

КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

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

РАЗРАБОТКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ КЛАССА G К ВИРУСУ ГЕРПЕСА ЧЕЛОВЕКА 7 ТИПА МЕТОДОМ ИММУННОГО БЛОТТИНГА В ФОРМАТЕ «WESTERN BLOT»

¹ЗАО «ЭКОлаб», 142530, г. Электрогорск Московской обл., Россия;

²ГОУ ВО МО ГГТУ, 142611, г. Орехово-Зуево Московской обл., Россия

Разработан новый оригинальный отечественный набор реагентов для определения иммуноглобулинов класса G к отдельным антигенам вируса герпеса человека 7 типа методом иммунного блоттинга в формате «Western-blot». Проведены предварительные клинические испытания с использованием 134 сывороток здоровых детей в возрасте 1-16 лет, проходивших диагностическое обследование. Исследование диагностической эффективности нового набора показало высокую чувствительность, сопоставимую с чувствительностью реакции непрямой иммунофлуоресценции, а также высокую специфичность, проявляющуюся в отсутствии ложноположительных результатов при исследовании образцов, содержащих иммуноглобулины класса G к вирусу герпеса 6 типа.

Ключевые слова: вирус герпеса человека 7 типа (ВГЧ-7); вирус герпеса человека 6 типа; иммунный блоттинг (ИБ); иммуноферментный анализ (ИФА); иммуноглобулины класса G (IgG).

Для цитирования: Марданлы С.Г., Авдонина А.С., Помазанов В.В. Разработка набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу герпеса человека 7 типа методом иммунного блоттинга в формате «Western blot». Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65 (6): 362-367. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-6-362-367>

Mardanly S.G.^{1,2}, Avdonina A.S.¹, Pomazanov V.V.²

DEVELOPMENT OF A SET OF REAGENTS FOR DETECTION OF CLASS G IMMUNOGLOBULINS TO THE HUMAN HERPES VIRUS TYPE 7 BY THE METHOD OF IMMUNE BLOTTING IN THE FORMAT «WESTERN BLOT»

¹The closed corporation «ECOLab», 142530, Elektrogorsk, Moscow oblast', Russia;

²The state educational institution of higher education «The state humanitarian technological university», 142611 Orekhovo-Zuyevo, Moscow oblast', Russia

A new original domestic set of reagents has been developed for the determination of class G immunoglobulins to individual human herpes virus antigens of type 7 by the method of immune blotting in the "Western-blot" format. Preliminary clinical trials were conducted using 134 serums of healthy children aged 1-16 years who underwent diagnostic testing. Study of diagnostic efficiency of the new kit showed high sensitivity, comparable to the sensitivity of the reaction indirect immunofluorescence and high specificity, which is manifested in the absence of false positive results when testing samples containing immunoglobulin G to herpes virus 6 type.

Key words: human herpes virus type 7 (HCV-7), human herpes virus type 6, immune blotting (IB), enzyme immunoassay (ELISA), g-class immunoglobulins (IgG).

For citation: Mardanly S.G., Avdonina A.S., Pomazanov V.V. Development of a set of reagents for detection of class G immunoglobulins to human herpes virus type 7 by the method of immune blotting in the format «Western blot». Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2020; 65 (6): 362-367 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-6-362-367>

For correspondence: Mardanly S.G., doctor of medical sciences, academician of the Russian academy of medical technical sciences, professor of the chair of pharmacology and pharmaceutical disciplines; e-mail: ekolab-president@mail.ru

Information about authors:

Mardanly S.G., <https://orcid.org/0000-0002-4556-135X>

Avdonina A.S., <https://orcid.org/0000-0002-2990-4930>

Pomazanov V.V., <https://orcid.org/0000-0002-7336-9912>

Acknowledgments. The study had no sponsor support.

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

Received 18.03.2020
Accepted 29.03.2020

Введение. Вирус герпеса человека 7 типа (ВГЧ-7), или Human Herpes Virus Type 7 (HHV-7) – Т-лимфотропный вирус, относящийся к семейству герпесвирусов (Herpesviridae), подсемейству беттагерпесвирусов (Betaherpesvirinae), роду Roseolovirus, был выделен из CD4⁺

Т-лимфоцитов периферической крови здорового взрослого человека в 1990 г. [1, 2]. Геном ВГЧ-7 во многом гомологичен геному ВГЧ-6.

ВГЧ-7 широко распространен в человеческой популяции, по разным оценкам им заражено от 60 до 95 %

Для корреспонденции: Марданлы С.Г., д-р мед. наук, проф. каф. фармакологии и фармацевтических дисциплин; e-mail: ekolab-president@mail.ru

населения, при чем периодом наибольшего риска инфицирования являются дети в возрасте 2-3 лет [3- 5]. Вероятными путями заражения являются воздушно-капельный, через слюну матери и грудное молоко, а также через кровь и ее компоненты при их переливании [3, 6, 7].

