

Разработка и исследование диагностической эффективности набора реагентов для выявления антител класса М к отдельным антигенам вируса краснухи методом иммунного блоттинга в формате «Western blot»

С. Г. Марданлы^{1, 2}, А. С. Авдонина^{*2}

¹ ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет», г. Орехово-Зуево

² ЗАО «ЭКОлаб», г. Электрогорск

Резюме

Актуальность. При серологической диагностике краснухи методом иммуноферментного анализа, направленного на выявление антител класса М, возможно получение сомнительного или ложноположительного результата. В данном случае необходимо дополнительное подтверждающее исследование, которое может быть проведено методом иммунного блоттинга, позволяющим выявить антитела к отдельным антигенам вируса краснухи. На сегодняшний день в Российской Федерации отсутствует подобный набор реагентов, что делает его разработку достаточно актуальной. **Цель** – разработка отечественной тест-системы для выявления антител класса М к отдельным антигенам вируса краснухи методом иммунного блоттинга в формате «Western blot».

Материалы и методы. Для получения иммуносorbента новой тест-системы использовали электрофорез нативного лизата вируса краснухи в полиакриламидном геле с целью разделения входящих в его состав белков по молекулярному весу и последующий электроперенос (блоттинг) разделенных белков на нитроцеллюлозную мембрану. Для оценки чувствительности и специфичности новой тест-системы использовали стандартные панели сывороток, содержащих и не содержащих IgM к вирусу краснухи, а также охарактеризованные методом ИФА образцы клинического материала. **Результаты и их обсуждение.** В результате проведенной работы была создана отечественная тест-система, позволяющая выявлять антитела класса М к отдельным антигенам вируса краснухи методом иммунного блоттинга, аналитическая чувствительность и специфичность которой составили 100%, а диагностическая чувствительность и специфичность – не менее 99,61% и не менее 99,99% соответственно. Итоговая оценка диагностической эффективности составила не менее 99,5%. **Выводы.** Разработанная тест-система обладает высокими показателями аналитической и диагностической чувствительности и специфичности, а также высокой диагностической эффективностью. Она предназначена для проведения подтверждающих исследований в диагностике краснушной инфекции.

Ключевые слова: краснушная инфекция, вирус краснухи, антитела класса М, иммунный блоттинг

Конфликт интересов не заявлен.

Прозрачность исследования. Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Для цитирования: Марданлы С. Г., Авдонина А. С. Разработка и исследование диагностической эффективности набора реагентов для выявления антител класса М к отдельным антигенам вируса краснухи методом иммунного блоттинга в формате «Western blot». Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2020;19(3):57–63. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-57-63>.

Development and Investigation of Diagnostic Efficiency of a Test Kit for the Detection of IgM-antibodies to Individual Antigens of Rubella Virus by Immunoblotting (Western Blot)

SG Mardanly^{1, 2}, AS Avdonina^{*2}

¹ State University of Humanities and Technology, Orekhovo-Zuevo, Russia

² Closed Joint Stock Company «EKOlab», Elektostal, Russia

Abstract

Relevance. During serological diagnosis of rubella by enzyme immunoassay (detecting IgM), it is possible to obtain an indefinite or false-positive result. In this case, is needed an additional confirmatory test. It can be carried out by immune blotting, which allows detecting antibodies to specific rubella antigens. To date, in the Russian Federation, there is no such kit of reagents, which makes its

* Для переписки: Александра Сергеевна Авдонина, начальник отдела перспективных разработок ЗАО «ЭКОлаб». +7(49643)3-13-74, 3-17-45, 3-35-29, ekolab-avdonina@mail.ru. ©Авдонина А. С. и др.

** For correspondence: Avdonina Alexandra Sergeevna, Head of Advanced Development Department of Closed Joint Stock Company «EKOlab». +7(49643)3-13-74, 3-17-45, 3-35-29, ekolab-avdonina@mail.ru. ©Avdonina AS et al.

development quite actual. **Aim.** The aim of this research was the development of a Russian test kit for detecting IgM-antibodies to individual rubella virus antigens by immune blotting (Western blot format). **Materials and methods.** Production of immunosorbent for a new test kit included electrophoresis of the native rubella virus lysate in a polyacrylamide gel to separate proteins by molecular weight and transfer (blotting) of separated proteins onto a nitrocellulose membrane. Investigation of sensitivity and specificity of the new test kit was carried with standard panels of serums containing and not containing IgM to the rubella virus, and with clinical samples characterized by the ELISA method. **Results and its discussion.** As a result of this work, was designed a Russian test kit that allowed detection IgM-antibodies to individual rubella virus antigens by immune blotting. This test kit has analytical sensitivity and specificity – 100%, diagnostic sensitivity – at least 99.61% and diagnostic specificity – and at least 99-99%. The diagnostic efficiency is not less than 99.5%. **Conclusion.** The developed test kit has high rates of analytical and diagnostic sensitivity and specificity, as well as high diagnostic efficiency. It is intended for confirmatory research in the diagnosis of rubella infection.

