



ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ



ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-259>

© НАГИЕВА Ф.Г., БАРКОВА Е.П., ХАРЧЕНКО О.С., СИДОРОВ А.В., АЛАТОРЦЕВА Г.И., ЧЕРЕПОВИЧ Б.С., ТАРАКАНОВА Ю.Н., ТРУБАЧЕВА О.А., ПАШКОВ Е.А., РТИЩЕВ А.А., СВИТИЧ О.А., ЗВЕРЕВ В.В., 2024

Простой высокочувствительный и специфичный серологический тест для выявления антител к вирусу *Varicella-Zoster (Varicellovirus humanalpha3)*

Нагиева Ф.Г.^{1✉}, Баркова Е.П.¹, Харченко О.С.¹, Сидоров А.В.¹, Алаторцева Г.И.¹, Черепович Б.С.¹, Тараканова Ю.Н.¹, Трубачева О.А.¹, Пашков Е.А.^{1,2}, Ртищев А.А.¹, Свитич О.А.^{1,2}, Зверев В.В.^{1,2}

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», 105064, г. Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), 119048, г. Москва, Россия

Резюме

Введение. Вирус ветряной оспы (ВО) и опоясывающего герпеса (*Varicella-Zoster virus*, VZV) – высококонтагиозный альфа-герпесвирус. Диагностика ВО остается сложной задачей, особенно в случаях ВО-прорыва, из-за трудностей диагностики на основе клинических симптомов, что обуславливает необходимость разработки надежных лабораторных тестов.

Цель. Разработка простого высокочувствительного и специфичного серологического теста для выявления антител к VZV в сыворотках крови человека и животных с помощью реакции пассивной гемагглютинации (РПГА).

Материалы и методы. Культуры клеток человека и животных; штаммы VZV; иммунные сыворотки человека и животных; моноклональные антитела к VZV. В РПГА использовали формализованные эритроциты баранов, кур и коз, сенсibilизированные вирусоспецифическими гликопротеинами (ГП) VZV из вирусосодержащей жидкости.

Результаты. Подобраны клеточные культуры с максимальным цитопатическим эффектом при заражении VZV. Разработан простой оригинальный метод получения вирусоспецифических ГП VZV с помощью лектинов. Очищенные ГП получены с помощью их элюирования при температуре 37 °С с бараньих эритроцитов после адсорбции при 4 °С. Активность ГП VZV подтверждена в РПГА на антительном диагностикуме, изготовленном путем сенсibilизации формализованных бараньих эритроцитов моноклональными антителами к ГП Е штамма «vОка» VZV (США). С применением ГП разных штаммов VZV разработаны тест-системы для выявления антител в иммунных сыворотках человека и животных методами РПГА и иммуноферментного анализа на основе ГП (гРИФА). Показаны высокая чувствительность, специфичность и отсутствие перекрестной реактивности этих тестов.

Заключение. Отобраны клеточные культуры с максимальным цитопатическим эффектом при заражении VZV. Разработан способ получения ГП из инфицированных клеток. С использованием очищенных вирусных ГП разработаны серологические тест-системы для выявления поствакцинальных и постинфекционных антител в иммунных сыворотках методами РПГА и гРИФА. Показаны высокая специфичность, чувствительность, воспроизводимость, а также простота их применения.

Ключевые слова: вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса; вирусоспецифический ГП; формализованные бараньи эритроциты; антигенные и антительные диагностикумы; реакция пассивной гемагглютинации; иммуноферментный анализ; перекрестная реактивность

Для цитирования: Нагиева Ф.Г., Баркова Е.П., Харченко О.С., Сидоров А.В., Алаторцева Г.И., Черепович Б.С., Тараканова Ю.Н., Трубачева О.А., Пашков Е.А., Ртищев А.А., Свитич О.А., Зверев В.В. Простой высокочувствительный и специфичный серологический тест для выявления антител к вирусу *Varicella-zoster (Varicellovirus humanalpha3)*. *Вопросы вирусологии*. 2024; 69(6): 489–499. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-259> EDN: <https://elibrary.ru/ykzhop>

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

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

Этическое утверждение. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с Consensus author guidelines for animal use (IAVES 23.07.2010). Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова (Протокол № 8 от 13.08.2024).

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-259>

A simple, highly sensitive and specific serological test for the detection of antibodies to Varicella-zoster virus (*Varicellovirus humanalpha3*)

Firaya G. Nagieva¹✉, Elena P. Barkova¹, Olga S. Kharchenko¹, Alexander V. Sidorov¹, Galina I. Alatorseva¹, Bogdan S. Cherepovich¹, Yulia N. Tarakanova¹, Olga A. Trubacheva¹, Evgeny A. Pashkov^{1,2}, Artem A. Rtishchev¹, Oksana A. Svitich^{1,2}, Vitaly V. Zverev^{1,2}

¹I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia;

²Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 119048, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. Varicella-Zoster virus (VZV) is a highly contagious alpha-herpes virus. The diagnosis of chickenpox remains a difficult task especially in cases of breakthrough chickenpox, so the development of reliable laboratory tests is necessary. The simplest and most sensitive serological test for detecting antibodies in human and animal sera is the passive hemagglutination reaction (PHAR).

The aim. To develop of a simple, highly sensitive and specific serological tests for the detection of antibodies to VZV in human and animal blood sera.

Materials and methods. Human and animal cell cultures; various strains of VZV; human and animal immune sera; monoclonal antibody to VZV glycoprotein (GP) E. Formalin-treated erythrocytes of sheep, chickens and goats, sensibilised with GP of VZV from a virus-containing supernatant were used for PHAR.

Results. Cell cultures with the maximum cytopathic effect at VZV infection were selected. A simple original method for obtaining virus-specific VZV GPs using lectins has been developed. Purified GPs were obtained by their elution from sheep erythrocytes after adsorption. The activity of VZV GP was confirmed in PHAR by an antibody diagnostic assay using formalin-treated sheep erythrocytes sensibilised using monoclonal antibodies to GP E of the "vOka" VZV strain (USA). Using GPs from different VZV strains, PHAR test and GP-based enzyme-linked immunosorbent assay (gpELISA) have been developed to detect antibodies in human and animal immune sera. These tests have high sensitivity, specificity and lack of cross-reactivity.

Conclusion. A highly specific, sensitive and reproducible tests for the detection of antibodies to VZV have been developed.

Keywords: *Varicella-Zoster and Herpes zoster virus; virus-specific glycoprotein; phytohemagglutinin; formalin-treated sheep erythrocytes; antigenic and antibody diagnostic assays; passive hemagglutination reaction; enzyme immunoassay; cross-reactivity*

For citation: Nagieva F.G., Barkova E.P., Kharchenko O.S., Sidorov A.V., Alatorseva G.I., Cherepovich B.S., Tarakanova Yu.N., Trubacheva O.A., Pashkov E.A., Rtischev A.A., Svitich O.A., Zverev V.V. A simple highly sensitive and specific serological test for the detection of antibodies to Varicella-zoster virus (*Varicellovirus human-alpha3*). *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2024; 69(6): 489–499. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-259> EDN: <https://elibrary.ru/ykzhop>

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

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Ethics approval. Authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with Consensus author guidelines for animal use (IAVES 23 July 2010). The research protocol was approved by the Ethics Committee of the I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera (Protocol No. 8 dated 13.08.2024).

Введение

Вирус ветряной оспы (ВО) и опоясывающего герпеса (*Varicella-Zoster virus*, VZV) представляет собой высококонтагиозный альфа-герпесвирус, которым инфицировано более 90% людей в мире [1, 2].

Согласно отчету, опубликованному Всемирной организацией здравоохранения в 2014 г., ежегодно ВО заболевают не менее 140 млн человек, из которых 4,2 млн имеют тяжелые осложнения, приводящие к госпитализации и смерти [3]. Для ВО в основном характерны легкая и средняя степени тяжести заболевания,

однако существует большой риск развития тяжелой формы ВО у беременных женщин, новорожденных, VZV-серонегативных взрослых и лиц с ослабленным иммунитетом [4]. Около 1/3 переболевших ВО заболевают в возрасте преимущественно старше 50 лет опоясывающим герпесом, обычно сопровождающимся постгерпетической невралгией [5, 6].

