

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель Министра здравоохранения –
Главный государственный санитарный врач
Республики Беларусь

С.В.Нечай

2026 г.

Регистрационный № 010-1225



АЛГОРИТМ МНОГОЦЕЛЕВОГО СЕРОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПОПУЛЯЦИОННОГО ИММУНИТЕТА К ВАКЦИНОУПРАВЛЯЕМЫМ ВИРУСНЫМ ИНФЕКЦИЯМ

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: государственное учреждение
«Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного
здоровья»

АВТОРЫ: д-р мед. наук, профессор Самойлович Е.О., д-р мед. наук
Ермолович М.А., канд. биол. наук Семейко Г.В., Бурак Е.А.

Минск, 2025

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель Министра
здравоохранения — Главный
государственный санитарный врач
Республики Беларусь

С.В.Нечай

19.06.2026

Регистрационный № 010-1225

АЛГОРИТМ МНОГОЦЕЛЕВОГО СЕРОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПОПУЛЯЦИОННОГО ИММУНИТЕТА К ВАКЦИНОУПРАВЛЯЕМЫМ ВИРУСНЫМ ИНФЕКЦИЯМ

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: государственное учреждение
«Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного
здоровья»

АВТОРЫ: д-р мед. наук, профессор Самойлович Е.О., д-р мед. наук Ермолович М.А., канд. биол. наук Семейко Г.В., Бурак Е.А.

Минск, 2025

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен алгоритм проведения многоцелевого серологического исследования популяционного иммунитета к вакциноуправляемым вирусным инфекциям, который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на медицинскую профилактику социально значимых вирусных инфекций – полиомиелита, кори, краснухи, эпидемического паротита.

Показания к применению

- определение в одном образце сыворотки крови спектра специфических антител к вирусным инфекциям – полиомиелиту, кори, краснухе, эпидемическому паротиту;
- определение соответствия популяционного иммунитета к полиомиелиту, кори, краснухе, эпидемическому паротиту пороговому уровню, достаточному для поддержания элиминации этих инфекций.

Противопоказания к применению: отсутствуют.

Перечень необходимых медицинских изделий, расходных материалов и др.

Перечень изделий медицинской техники и изделий медицинского назначения для детекции антител к полиомиелиту, кори, краснухе, эпидемическому паротиту изложен в инструкции по применению «Методы изучения популяционного иммунитета к вакциноуправляемым инфекциям (полиомиелиту, кори, эпидемическому паротиту, краснухе, коклюшу)» (рег. номер Министерства здравоохранения 003-0612 от 12.12.2012).

Технология организации алгоритма

1 Определение размера выборки

1.1 Рассчитать размер выборки для проведения многоцелевого серологического исследования популяционного иммунитета можно по формуле:

$$\text{Sample size} = \frac{\frac{z^2 \times p(1-p)}{e^2}}{1 + \left(\frac{z^2 \times p(1-p)}{e^2 N} \right)}, \text{ где}$$

- N – численность популяции (возрастной группы),
- z – достоверность (95 % CI),
- p – ожидаемая серопревалентность,
- e – допустимая ошибка (5 %),

либо с использованием интернет ресурса [https://openepi.com/SampleSize/SSPropor.htm].

1.2 При определении размера выборки необходимо учесть следующие параметры: численность населения, для которого проводится оценка популяционного иммунитета, приемлемый уровень точности/допустимая ошибка (от +5 % до +7 % считается минимально приемлемым уровнем), уровень достоверности (как правило 95 %), ожидаемый уровень серопревалентности (по результатам последних предшествующих исследований).

1.3 Если численность населения, приемлемый уровень точности и достоверности для всех четырех анализируемых инфекций являются одинаковыми, то основным параметром, определяющим размер выборки, будет ожидаемый уровень серопревалентности. Наибольшего размера выборки требует ожидаемый уровень серопревалентности 50 %, и, если ожидаемая серопревалентность неизвестна, для расчета размера выборки следует использовать именно значение 50 %. Это обеспечит достаточный размер выборки для любых уровней серопревалентности в популяции.

1.4 При численности населения от 100 000 до 1 000 000 и более человек размер требуемой выборки практически не меняется, поэтому для упрощения расчетов можно пользоваться таблицей 1.