Keywords: Rubella, Rubella virus, IgM-antibodies, immunoblotting

No conflict of interest to declare.

Study transparency. The study did not have sponsorship. The authors are solely responsible for providing the final version of the manuscript in print.

For citation: Mardanly SG, Avdonina AS. Development and Investigation of Diagnostic Efficiency of a Test Kit for the Detection of IgM-antibodies to Individual Antigens of Rubella Virus by Immunoblotting (Western Blot). *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2020;19(3):57–63. (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-57-63>.

Введение

Значительное сокращение заболеваемости краснухой во всех странах, в которых регулярно проводится вакцинация, все же в полной мере не снизило медико-социальную значимость данной инфекции. И хотя число зарегистрированных случаев краснушной инфекции стало несопоставимо ниже, чем в довакцинальный период [1], и продолжает снижаться (670 894 случаев в 102 странах в 2000 г. и 22 361 случаев в 165 странах в 2016 г.) [2], проблема врожденной краснухи и ее последствий для плода и новорожденного полностью не решена. В то же время потребность в эффективных методах лабораторной диагностики краснухи даже увеличилась в связи с необходимостью дифференциации поствакцинальных состояний от еще встречающихся случаев первичной краснушной инфекции и реинфекции, в том числе протекающих бессимптомно [3,4].

Классическая схема серологической диагностики первичной краснухи основана на выявлении с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) в сыворотке крови обследуемого вирус-специфических IgM или четырехкратного увеличения титров вирус-специфических IgG [5,6]. Однако положительный результат на IgM не всегда указывает на первичную инфекцию, а может быть обусловлен реинфекцией [7,8] или длительным (до 6 лет и более) сохранением IgM после естественно приобретенной инфекции или вакцинации [9–11]. Наличие длительно сохраняющихся IgM подтверждается в том случае, когда их умеренное или высокое содержание обнаруживается по меньшей мере двумя разными методами в парных образцах сыворотки через несколько лет после первичного выявления [12].

Наличие в сыворотке крови ревматоидного фактора может стать причиной ложноположительного результата, в то время как отсутствие или замедленное появление IgM может привести

к ложноотрицательному результату и исключению первичной инфекции [13]. Кроме того, к специфическому и неспецифическому (потенциально перекрестно реактивному) IgM-ответу может привести инфицирование другими патогенами, такими как вирус Эпштейна-Барр, парвовирус человека B19 или случайная поликлональная стимуляция В-клеток [14–16].

В этой связи правильная трактовка положительных IgM-ответов, позволяющая дифференцировать раннюю стадию краснушной инфекции и длительное присутствие IgM, а также исключать ложноположительные результаты, становится на сегодняшний день одной из наиболее значимых проблем в серологической диагностике краснухи.

Для этой цели наиболее эффективно применение иммунного блоттинга (ИБ), позволяющего проводить исследование на наличие антител (в том числе и IgM) к отдельным антигенам возбудителя [17–22].

Однако в настоящее время в Российской Федерации нет ни одной доступной тест-системы, предназначенной для диагностики краснушной инфекции методом ИБ и позволяющей выявлять IgM к отдельным антигенам вируса краснухи, что делает безусловно актуальной задачу ее разработки и внедрения в практику отечественного здравоохранения.

Цель данной работы – разработка и оценка диагностической эффективности иммуноферментной тест-системы (на основе нативного лизата вируса краснухи) для выявления антител класса М к отдельным антигенам вируса краснухи методом иммунного блоттинга в формате «Western blot».

Материалы и методы

Для получения иммуносорбента использовали лизат вируса краснухи фирмы «Biokit» (Испания). В качестве твердой фазы при изготовлении иммуносорбента была применена нитроцеллюлозная мембрана фирмы «Sartorius» (Германия).

При получении иммуносорбента реализовывались следующие методы:

1. Вертикальный электрофорез лизата вируса краснухи в полиакриламидном геле (ПААГ) в присутствии додецилсульфата натрия (ДСН-электрофорез, денатурирующие условия по Laemmli U.K. [23]) и β-меркаптоэтанола (восстановленные условия), приводящий к разделению белков (антигенов) по молекулярному весу.

2. Электроперенос разделенных антигенов лизата вируса краснухи из геля на нитроцеллюлозную мембрану (блоттинг).

3. Выявление нанесенных на мембрану антигенов с помощью иммунного блоттинга с последующей визуальной оценкой результатов исследования.