В эпоху всеобщей вакцинации против ВО диагностика этого заболевания на основе клинических симптомов является сложной задачей, особенно для участвовавших в последнее время случаев ВО-прорыва.

Проблема точной диагностики ВО в таких случаях может быть решена с помощью надежных лабораторных тестов [7]. В последние десятилетия для вспомогательной диагностики VZV-инфекции были созданы разнообразные серологические методы выявления специфических антител, которые нашли свое применение в эпидемиологических исследованиях, при изучении эффективности вакцин, а также при оценке риска заболевания у медицинских работников [8]. Из них наиболее высокой чувствительностью обладают коммерчески недоступные во многих странах метод флуоресцирующих антител к мембранному антигену VZV (Fluorescent antibody to membrane antigen assay, FAMA) и иммуноферментный анализ (ИФА) на основе гликопротеинов (ГП) VZV (gpИФА) [9]. Мажорным и иммунодоминантным вирусным белком в вирионах VZV и в инфицированных клетках является ГП Е (gpЕ), необходимый для репликации вируса и передачи его от клетки к клетке [10–12]. Учитывая клеточно-ассоциированную природу VZV, тест FAMA считают более надежным средством оценки защитного иммунитета по сравнению с реакцией нейтрализации (РН) [13].

Оценка антительного ответа к четырехкомпонентной вакцине – корь, эпидемический паротит, краснуха и ВО (MMRV) – играет жизненно важную роль в ведении пациентов. До недавнего времени большинство клинических лабораторий использовали для обнаружения антител IgG к антигенам MMRV тесты в формате ИФА. Однако Консультативный комитет по практике иммунизации (ACIP) и Центр по контролю и профилактике заболеваний США (CDC) не рекомендуют их использовать для оценки уровня вакциноиндуцированного иммунитета против ВО из-за низкой чувствительности [14, 15]. Для клинических лабораторий, выполняющих большой объем исследований, недавно была внедрена более надежная, быстрая и чувствительная по сравнению с ИФА технология высокопроизводительной мультиплексной автоматизации для обнаружения антител против антигенов MMRV (BioPlex 2200, Bio-Rad), позволяющая одновременно обнаруживать IgG-антитела в сыворотке крови ко всем 4 вирусам в одной реакции [16].

Другим наиболее простым и высокочувствительным тестом для выявления антител в сыворотках человека и животных является реакция пассивной гемагглютинации (РПГА). С помощью этого теста определяют антитела к вирусам кори, краснухи, ящура, аденовирусу, цитомегаловирусу (ЦМВ), к вирусу иммунодефицита человека и др. [17–19].

Цель работы – разработка РПГА на основе формализованных эритроцитов, сенсibilизированных ГП VZV.

Материалы и методы

Культуры клеток. Клеточные культуры: MRC-5 – штамм диплоидных клеток легких эмбриона человека (Американская коллекция клеточных культур, ATCC); KM-27 – кожно-мышечная ткань эмбриона человека (коллекция ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова

РАН», Москва, Россия), Vero-CCL-81 – линия перевиваемых клеток почки зеленой мартышки (ATCC); Vero-E6 – клон линии клеток Vero (коллекция ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»); A₅₄₉ – линия перевиваемых клеток карциномы человека (коллекция ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия); ПТП – тестикулы поросенка (коллекция ВНИИВиМ, Покров, Владимирская обл., Россия); два типа мезенхимальных стволовых клеток из коллекции культуры клеток ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова. Культуры клеток выращивали в питательной среде DMEM/F-12 с 10 мМ NEPES, с добавлением 5% или 10% сыворотки крупного рогатого скота (ООО НПФ «БИОХИМСЕРВИС», Владимир, Россия).

Вирусы. Вакцинные штаммы вируса ВО «vFiraVax», вируса опоясывающего герпеса «vZelVax» (коллекция ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова); японский штамм вируса ВО «vOka» (коллекция CCL, США); лабораторный штамм вируса ВО «Ellen» (коллекция CCL); дикие варианты вируса ВО, изолированные во время вспышки в закрытом коллективе (коллекция ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова). Вирусы выращивали в культурах клеток в среде DMEM с повышенным содержанием глюкозы, без сыворотки.

Иммунные сыворотки и моноклональные антитела (МКА). Сыворотки крови человека к вирусу опоясывающего герпеса, взятые в период реактивации постгерпетической невралгии: Zel.-1 и Nik.-2; сыворотки крови от переболевших ВО пациентов ($n = 25$); иммунная сыворотка морской свинки к антигенам штамма AD₁₆₉ ЦМВ. Из сывороток удаляли термолабильные и термостабильные ингибиторы препаратом RDE (receptor dectroing enzyme, Denka Seiken, Япония) по инструкции производителя. МКА к gE вируса ВО – Varicella Mab (Potency, ID, Lot: PR 101022c, США). МКА к ГП gpV и gpD вирусов герпеса простого 1-го и 2-го типов, соответственно.

Реакция нейтрализации. РН проводили на клеточной культуре Vero-CCL-81, выращенной на 24-луночных планшетах (Costar) в ростовой питательной среде DMEM с 10% СКК. Приготовлены двукратные разведения иммунных вирусоспецифических сывороток морских свинок к вакцинным штаммам ВО – «vFiraVaX» и опоясывающему герпесу – «vZelVax». В каждое разведение иммунных сывороток в объеме 0,1 мл вносили равный объем 1000 доз ГАДЕ 50/0,1 мл вируса, смесь интенсивно перемешивали и оставляли на контакт на 1,5 ч при 36,5 °С в CO₂-инкубаторе, перемешивая каждые 15 мин. В 24-луночные планшеты с монослоем клеток и с предварительно удаленной ростовой средой вносили в каждые две лунки по 0,2 мл смеси вируса с сывороткой и оставляли на контакт на 1,5 ч в инкубаторе. Затем в лунки вносили по 0,8 мл поддерживающей среды DMEM без сыворотки. На планшете две лунки оставляли для контроля дозы вируса и контроля клеток, культивирование продолжали в течение 7 сут. Результат РН учитывали при 100% защите клеток.

Получение формализованных эритроцитов. Для получения формализованных бараньих, ку-

риных и козых эритроцитов кровь собирали в раствор Альсевера. Эритроциты отмывали трижды охлажденным физиологическим раствором (ФР) путем осаждения центрифугированием в течение 20 мин при 1500 об/мин. К отмываемым эритроцитам добавляли 2% раствор формалина в 10-кратном объеме ФР, содержащем 0,5% глюкозы, pH раствора доводили 1 M NaOH до 7,0–7,2. Формализованные эритроциты выдерживали при комнатной температуре 3–4 сут до полного оседания эритроцитов, надосадов удаляли, к осадку добавляли равный объем ФР и хранили при температуре 2–8 °С. Перед сенсibilизацией формализованные эритроциты проверяли на спонтанную агглютинацию.

Приготовление вирусоспецифических ГП. В культуральных флаконах площадью 175 см² выращивали клетки, чувствительные к VZV, заражали вирусосодержащей жидкостью (ВСЖ) и культивировали в течение 7–8 сут до 70–90% разрушения инфицированных клеток. Флаконы выдерживали сутки и более при –70 °С, затем их содержимое размораживали, клеточный дебрис удаляли центрифугированием при 1500 об/мин в течение 20 мин, в надосадочную жидкость вносили сахарозно-желатиновый стабилизатор и оставляли при –70 °С для хранения до сенсibilизации эритроцитов. Для извлечения вирусных ГП из ВСЖ к ней добавляли фитогемагглютинин (ФГА) в концентрации 25 мкг/мл и по 50% взвесей формализованных бараньих, куриных или козых эритроцитов в соотношении 10 : 1 по объему и оставляли при температуре 4 °С на 20 ч с периодическим встряхиванием для связывания вирусных ГП с ФГА на поверхности эритроцитов. Взвеси центрифугировали при 1500 об/мин в течение 20 мин, к осадкам нагруженных вирусными ГП формализованных эритроцитов добавляли ФР. Элюирование вирусных ГП с поверхности формализованных эритроцитов проводили в течение 1 ч при температуре 37 °С. Эритроциты удаляли из взвеси центрифугированием при 1500 об/мин в течение 20 мин. В полученный раствор вирусного ГП в качестве стабилизатора добавляли бычий сывороточный альбумин (БСА) до концентрации 1%. Концентрацию белков определяли на приборе NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, США).