Таблица 1 – Примеры минимальных требуемых размеров выборки с учетом приемлемой точности и ожидаемой серопревалентности (численность населения 100 000 – 1 000 000; уровень достоверности 95 %)

Допустимая ошибка, %	Ожидаемая серопревалентность, %					
	50	70	80	90	95	99
+3	1056	889	679	383	203	43
+5	383	322	246	139	73	16
+7	196	165	126	71	38	8

Источник: Dean AG, Sullivan KM, Soe MM. OpenEpi: Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health [website]; 2013 (<http://www.openepi.com/>)

Справочно: По результатам изучения популяционного иммунитета к вакциноуправляемым вирусным инфекциям в 2024 г. в Республике Беларусь уровень серопревалентности к полиовирусу серотипа 1 составил 95,23 %, к вирусу кори – 77,35 %, к вирусу краснухи – 94,52 %, к вирусу паротита – 86,50 %.

1.5 При проведении стратифицированной по возрастам оценки серопревалентности размер выборки зависит от количества возрастных групп, для которых планируется проведение оценки (расчетное значение размера выборки в популяции равняется сумме расчетных значений выборки в каждой из исследуемых групп). Пример расчета размера выборки представлен в Приложении.

2 Биологический материал

Биологическим материалом для определения антител является сыворотка крови. Для проведения многоцелевой оценки взятие крови осуществляется из локтевой вены в объеме не менее 2 мл.

2.1 Порядок сбора, транспортировки, обработки и хранения материала

2.1.1 Количество образцов сыворотки крови должно соответствовать размеру выборки, установленному в соответствии с п. 1.1– 1.5.

2.1.2 Собранные образцы крови доставляются в лабораторию в день сбора.

2.1.3 Получение сыворотки из цельной крови проводится в соответствии с инструкцией по применению «Методы изучения

популяционного иммунитета к вакциноуправляемым инфекциям (полиомиелиту, кори, эпидемическому паротиту, краснухе, коклюшу)» (рег. номер Министерства здравоохранения 003-0612 от 12.12.2012).

2.1.4 До проведения исследования образцы сыворотки крови могут храниться при температуре 2–8 °С до 7 дней. Если определение антител в течение этого времени не проведено, сыворотка должна быть заморожена и храниться в замороженном состоянии до исследования.

2.1.5 Перед закладкой на хранение разделить сыворотку на аликвоты (например, порции по 0,5 мл) и размораживать только необходимое для одного исследования количество, что снизит необходимость повторного замораживания-оттаивания.

2.1.6 Для длительного хранения (более 6 месяцев) образцы сыворотки хранить при минус 80 °С, что обеспечивает сохранение их целостности.

2.1.7 Перед исследованием следует полностью разморозить образцы при +4 °С или комнатной температуре. Необходимо избегать быстрого размораживания, что может привести к повреждению образца кристаллами льда. Аккуратно перемешать размороженный образец, не допуская образования пены, чтобы обеспечить равномерное распределение белков.

2.1.8 После размораживания центрифугировать образец сыворотки при 10 000 об/мин в течение 5 минут при +4 °С для удаления любых осадков перед исследованием.

2.1.9 Если размороженный образец сыворотки не использован полностью, не замораживать его повторно, так как повторное замораживание ухудшает его качество.

2.1.10 Избегать использования образцов сывороток с сильным гемолизом (темно-красный цвет) или выраженной липемией (молочный вид), так как это может повлиять на результаты ИФА.

2.1.11 Одного образца сыворотки крови объемом 0,5 мл достаточно для определения антител в отношении четырех вирусных инфекций – полиомиелита, кори, краснухи, эпидемического паротита.

2.1.12 Манипуляции с биологическим материалом (сыворотки крови) проводятся с соблюдением правил работы с инфицированным материалом и использованием средств индивидуальной защиты в соответствии с СанПиН «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденными постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь 06.01.2017 № 2.

2.1.13 Утилизация отходов, образующихся в процессе работы, должна осуществляться в соответствии с СанПиН «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 7 февраля 2018 № 14.