Для детекции вирус-специфических IgM, связавшихся с антигенами иммуносорбента, использовали козы антитела против IgM человека, конъюгированные со щелочной фосфатазой, фирмы «Jakson» (США). Для индикации реакции использовали окрашивающий раствор фирмы «Kem-En-Tec» (Дания), содержащий 5-бром-1-хлор-3-индолилфосфат и нитроголубой тетразолий.

В качестве референсного материала при оценке диагностической чувствительности разработанной тест-системы были исследованы сыворотки стандартной панели положительных образцов предприятия ЗАО «ЭКОлаб», содержащих IgM к отдельным антигенам вируса краснухи (СОП⁺-Краснуха-М – 12 образцов). В качестве референсного материала при оценке диагностической специфичности разработанной тест-системы были исследованы сыворотки стандартной панели отрицательных образцов предприятия ЗАО «ЭКОлаб», не содержащих антитела к вирусу краснухи (СОП⁻-Краснуха – 12 образцов). Образцы данных панелей изготавливали из сывороток, полученных в коммерческой лаборатории «ИНВИТРО» (г. Москва) и предварительно исследованных на наличие или отсутствие IgM к вирусу краснухи в тест-системах «ИФА-Краснуха-IgM» и «Лайн-Блот TORCH-профиль-IgM» [24] фирмы ЗАО «ЭКОлаб» (Россия). Дополнительным критерием отбора сывороток явилось отсутствие в них антител к возбудителю сифилиса – *Treponema pallidum*, вирусам иммунодефицита человека 1 и 2 типов (ВИЧ-1,2), гепатитов В и С, а также антигенов p24 ВИЧ-1 и HBsAg по результатам скринингового исследования в ИФА.

В качестве клинического материала при оценке диагностической чувствительности и специфичности разработанной тест-системы были использованы сыворотки, полученные из Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва), а также из диагностического центра «ElClinic» (г. Электрогорск, Московская область). Сыворотки были предварительно протестированы на наличие IgM к вирусу краснухи с помощью тест-системы «ИФА-Краснуха-IgM» фирмы ЗАО «ЭКОлаб» (Россия).

Расчет показателей диагностической чувствительности, специфичности и эффективности, а

также статистическая обработка полученных результатов выполнены в соответствии с рекомендациями по анализу и статистической оценке результатов клинико-лабораторных исследований [25,26].

Статистическую достоверность результатов испытаний определяли по формуле:

$$D\% = (1 - C/100)^{(1/n)} * 100\%,$$

где D% – статистическая достоверность результатов испытаний, выраженная в процентах;

C – доверительная вероятность;

n – число исследованных проб [25].

Расчеты проводили для доверительной вероятности 95% (p = 0,05).

Для разработки новой тест-системы потребовалось решение следующих задач:

- определение оптимального количества лизата вируса краснухи для нанесения на поверхность ПААГ;
- подбор условий электрофореза и электропереноса белков на нитроцеллюлозную мембрану;
- определение условий последующей обработки мембраны;
- оптимизация состава остальных компонентов тест-системы (буферные растворы для промывания стрипов и разведения сывороток, конъюгат и окрашивающий раствор);
- подбор оптимальных условий проведения анализа (разведение образца, время инкубаций).

Результаты и их обсуждение

В вирусе краснухи выделены три иммунологически значимых антигена – капсидный (С-белок) и два поверхностных гликопротеина оболочки (Е1 и Е2) [27,28].

Антиген С – негликозилированный белок, молекулярная масса которого зависит от условий электрофореза: при электрофорезе в восстановленных условиях (в присутствии β-меркаптоэтанола) она составляет 33 килодальтон (кДа), а в невосстановленных условиях выделяется его димер с молекулярной массой около 66 кДа [20].

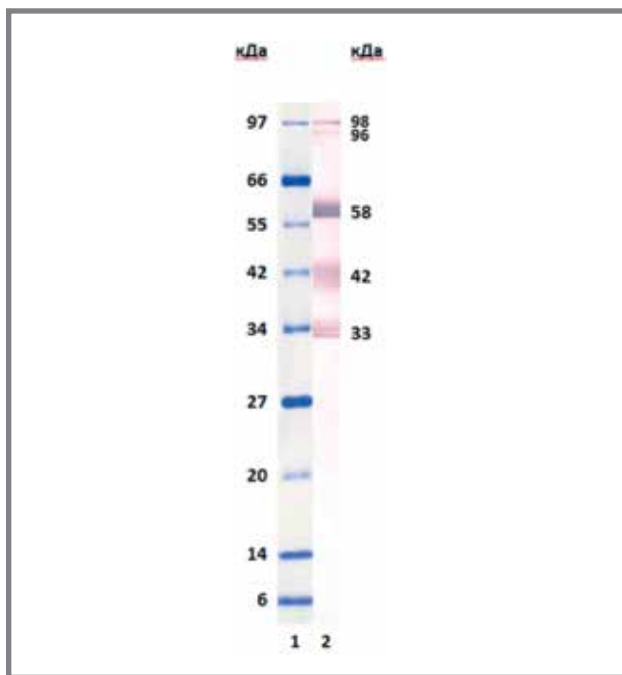
Молекулярная масса Е1 – 58 кДа и Е2 – 42–48 кДа [29].