Получение антигенных диагностикумов на основе вирусных ГП. Формализованные эритроциты сенсibilизировали вирусоспецифическими ГП, полученными из разных типов клеток, инфицированных штаммами VZV. Для этого эритроциты ресуспендировали в 10-кратном объеме охлажденного ФР, осаждали центрифугированием при 1500 об/мин в течение 20 мин и готовили 50% взвесь эритроцитов в ФР. Далее в центрифужных пробирках соединяли 1 объем бидистиллированной воды с 0,1 объема 50% взвеси эритроцитов, с 0,1 объема раствора вирусных ГП и с 0,1 объема 0,33% хлористого хрома (CrCl₃). Пробирки помещали в водяную баню на 1 ч при температуре 42 °С, затем добавляли равный объем ФР, перемешивали и осаждали сенсibilизированные эритроциты центрифугированием

при 1500 об/мин в течение 5 мин. Осадок сенсibilизированных эритроцитов ресуспендировали в ФР, содержащим 1% БСА, отмывали дважды ФР с 1% БСА и готовили 2,5% взвесь сенсibilизированных формализованных эритроцитов в этом же растворе для использования в РПГА.

Получение антительных диагностикумов на основе МКА к VZV. К 0,1 мл взвеси 50% формализованных эритроцитов, предварительно отмывтых 3 раза ФР, добавляли 0,1 мл ФР, 0,1 мл МКА к grE (США) с концентрацией 318 мкг/0,1мл. Смесь перемешивали и вносили 0,3 мл 0,33% раствора хлорида хрома и 10 мкл 0,05 M NaOH. Смесь инкубировали в водяной бане в течение 1 ч при 42 °С, затем трижды отмывали ФР и готовили 2% антительный диагностикум в ФР.

РПГА для обнаружения антител к VZV в сыворотках животных и человека. Реакцию проводили микрометодом в объеме 150 мкл на V-образных планшетах. В каждую лунку планшета вносили по 50 мкл ФР, содержащего 1% нормальной кроличьей сыворотки, прогретой на водяной бане при 65 °С в течение 30 мин, по 50 мкл испытуемой сыворотки в разведении от 1 : 100 до 1 : 12 400, и по 50 мкл сенсibilизированного антигенного диагностикума. В 4 свободные лунки по отдельности вносили по 50 мкл формализованных эритроцитов и по 50 мкл антигенного диагностикума для контроля на отсутствие спонтанной агглютинации. Планшет оставляли при температуре 4 °С до полного оседания контрольных эритроцитов и антигенного диагностикума и затем учитывали реакцию. При наличии в исследуемом материале специфичных к вирусному антигену антител происходило фиксирование эритроцитов на дне и стенках лунки в виде зонтика гемагглютинации. При отрицательной реакции эритроциты оседали на дно лунки в виде пуговки.

РПГА для определения активности grE VZV. В лунки V-образного планшета вносили по 25 или 50 мкл 1% нормальной кроличьей сыворотки, затем добавляли по 25 или 50 мкл 2% антительного диагностикума. Свободные лунки использовали отдельно для контроля на спонтанную агглютинацию диагностикума и контроля формализованных бараньих эритроцитов. Планшет выдерживали 1,0–1,5 ч при температуре 4 °С до оседания эритроцитов в контрольных лунках и учитывали реакцию.

Иммуноферментный анализ. ИФА проводили общепринятым методом. На первом этапе вносили раствор антигена по 50 мкл в лунку, выдерживали ночь при температуре 4 °С, затем лунки планшета блокировали казеиново-сахарозным раствором 90 мин и высушивали планшеты 2 ч в термостате при температуре 37 °С с открытой дверцей. Для проведения ИФА в лунку вносили по 50 мкл разведений образцов сывороток крови человека, мыши или морской свинки в фосфатно-солевом буфере с твином (ФСБ-Т) с двукратным шагом, начиная с разведения 1 : 100, инкубировали 90 мин при температуре 37 °С; планшет промывали 3 раза ФСБ-Т; вносили по 50 мкл конъюгатов анти-Human IgG в рабочем разведении 1 : 5000, анти-мышь IgG Bio-Rad в рабочем

разведении 1 : 2000; анти-свинка IgG в рабочем разведении 1 : 5000 в ФСБ-Т + 1% БСА, инкубировали планшеты 60 мин при температуре 37 °С; планшет промывали 3 раза ФСБ-Т; вносили раствор тетраметилбензидаина, инкубировали 15 мин в темном месте; реакцию останавливали серной кислотой, результаты регистрировали на спектрофотометре при длине волн 450 нм (длина волны сравнения 630 нм).

Этическое утверждение. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с Consensus author guidelines for animal use (IAVES 23.07.2010). Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова (Протокол № 8 от 13.08.2024).

Статистические методы. Для статистической обработки результатов использовали пакеты программ Excel 2013 (Microsoft, США). Сравнение количественных значений полученных выборок проводили с помощью непараметрического *U*-критерия Манна–Уитни.

Результаты

На первом этапе разработки серологического теста РПГА были выбраны культуры клеток, при заражении которых VZV определялся максимальный цитопатический эффект (ЦПЭ), а именно – клетки KM-27, A₅₄₉ и ПТП, при инфицировании которых разными штаммами VZV на 7–8-е сутки наблюдалась 70–90% деструкция клеток.

Далее устанавливали адсорбирующую способность формализованных эритроцитов животных, являющихся носителем главных компонентов в РПГА. Были выбраны три вида эритроцитов: баранов, кур и коз.

Известно, что лектины специфически связывают ГП вирусов [20, 21]. Для выделения вирусоспецифи-

ческих ГП из ВСЖ были использованы два лектина – конкавалин А (КонА) и ФГА. В РПГА использовали сыворотку крови морской свинки, иммунизированной вакцинным штаммом «vZelVax» VZV. Титр иммунной сыворотки морской свинки в РН на чувствительных к VZV клетках KM-27 составил 1 : 6400 ГАДЕ50/0,2.

На **рис. 1** представлены результаты определения концентрации лектинов КонА и ФГА, необходимых для эффективного связывания вирусных ГП из ВСЖ для последующей сенсibilизации формализованных куриных эритроцитов. Оптимальная концентрация КонА и ФГА составила 25 мкг/мл ($p \leq 0,05$). При более высоких концентрациях титры сывороток в РПГА снижались в 4 раза.

На **рис. 2** представлены результаты титрования в РПГА иммунных сывороток человека и морской свинки с антигенными диагностикумами, сенсibilизированными вирусными гликопротеинами, полученными с помощью ФГА, КонА и смеси лектинов.

Представленные результаты четко демонстрируют, что на формализованных бараньих эритроцитах, сенсibilизированных полученным с помощью ФГА вирусным ГП, в РПГА выявляются вирусоспецифические антитела в сыворотках человека и животных, при этом в сыворотках животных в несколько сниженных титрах.

В РПГА с применением формализованных бараньих эритроцитов, сенсibilизованных вирусными ГП, полученными с помощью КонА, вирусоспецифические антитела в человеческих сыворотках не обнаруживаются. Использование смеси двух лектинов в равных концентрациях для получения вирусных ГП из той же ВСЖ снижает уровень титров антител в РПГА.