3 Определение сывороточных антител к полиомиелиту, кори, краснухе, эпидемическому паротиту

3.1 Определение IgG антител к кори, краснухе и эпидемическому паротиту и вируснейтрализующих антител к полиомиелиту проводится в соответствии с инструкцией по применению «Методы изучения популяционного иммунитета к вакциноуправляемым инфекциям (полиомиелиту, кори, эпидемическому паротиту, краснухе, коклюшу)» (рег. номер Министерства здравоохранения 003-0612 от 12.12.2012).

4 Интерпретация полученных результатов

4.1 Интерпретация полученных результатов на индивидуальном уровне

4.1.1 В случае, если для определения IgG антител (есть/нет) к кори, эпидемическому паротиту, краснухе используется качественная ИФА тест-

система, при выявлении наличия антител в образце сыворотки результат расценивается как положительный, при отсутствии антител – как отрицательный.

4.1.2 В случае, если для определения IgG антител к кори, эпидемическому паротиту, краснухе используется количественная ИФА тест-система, позволяющая выражать уровень антител в Международных единицах, то:

4.1.1.1 *уровень антител к кори* расценивается следующим образом:

$\geq 0,18$ МЕ/мл - как положительный,

от 0,12 до 0,18 МЕ/мл – как промежуточный (серая зона),

$< 0,12$ МЕ/мл – как отрицательный.

4.1.1.2 *уровень антител к краснухе* расценивается следующим образом:

≥ 11 МЕ/мл – как положительный,

от 8 до 11 МЕ/мл – как промежуточный (серая зона),

< 8 МЕ/мл – как отрицательный.

4.1.1.3 *уровень антител к эпидемическому паротиту* расценивается следующим образом:

≥ 100 МЕ/мл – как положительный,

от 70 до 100 МЕ/мл – как промежуточный (серая зона),

< 70 МЕ/мл – как отрицательный.

4.1.3 При определении вируснейтрализующих антител к полиомиелиту наличие антител в сыворотке крови в разведении 1:8 и более расценивается как положительный результат.

4.2 Интерпретация полученных результатов на популяционном уровне

4.2.1 Уровень популяционного (коллективного) иммунитета выражается в процентах и рассчитывается для каждой из инфекций как

соотношение числа положительных образцов сывороток крови к числу исследованных образцов, умноженное на 100 %.

4.2.2 Для оценки состояния эпидемиологического благополучия в отношении каждой из инфекций полученное в результате проведенного исследования значение уровня популяционного иммунитета сравнивается с пороговым (критическим) уровнем популяционного иммунитета, достаточным для поддержания эпидемического благополучия, представленным в таблице 2.

Таблица 2 – Международные расчетные данные по пороговому уровню иммунитета к полиомиелиту, кори, краснухе, эпидемическому паротиту

№ п/п	Инфекция	Пороговый уровень популяционного иммунитета
1	Полиомиелит	80-85%
2	Корь	90-95%
3	Краснуха	82-87%
4	Эпидемический паротит	85-90%

4.2.3 Если полученные результаты исследования свидетельствуют о том, что уровень популяционного иммунитета ниже порогового, целесообразно проведение дополнительных мероприятий по иммунизации.

Перечень возможных ошибок и пути их устранения

Ограничения	Пути их устранения
Вероятность смещений (ошибок), если выборка не является репрезентативной (систематическая ошибка отбора, систематическая ошибка истощения из-за отсева участников и др.).	Грамотное планирование и расчет размера выборки с учетом возможных систематических ошибок
Нарушения условий сбора и транспортировкой биологических образцов	Использовать ранее собранные образцы, если они доступны
Недостаточный объем сыворотки крови для проведения исследования антител к нескольким инфекциям	При планировании проспективного исследования следует обеспечить сбор крови, достаточный для получения 0,5 мл сыворотки; при планировании использования ранее собранных образцов провести оценку их объема
Недостаточная чувствительность и специфичность использованных тест-систем	Следует использовать тест-системы с подтвержденной высокой чувствительностью и специфичностью
Невозможность на основании результатов серологических исследований идентифицировать различия между поствакцинальными и постинфекционными IgG	Сбор детальной информации об анамнезе и поствакцинальном статусе обследуемого перед проведением оценки серопревалентности

ПРИМЕРЫ РАСЧЕТА РАЗМЕРА ВЫБОРКИ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ МНОГОЦЕЛЕВОГО СЕРОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПОПУЛЯЦИОННОГО ИММУНИТЕТА

1 Расчет размера выборки для серологического исследования популяционного иммунитета к полиомиелиту, кори, краснухе, эпидемическому паротиту в Республике Беларусь

1.1 В соответствии с поставленной задачей стратифицированной по возрастам оценки популяционного иммунитета к полиомиелиту, кори, краснухе, эпидемическому паротиту в Республике Беларусь с численностью населения более 9 000 000 человек необходимо рассчитать размер репрезентативной выборки.