Электрофоретический анализ антигенного состава лизата вируса краснухи показал наличие в нем всех основных высокоспецифичных антигенов: димера поверхностных гликопротеинов Е1 и Е2 (молекулярная масса 96–98 кДа), поверхностного гликопротеина Е1 (58 кДа), поверхностного гликопротеина Е2 (42 кДа) и мономера капсидного белка С вируса (33 кДа). Результаты данного исследования представлены на рисунке 1.

В ходе испытаний было установлено, что для более четкого электрофоретического разделения белков по молекулярному весу необходимо использование двухфазного ПААГ с концентрацией акриламида 11,5% в нижней фазе и 4% в верхней фазе.

На втором этапе были подобраны оптимальные составы реагентов для проведения анализа

Рисунок 1. Результаты электрофоретического анализа антигенного состава лизата вируса краснухи
Figure 1. Results of electrophoretic analysis of the antigenic composition of rubella virus lysate



Примечание: 1 – белковый маркер молекулярного веса; 2 – результат ИБ мембраны с нанесенными антигенами лизата вируса краснухи при исследовании положительной сыворотки.

Note: 1 – protein marker of molecular weight; 2 – the result of study of positive serum by immune blotting on membrane coated with rubella virus lysate antigens.

(раствор для разведения сывороток, промывочный раствор, конъюгат) и отработана схема постановки ИБ. Были определены оптимальное разведение исследуемого образца, время инкубации стрипов иммуносорбента с сывороткой, конъюгатом и окрашивающим раствором.

Итогом разработки явилась тест-система «ИФА-Блот-Краснуха-IgM» следующего состава:

1. Иммуносорбент – полоски (стрипы) из нитроцеллюлозной мембраны с сорбированными на них методом электропереноса отдельными антигенами вируса краснухи: gp 98 – gp 96 (димер гликопротеинов E1-E2), gp 58 (гликопротеин E1), gp 42 (гликопротеин E2), p 33 (С-белок);

в виде контрольной линии нанесены антитела против IgM человека.

2. Конъюгат – козьи антитела против IgM человека, конъюгированные со щелочной фосфатазой.
3. Окрашивающий раствор – 5-бром-4-хлор-3-индолилфосфат и нитроголубой тетразолий.
4. 5-кратный концентрат промывочного раствора [ПР(x5)].
5. Раствор для разведения сывороток (PPC).
6. Референс-стрип (или его фотография) – стрип с проявленным белковым профилем антигенов вируса краснухи: gp 98 – gp 96 (димер гликопротеинов E1-E2), gp 58 (гликопротеин E1), gp 42 (гликопротеин E2), p 33 (С-белок).

Результаты теста оцениваются визуально, интерпретация результатов для каждого исследованного образца осуществляется в зависимости от того, к каким антигенам были выявлены антитела (табл. 1).

Диагностическая чувствительность и эффективность разработанной тест-системы были предварительно оценены на сыворотках стандартных панелей положительных и отрицательных образцов. Результаты данного исследования приведены в таблице 2.

Результаты, приведенные в таблице 2, показывают полное совпадение оценок сывороток панелей, полученных в исследовании, с их исходными характеристиками, при этом показатели диагностической чувствительности и специфичности составили 85–100% с доверительной вероятностью 95%.

Более обстоятельная оценка диагностической эффективности разработанной тест-системы была проведена при исследовании 1000 образцов клинического материала, в 16 из которых предварительное исследование в скрининговой тест-системе «ИФА-Краснуха-IgM» фирмы ЗАО «ЭКОлаб» показало наличие IgM, в 980 образцах – их отсутствие, и 4 образца были признаны неопределенными по наличию IgM (оптическая плотность в ИФА в пределах «серой зоны»).

Результаты исследования в разработанной тест-системе сывороток, содержащих и не содержащих IgM к вирусу краснухи, приведены в таблице 3.

