, беременных и детей 6 лет в реакции агглютинации, в тест-системе «ИФА Анти-К» и тест-системах зарубежного производства. Тест-система «ИФА Анти-К» дает возможность выявлять уровень специфических антител как к цельноклеточному, так и бесклеточному коклюшному компоненту вакцины на любой стадии цикла вакцинации. Данный диагностический тест может быть использован для определения тактики иммунизации, и для оценки популяционного иммунитета.

Ключевые слова: «ИФА Анти-К»; противокклюшный иммунитет; реакция агглютинации; иммуноферментный анализ.

Для цитирования: Соснина О.Ю., Николаева А.М., Вязникова Т.В., Фельдблум И.В., Субботина К.А. Изучение возможности использования иммуноферментной тест-системы для оценки противокклюшного иммунитета. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65 (2): 90-94. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-2-90-94>

Sosnina O.Yu.¹, Nikolaeva A.M.¹, Vyaznikova T.V.², Feldblum I.V.², Subbotina K.A.²

STUDYING THE POSSIBILITY OF USING IMMUNO-ENZY TEST SYSTEM FOR EVALUATING ANTI-PERTUSSIS IMMUNITY

¹Submittal of Federal State Unitary Enterprise "Scientific and Production Association for Immunological Preparations "Microgen" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 614089, Perm, Russia;

²Perm State Medical University named after Academician EA Wagner Health Ministry of Russia, 614990, Perm, Russia

A research objective - to study the possibility of using the ELISA Anti-K enzyme immunoassay system to evaluate anti-pertussis immunity. A comparative assessment of the content of co-crank antibodies in the blood serum of adults, pregnant women and children 6 years old in the agglutination test, in the test system "Anti-K ELISA" and test systems of foreign production was carried out. The "Anti-K" IFA test system makes it possible to detect the level of specific antibodies to both the whole cell and cell-free pertussis component of the vaccine at any stage of the vaccination cycle. This diagnostic test can be used to determine the tactics of immunization, and to assess population immunity.

Key words: "Anti-K" IFA; anti-pertussis immunity; agglutination reaction; enzyme immunoassay.

For citation: Sosnina O.Yu., Nikolaeva A.M., Vyaznikova T.V., Feldblum I.V., Subbotina K.A. Studying the possibility of using immuno-enzyme test system for evaluating anti-pertussis immunity. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2020; 65 (2): 90-94 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-2-90-94>

For correspondence: Subbotina K.A., Ph.D., Assistant Professor of the Department of Epidemiology; e-mail: ka.subbotina@bk.ru

Information about authors:

Sosnina O.Yu. <https://orcid.org/0000-0003-2800-0654>

Nikolaeva A.M. <https://orcid.org/0000-0002-3160-518X>

Vyaznikova T.V. <https://orcid.org/0000-0003-0497-9757>

Feldblyum I.V. <http://orcid.org/0000-0003-4398-5703>

Subbotina K. A. <http://orcid.org/0000-0002-0060-625>

Acknowledgments. The study had no sponsor support.

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Received 24.10.2019

Accepted 01.11.2019

Введение. Коклюш остается до настоящего времени одной из серьезных проблем здравоохранения не только для России, но и для всего мирового сообщества. В мире ежегодно регистрируется около 50 млн случаев коклюша, около 300 тысяч завершается летальным исходом. В России заболеваемость коклюшем находится на спорадическом уровне, ежегодно регистрируется более 4000 случаев, при этом следует заметить, что истинный уровень заболеваемости значительно выше. В последние годы на ряде территорий РФ отмечается активизация эпидемического процесса коклюшной инфекции [1, 2].

Низкий уровень заболеваемости коклюшем, сформировавшийся в большинстве субъектах РФ, и несоответствие его истинному распространению не позволяют оценивать эффективность проводимой массовой иммунизации по такому объективному критерию как заболеваемость. Контроль качества проводимой вакцинопрофилактики по показателям документированной привитости субъективен и формален, так как не отражает главного результата – фактической защищенности населения [3].