1.2 Стратификация предполагает выделение следующих 7 возрастных групп: 0-9 лет, 10-19, 20-29, 30-39, 40-49, 50-59, 60-69. Численность населения в каждой возрастной группе составляет не менее 100 000 человек.

1.3 По результатам изучения популяционного иммунитета к вакциноуправляемым вирусным инфекциям 2024 г. в Республике Беларусь уровень серопревалентности к полиовирусу серотипа 1 составил 95,23 %, к вирусу кори – 77,35 %, к вирусу краснухи – 94,52 %, к вирусу паротита – 86,50 %.

1.4 Самый низкий уровень серопревалентности отмечается в отношении кори, следовательно, самого большого размера выборки будет требовать именно эта инфекция, и, следовательно, требуемый размер

выборки рассчитываем для этой инфекции. Этого размера выборки будет достаточно и для проведения многоцелевого серологического исследования, включающего полиомиелит, корь, краснуху, эпидемический паротит.

1.5 Расчет выборки для каждой возрастной группы выполняем с помощью интернет ресурса <https://openepi.com/SampleSize/SSPropor.htm> либо с использованием таблицы 1. Задаем следующие параметры: численность населения – 100 000 человек, приемлемый уровень точности/допустимая ошибка +5 %, уровень достоверности 95 %, ожидаемый уровень серопревалентности 70 %.

1.6 Согласно полученным расчетным данным минимальный требуемый размер выборки в одной возрастной группе составляет 322 человека.

1.7 Минимальный требуемый размер выборки для Республики Беларусь составляет $322 \times 7 = 2254$ человек

2 Расчет размера выборки для серологического исследования популяционного иммунитета к полиомиелиту, кори, краснухе, эпидемическому паротиту в регионе, где ранее такие исследования не проводились

2.1 В соответствии с поставленной задачей оценки популяционного иммунитета к полиомиелиту, кори, краснухе, эпидемическому паротиту в регионе N (районе, городе) с численностью населения 20 000 человек необходимо рассчитать размер репрезентативной выборки.

2.2 Расчет выборки выполняем с помощью интернет ресурса <https://openepi.com/SampleSize/SSPropor.htm>. Задаем следующие параметры: численность населения – 20 000 человек, приемлемый уровень точности/допустимая ошибка +5 %, уровень достоверности 95 %, ожидаемый уровень серопревалентности неизвестен (т.е. принимаем за 50 %, так как этот уровень требует максимального размера выборки).

2.3 Согласно полученным расчетным данным минимальный требуемый размер выборки составляет 379 человек.

2.4 Если ставится задача стратифицированной по возрастам оценки популяционного иммунитета, определяем целесообразные возрастные группы обследуемых, например, в соответствии с национальной историей иммунизации: 1) непривитые, 2) привитые с использованием одной дозы моновакцины, 3) привитые с использованием двух доз моновакцины, 4) привитые с использованием одной дозы комбинированной вакцины, 5) привитые с использованием двух доз комбинированной вакцины.

2.5 С учетом численности населения в каждой возрастной группе с использованием интернет ресурса <https://openepi.com/SampleSize/SSPropor.htm> рассчитывается требуемый размер выборки для каждой группы. Например, численность каждой возрастной группы составляет по 5 000 человек. Размер минимальной репрезентативной выборки для одной возрастной группы численностью 5000 человек составляет 357.

2.6 Минимальный требуемой размер выборки для проведения стратифицированной по возрастам оценки популяционно иммунитета в регионе N (районе, городе) численностью населения 20 000 будет состоять из суммы размера выборок для возрастных групп, т.е. $357 \times 5 = 1785$ человек.