Полученные результаты с доверительной вероятностью 95% дают диагностическую чувствительность,

Таблица 1. Интерпретация результатов ИБ в тест-системе «ИФА-Блот-Краснуха-IgM»
Table 1. Interpretation of immunoblot results in the test kit «Blot-Rubella-IgM»

Наличие IgM к антигенам вируса краснухи The presence of IgM to rubella virus antigens	Обозначение Designation	Результат Result
Выявлены антитела хотя бы к одному из гликопротеинов Antibodies to at least one of the glycoproteins were detected	+	Положительный Positive
Не выявлены антитела ни к одному из антигенов Antibodies to none of antigens not detected	–	Отрицательный Negative
Выявлены антитела к антигену p33 при отсутствии антител к гликопротеинам Antibodies to p33 antigen were detected in the absence of antibodies to glycoproteins	+/-	Неопределенный Indeterminate

Таблица 2. Результаты исследования сывороток стандартных панелей в тест-системе «ИФА-Блот-Краснуха-IgM»
Table 2. Test results for serums of standard panel in the test kit «Blot-Rubella-IgM»

Панель Panel	№ образца sample number	Результаты исследования в тест-системе Test results in a test kit		
		«ИФА-Краснуха-IgM», ИП* «ELISA-Rubella-IgM», IP	«ИФА-Блот-Краснуха-IgM» «Blot-Rubella-IgM»	
			наличие антител к антигенам the presence of antibodies to antigens	Оценка diagnosis
Положительных образцов Positive samples	1	1,43	E1, C	положительный positive
	2	1,16	E1, C	положительный positive
	3	1,56	E1, C	положительный positive
	4	2,0	E1, C	положительный positive
	5	3,5	E1, C	положительный positive
	6	1,31	E1, C	положительный positive
	7	2,42	E1, C	положительный positive
	8	1,77	E1, E2, C	положительный positive
	9	1,31	E1, C	положительный positive
	10	1,22	E1, C	положительный positive
	11	1,24	E1, E2, C	положительный positive
	12	1,48	E1, C	положительный positive
Отрицательных образцов / Negative samples	1	0,391	–	отрицательный negative
	2	0,469	–	отрицательный negative
	3	0,359	–	отрицательный negative
	4	0,409	–	отрицательный negative
	5	0,394	–	отрицательный negative
	6	0,372	–	отрицательный negative
	7	0,425	–	отрицательный negative
	8	0,441	–	отрицательный negative
	9	0,413	–	отрицательный negative
	10	0,403	–	отрицательный negative
	11	0,416	–	отрицательный negative
	12	0,438	–	отрицательный negative

Примечание: *ИП – индекс позитивности (отношение оптической плотности в лунках с исследуемыми образцами к критической оптической плотности).

Note: *IP – index of positivity (ratio of optical density in wells with test samples to critical optical density).

Таблица 3. Результаты исследования образцов клинического материала в тест-системе «ИФА-Блот-Краснуха-IgM»
Table 3. Test results for people samples in the test kit «Blot-Rubella-IgM»

Группа образцов Group of samples	Число исследованных образцов The number of samples studied	Результаты исследования в ИБ Immunoblot study results	
		Положительный Positive	Отрицательный Negative
Сыворотки, содержащие IgM к вирусу краснухи Serums containing IgM to rubella virus	16	16	0
Сыворотки, не содержащие IgM к вирусу краснухи Serums not containing IgM to rubella virus	980	0	980

не менее 99,61%, а диагностическую специфичность – не менее 99,99%.

Во всех 4 сыворотках, признанных в ИФА неопределенными по содержанию IgM к вирусу краснухи, в ИБ были выявлены антитела к антигенам E1 и C, не выявлены антитела к антигену E2 и получен сомнительный результат по антителам к димеру E1–E2, что позволило оценить все эти образцы как положительные.

Итоговая оценка диагностической эффективности разработанной тест-системы с доверительной вероятностью 95% дает значение 99,5–100%.

Заключение

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что разработанная тест-система «ИФА-Блот-Краснуха-IgM», предназначенная для выявления антител класса М к отдельным антигенам вируса краснухи методом иммунного блоттинга в формате «Western blot», имеет высокие показатели диагностической чувствительности и специфичности, демонстрирует высокую диагностическую эффективность.

Разработанная тест-система может быть использована для проведения подтверждающих исследований в диагностике краснушной инфекции.