ВГЧ-7-инфекция во многом сходна с ВГЧ-6-инфекцией и чаще всего протекает бессимптомно. Ее манифестными формами являются синдром хронической усталости, внезапная экзантема, лимфопролиферативные заболевания. ВГЧ-7-инфекция нередко сочетается с другими герпесвирусными инфекциями, у лиц с иммунодефицитами различного происхождения может вызывать тяжелые системные поражения [8 - 11].

Диагностика ВГЧ-7-инфекции крайне важна при необходимости определения этиологии сыпи у детей, при обследовании лиц с иммунодефицитами различного происхождения, при обследовании доноров и реципиентов органов и тканей в трансплантологии, в эпидемиологических исследованиях для оценки фактического распространения инфекции [12]. С этой целью могут быть использованы различные лабораторные методы исследования, но наиболее перспективным из них, с точки зрения диагностической эффективности и практической реализуемости в обычных КДЛ, следует считать выявление вирус-специфических IgG и IgM к отдельным антигенам возбудителя методом иммунного блоттинга (ИБ) [13, 14].

ВГЧ-7 потенциально кодирует как минимум 84 разных белка (антигена). К ним относятся регуляторные и структурные белки, белки, необходимые для репликации ДНК и нуклеотидного обмена, а также белки, ответственные за сборку вирионов. К белкам, которые экспрессируются в инфицированных лимфоцитах и являются иммуногенными при исследовании сыворотки крови взрослого человека, относятся белки с молекулярными массами (Mr) от 30 до 136 килоДальтон (кДа) [15, 16].

Из 84 разных белков, кодируемых геномом ВГЧ-7, наиболее иммунологически значимы белки с молекулярной массой 110 кДа (p110), 91 кДа (p91), 85 кДа (pp85), 80 кДа (gp80), 52 кДа (p52), 40 кДа (p40) и 34 кДа (p34). Причем белки p91, pp85, p52 считаются высокоспецифичными для ВГЧ-7, остальные специфичны для него, но p40 и p34 перекрестно реагируют с антителами к ВГЧ-6 [14, 16-18].

Поскольку в настоящее время в Российской Федерации нет не только отечественных, но и зарегистрированных импортных тест-систем для серологической диагностики ВГЧ-7-инфекции методом ИБ, актуальность их разработки очевидна.

Целью данной работы стала разработка набора реагентов, предназначенного для выявления IgG к ВГЧ-7 методом иммунного блоттинга в формате «Western blot», и оценка его диагностической эффективности.

Материал и методы. В работе были использованы следующие материалы:

- нативный лизат ВГЧ-7 штамма SB фирмы «Zerto Metrix» (США) и белковый маркер молекулярной массы фирмы «Bio-Rad» (США);
- нитроцеллюлозная мембрана с диаметром пор 0,45 мкм ф. «Sartorius» (Германия);
- акриламид ф. «Appli Chem» (Германия);
- бисакриламид ф. «Appli Chem» (Германия);
- конъюгат – козы антитела против IgG человека, меченные щелочной фосфатазой фирмы «Jakson ImmunoResearch» (США);

- субстратный раствор, содержащий 5-бром-1-хлор-3-индолилфосфат и нитроголубой тетразолий фирмы «Kem-En-Tec» (Дания);

- трис-солевой буферный раствор.

Электрофорез лизата и белкового маркера проводили в денатурирующих условиях по методу U.K.Laemmli [19].

Электроперенос полученных при электрофорезе фракций проводили с использованием оборудования фирмы «Hoefer Scientific» (США).

В качестве клинического материала были использованы сыворотки клинически здоровых детей в возрасте от 1 года до 16 лет, полученные из диагностического центра «El Clinic» (г. Электрогорск) в количестве 134 образцов. Эти образцы были исследованы на наличие IgG к ВГЧ-7 с использованием набора для реакции непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ) «Human Herpes Virus 7 IgG IFA Kit» фирмы «SCIMEDX Corporation» (США) и на наличие IgG к ВГЧ-6 с использованием иммуноферментной тест-системы «ИФА-ВГЧ-6-IgG» фирмы ЗАО «ЭКОлаб» (РУ № РЗН 2020/9555 от 21.01.2020 г.) [20].