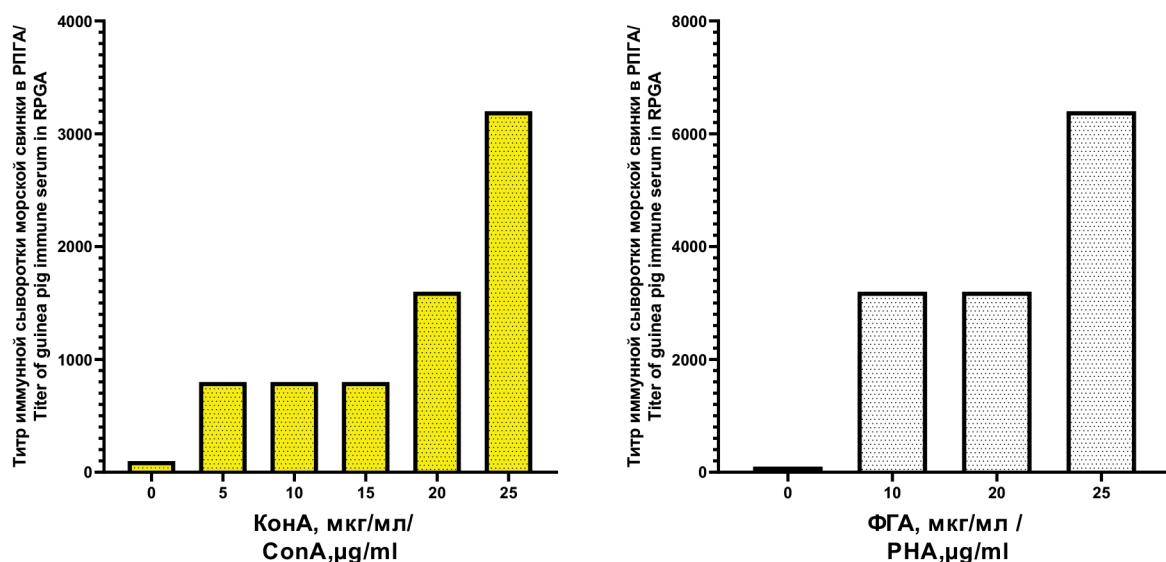


Рис. 1. Определение оптимальной концентрации КонА и ФГА для связывания вирусоспецифических ГП VZV из вирусосодержащей жидкости.

Fig. 1. Determination of the optimal concentration of ConA and PHA for binding virus-specific glycoproteins of VZV from virus-containing liquid.

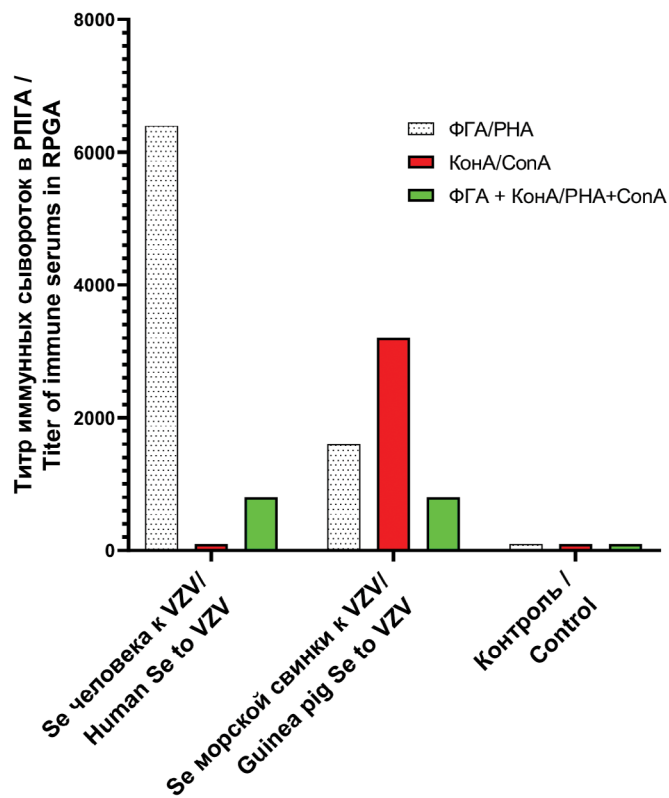


Рис. 2. Титр иммунных сывороток в gpRPGA с антигенными диагностикумами на формализованных бараньих эритроцитах, сенсibilизированных вирусными ГП, полученными с различными лектинами.

Fig. 2. Titer of immune sera in gpRPGA with antigenic diagnostics on formalized sheep erythrocytes, sensitized with viral glycoproteins obtained with various lectins.

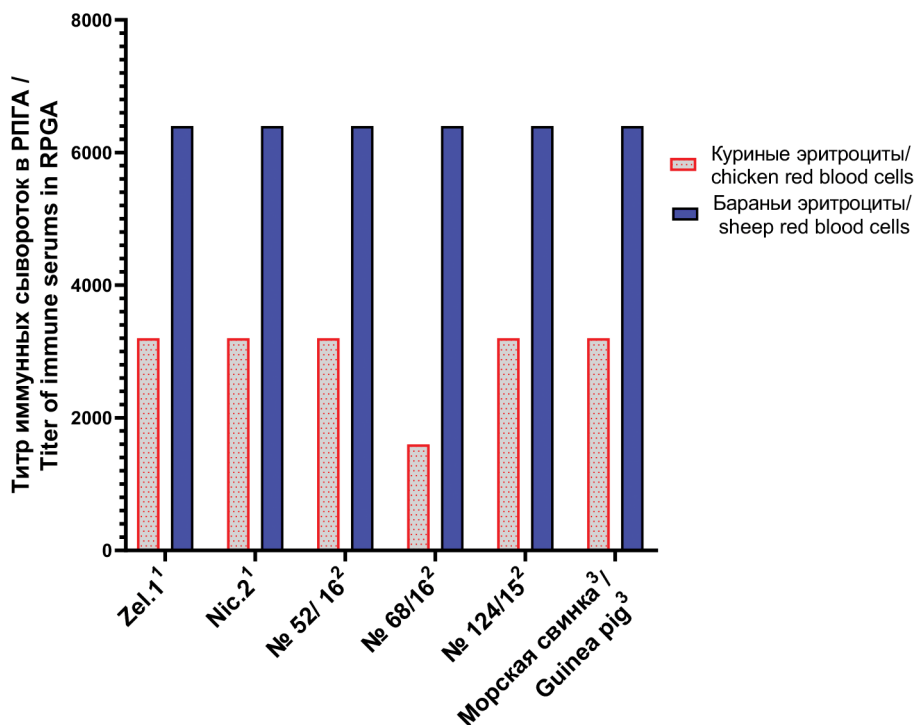


Рис. 3. Сравнительное титрование иммунных сывороток человека и морской свинки в gpRPGA с применением сенсibilизированных ГП VZV формализованных куриных и бараньих эритроцитов,

1 – сыворотка крови больного опоясывающим герпесом, полученная в период реактивации; 2 – сыворотка крови детей, переболевших ветряной оспой; 3 – сыворотка крови морской свинки, иммунизированной вакцинным штаммом «vZelVax» VZV.

Fig. 3. Comparative titration of human and guinea pig immune sera in gpRPGA using sensitized by GP VZV formalized chicken and lamb erythrocytes.

1 – serum of patient with herpes zoster; 2 – blood serum of children with chickenpox; 3 – blood serum of a guinea pig immunized with the «vZelVax» VZV vaccine strain.

Далее представлены результаты экспериментов с очищенными ГП, элюированными с формализованных бараньих эритроцитах. Титры очищенных вирусных ГП были определены в РПГА с помощью антигенодиагностикума, приготовленного на бараньих эритроцитах, сенсibilизированных МКА к grE VZV (США). Концентрации вирусных ГП, полученных при заражении клеточных культур A₅₄₉, KM-27, Vero-E6 и ПТП вирусными штаммами «vZelVax», «vFiraVax», «vOka», «Ellen», диким вирусом VZV (Москва), находились в диапазоне от 0,206 до 0,381 мг/мл, медиана титра для полученных ГП в РПГА составила 1 : 8.