В свете вышеизложенного особую значимость в условиях гетерогенности прививаемых популяций и единой для всех регионов России схемы иммунизации приобретает серологический контроль популяционного иммунитета, формируемого как в результате массовой вакцинопрофилактики, так и после перенесенной инфекции [3]. Серологический мониторинг состояния поствакцинального иммунитета регламентирован нормативными документами Роспотребнадзора и осуществляется органами и учреждениями здравоохранения и государственной санитарно-эпидемиологической службы с 2003 года, являясь важной составной частью эпидемиологического надзора за инфекциями. Основные задачи серологического мониторинга: контроль качества проводимой иммунизации, определение групп повышенного риска инфицирования, оценка скрытой компоненты эпидемического процесса, активное выявление больных и обеспечение гибкости календаря профилактических прививок [4]. Следует отметить, что применительно к коклюшной инфекции надежный инструмент для осуществления серологического мониторинга отсутствует.

Согласно документам ВОЗ существуют только два утвержденных метода для оценки противокклюшного иммунитета: нейтрализация коклюшного токсина на клетках *Vero* и реакция агглютинации [5]. С начала применения вакцин против коклюша реакция агглютинации являлась и является по настоящее время классическим методом определения коклюшных антител и применяется для определения эффективности иммунизации и оценки противокклюшного иммунитета [6].

Реакция агглютинации (РА) обладает целым рядом существенных недостатков: невозможность получения точного количественного результата, т.к. учет проводится визуально и поэтому достаточно субъективен; тест очень длителен по времени - учет результатов проводится только через сутки после постановки реакции. К тому же РА не применима в случае оценки иммунного статуса людей, иммунизированных вакцинами, содержащими бесклеточный коклюшный компонент [7].

Выгодно отличается в этом плане экспрессный, количественный и более чувствительный метод исследования - иммуноферментный анализ (ИФА) [8].

Существуют импортные иммуноферментные тест-системы (ИФТС), в которых твердая фаза сенсibili-

зируется одним или несколькими индивидуально очищенными антигенами *Bordetella pertussis* (токсином, филаментозным гемагглютинином и липополисахаридом - ИФТС фирмы MyBioSource; токсином и филаментозным гемагглютинином - ИФТС фирмы Savoyon; в основном токсином - ИФТС фирм DRG), что является их существенным недостатком, поскольку до настоящего времени остается не ясна роль отдельных антигенов *Bordetella pertussis* в развитии заболевания, а также в отношении их вклада в обеспечение протективной функции иммунопрофилактических препаратов [9, 10, 11]. Поэтому использование как можно большего количества коклюшных антигенов для фиксации их на твердой фазе позволяет более полно выявлять спектр специфических антител в сыворотках крови людей.

Отечественных иммуноферментных тест-систем для оценки противокклюшного иммунитета нет.

В связи с этим в Филиале АО «НПО «Микроген» в г. Пермь «Пермское НПО «Биомед» разработана иммуноферментная тест-система для определения коклюшных антител («ИФА Анти-К»), получен патент (RU 2582959 С1).

Цель работы – изучить возможность применения разработанной иммуноферментной тест-системы «ИФА Анти-К» для оценки противокклюшного иммунитета.

Материал и методы. «ИФА Анти-К» - иммуноферментная тест-система для выявления коклюшных антител в сыворотках крови человека (Филиал АО «НПО «Микроген» в г. Пермь «Пермское НПО «Биомед»). Метод определения основан на взаимодействии антигенов *Bordetella pertussis*, иммобилизованных на полистироловом планшете, с антителами против *Bordetella pertussis*, содержащимися в сыворотке крови. Образовавшийся комплекс антиген-антитело выявляют с помощью конъюгата антител против IgG человека, меченных пероксидазой, которая обуславливает расщепление перекиси водорода, регистрируемое по изменению окраски индикатора тетраметилбензидина (ТМБ).

В качестве иммуносорбента использовали смесь обезвреженной формальдегидом и теплом (при 30-35 °С) антигенной фракции *Bordetella pertussis*, очищенной методом хроматографии и ультрафильтрации без разделения компонентов, включающей антигены: токсин (КТ), пертактин (ПРН), фимбриальные агглютиногены (2 и 3 типов), филаментозный гемагглютинин (ФГА), и коклюшной суспензии инактивированной, субстанции (цельноклеточный антиген), сорбированных в лунках 96-луночного планшета для иммунологических реакций.

Антигены *Bordetella pertussis* эквивалентны антигенам, используемым в составе комбинированных вакцин (содержащими коклюшный компонент (цельноклеточный и бесклеточный)).

Концентрацию антител класса IgG против *Bordetella pertussis* в иммуноферментных единицах (ИЕ/мл) определяют по калибровочной кривой. Положительный контрольный образец, используемый для построения кривой, был аттестован в реакции иммуноферментного анализа по референс-образцу (стандартному образцу предприятия), откалиброванному в реакции агглютинации.