Результаты и обсуждение. Перечень задач, из решения которых и слагалась разработка нового набора, был определен нами еще при разработке аналогичных наборов для выявления антител к отдельным антигенам возбудителей инфекций TORCH-группы и других герпесвирусных инфекций [21-28]. Он включал отработку оптимального режима приготовления иммуносорбента (подбор условий электрофореза вирусного лизата и электропереноса полученных фракций белков на нитроцеллюлозную мембрану, блокирования на мембране сайтов неспецифического связывания белков), оптимальных параметров постановки анализа и учета его результатов, выбор рациональной комплектации набора и оценку чувствительности и специфичности полученной тест-системы.

При этом в качестве оптимальных условий получения иммуносорбента были выбраны:

- загрузка лизата ВГЧ-7 на поверхность градиентного ПААГ, полученного смешением 17% и 4% растворов акриламида и бисакриламида, из расчета 1 мкг на 1 мм²;
- продолжительность электрофореза белков в ПААГ – 4,5 ч при 7 °С и меняющемся напряжении (250 В в начале процесса, 150 В – через 1 ч от начала процесса и 100 В – через 2 ч от начала процесса);
- продолжительность электропереноса белков из ПААГ на нитроцеллюлозную мембрану – 3 ч при 15 °С и напряжении 100 В;
- блокирование мембран с нанесенными белками в течение 15 мин в трис-солевом буферном растворе.

На рисунке (см. обложку) приведен антигенный состав использованного вирусного лизата в сравнении с данными электрофоретического разделения белкового маркера молекулярной массы.

В качестве оптимальных условий проведения анализа были выбраны следующие:

- разведение образца 1:100;
- инкубация стрипов иммуносорбента с образцом в течение 2 часов при комнатной температуре на шейкере-качалке;
- 3 промывки по 5 мин;
- инкубация с конъюгатом в течение 1 ч при комнатной температуре на шейкере-качалке;
- 3 промывки по 5 мин;
- инкубация с субстратным раствором в темноте при комнатной температуре на шейкере-качалке;
- остановка реакции водой очищенной.

Наиболее рациональной комплектацией набора была признана следующая:

1. Иммуносорбент — 24 полоски (стрипа) из нитроцеллюлозной мембраны с нанесенными на них методом электропереноса фракциями белков ВГЧ-7 (анти-

гены p110, p91, pp85, gp80, p52, p40, p34) и контрольной линией, представленной козьими антителами против IgG человека.

2. Конъюгат — козы антитела против IgG человека, меченные щелочной фосфатазой.

3. Окрашивающий раствор — 5-бром-4-хлор-3-индолилфосфат и нитроголубой тетразолий.

4. 10-кратный концентрат трис-солевого буфера [ТСБ(x10)].

5. Фотография референс-стрипа с проявленным белковым профилем антигенов ВГЧ-7 (p110, p91, pp85, gp80, p52, p40, p34).

При этом для интерпретации результатов иммуно-блоттинга в соответствии с принятыми по данным литературы оценками специфичности отдельных антигенов ВГЧ-7 должны использоваться следующие правила:

– положительный результат (+) – наличие хотя бы одной ярко окрашенной полосы, соответствующей антигенам p91, pp80 и p52;

– отрицательный результат (-) – отсутствие любых окрашенных полос или окрашивание полос, соответствующих антигенам p40 и p34;

Таблица 1

Результаты исследования возрастных групп детей в РНИФ

Возраст детей, годы	Число детей в группе	Результат исследования в РНИФ	
		положительный	отрицательный
1-2	23	19	4
3-4	20	19	1
5-6	23	19	4
7-8	15	10	5
9-10	11	7	4
11-12	16	12	4
13-14	11	9	2
15-16	15	13	2
Итого	134	108	26

Таблица 2

Спектры антител к антигенам ВГЧ-7 в образцах, положительных по результатам РНИФ и отрицательных по результатам ИФА в ИФТС «ИФА-ВГЧ-6-IgG»