Для оптимизации условий gpRPGA определяли способность формализованных бараньих, куриных и козьих эритроцитов адсорбировать вирусные ГП. Сенсibilизированные ГП VZV эритроциты были использованы в gpRPGA для титрования сыворотки крови морских свинок, инфицированных штаммом «vZelVax» VZV. Результаты показали, что бараньи эритроциты обладают более высокой сорбирующей способностью (титр в gpRPGA 1 : 3200, скорость седиментации 1,0–1,5 ч) в отличие от куриных (титр в gpRPGA 1 : 800, скорость седиментации 20 мин) и особенно от козьих (скорость седиментации 1,0–1,5 ч) эритроцитов. Эти данные согласуются с результатами других исследователей, полученных для иных вирусных и бактериальных агентов [22, 23].

На рис. 3 представлены результаты титрования в gpRPGA сывороток крови лиц, переболевших опоясывающим герпесом и ВО, а также сыворотки крови иммунизированных штаммом «vZelVax» VZV морских свинок, с применением формализованных

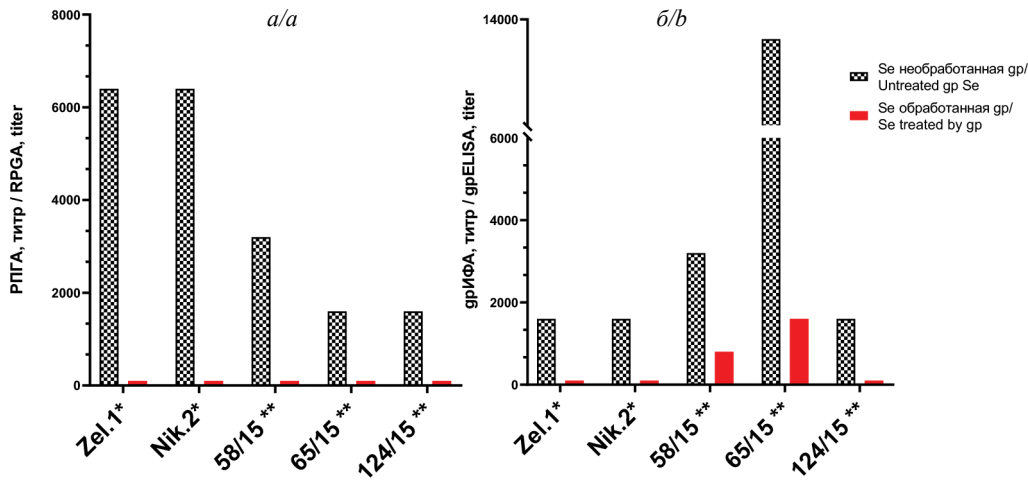


Рис. 4. Исследование специфичности серологических тестов gpРПГА (а) и gpИФА (б).

* – из сывороток предварительно удалены термолабильные и термостабильные ингибиторы серологических реакций; ** – из сывороток предварительно не удалены ингибиторы серологических реакций.

Fig. 4. Study on the specificity of immune sera in serological tests gpRPGA (a) and gpELISA (b).

* – termolabile and thermostable ingibitors of serological reactions have been preliminary removed from serums; ** – serological reactions have not been preliminary removed from serums.

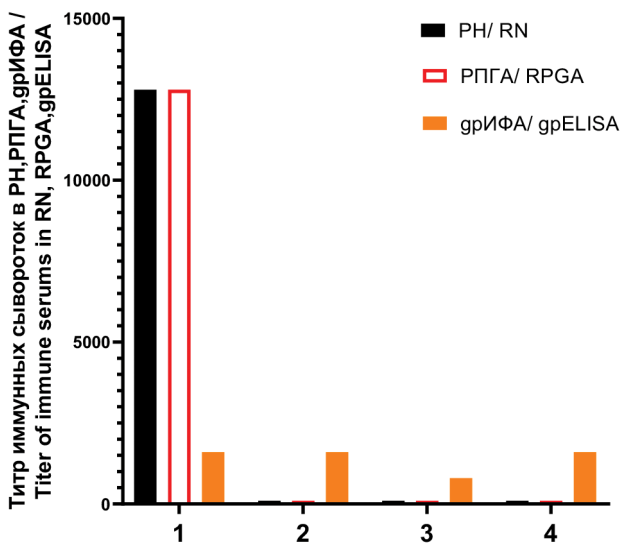


Рис. 5. Сравнительное титрование иммунных сывороток в РН (титр в ГАДЕ 50/0,5 мл), gpРПГА (титр в ГАЕ 50/0,5 мл) и gpИФА (титр в условных единицах).

Антитела в сыворотке: 1 – «FiraVax», морской свинки pig (к альфа-герпесвирусу типа 3); 2 – МКА-1Н-110, мышинные (к альфа-герпесвирусу типа 1); 3 – МКА-2Н-208, мышинные (к альфа-герпесвирусу типа 2); 4 – ЦМВ-159, морской свинки (к бета-герпесвирусу типа 5).

Fig. 5. Comparative titration of immune sera in RN (titer in GADE50/0,5 ml), gpRPGA (titer in GAE 50/0,5 ml) and gpELISA (titer in conventional units).

Antibodies in serum: 1 – «FiraVax», guinea pig (to alpha herpes virus type 3); 2 – MKA-1H-110, mouse (to alpha herpes virus type 1); 3 – MKA-2H-208, mouse (to alpha herpes virus type 2); 4 – CMV-169, guinea pig (to beta herpes virus type 5).

куриных и бараньих эритроцитов, сенсibilизированных ГП вируса опоясывающего герпеса, полученных с помощью лектина ФГА. Титры в gpРПГА были выше на бараньих эритроцитах в реакциях со всеми использованными в эксперименте образцами сывороток крови. Можно сделать заключение о пригодности теста выявления специфических антител как у людей, так и у животных.

Специфичность gpРПГА была установлена в реакциях с не содержащими антител к VZV сыворотками крови людей. Учитывая, что у 99,0% человеческой популяции содержатся антитела к VZV, к исследуемым сывороткам добавляли равный объем вирусного ГП, смесь выдерживали 30 мин при температуре 37 °C для связывания нейтрализующих антител. На рис. 4 представлены результаты тестирования в gpРПГА (рис. 4 а) и в gpИФА (рис. 4 б) 5 сывороток человека, обработанных и не обработанных ГП VZV.

Представленные результаты четко демонстрируют высокую специфичность gpРПГА по сравнению с gpИФА: gpРПГА не выявила антител ни в одной из обработанных проб, в то время как методом gpИФА в двух иммунных сыворотках антитела обнаружены, при этом их титры были снижены в 4 и 8 раз. Таким образом, отмечаются частичные перекрестные реакции в gpИФА. В целом существует проблема перекрестной реактивности серологических тестов, особенно ИФА, которую частично или полностью можно преодолеть путем удаления из сывороток термолабильных и термостабильных ингибиторов серологических реакций. На рис. 5 представлены результаты исследования иммунных сывороток на перекрестную реактивность.

Представленные результаты показывают, что в РН со 1000 ГАДЕ 50/0,1 мл дозой VZV и в РПГА с ан-

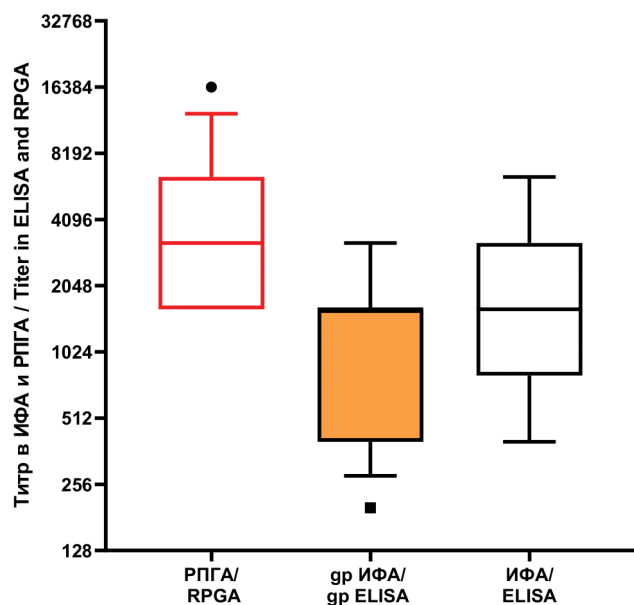


Рис. 6. Результаты сравнительного титрования иммунных сывороток к VZV в gpРПГА, грИФА и ИФА.