Литература

1. Ноздрачева А. В., Семененко Т. А., Марданлы С. Г. и др. Оценка напряженности гуморального иммунитета к кори и краснухе у беременных женщин в Москве. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2017. № 3. – С. 91–98.
2. Краснуха. Информационный бюллетень ВОЗ. Октябрь 2019 г. Доступно на: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/rubella>. Ссылка активна на 05.06.2020.
3. Марданлы С. Г. Эпидемиологический надзор за инфекциями TORCH-группы на основе современных технологий лабораторной диагностики: Дисс. ... д-ра мед. наук. – Москва, 2016.
4. Марданлы С. Г., Симонова Е. Г., Симонов В. В. Инфекции TORCH-группы: клиническая лабораторная диагностика, эпидемиологический надзор и контроль. – Орехово-Зуево: Издательство ГТТУ; 2018.
5. Best J.M., O'Shea S., Tipples G., et al. Interpretation of rubella serology in pregnancy – pitfalls and problems. // BMJ. 2002. Vol. 325. P. 147–148.
6. Dwyer D.E., Robertson P.W., Fields P.R. Broadsheet: clinical and laboratory features of rubella. // Pathology. 2001. Vol. 33. P. 322–328.
7. Aboudy Y., Barnea B., Yosef L., et al. Clinical rubella re-infection during pregnancy in a previously vaccinated woman. // J. Infect. 2000. Vol. 41. P. 187–189.
8. Morgan-Capner P., Hodgson J., Hambling M.H., et al. Detection of rubella-specific IgM in subclinical rubella reinfection in pregnancy. // Lancet. 1985. Vol. 1. P. 244–246.
9. Al-Nakib W., Best J.M., Banatvala J.E. Rubella-specific serum and nasopharyngeal immunoglobulin responses following naturally acquired and vaccine-induced infection. Prolonged persistence of virus-specific IgM. // Lancet. 1975. Vol. 1. P. 182–185.
10. Banatvala J.E., Best J.M., O'Shea S., et al. Persistence of rubella antibodies after vaccination: detection after experimental challenge. // Rev. Infect. Dis. 1985. Vol. 1, № 7. P. 86–90.
11. Pattison J.R. Persistence of specific IgM after natural infection with rubella virus. // Lancet. 1975. Vol. 1. P. 185–187.
12. Wandinger K-P, Saschenbrecker S., Steinhagen K., et al. Diagnosis of recent primary rubella virus infections: Significance of glycoprotein-based IgM serology, IgG avidity and immunoblot analysis. // Journal of Virological Methods. 2011. Vol. 174, № 1–2. P. 85–93.
13. Meurman O.H., Ziola B.R. IgM-class rheumatoid factor interference in the solid-phase radioimmunoassay of rubella-specific IgM antibodies. // J. Clin. Pathol. 1978. Vol. 31. P. 483–487.
14. Morgan-Capner P., Tedder R.S., Mace J.E. Rubella-specific IgM reactivity in sera from cases of infectious mononucleosis. // J. Hyg. (Lond). 1983. Vol. 90. P. 407–413.
15. Thomas H.J., Barrett E., et al. Simultaneous IgM reactivity by EIA against more than one virus in measles, parvovirus B19 and rubella infection. // J. Clin. Virol. 1999. Vol. 14. P. 107–118.
16. Tipples G.A., Hamkar R., Mohktari-Azad T., et al. Evaluation of rubella IgM enzyme immunoassays. // J. Clin. Virol. 2004. Vol. 30. P. 233–238.
17. Chaye H.A.H., Mauracher Ch.A., Tingle A.J., et al. Cellular and Humoral Immune Responses to Rubella Virus Structural Proteins E1, E2, and C. // Journal of Clinical Microbiology. 1992. Vol. 30. P. 2323–2329.
18. Cusi M.G., Metelli R., Valensin P.E. Immune responses to wild and vaccine rubella viruses af65 ter rubella vaccination. // Arch. Virol. 1989. Vol. 106. P. 63–72.
19. Dimech W., Grangeot-Keros L., Vauloup-Fellous Ch. Standardization of Assays That Detect Anti-Rubella Virus IgG Antibodies. // Clinical Microbiology Reviews. 2016. Vol. 29, № 1. P. 163–174.
20. Mauracher C.A., Mitchell L.A., Shukin R., et al. pH-dependent solubility shift of rubella virus capsid protein. // Virology. 1991. Vol. 181. P. 773–777.
21. Nedeljkovic J., Jovanovic T., Mladjenovic S., et al. Immunoblot analysis of natural and vaccine-induced IgG responses to rubella virus proteins expressed in insect cells. // J. Clin. Virology. 1999. Vol. 14, № 2. P. 119–131.
22. Serdula M.K., Halstead S.B., Wiegenga N.H., et al. Serological response to rubella revaccination. // JAMA. 1984. Vol. 251. P. 1974–1977.
23. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. // Nature. 1970. Vol. 227. P. 680–685.
24. Арсеньева В.А., Амелина Е.А., Марданлы С.Г. и др. Линейный иммуноблоттинг для одновременного выявления антител к основным возбудителям инфекций TORCH-группы. // Медицинский алфавит. 2017. Т. 2, №20(317). С. 43–48.
25. Антонов В.С. Вопросы статистической оценки результатов клинических испытаний медицинских изделий для in vitro диагностики. Доступно на: <https://docplayer.ru/118768-Voprosy-statisticheskoy-ocenki-rezultatov-klinicheskikh-ispytaniy-meditsinskih-izdeliy-dlya-in-vitro-diagnostiki-antonov-v-s-zamestitel-generalno-go.html>. Ссылка активна на 05.06.2020.
26. Чернов В.И., Есауленко И.Э., Родионов О.В. и др. Медицинская информатика: учеб. пособие. – Ростов н/Д: Феникс; 2007.
27. Dorsett P.H., Miller D.C., Green K.Y., et al. Structure and function of the rubella virus proteins. // Rev. Infect. Dis. 1985. Vol. 7. P. 150–156.
28. Petterson R.F., Oker-Blom C., Kalkkinen N., et al. Molecular and antigenic characteristics and synthesis of rubella virus structural proteins. // Rev. Infect. Dis. 1985. Vol. 7. P. 140–149.
29. Oker-Blom C., Kalkkinen N., Kääriäinen L., et al. Rubella virus contains one capsid protein and three envelope glycoproteins, E1, E2a and E2b. // J. Virol. 1983. Vol. 46. P. 964–973.