В качестве диагностических препаратов сравнения использовали:

коклюшный диагностикум для реакции агглютинации (НПО «Биомед» им. И.И. Мечникова, Москва);

иммуноферментные тест-системы зарубежного производства: Human Anti-Pertussis IgG ELISA Assay (Xpres-

Таблица 1

Сравнительная оценка определения уровня антител в сыворотках крови человека с использованием «ИФА Анти-К» и реакции агглютинации

Обследованные	Кол-во сывороток, шт.	Показатели		
		СГТ		г
		«ИФА Анти-К»*	РА**	
Взрослые	318	87,4 [77,7-98,2]	51,8 [43,4-61,9]	0,7
Беременные женщины	140	45,5 [40,1-51,6]	38,1 [31,5-46,0]	0,7
Дети 6 лет	135	55,9 [44,8-67,9]	189,6 [148,2-243,0]	0,7

Примечание. * – ИЕ/мл; ** – величина, обратная разведению.

sBio, США); Enzyme Immunoassay for the detection of human IgG antibodies against Bordetella Pertussis in serum and plasma (MyBioSource, Inc., США); Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for the semi-quantitative determination of specific IgG antibodies to Bordetella Pertussis in human serum (Savyon Diagnostics Ltd., Израиль).

Оценка возможности использования разработанной иммуноферментной тест-системы «ИФА Анти-К» для оценки противокклюшного иммунитета проведена на основании сравнительной оценки содержания коклюшных антител в сыворотках крови взрослых ($n=318$), беременных ($n=140$) и детей 6 лет ($n=135$). Сыворотки были протестированы параллельно в реакции агглютинации (РА) и в тест-системе «ИФА Анти-К». Сыворотки крови взрослых ($n=64$), а также детей, иммунизированных вакциной Пентаксим, содержащей в своем составе бесклеточный коклюшный компонент (коклюшный анатоксин и филаментозный гемагглютинин) ($n=24$), были протестированы параллельно в РА и ИФА с помощью «ИФА Анти-К» и тест-систем зарубежного производства.

Были рассчитаны средние геометрические титра (СГТ) и доверительные интервалы для каждой группы, рассчитан коэффициент корреляции (г) между результатами, полученными в ИФА и РА.

Согласно МУ 3.1.2.2160-07 [4] уровень антител при титре 1:160 в реакции агглютинации считается условно-защитным, а 1:320 и выше – защитным. Поскольку защитный уровень коклюшных антител в реакции иммуноферментного анализа не установлен, была проведена оценка уровня защитных антител при параллельном титровании сывороток крови в РА и ИФА. Образцами служили сыворотки крови иммунизированных детей, участвовавших в клинических испытаниях новых отечественных комбинированных вакцин АКДС-Геп В+ХИБ и аАКДС-Геп В+ХИБ ($n=640$), сыворотки крови взрос-

лых ($n=458$) и детей 6 лет ($n=135$). Всего протестировано 1233 пробы.

Все сыворотки крови разделили на 4 группы по результатам определения титров коклюшных антител в реакции агглютинации: 1 группа - титр в РА менее 1:160; 2 группа - 1:160; 3 группа –1:320; 4 группа – более 1:320. Затем определили содержание коклюшных антител во всех сыворотках в реакции иммуноферментного анализа с использованием разработанной тест-системы. Рассчитали среднюю геометрическую титра и доверительные интервалы в каждой группе сывороток.

На следующем этапе исследования была проведена оценка возможности использования разработанной тест-системы для контроля иммуногенности комбинированных вакцин по содержанию специфических антител в сыворотках крови иммунизированных детей, участвовавших в клинических испытаниях новых отечественных комбинированных вакцин АКДС-Геп В+ХИБ и аАКДС-Геп В+ХИБ ($n=640$).

Оценка иммуногенности комбинированных вакцин проводилась по уровню сероконверсии (%), фактору сероконверсии и СГТ антител. Уровень сероконверсии рассчитывался как процент детей, у которых титр антител после вакцинации увеличился не менее чем в 1,5 раза, фактор сероконверсии – во сколько раз увеличился уровень коклюшных антител после вакцинации по сравнению с исходным уровнем. Кроме того, был рассчитан уровень серопротекции (т.е. процент добровольцев с титрами антител выше установленного условно-защитного уровня против коклюша).