Fig. 6. Results of comparative titration of immune sera to VZV in gpRPGA and gpELISA and ELISA.

тигненным диагностикумом на сенсibilизированных ГП VZV формализованных бараньих эритроцитах выявляются только антитела к вирусу герпеса 3-го типа, а именно к вакцинному штамму «vFigaVax» VZV, и не обнаруживаются к герпесвирусам 1, 2 и 5-го типов, в отличие от теста грИФА, для которого продемонстрирована перекрестная иммунореактивность.

Далее было проведено сравнительное титрование 27 иммунных сывороток в gpРПГА, грИФА и ИФА. Результаты представлены рис. 6.

Анализ результатов титрования иммунных сывороток в gpРПГА и грИФА (рис. 6) показал, что 44,4% сывороток имели одинаковые титры, иногда отличающиеся на один шаг. При этом для 55,6% образцов титры в gpРПГА были больше титров в грИФА, и ни в одном случае титры в грИФА не превышали титры в gpРПГА. Сравнивая титры в грИФА и в обычном ИФА, можно отметить, что в 59,3% случаев титры в gpРПГА были ниже, чем в ИФА, для 29,6% образцов титры в грИФА были равны титрам в ИФА, в 11,1% случаев титры в грИФА были больше, чем в ИФА, на один шаг.

Обсуждение

Целью настоящей работы было создание высокочувствительного и специфичного простого серологического теста с доказанным отсутствием перекрестной реактивности. Этим требованиям соответствует формат серологического теста gpРПГА. С помощью gpРПГА можно выявлять антитела только к ГП VZV, т.е. к нейтрализующим эпитопам вирусных антигенов, обеспечивающим основной защитный эффект от VZV-инфекций. До настоящего времени счита-

ется, что инфекционность VZV остается тесно связанной с клеткой и вновь сформированный вирус не высвобождается в культуральную среду [24], поэтому тест gpРПГА для выявления антител против ГП VZV более надежен, чем РН. Поскольку с помощью этого теста определяется уровень антител, направленных исключительно к ГП вирусам, он является надежным и чувствительным индикатором иммунного статуса.

В зарубежной научной литературе имеется публикация о разработке gpРПГА для выявления антител к герпесвирусам на основе вирусных ГП [20]. Авторы получали очищенные ГП герпесвирусов из ВСЖ с помощью лектинов чечевицы, сенсibilизированных на сефарозе 4 В (Pharmacia) и элюированных 0,2 М *α*-methyl mannoside. Следует отметить, что большинство коммерческих иммуноферментных тест-систем недостаточно чувствительны для определения поствакцинальных антител [25].

Нами был разработан простой оригинальный метод получения ГП вируса VZV. ГП VZV выделяли из ВСЖ, зараженных разными штаммами VZV культур клеток посредством избирательного связывания с лектинами бобовых культур КонА и ФГА и сорбции на формализованных бараньих эритроцитах. Наиболее эффективным лектином оказался ФГА, позволяющий получать ГП для выявления в gpРПГА вирусоспецифических нейтрализующих антител в сыворотках крови человека и животных. Для получения очищенного ГП использовали известный метод очистки и концентрирования вирусов, в частности вируса гриппа: вирусы адсорбируются на эритроцитах цыплят или барана при температуре 4 °С, а затем элюируют с этих эритроцитов при температуре 37 °С [26]. Установленные с помощью антительного эритроцитарного диагностикума концентрации очищенных указанным способом вирусных ГП составили от 0,206 до 0,381 мг/мл, а их титры – 1 : 8. Подтвержден факт, что из трех типов исследованных формализованных эритроцитов животных: бараньих, куриных и козьих, наибольшей адсорбирующей способностью обладают бараньи эритроциты.

Сравнительный анализ показал, что разработанный тест gpРПГА обладает высокой специфичностью и воспроизводимостью. Важным его преимуществом в сравнении с ИФА является отсутствие перекрестной реактивности. Другим явным достоинством данного серологического теста является простота выполнения, что позволяет его применять в любой лаборатории.

Заключение

Разработан высокочувствительный и специфичный, простой в исполнении, не обладающий перекрестной реактивностью серологический тест gpРПГА для выявления поствакцинальных и постинфекционных антител к VZV. Его разработка – этап создания мультиплексного диагностикума для выявления антител в сыворотках крови детей, иммунизированных четы-

рехкомпонентной вакциной против кори, эпидемического паротита, краснухи и ВО.