№ п/п	Наличие антител к антигенам ВГЧ-7						
	p91	pp85	p52	p110	gp80	p40	p34
	высокоспецифичные			гомологичные с ВГЧ-6			
1.	-	+	+	-	+	-	-
2.	-	+	-	-	+	+	-
3.	-	+	-	-	-	+	-
4.	-	+	-	-	-	-	-
5.	+	+	-	+	-	+	+
6.	-	+	+	-	+	+	-
7.	-	+	+	-	-	+	-
8.	-	+	+	-	+	+	-
9.	-	+	-	-	+	-	-
10.	-	+	-	-	-	-	-
11.	-	+	+	-	-	-	-
12.	-	+	+	-	+	-	-
13.	+	+	+	-	+	+	-
14.	-	+	-	+	-	-	-
14.	-	+	-	-	-	-	-
16.	-	+	-	-	-	-	-
17.	+	+	+	-	+	+	+
18.	-	+	+	-	-	+	+
19.	-	+	+	-	-	+	+
20.	+	+	+	-	-	+	-
21.	-	+	+	-	-	+	+
22.	-	+	+	-	+	-	-
23.	-	+	+	-	+	-	-
24.	-	+	+	-	-	-	-
25.	-	+	+	-	+	+	+
26.	+	+	-	-	-	+	+
27.	-	+	-	-	-	-	-
28.	-	+	+	-	+	+	-
29.	-	+	-	-	+	-	+
30.	-	+	+	+	+	+	+
31.	-	+	-	-	+	-	-
32.	-	+	+	-	-	+	+
33.	-	+	-	-	+	-	-
34.	-	+	-	-	-	+	-
35.	-	+	-	-	-	-	-
36.	-	+	-	-	-	-	-
37.	-	+	+	-	-	+	-
38.	-	+	+	-	+	+	-
39.	-	-	-	+	-	-	-

№ п/п	Наличие антител к антигенам ВГЧ-7						
	p91	pp85	p52	p110	gp80	p40	p34
	высокоспецифичные			гомологичные с ВГЧ-6			
40.	-	+	+	-	-	+	-
41.	-	+	-	-	-	-	-
42.	-	+	+	-	-	-	-
43.	-	+	+	-	+	-	+
44.	+	+	-	-	-	+	+
45.	-	+	+	-	-	+	+
46.	-	+	-	-	-	-	-
47.	-	+	+	-	-	-	-
48.	-	+	+	+	+	+	+
49.	-	+	+	-	-	+	+
50.	-	+	-	-	-	-	-
51.	-	+	+	-	+	+	-
52.	+	+	-	-	+	-	-
53.	-	+	+	-	+	-	-
54.	-	+	+	-	+	+	-
55.	-	+	-	-	+	-	-
56.	+	+	+	-	+	+	+
57.	+	+	+	-	+	+	+
58.	+	+	-	-	+	-	-
59.	-	-	-	-	+	-	-
60.	-	+	+	-	-	-	-
61.	-	-	+	-	+	-	-
62.	-	-	+	-	+	+	-
63.	-	+	-	-	-	-	-
64.	-	+	+	-	+	+	-
65.	-	+	+	-	-	-	-
66.	-	+	+	-	-	-	-
67.	-	+	-	-	-	+	-
68.	-	+	-	-	-	-	-
69.	-	+	+	-	-	-	-
70.	-	+	-	-	+	-	-
71.	-	+	+	-	-	-	-
72.	-	+	+	-	+	+	-
73.	-	+	-	-	-	-	-
74.	-	+	+	-	+	+	-
75.	-	+	+	-	+	-	-
76.	-	+	-	-	-	-	-
77.	-	+	-	-	+	-	-
78.	+	+	+	-	+	+	-

Примечание. «-» – отсутствие антител, «+» – наличие антител.

– неопределенный результат (+/-) отсутствие или слабое окрашивание полос, соответствующих антигенам p91, pp80 и p52, при наличии окрашенных полос, соответствующих любым прочим антигенам ВГЧ-7.

Таблица 3

Спектры антител к антигенам ВГЧ-7 в образцах, положительных по результатам РНИФ и ИФА в ИФТС «ИФА-ВГЧ-6-IgG»

№ п/п	Наличие антител к антигенам ВГЧ-7						
	p91	pp85	p52	p110	gp80	p40	p34
	высокоспецифичные				гомологичные с ВГЧ-6		
1.	+	+	+	-	+	-	-
2.	-	+	-	-	-	-	-
3.	-	+	+	-	+	-	-
4.	+	+	+	-	+	+	-
5.	-	+	+	-	+	-	-
6.	-	+	+	-	+	-	-
7.	-	+	-	-	-	-	-
8.	-	+	+	+	+	+	+
9.	+	+	-	-	-	+	+
10.	-	+	+	-	-	+	+
11.	-	+	+	-	+	-	-
12.	-	+	+	-	+	-	-
13.	-	+	+	-	-	-	-
14.	-	+	+	-	-	-	-
15.	-	+	+	+	+	-	-
16.	-	+	+	-	+	-	-
17.	+	+	+	-	+	-	-
18.	-	+	+	-	+	+	-
19.	+	+	-	-	-	-	-
20.	-	+	-	-	+	-	-
21.	-	+	-	-	-	-	-
22.	-	+	-	-	+	-	-
23.	-	+	-	-	-	+	-
24.	-	+	+	-	+	-	-
25.	-	+	-	-	+	-	+
26.	-	+	+	-	+	-	-
27.	-	+	+	-	+	-	-
28.	-	+	+	-	+	+	-
29.	-	+	+	-	+	+	-
30.	-	+	-	-	+	-	-

Примечание. «-» – отсутствие антител, «+» – наличие антител.