Результаты и обсуждение. Сравнительная оценка определения уровня коклюшных антител в сыворотках крови человека с использованием «ИФА Анти-К» и реакции агглютинации показала, что в среднем коэффициент корреляции между результатами, полученными с помощью разработанной тест-системы и реакции агглютинации, составил 0,7 (высокая степень связи по шкале Чеддока), что является хорошим показателем для столь различных методов (табл. 1).

Было установлено также, что результаты определения уровня коклюшных антител с помощью «ИФА Анти-К» сопоставимы с данными, полученными в реакции агглютинации, в отличие от результатов, полученных с помощью зарубежных тест-систем (табл. 2).

Результаты определения коклюшных антител в сыворотках крови детей, иммунизированных вакциной Пентаксим (коклюшный компонент вакцины включает в себя коклюшный анатоксин и филаментозный гемагглютинин), показали, что реакция агглютинации не может быть использована для адекватной оценки противокклюшного иммунитета в сыворотках крови людей, иммунизированных вакцинами, не содержащими агглютиногены в своем составе. Разработанная ИФТС выявляет

Таблица 2

Сравнительная оценка определения уровня антител в сыворотках крови взрослых ($n=64$) с использованием «ИФА Анти-К» и зарубежных иммуноферментных тест-систем

Показатели	ИФА				РА, величина, обратная разведению
	«ИФА Анти-К», ИЕ/мл	XpressBio, U/ml	MyBioSource, U/ml	Savyon, BU/ml	
СГТ	92,5 [67,0-127,8]	13,5 [10,7-17,0]	53,6 [44,4-64,8]	21,5 [16,4-28,1]	220,1 [139,7-346,8]
г с РА	0,8	0,2	0,4	0,5	

антитела ко всему комплексу коклюшных антигенов, что позволяет проводить серологический мониторинг после иммунизации всеми комбинированными вакцинами, содержащими как клеточный, так и бесклеточный коклюшный компонент. При этом данные, полученные с помощью «ИФА Анти-К» сопоставимы с данными, полученными при использовании тест-системы зарубежного производства ($p > 0,05$) (табл. 3).

Таким образом, проведенные скрининговые исследования показали высокую степень корреляции данных,

полученных с помощью разработанной тест-системы и реакции агглютинации, которая является классическим методом определения коклюшных антител в сыворотках крови людей, что позволило перейти к следующему этапу работы - определению защитного уровня коклюшных антител в реакции иммуноферментного анализа (табл. 4).

В результате параллельного титрования 1233 сывороток крови в РА и ИФА было установлено, что титр от 80 до 120 ИЕ/мл (т.е. 100 ИЕ/мл \pm 20 %) можно считать условно-защитным, титр более 120 ИЕ/мл – защитным.

В результате проведенных исследований по оценке возможности использования разработанной тест-системы для контроля иммуногенности комбинированных вакцин было установлено, что уровень серопротекции, уровень сероконверсии и фактор сероконверсии в ИФА и РА существенно не отличались ($p > 0,05$). Это свидетельствует о перспективности использования разработанной ИФТС для оценки эффективности иммунизации населения против коклюша (табл. 5 и 6).

Заключение. В наблюдениях на людях была обоснована возможность использования разработанной иммуноферментной тест-системы «ИФА Анти-К» для оценки эффективности иммунизации. Исследуемая тест-система дает возможность выявлять уровень коклюшных антител на любой стадии цикла вакцинации, что может служить основанием для определения тактики иммунизации. Поскольку данная тест-система позволяет определять в сыворотке крови антитела не только к цельноклеточному коклюшному компоненту вакцин, но и к бесклеточному, она может быть рекомендована и для оценки популяционного противокклюшного иммунитета в условиях широкого использования на практике комбинированных вакцин.

Основными преимуществами разработанной ИФТС по сравнению с реакцией агглютинации являются экспрессность, автоматизация анализа, стандартизация результатов, исключение субъективизма в интерпретации, определение специфических антител ко всему спектру коклюшных антигенов, легкость проведения анализа, возможность количественной оценки, а также низкая стоимость набора реагентов.

В заключение следует отметить, что разработанная ИФТС открывает широкие возможности для проведения эпидемиологических исследований по объективной оценке эффективности массовой иммунизации против коклюша, а также характеристики иммунной структуры населения.