References

- Nozdracheva AV, Semenenko TA, Mardany SG, et al. Evaluation of intensity of humoral immunity to measles and rubella in pregnant women in Moscow. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2017;3:91–98. (In Russ). doi:10.36233/0372-9311-2017-3-91-98.
- Rubella. WHO Newsletter. October 2019. Available at: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/rubella>. Accessed: 05.06.2020.
- Mardany SG. *Epidemiologicheskii nadzor za infektsiyami TORCH-gruppy na osnove sovremennykh tekhnologiy laboratornoy diagnostiki* [dissertation]. Moscow; 2016. (In Russ).
- Mardany SG, Simonova YeG, Simonov VV. *Infektsii ToRCH-gruppy: klinicheskaya laboratornaya diagnostika, epidemiologicheskii nadzor i kontrol'*. Orekhovo-Zuyevo: Izdatel'stvo GGTU; 2018. (In Russ).
- Best JM, O'Shea S, Tipples G, et al. Interpretation of rubella serology in pregnancy – pitfalls and problems. *BMJ*. 2002;325:147–148. doi: 10.1136/bmj.325.7356.147.
- Dwyer DE, Robertson PW, Fields PR. Broadsheet: clinical and laboratory features of rubella. *Pathology*. 2001;33:322–8. doi: 10.1080/00313020126300.
- Aboudy Y, Barnea B, Yosef L, et al. Clinical rubella reinfection during pregnancy in a previously vaccinated woman. *J. Infect.* 2000;41:187–9. doi: 10.1053/jinf.2000.0716.
- Morgan-Capner P, Hodgson J, Hambling MH, et al. Detection of rubella-specific IgM in subclinical rubella reinfection in pregnancy. *Lancet*. 1985;1:244–6. doi: 10.1097/00006254-198509000-00006.
- Al-Nakib W, Best JM, Banatvala JE. Rubella-specific serum and nasopharyngeal immunoglobulin responses following naturally acquired and vaccine-induced infection. Prolonged persistence of virus-specific IgM. *Lancet*. 1975;1:182–5. doi: 10.1016/s0140-6736(75)91356-2.
- Banatvala JE, Best JM, O'Shea S, et al. Persistence of rubella antibodies after vaccination: detection after experimental challenge. *Rev. Infect. Dis.* 1985;1(7):86–90. doi: 10.1093/clinids/7.supplement_1.s86.
- Pattison JR. Persistence of specific IgM after natural infection with rubella virus. *Lancet*. 1975;1:185–7. doi: 10.1016/s0140-6736(75)91357-4.
- Wandinger K-P, Saschenbrecker S, Steinhagen K, et al. Diagnosis of recent primary rubella virus infections: Significance of glycoprotein-based IgM serology, IgG avidity and immunoblot analysis. *Journal of Virological Methods*. 2011;174(1–2):85–93. doi: 10.1016/j.jviromet.2011.04.001.
- Meurman OH, Ziola BR. IgM-class rheumatoid factor interference in the solid-phase radioimmunoassay of rubella-specific IgM antibodies. *J. Clin. Pathol.* 1978;31:483–7. doi: 10.1136/jcp.31.5.483.
- Morgan-Capner P, Tedder RS, Mace JE. Rubella-specific IgM reactivity in sera from cases of infectious mononucleosis. *J. Hyg. (Lond)*. 1983;90:407–13. doi: 10.1017/s0022172400029041.
- Thomas HJ, Barrett E, Hesketh LM, et al. Simultaneous IgM reactivity by EIA against more than one virus in measles, parvovirus B19 and rubella infection. *J. Clin. Virol.* 1999;14:107–18. doi: 10.1016/s1386-6532(99)00051-7.
- Tipples GA, Hamkar R, Mohktari-Azad T, et al. Evaluation of rubella IgM enzyme immunoassay. *J. Clin. Virol.* 2004;30:233–38. doi: 10.1016/j.jcv.2003.11.006.
- Chaye HAH, Mauracher CA, Tingle AJ, et al. Cellular and Humoral Immune Responses to Rubella Virus Structural Proteins E1, E2, and C. *Journal of Clinical Microbiology*. 1992;30:2323–29. doi: 10.1016/s0016-5085(98)85023-3.
- Cusi MG, Metelli R, Valensin PE. Immune responses to wild and vaccine rubella viruses after rubella vaccination. *Arch. Virol.* 1989;106:63–72. doi: 10.1007/bf01311038.