Итогом разработки явился набор реагентов «ИФА-Блот-ВГЧ-7-IgG». Его чувствительность и специфичность были оценены по результатам исследования 134 сывороток здоровых детей в возрасте от 1 года до 16 лет, полученных из диагностического центра «El Clinic» (г. Электрогорск).

При предварительном исследовании образцов в РНИФ в 26 образцах антитела к ВГЧ-7 не были обнаружены, а 108 образцов были признаны сероположительными в отношении ВГЧ-7. Распределение обследованных детей в группы по возрасту и результаты их обследования в РНИФ приведены в табл. 1

Поскольку значимых различий в соотношениях положительных и отрицательных результатов исследования в РНИФ по возрастным группам не выявлено, дальнейший анализ был проведен уже без учета возраста обследованных.

Прежде всего следует отметить, что оценки образцов в РНИФ и ИБ полностью совпали – все 108 образцов, положительных по результатам РНИФ, были оценены как положительные в ИБ и, соответственно, все 26 отрицательных по результатам РНИФ образцов были оценены как отрицательные и в ИБ. Иначе говоря, была показана высокая диагностическая эффективность новой тест-системы.

Кроме того, было установлено, что из 26 образцов, отрицательных в РНИФ и ИБ по наличию антител к ВГЧ-7, было выявлено 13 отрицательных и 13 положительных по результатам оценки наличия в них антител к ВГЧ-6 в ИФА, а из 108 образцов, положительных по результатам РНИФ и ИБ, в 30 образцах были выявлены и в 78 – не выявлены антитела к ВГЧ-6 методом ИФА.

В табл. 2 и 3 представлены спектры антител к ВГЧ-7 в образцах, соответственно, содержащих и не содержащих антитела к ВГЧ-6.

Для сопоставления результатов ИБ по полученным спектрам антител в обеих группах были рассчитаны доли образцов, в которых были выявлены антитела к отдельным антигенам ВГЧ-7 (табл. 4).

Не сложно убедиться в том, что доли образцов, в которых были выявлены антитела к отдельным антигенам ВГЧ-7, фактически не связаны с наличием или отсутствием в этих образцах антител к ВГЧ-6 (по данным ИФА), что позволяет рассматривать распределение спектров антител к ВГЧ-7 по всем образцам, получившим положительную оценку в ИБ.

Таким образом, полученные данные являются свидетельством высокой специфичности разработанной

Таблица 4

Доли образцов, в которых в ИБ выявлены антитела к отдельным антигенам ВГЧ-7

Антиген ВГЧ-7	Количество образцов, в которых обнаружены антитела к антигену					
	в группе образцов, отрицательных по содержанию антител к ВГЧ-6		в группе образцов, положительных по содержанию антител к ВГЧ-6		суммарно по обеим группам	
	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
p91	11	14,1	5	16,7	16	14,8
pp85	78	100,0	30	100,0	108	100,0
p52	45	57,7	20	66,7	65	60,2
p110	5	6,4	2	6,7	7	6,5
gp80	37	47,4	21	70,0	58	53,7
p40	35	44,9	8	26,7	43	39,8
p34	17	21,8	4	13,3	21	19,4

тест-системы, поскольку при исследовании сывороток, содержащих IgG к ВГЧ-6, ложноположительные результаты в отношении ВГЧ-7 выявлены не были.

Выводы.

1. Разработан отечественный набор реагентов «ИФА-Блот-ВГЧ-7-IgG», предназначенный для выявления антител класса G к вирусу герпеса человека 7 типа. Исследование диагностической эффективности нового набора показало высокую чувствительность, сопоставимую с чувствительностью реакции непрямой иммунофлюоресценции, а также высокую специфичность, проявляющуюся в отсутствии ложноположительных результатов при исследовании образцов, содержащих IgG к ВГЧ-6.