Таблица 3

Результаты определения коклюшных антител в сыворотках крови детей, иммунизированных вакциной Пентаксим

№	ИФА Анти-К, ИЕ/мл	Savyon, BU/ml	XpressBio, U/ml	РА, величина, обратная разведению
1	80,8	74,0	101,0	отр.
2	46,8	36,0	46,5	отр.
3	44,3	16,0	26,9	отр.
4	46,5	52,0	110,8	отр.
5	54,9	37,0	71,8	отр.
6	44,2	68,0	94,0	отр.
7	76,1	70,0	94,8	отр.
8	104,5	50,0	37,6	отр.
9	52,3	57,0	85,1	отр.
10	37,4	52,0	98,5	отр.
11	41,0	41,0	90,7	отр.
12	61,9	66,0	90,7	отр.
13	63,4	55,0	80,7	отр.
14	26,8	17,0	41,1	отр.
15	45,1	53,0	63,4	80
16	79,6	62,0	73,1	20
17	26,9	38,0	69,1	отр.
18	55,2	50,0	93,1	отр.
19	16,6	38,0	54,3	отр.
20	66,2	57,0	101,3	отр.
21	55,9	53,0	95,1	20
22	72,6	70,0	112,2	320
23	24,1	32,0	32,6	отр.
24	51,8	65,0	87,7	отр.
СГТ	49,1 [40,9-58,8]	47,2 [39,9-56,0]	72,1 [60,7-85,6]	2,0 [1,0-3,9]

Таблица 4

Определение защитного уровня коклюшных антител в ИФА

Группа	кол-во, шт.	Средняя геометрическая титра (СГТ)							
		1 группа		2 группа		3 группа		4 группа	
		РА*	ИФА**	РА	ИФА	РА	ИФА	РА	ИФА
Дети	640	21,6 [19,6-23,8]	17,1 [14,7-19,9]	160,0	70,4 [60,4-82,0]	320,0	126,8 [110,8-145,0]	963,8 [888,8-1045,1]	254,4 [233,9-287,6]
Беременные	140	26,7 [23,0-31,0]	39,2 [34,6-44,4]	160,0	73,8 [57,8-94,3]	320,0	93,6 [39,3-222,7]	735,2 [500,0-1080,8]	185,6 [92,4-372,9]
Взрослые	318	21,5 [19,1-24,2]	61,4 [54,1-69,7]	160,0	119,3 [94,9-150,0]	320,0	198,2 [140,1-280,4]	1338,5 [1038,9-1724,6]	359,0 [282,5-456,3]
Дети 6 лет	135	36,2 [29,7-44,0]	16,3 [12,9-20,7]	160,0	35,7 [23,8-53,7]	320,0	125,0 [99,4-157,2]	822,4 [738,2-916,1]	151,4 [138,3-165,9]
Среднее значение		26,5	33,5	160,0	74,8	320,0	135,9	965,0	237,6

Примечание. * - величина, обратная разведению; ** - ИЕ/мл.

Определение уровня антител в сыворотках крови детей с использованием «ИФА Анти-К» и реакции агглютинации

Группа детей	кол-во проб, шт.	Средняя геометрическая титра (СГТ)			
		до иммунизации		после иммунизации	
		ИФА*	РА**	ИФА	РА
АКДС-Геп В +ХИБ	160	25,8 [17,7-37,6]	50,2 [34,4-73,3]	102,0 [77,1-135,0]	215,3 [155,3-298,6]
АКДС-Геп В+Хиберикс	160	24,0 [17,1-33,8]	49,7 [34,1-72,5]	126,2 [96,1-165,6]	215,3 [150,0-309,1]
Инфанрикс-Гекса	160	24,2 [16,9-34,7]	36,2 [25,4-51,8]	99,0 [82,0-119,5]	164,8 [121,0-224,6]
аАКДС-Геп В +ХИБ+ Полиорикс	160	37,1 [25,5-54,1]	51,7 [34,6-77,4]	136,2 [105,9-175,3]	200,9 [143,5-281,3]

Примечание. * - ИЕ/мл; ** - величина, обратная разведению.

Результаты исследования иммуногенности вакцин по коклюшному компоненту

Группа детей	Уровень серопротекции до вакцинации, %		Уровень серопротекции после вакцинации, %		Уровень сероконверсии, %		Фактор сероконверсии	
	ИФА	РА	ИФА	РА	ИФА	РА	ИФА	РА
АКДС-Геп В +ХИБ	28,8	37,5	62,5	70,0	76,3	72,5	4,0	4,3
АКДС-Геп В+Хиберикс	21,3	33,8	68,8	73,8	77,5	80,0	5,3	4,3
Инфанрикс-Гекса	23,8	33,8	60,0	62,5	63,8	71,3	4,1	4,5
аАКДС-Геп В+ХИБ+Полиорикс	40,0	46,3	72,5	66,3	70,0	62,5	3,7	3,9
Итого	28,5	37,9	66,0	68,2	71,9	71,6	4,3	4,3