- Dimech W, Grangeot-Keros L, Vauloup-Fellous Ch. Standardization of Assays That Detect Anti-Rubella Virus IgG Antibodies. *Clinical Microbiology Reviews*. 2016;29(1):163–74. doi: 10.1128/cmr.00045-15.
- Mauracher CA, Mitchell LA, Shukin R, et al. pH-dependent solubility shift of rubella virus capsid protein. *Virology*. 1991;181:773–7. doi: 10.1016/0042-6822(91)90916-y.
- Nedeljkovic J, Jovanovic T, Mladjenovic S, et al. Immunoblot analysis of natural and vaccine-induced IgG responses to rubella virus proteins expressed in insect cells. *J. Clin. Virology*. 1999;14(2):119–31. doi: 10.1016/s1386-6532(99)00048-7.
- Serdula MK, Halstead SB, Wiegenga NH, et al. Serological response to rubella revaccination. *JAMA*. 1984;251:1974–77. doi: 10.1001/jama.251.15.1974.
- Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970;227:680–5. doi: 10.1038/227680a0.
- Arsen'yeva VA, Amelina YeA, Mardany SG, et al. Linear immunoblotting for simultaneous detection of antibodies to main pathogens of TORCH-infection. *Medical alphabet*. 2017;2,20(317):43–48. (In Russ.).
- Antonov VS. Questions of statistical evaluation of the results of clinical trials of medical products for in vitro diagnostics (in Russ.). Available at: <https://docplayer.ru/118768-Voprosy-statisticheskoy-ocenki-rezultatov-klinicheskikh-ispytaniy-medicinskih-izdelyi-dlya-in-vitro-diagnostiki-antonov-v-s-zamestitel-generalnogo.html>. Accessed: 05.06.2020.
- Chernov VI, Yesaulenko IE, Rodionov OV, et al. *Meditsinskaya informatika: Ucheb. Posobiye* [Medical Informatics: Textbook]. Rostov on Don: Phoenix; 2007.
- Dorsett PH, Miller DC, Green KY, et al. Structure and function of the rubella virus proteins. *Rev. Infect. Dis.* 1985;7:150–6. doi: 10.1093/clinids/7.supplement_1.s150.
- Pettersson RF, Oker-Blom C, Kalkkinen N, et al. Molecular and anti-genic characteristics and synthesis of rubella virus structural proteins. *Rev. Infect. Dis.* 1985;7:140–9. doi: 10.1093/clinids/7.supplement_1.s140.
- Oker-Blom C, Kalkkinen N, Kääriäinen L, et al. Rubella virus contains one capsid protein and three envelope glycoproteins, E1, E2a and E2b. *J. Virol.* 1983;46:964–73.

Об авторах

- Сейфаддин Гашимович Марданлы** – д. м. н., профессор кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин Государственного гуманитарно-технологического университета, президент и директор по науке ЗАО «ЭКОлаб». +7(49643) 3-13-74, 3-17-45, 3-35-29, ekolab-president@mail.ru. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4556-135X>.
- Александра Сергеевна Авдонина** – начальник отдела перспективных разработок ЗАО «ЭКОлаб». +7(49643)3-13-74, 3-17-45, 3-35-29, ekolab-avdonina@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2990-4930>.

Поступила: 31.07.2019. Принята к печати: 8.06.2020.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- Seyfaddin G. Mardany** – Dr. Sci. (Med.), Professor of Department of Pharmacology and Pharmaceutical Disciplines at State University of Humanities and Technology; President and Director of science of Closed Joint Stock Company «EKOLab», +7(49643) 3-13-74, 3-17-45, 3-35-29, ekolab-president@mail.ru. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4556-135X>.
- Alexandra S. Avdonina** – Head of Advanced Development Department of Closed Joint Stock Company «EKOLab». +7(49643)3-13-74, 3-17-45, 3-35-29, ekolab-avdonina@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2990-4930>.

Received: 31.07.2019 Accepted: 8.06.2020

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.