2. Разработанный набор реагентов «ИФА-Блот-ВГЧ-7-IgG» после получения регистрационного удостоверения может быть рекомендован медицинским учреждениям для осуществления лабораторной диагностики ВГЧ-7-инфекции.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-9, 11-19 см. REFERENCES)

10. Белова Е.Г., Кускова Т.К. Герпесвирусы 6, 7, 8-го типов. *Медицинский научно-практический портал «Лечащий Врач»* URL: <https://www.lvrach.ru/2006/02/4533467/>
20. Марданлы С.С., Арсеньева В.А., Амелина Е.А., Марданлы С.Г. Иммуноферментная тест-система для диагностики герпесвирусной инфекции шестого типа. *Медицинский алфавит*. 2018; 2 (35): 46-9.
21. Марданлы С.Г., Авдонина А.С. Разработка набора реагентов для выявления антител класса G к отдельным антигенам цитомегаловируса методом иммунного блоттинга в формате Western Blot. *Клиническая дерматология и венерология*. 2014; 1: 18-24.
22. Марданлы С.Г., Симонова Е.Г., Симонов В.В. Инфекции ToRCH-группы: клиническая лабораторная диагностика, эпидемиологический надзор и контроль. Москва: Транзит-ИКС; 2018.
24. Авдонина А.С., Марданлы С.Г., Юминова Н.В. Разработка иммуноферментной тест-системы для выявления антител класса M к индивидуальным белкам цитомегаловируса человека методом иммунного блоттинга в формате «Western blot». *Вестник современной клинической медицины*. 2016; 9(5): 7-14.
25. Марданлы С.Г., Авдонина А.С. Разработка набора реагентов для выявления антител класса G к отдельным антигенам вируса краснухи методом иммунного блоттинга в формате «Western blot». *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018; 63(11): 696-701.
26. Марданлы С.Г., Арсеньева В.А., Акиншина Ю.А., Амелина Е.А., Захаров М.В., Никитина А.В. Разработка нового набора реагентов для скрининговой диагностики с целью одновременного обнаружения антител к каждому из основных возбудителей инфекций TORCH-группы методом линейного иммуноблоттинга. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2014; 6: 24-9.
27. Марданлы С.С., Арсеньева В.А., Захаров М.В., Марданлы С.Г., Амелина Е.А., Ротанов С.В. Применение линейного иммуноблоттинга для скрининга антител классов G и M к основным возбудителям TORCH-инфекций. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2015; 3 (82): 59-65.
28. Марданлы С.Г., Арсеньева В.А., Марданлы С.С., Ротанов С.В., Амелина Е.А. Синхронная детекция серологических маркеров основных герпесвирусных инфекций человека. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018; 63(1): 35-40.
29. Марданлы С.Г., Авдонина А.С., Марданлы С.С., Шершнева Н.Н. Разработка набора реагентов для выявления антител класса G к отдельным антигенам вирусов простого герпеса первого и второго типов методом иммунного блоттинга в формате Western-Line-Blot. *Медицинский алфавит*. 2017; 4(38): 33-40.