ЛИТЕРАТУРА


- Gershon A.A., Breuer J., Cohen J.I., Cohrs R.J., Gershon M.D., Gilden D., et al. Varicella zoster virus infection. *Nat. Rev. Dis. Primers*. 2015; 1: 15016. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.16>
- Arvin A.M., Moffat J.F., Abendroth A., Oliver S.L., eds. *Varicella-zoster Virus. Genetics, Pathogenesis and Immunity*. 6th ed. Cham: Springer; 2023. <https://doi.org/10.1007/978-3-031-15305-1>
- Varicella and herpes zoster vaccines: WHO position paper, June 2014. *Wkly Epidemiol Rec*. 2014; 89(25): 265–87.
- Heininger U., Seward J.F. Varicella. *Lancet*. 2006; 368(9544): 1365–76. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69561-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69561-5)
- Harpaz R., Ortega-Sanchez I.R., Seward J.F. Prevention of herpes zoster: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm. Rep.* 2008; 57(RR-5): 1–30; quiz CE2-4.
- Cohen J.I. Clinical practice: Herpes zoster. *N. Engl. J. Med.* 2013; 369(3): 255–63. <https://doi.org/10.1056/NEJMcpl302674>
- Shin D., Shin Y., Kim E., Nam H., Nan H., Lee J. Immunological characteristics of MAV/06 strain of varicella-zoster virus vaccine in an animal model. *BMC Immunol.* 2022; 23(1): 27. <https://doi.org/10.1186/s12865-022-00503-6>
- Higashimoto Y., Hattori F., Kawamura Y., Kozawa K., Hamano A., Kato M., et al. Analysis of the reliability of rapid diagnostic tests for varicella, including breakthrough cases. *J. Med. Virol.* 2023; 95(2): e28569. <https://doi.org/10.1002/jmv.28569>
- Pan D., Wang W., Cheng T. Current methods for the detection of antibodies of varicella-zoster virus: a review. *Microorganisms*. 2023; 11(2): 519. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020519>
- Otani N., Shima M., Tanimura S., Ueda T., Ichiki K., Nakajima K., et al. Sensitivity and specificity of different antibody tests for detecting varicella-zoster virus. *J. Infect. Chemother.* 2020; 26(12): 1283–7. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2020.07.012>
- Mo C., Lee J., Sommer M., Grose C., Arvin A.M. The requirement of varicella zoster virus glycoprotein E (gE) for viral replication and effects of glycoprotein I on gE in melanoma cells. *Virology*. 2002; 304(2): 176–86. <https://doi.org/10.1006/viro.2002.1556>
- Berarducci B., Rajamani J., Reichelt M., Sommer M., Zerboni L., Arvin A.M. Deletion of the first cysteine-rich region of the varicella-zoster virus glycoprotein E ectodomain abolishes the gE and gI interaction and differentially affects cell-cell spread and viral entry. *J. Virol.* 2009; 83(1): 228–40. <https://doi.org/10.1128/JVI.00913-08>
- Hwang J.Y., Kim Y., Lee K.M., Shin O.S., Gim J.A., Shin Y., et al. Cross-reactive humoral immunity of clade 2 Oka and MAV/06 strain-based varicella vaccines against different clades of varicella-zoster virus. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2023; 19(1): 2210961. <https://doi.org/10.1080/21645515.2023.2210961>
- Marin M., Güris D., Chaves S.S., Schmid S., Seward J.F. Prevention of varicella: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm. Rep.* 2007; 56(RR-4): 1–40.
- Centers for Disease Control and Prevention. Chickenpox (Varicella). Available at: <https://cdc.gov/chickenpox/hcp/index.html>
- Lafreniere M.A., Badr E., Beattie J., Macri J., Khan W.I. Performance evaluation system of the Bio-Rad Bioplex 2200 multiplex system in the detection of measles, mumps, rubella, and varicella-zoster antibodies. *J. Clin. Virol. Plus*. 2023; 3(1): 100131. <https://doi.org/10.1016/j.jcvp.2022.100131and>
- Coates S.R., Madsen R.D., Rippe D.F. New passive hemagglutination assay kit that uses hemagglutinin-sensitized erythrocytes for detection of rubella antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 1982; 16(6): 1117–22. <https://doi.org/10.1128/jcm.16.6.1117-1122.1982>
- Kim K.S., Sapienza V., Chen C.M. Confirmation of human cytomegalovirus by reverse passive hemagglutination with monoclonal antibodies reactive to the major glycosylated peptide (GP-66). *J. Clin. Microbiol.* 1986; 24(3): 474–7. <https://doi.org/10.1128/jcm.24.3.474-477.1986>
- Maduie C.O., Ezeibe A.A., Anene N.I., Amechi B., Eze J.I., Animoke P.C. Direct passive hemagglutination test for rapid quantification of plasma load of the human immunodeficiency virus. *Sci. Res.* 2013; 5(9): 1351–4. <http://dx.doi.org/10.4236/health.2013.59183>
- Wasmuth E.H., Miller W.J. Sensitive enzyme-linked immunosorbent assay for antibody to varicella-zoster virus using purified VZV glycoprotein antigen. *J. Med. Virol.* 1990; 32(3): 189–93. <https://doi.org/10.1002/jmv.1890320310>
- Kino Y., Minamishima Y. Passive hemagglutination assays for the detection of antibodies to herpes viruses. *Microbiol. Immunol.* 1993; 37(5): 365–8. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.1993.tb03223.x>
- Weinbach R. Die Verwendbarkeit formolbehandelter Erythrocyten als Antigenträger in der Haemagglutination. *Schweiz. Z. Pathol. Bakteriol.* 1958; 21(6): 1043–52. <https://doi.org/10.1159/000160565> (in German)
- Фриго Н.В., Комарова В.Д., Обрядина А.П., Бурков А.Н. Сравнительные результаты иммуноферментного анализа, реакции пассивной геммагглютинации и микрореакции в серодиагностике сифилиса. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2000; (4): 4–36.
- Mendelson E., Aboudy Y., Smetana Z., Tepperberg M., Grossman Z. Laboratory assessment and diagnosis of congenital viral infections: Rubella, cytomegalovirus (CMV), varicella-zoster virus (VZV), herpes simplex virus (HSV), parvovirus B19 and human immunodeficiency virus (HIV). *Reprod. Toxicol.* 2006; 21(4): 350–82. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2006.02.001>
- Нагиева Ф.Г., Баркова Е.П., Лисакос А.Н., Сидоров А.В., Зверев В.В., Осокина О.В. и др. Практические аспекты выявления, культивирования и характеристики клинических изолятов вируса varicella-zoster. *Инфекция и иммунитет*. 2020; 10(2): 387–96. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-PAO-1211> <https://elibrary.ru/ptnvtv>
- Шубладзе А.К., Гайдамович С.Я. *Краткий курс практической вирусологии*. М.: Медгиз; 1954.

REFERENCES

- Gershon A.A., Breuer J., Cohen J.I., Cohrs R.J., Gershon M.D., Gilden D., et al. Varicella zoster virus infection. *Nat. Rev. Dis. Primers*. 2015; 1: 15016. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.16>
- Arvin A.M., Moffat J.F., Abendroth A., Oliver S.L., eds. *Varicella-zoster Virus. Genetics, Pathogenesis and Immunity*. 6th ed. Cham: Springer; 2023. <https://doi.org/10.1007/978-3-031-15305-1>
- Varicella and herpes zoster vaccines: WHO position paper, June 2014. *Wkly Epidemiol Rec*. 2014; 89(25): 265–87.
- Heininger U., Seward J.F. Varicella. *Lancet*. 2006; 368(9544): 1365–76. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69561-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69561-5)
- Harpaz R., Ortega-Sanchez I.R., Seward J.F. Prevention of herpes zoster: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm. Rep.* 2008; 57(RR-5): 1–30; quiz CE2-4.
- Cohen J.I. Clinical practice: Herpes zoster. *N. Engl. J. Med.* 2013; 369(3): 255–63. <https://doi.org/10.1056/NEJMcpl302674>
- Shin D., Shin Y., Kim E., Nam H., Nan H., Lee J. Immunological characteristics of MAV/06 strain of varicella-zoster virus vaccine in an animal model. *BMC Immunol.* 2022; 23(1): 27. <https://doi.org/10.1186/s12865-022-00503-6>
- Higashimoto Y., Hattori F., Kawamura Y., Kozawa K., Hamano A., Kato M., et al. Analysis of the reliability of rapid diagnostic tests for varicella, including breakthrough cases. *J. Med. Virol.* 2023; 95(2): e28569. <https://doi.org/10.1002/jmv.28569>
- Pan D., Wang W., Cheng T. Current methods for the detection of antibodies of varicella-zoster virus: a review. *Microorganisms*. 2023; 11(2): 519. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020519>
- Otani N., Shima M., Tanimura S., Ueda T., Ichiki K., Nakajima K., et al. Sensitivity and specificity of different antibody tests for detecting varicella-zoster virus. *J. Infect. Chemother.* 2020; 26(12): 1283–7. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2020.07.012>
- Mo C., Lee J., Sommer M., Grose C., Arvin A.M. The requirement of varicella zoster virus glycoprotein E (gE) for viral replication and effects of glycoprotein I on gE in melanoma cells. *Virology*. 2002; 304(2): 176–86. <https://doi.org/10.1006/viro.2002.1556>
- Berarducci B., Rajamani J., Reichelt M., Sommer M., Zerboni L., Arvin A.M. Deletion of the first cysteine-rich region of the varicella-zoster virus glycoprotein E ectodomain abolishes the gE and gI interaction and differentially affects cell-cell spread and viral entry. *J. Virol.* 2009; 83(1): 228–40. <https://doi.org/10.1128/JVI.00913-08>
- Hwang J.Y., Kim Y., Lee K.M., Shin O.S., Gim J.A., Shin Y., et al. Cross-reactive humoral immunity of clade 2 Oka and MAV/06