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Таточенко В.К. Коклюш — недоуправляемая инфекция. *Вопросы современной педиатрии*. 2014; 13 (2): 78—82.
2. Global Health Observatory Data Repository. Available at <http://apps.who.int/gho/data/node.main.ChildMortREG100?lang=en>; accessed July 2015.
3. Фельдблюм И.В. Эпидемиологический надзор за вакцинопрофилактикой. *Журнал Медиаль*. 2014; 3(13): 37-55.
4. МУ 3.1.2.2160-07 Методические указания. П.1.2. Профилактика инфекционных заболеваний. Инфекции дыхательных путей. Эпидемиологический надзор за коклюшной инфекцией: 2007.
5. WHO/DRAFT|11 June 2010.
6. МУ 3.1.2943-11 «Профилактика инфекционных болезней. Организация и проведение серологического мониторинга к инфекциям, управляемым средствами специфической профилактики (дифтерия, столбняк, коклюш, корь, краснуха, эпидемический паротит, полиомиелит, гепатит В)»: 2011.
7. Гореликова Е.В. Оптимизация клинико-лабораторной диагностики и эпидемиологического надзора за коклюшем. Дис. ... канд. мед. наук. Пермь; 2006.
8. Николаева А.М. Конструирование комбинированных вакцин и иммуноферментных тест-систем для профилактики и диагностики управляемых инфекций (дифтерия, столбняк, коклюш, гепатит В). Дис. ... докт. биол. наук. Челябинск; 2003.
9. Вакцины против коклюша: позиция ВОЗ, август 2015. Ежегодный эпидемиологический отчет. 28 августа 2015 г. 35; 433-60.
10. Ценева Г.Я. Современные вопросы биологии и мониторинга возбудителей иерсиниозов, коклюша, дифтерии, совершенствование диагностики инфекций. СПб.: Питер; 2013.
11. Vaccines. 4th ed., by S.A. Plotkin, and W.A. Orenstein (Elsevier, 2004):1696.

REFERENCES

1. Tatochenko V.K. Pertussis - mismanaged infection. *Voprosy sovremennoy pediatrii*. 2014; 13 (2): 78—82. (in Russian)
2. Global Health Observatory Data Repository. Available at <http://apps.who.int/gho/data/node.main.ChildMortREG100?lang=en>; accessed July 2015.
3. Fel'dblyum I.V. Epidemiological surveillance of vaccine prevention. *Zhurnal Medial'*. 2014; 3(13): 37-55. (in Russian)
4. МУ 3.1.2.2160-07 Metodicheskie ukazaniya. P.1.2. Prevention of infectious diseases. Respiratory tract infections. Epidemiological surveillance of pertussis infection: 2007. (in Russian)
5. WHO/DRAFT|11 June 2010.
6. МУ 3.1.2943-11 «Prevention of infectious diseases. Organizing and conducting serological monitoring for infections controlled by specific prophylaxis (diphtheria, tetanus, whooping cough, measles, rubella, mumps, poliomyelitis, hepatitis B)»: 2011. (in Russian)
7. Gorelikova E.V. Optimization of clinical and laboratory diagnosis and epidemiological surveillance of pertussis. Dis. ... Perm'; 2006. (in Russian)
8. Nikolaeva A.M. Designing combined vaccines and enzyme immunoassay systems for the prevention and diagnosis of controlled infections (diphtheria, tetanus, whooping cough, hepatitis B). Dis. ... Chelyabinsk; 2003. (in Russian)
9. Whooping cough vaccines: pozitsiya VOZ, avgust 2015. Ezhenedel'nyi epidemiologicheskii otchet. 28.08. 2015; 35: 433-60. (in Russian)
10. Tseneva G.Ya. Modern questions of biology and monitoring of pathogens of yersiniosis, whooping cough, diphtheria, improving the diagnosis of infections [Sovremennye voprosy biologii i monitoringa vzbuditeley Yersiniosis, koklyusha, difterii, sovershenstvovanie diagnostiki infektsiy]. St.Petersburg: Piter; 2013. (in Russian)
11. Vaccines. 4th ed. S.A. Plotkin, W.A. Orenstein, eds. (Elsevier, 2004):1696.

Поступила 24.10.19

Принята к печати 01.11.19