REFERENCES

1. Frenkel N., Schirmer E. C., Wyatt L. S., Katsafanas G., Roffman E., Danovich R.M., June C.H. Isolation of a new herpesvirus from human CD4+ T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1990; 8(7): 748-52.
2. Berneman Z.N., Ablashi D.V., Li G., Eger-Fletcher M., Reitz M.S., Jr Hung C.L., Brus I., Komaroff A.L., Gallo R.C. Human herpesvirus 7 is a T-lymphotropic virus and is related to, but significantly different from, human herpesvirus 6 and human cytomegalovirus. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1992; 89: 10552-6.
3. Black J.B., Inoue N., Kite-Powell K., Zaki S., Pellett P.E. Frequent isolation of human herpesvirus 7 from saliva. *Virus Res.* 1993; 29: 91-8.
4. *Lennette's Laboratory Diagnosis of Viral Infections*. Keith R.J., ed. University of Washington Fred Hutchinson Cancer Research Center Seattle, Washington, USA; 2010.
5. Mori Y., Yamanishi K. HHV-6A, 6B, and 7: pathogenesis, host response, and clinical disease. *Human herpesviruses. Biology, therapy, and immunoprophylaxis*. Arvin A., Campadelli-Fiume G., Mocarski E., Moore P.S., Roizman B., Whitley R., Yamanishi K., eds. Cambridge University Press. 2007; 843-2.
6. Hall C.B., Caserta M.T., Schnabel K.C., Boettlich C., McDermott M.P., Lofthus G.K., Carnahan J.A., Dewhurst S. Congenital infections with human herpesvirus 6 (HHV6) and human herpesvirus 7 (HHV7). *J. Pediatr.* 2004; 145: 472-7.
7. Kudesia G., Wreghitt T. *Clinical and Diagnostic Virology*. Cambridge university press; 2009.
8. Kempf W. Human herpesvirus 7 in dermatology: what role does it play? *J. Clin. Dermatol.* 2002; 3: 309-15.
9. Torigoe S., Koide W., Yamada M., Miyashiro E., Tanaka-Taya K., Yamanishi K. Human herpesvirus 7 infection associated with central nervous system manifestations. *J. Pediatr.* 1996; 129: 301-5.
10. Belova E.G., Kuskova T.K. Herpesviruses 6, 7, 8 types. *Meditsinskiy nauchno-prakticheskiy portal "Lechashchiy Vrach"* URL: <https://www.lvrach.ru/2006/02/4533467/>. (in Russian)
11. Tanaka K., Kondo T., Torigoe S., Okada S., Mukai T., Yamanishi K. Human herpesvirus 7: another causal agent for roseola (exanthem subitum). *J. Pediatr.* 1994; 125: 1-5.
12. Stefan A., De Lillo M., Frascaroli G., Secchiero P., Neipel F., Campadelli-Fiume G. Development of recombinant diagnostic reagents based on pp85(U14) and p86(U11) proteins to detect the human immune response to human herpesvirus 7 infection. *J. Clin. Microbiol.* 1999; 37 (12): 3980-5.
13. Black J.B., Pellett P.E. Human herpesvirus 7. *Rev. Med. Virol.* 1999; 9: 245-62.
14. Black J.B., Schwarz T.F., Patton J.L., Kite-Powell K., Pellett P.E., Wiersbitzky S., Bruns R., Muller C., Jager G., Stewart J.A. Evaluation of immunoassays for detection of antibodies to human herpesvirus 7. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 1996; 3: 79-83.
15. Foa-Tomasi L., Avitabile E., Ke L., Campadelli-Fiume G. Polyvalent and monoclonal antibodies identify major immunogenic proteins specific for human herpesvirus 7-infected cells and have weak cross-reactivity with human herpesvirus. *J. Gen. Virol.* 1994; 75: 2719-27.
16. Nakagawa N., Mukai T., Sakamoto J. Antigenic analysis of human herpesvirus 7 (HHV-7) and HHV-6 using immune sera and monoclonal antibodies against HHV-7. *J. Gen. Virol.* 1997; 78: 1131-7.
17. Wyatt L.S., Rodriguez W.J., Balachandran N., Frenkel N. Human herpesvirus 7: antigenic properties and prevalence in children and adults. *J. Virol.* 1991; 65: 6260-5.
18. Stefan A., Secchiero P., Baechi T., Kempf W., Campadelli-Fiume G. The 85-kilodalton phosphoprotein (pp85) of human herpesvirus 7 is encoded by open reading frame U14 and localizes to a tegument substructure in virion particles. *J. Virol.* 1997; 71: 5758-63.
19. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 227: 680-5.
20. Mardany S.S., Arsen'eva V.A., Amelina E.A., Mardany S.G. Enzyme immunoassay system for the diagnosis of herpesvirus infection of the sixth type. *Meditsinskiy alfavit*. 2018; 2 (35): 46-9. (in Russian)
21. Mardany S.G., Avdonina A.S. Development of a set of reagents for detection of class G antibodies to individual cytomegalovirus anti-

- gens by immune blotting in Western Blot format. *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya*. 2014; 1: 18-24. (in Russian)
22. Mardanly S.G., Simonova E.G., Simonov V.V. Torch-group infections: clinical laboratory diagnostics, epidemiological surveillance and control. Moscow: Tranzit-IKS; 2018. (in Russian)
24. Avdonina A.S., Mardanly S.G., Yuminova N.V. Development of an enzyme immunoassay system for detecting class M antibodies to individual human cytomegalovirus proteins using the method of immune blotting in the "Western blot" format". *Vestnik sovremennoy klinicheskoy meditsiny*. 2016; 9(5): 7-14. (in Russian)
25. Mardanly S.G., Avdonina A.S. Development of a set of reagents for detection of class G antibodies to individual rubella virus antigens by immune blotting in the "Western blot" format". *Klinicheskaya laboratoraya diagnostika*. 2018; 63(11): 696-701. (in Russian)
26. Mardanly S.G., Arsen'eva V.A., Akinshina Ju.A., Amelina E.A., Zaharov M.V., Nikitina A.V. Development of a new set of reagents for screening diagnostics in order to simultaneously detect antibodies to each of the main pathogens of TORCH- group infections by linear immunoblotting. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni. Aktual'nye voprosy*. 2014; 6: 24-9. (in Russian)
27. Mardanly S.S., Arsen'eva V.A., Zaharov M.V., Mardanly S.G., Amelina E.A., Rotanov S.V. Application of linear immunoblotting for screening of antibodies of classes G and M to the main pathogens of TORCH infections. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika*. 2015; 3 (82): 59-65. (in Russian)
28. Mardanly S.G., Arsen'eva V.A., Mardanly S.S., Rotanov S.V., Amelina E.A. Synchronous detection of serological markers of major human herpesvirus infections. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2018; 63(1): 35-40. (in Russian)
29. Mardanly S.G., Avdonina A.S., Mardanly S.S., Shershneva N.N. Development of a set of reagents for detection of class G antibodies to individual herpes simplex virus antigens of the first and second types by immune blotting in Western-Line-Blot format. *Meditsinskiy alfavit*. 2017; 4(38): 33-40. (in Russian)