- strain-based varicella vaccines against different clades of varicella-zoster virus. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2023; 19(1): 2210961. <https://doi.org/10.1080/21645515.2023.2210961>
14. Marin M., Güris D., Chaves S.S., Schmid S., Seward J.F. Prevention of varicella: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm. Rep.* 2007; 56(RR-4): 1–40.
 15. Centers for Disease Control and Prevention. Chickenpox (Varicella). Available at: <https://cdc.gov/chickenpox/hcp/index.html>
 16. Lafreniere M.A., Badr E., Beattie J., Macri J., Khan W.I. Performance evaluation system of the Bio-Rad Bioplex 2200 multiplex assay system in the detection of measles, mumps, rubella, and varicella-zoster antibodies. *J. Clin. Virol. Plus.* 2023; 3(1): 100131. <https://doi.org/10.1016/j.jcvp.2022.100131>
 17. Coates S.R., Madsen R.D., Rippe D.F. New passive hemagglutination assay kit that uses hemagglutinin-sensitized erythrocytes for detection of rubella antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 1982; 16(6): 1117–22. <https://doi.org/10.1128/jcm.16.6.1117-1122.1982>
 18. Kim K.S., Sapienza V., Chen C.M. Confirmation of human cytomegalovirus by reverse passive hemagglutination with monoclonal antibodies reactive to the major glycosylated peptide (GP-66). *J. Clin. Microbiol.* 1986; 24(3): 474–7. <https://doi.org/10.1128/jcm.24.3.474-477.1986>
 19. Maduikie C.O., Ezeibe A.A., Anene N.I., Amechi B., Eze J.I., Animoke P.C. Direct passive hemagglutination test for rapid quantification of plasma load of the human immunodeficiency virus. *Sci. Res.* 2013; 5(9): 1351–4. <http://dx.doi.org/10.4236/health.2013.59183>
 20. Wasmuth E.H., Miller W.J. Sensitive enzyme-linked immunosorbent assay for antibody to varicella-zoster virus using purified VZV glycoprotein antigen. *J. Med. Virol.* 1990; 32(3): 189–93. <https://doi.org/10.1002/jmv.1890320310>
 21. Kino Y., Minamishima Y. Passive hemagglutination assays for the detection of antibodies to herpes viruses. *Microbiol. Immunol.* 1993; 37(5): 365–8. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.1993.tb03223.x>
 22. Weinbach R. Die Verwendbarkeit formolbehandelter Erythrocyten als Antigen-träger in der Haemagglutination. *Schweiz. Z. Pathol. Bakteriolog.* 1958; 21(6): 1043–52. <https://doi.org/10.1159/000160565> (in German)
 23. Frigo N.V., Komarova V.D., Obryadina A.P., Burkov A.N. Comparative results of enzyme immunoassay, reactions of passive hemagglutination and microreaction in serodiagnostics of syphilis. *Vestnik dermatologii i venerologii.* 2000; (4): 4–36. (in Russian)
 24. Mendelson E., Aboudy Y., Smetana Z., Tepperberg M., Grossman Z. Laboratory assessment and diagnosis of congenital viral infections: Rubella, cytomegalovirus (CMV), varicella-zoster virus (VZV), herpes simplex virus (HSV), parvovirus B19 and human immunodeficiency virus (HIV). *Reprod. Toxicol.* 2006; 21(4): 350–82. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2006.02.001>
 25. Nagieva F.G., Barkova E.P., Lisakov A.N., Sidorov A.V., Zverev V.V., Osokina O.V., et al. Practical aspects on identification, cultivation and characteristics of varicella-zoster virus isolates. *Infektsiya i immunitet.* 2020; 10(2): 387–96. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-PAO-1211> <https://elibrary.ru/ptnvtv> (in Russian)
 26. Shubludze A.K., Gaidamovich S.Ya. *Short Course of Practical Virology [Kratkii kurs prakticheskoi virusologii]*. Moscow: Medgiz; 1954. (in Russian)

Информация об авторах:

Нагиева Фирая Галиевна  – д-р мед. наук, доцент, заведующая лабораторией гибридных клеточных культур отдела вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия. E-mail: fgn42@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8204-4899>

Баркова Елена Петровна – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории гибридных клеточных культур отдела вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3369-8869>

Харченко Ольга Сергеевна – научный сотрудник лаборатории генетики ДНК-содержащих вирусов отдела вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-2169-9610>

Сидоров Александр Викторович – канд. биол. наук, заведующий лабораторией генетики ДНК-содержащих вирусов отдела вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3561-8295>

Алаторцева Галина Ивановна – канд. биол. наук, заведующая лабораторией клонирования вирусных геномов отдела вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-9887-4061>

Черепович Богдан Сергеевич – младший научный сотрудник лаборатории РНК-содержащих вирусов отдела вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5803-6263>

Тараканова Юлия Николаевна – канд. биол. наук, заведующая лабораторией диагностики вирусных инфекций отдела вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3226-5989>

Трубачева Ольга Анатольевна – ведущий специалист лаборатории гибридных клеточных культур отдела вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; <https://orcid.org/0009-0005-0821-5553>

Пашков Евгений Алексеевич – младший научный сотрудник лаборатории прикладной вирусологии отдела вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5682-4581>

Ртищев Артем Андреевич – научный сотрудник лаборатории генетики РНК-содержащих вирусов отдела вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-4212-5093>

Свитич Оксана Анатольевна – д-р мед. наук, член-корр. РАН, директор ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия. <https://orcid.org/0000-0003-1757-8389>

Зверев Виталий Васильевич – д-р биол. наук, профессор, академик РАН, научный руководитель ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-5808-2246>

Участие авторов: Нагиева Ф.Г. – концепция и дизайн исследования, проведение культуральных работ, анализ и интерпретация полученных результатов, написание и научное редактирование статьи; Баркова Е.П. – получение ГП VZV, формализация эритроцитов, проведение РПГА; Харченко О.С. – проведение ИФА и гРИФА; Сидоров А.В. – анализ научной литературы, анализ и обобщение результатов исследований; Алаторцева Г.И. – анализ научной литературы, анализ и обобщение результатов исследований, написание и научное редактирование статьи; Черепович Б.С. – анализ и обобщение результатов исследований, написание и научное редактирование статьи; Тараканова Ю.Н. – проведение исследований культуральными и вирусологическими методами; Трубачева О.А. – подготовка серологического материала, получение иммунных сывороток; Пашков Е.А. – статистическая обработка полученных результатов исследований; Ртищев А.А. – анализ и обобщение результатов исследований, написание и научное редактирование статьи; Свитич О.А. – концепция исследований, общее руководство, анализ результатов; Зверев В.В. – концепция исследований, общее руководство, анализ результатов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисковой и аналитической работы в подготовке статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Information about the authors:

Firaya G. Nagieva ✉ – D. Sci. (Med.) Associate Professor, Head of Laboratory of hybrid cell cultures, Department of virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. E-mail: fgn42@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8204-4899>

Elena P. Barkova – Cand.Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory of hybrid cell cultures, Department of virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3369-8869>

Olga S. Kharchenko – researcher, Laboratory of genetics of DNA-containing viruses, Department of virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-2169-9610>

Alexander V. Sidorov – Cand. Sci. (Biol.), Head of Laboratory of genetics of DNA-containing viruses, Department of virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3561-8295>

Galina I. Alatortseva – Cand. Sci. (Biol.), Head of Laboratory of cloning of viruses genomes, Department of virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-9887-4061>

Bogdan S. Cherepovich – Junior Researcher, Laboratory of genetics of RNA viruses, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera; <https://orcid.org/0000-0002-5803-6263>

Yulia N. Tarakanova – Cand. Sci. (Biol.), Head of Laboratory of diagnostics of viral infections, Department of virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3226-5989>

Olga A. Trubacheva – leading specialist, Laboratory of hybrid cell cultures, Department of virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0009-0005-0821-5553>

Evgeny A. Pashkov – Junior Researcher, Laboratory of Virology Applied, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera; <https://orcid.org/0000-0002-5682-4581>

Artem A. Rtishchev – Researcher, Laboratory of genetics of RNA viruses, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera; <https://orcid.org/0000-0002-4212-5093>

Oksana A. Svitich – D. Sci. (Med.), Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1757-8389>

Vitaly V. Zverev – D. Sci. (Biol.), Professor, RAS Full Member, Head of Laboratory of molecular biotechnology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-5808-2246>

Contribution: Nagieva F.G. – concept and design of the study, cultural work, analysis and interpretation of the results, writing and editing the article; Barkova E.P. – obtaining VZV GP, formalization of erythrocytes, conducting RPGA; Kharchenko O.S. – conducting ELISA and gpELISA; Sidorov A.V. – analysis of scientific literature, analysis of research results; Alatortseva G.I. – analysis of scientific literature, analysis of research results, writing and editing the article; Cherepovich B.S. – analysis of research results, writing and editing the article; Tarakanova Yu.N. – cultural and virological work; Trubacheva O.A. – preparation of serological material, obtaining immune sera; Pashkov E.A. – statistical processing of the results; Rtishchev A.A. – analysis of research results, writing and editing the article; Svitich O.A. – concept of the study, general management, analysis of results; Zverev V.V. – concept of the study, general management, analysis of results. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

Received 22 August 2024
Accepted 17 October 2024
Published 26 December 2024