Поступила 18.03.20

Принята к печати 29.03.20

К статье *Марданлы С.Г.*

«Инфицированность вирусом Эпштейна-Барр отдельных групп населения Московской области»

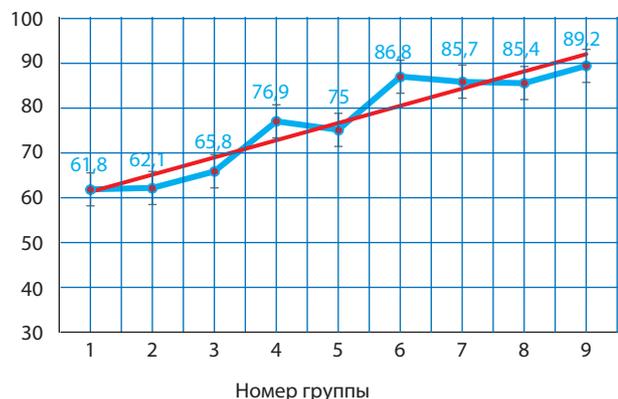


Рис. 1. Зависимость доли (в %) образцов с наличием IgG к ВЭБ от возраста детей

Сплошная линия графика – линия тренда.

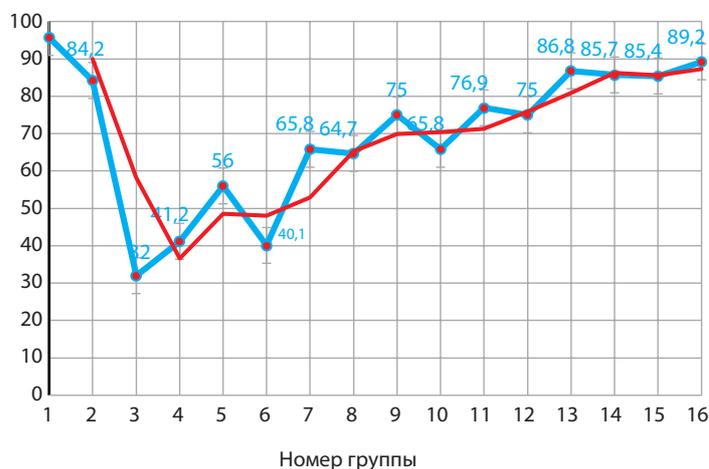
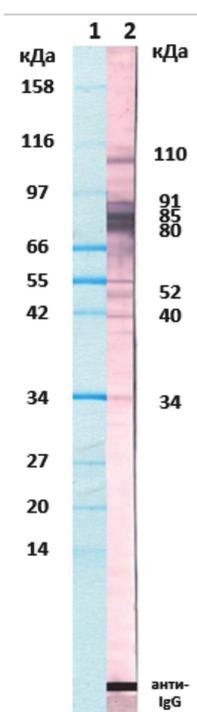


Рис. 2. Зависимость доли (в %) образцов с наличием IgG к ВЭБ от возраста детей при изменении группировки детей по возрасту. Красная линия графика – линия тренда с линейной фильтрацией.

1 группа – 0,0-0,1 года; 2 группа – 0,2-0,6 года; 3 группа – 0,7-1,0 год; 4 группа – 1,1-1,5 года; 5 группа – 1,6-2,0 года; 6 группа – 2,1-2,5 года; 7 группа – 2,6-3,0 года; 8 группа – 3,1-3,5 лет; 9 группа – 3,6-4,0 года; 10 группа – 4,1-6,0 лет; 11 группа – 6,1-8,0 лет; 12 группа – 8,1-10,0 лет; 13 группа – 10,1-12,0 лет; 14 группа – 12,1-14,0 лет; 15 группа – 14,1-16,0 лет; 16 группа – 16,1-18,0 лет.

К статье *Марданлы С.Г.* и соавт.

«Разработка набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу герпеса человека 7 типа методом иммунного блоттинга в формате "Western Blot"»



Антигенный состав лизата ВГЧ-7. 1 – результат электрофоретического разделения белкового маркера молекулярного веса; 2 – результат исследования сыворотки, положительной по наличию IgG к ВГЧ-7, при инкубации с мембраной, на которую нанесены электрофоретически разделенные антигены лизата ВГЧ-7 и контрольная линия (анти-IgG).