

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ИССЛЕДОВАНИЙ МЕТОДОМ ИФА ПРИ ЛАБОРАТОРНОМ ПОДТВЕРЖДЕНИИ КОРИ И КРАСНУХИ НА ЭТАПЕ ЭЛИМИНАЦИИ ЭТИХ ИНФЕКЦИЙ

Т.А. Мамаева¹, Н.В. Железнова², М.А. Наумова¹, Т.С. Чехляева¹,
Е.В. Воробейчиков³, М. Бен Маму⁴, В.А. Алешкин¹

¹ ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия

² ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

³ «НПО Полифарм», Санкт-Петербург, Россия

⁴ Европейское региональное бюро ВОЗ, Копенгаген, Дания

Резюме. Для оценки результатов серологических исследований по определению антител классов IgM и IgG к вирусам кори и краснухи методом ИФА в рамках программы элиминации этих инфекций в странах СНГ и России впервые на основании распоряжения Правительства Российской Федерации от 4 апреля 2014 г. №523-р были приготовлены внутренние лабораторные контроли (ВЛК): «Корь-IgM серия 1», «Корь-IgM серия 2», «Рубелла-IgM», «Корь-IgG», «Рубелла-IgG». Согласно паспортным данным, образцы ВЛК представляют собой лиофилизированную сыворотку крови человека, инактивированную прогреванием (56°C в течение 1 ч), стабилизированную с помощью смеси сахарозы (5%) и консерванта ProClin-3000. Препараты не содержат HBsAg, антител к ВГС, *T. pallidum*, ВИЧ-1/2, антиген р24 ВИЧ-1. Целью данного исследования явилась оценка возможности использования серий ВЛК при определении IgM и IgG к вирусам кори и краснухи методом ИФА в тест-системах, используемых лабораторной сетью по надзору за корью/краснухой в странах СНГ и России. При определении специфической активности ВЛК «Корь-IgM серия 1», «Корь-IgM серия 2», «Рубелла-IgM в тест-системах разного формата фирм (Вектор Бест, Эколаб, Siemens) получены статистически различимые результаты ($p < 0,05$). Показатели IgM, полученные при анализе контролей «Корь-IgM с.1» и «Корь-IgM с.2» с помощью «ВектоКорь IgM» были выше значений, полученных с использованием наборов IgEnzygnost® Anti-MeaslesVirus/IgM: $1,33 \pm 0,02$ о.е. против $0,18 \pm 0,01$ о.е. при $p < 0,05$ и $2,83 \pm 0,03$ о.е. против $0,7 \pm 0,02$ о.е. при $p < 0,05$ соответственно. В образцах «Рубелла-IgM» значения ОП IgM в наборах «ИФА-краснуха IgM» также превышали показатели, полученных с помощью IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgM: $2,92 \pm 0,04$ о.е. против $0,88 \pm 0,03$ о.е. при $p < 0,05$. Определена статистическая достоверность и высокая информационная способность моделей зависимости изменений ОП от степени разведений исходного образца ВЛК при подборе параметров рабочих растворов ВЛК для тестов: «capture» и «indirect» формата: коэффициент детерминации (R^2) составляет 97,34 и 99,29, значения критерия Фишера (F) — 219,62 и 556,55, и уровень

Адрес для переписки:

Мамаева Тамара Алексеевна
125212, Россия, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10,
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора.
Тел.: 8 (495) 452-28-26 (служебн.); 8 903 558-10-70 (моб.).
E-mail: 4522826@bk.ru

Contacts:

Tamara A. Mamaeva
125212, Russian Federation, Moscow, Admiral Makarov str., 10,
G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute for Epidemiology
and Microbiology.
Phone: +7 (495) 452-28-26 (office); +7 903 558-10-70 (mobile).
E-mail: 4522826@bk.ru

Библиографическое описание:

Мамаева Т.А., Железнова Н.В., Наумова М.А., Чехляева Т.С.,
Воробейчиков Е.В., Бен Маму М., Алешкин В.А. Совершенствование
контроля качества исследований методом ИФА при лабораторном
подтверждении кори и краснухи на этапе элиминации этих инфекций //
Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7, № 1. С. 69–78. doi: 10.15789/2220-
7619-2017-1-69-78

Citation:

Mamaeva T.A., Zheleznova N.V., Naumova M.A., Chekhlyeva T.S.,
Vorobeychikov E.V., Ben Mamou M., Aleshkin V.A. Improvement of the quality
control of ELISA testing for the laboratory confirmation of measles and
rubella infections at the stage of the measles/rubella elimination program //
Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2017,
vol. 7, no. 1, pp. 69–78. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-69-78

значимости (p) — 0,000 ($< 0,05$) и 0,000 ($< 0,05$) соответственно. Рекомендуются авторами оптимальные рабочие разведения IgM-содержащих образцов ВЛК позволяют исключить влияние нецелевых маркеров (IgG) и обеспечивают, с учетом формата используемой тест-системы, получение искомой величины показателя 2–3 «cut-off» специфического маркера. Кроме того, в работе обсуждается вопрос о количественном содержании целевого маркера в ВЛК и целесообразности проведения совместных с производителями исследований по определению качества наборов для определения специфических маркеров к вирусам кори и краснухи.

Ключевые слова: корь, краснуха, внутренний лабораторный контроль, ИФА, тест-система, специфические IgM- и IgG-антитела.

IMPROVEMENT OF THE QUALITY CONTROL OF ELISA TESTING FOR THE LABORATORY CONFIRMATION OF MEASLES AND RUBELLA INFECTIONS AT THE STAGE OF THE MEASLES/RUBELLA ELIMINATION PROGRAM

Mamaeva T.A.^a, Zheleznova N.V.^b, Naumova M.A.^a, Chekhlyayeva T.S.^a, Vorobeychikov E.V.^c, Ben Mamou M.^c, Aleshkin V.A.^a

^a *Gabrichesky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia*

^b *Pasteur Institute for Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russia*

^c *"Polypharm Ltd", St. Petersburg, Russia*

^d *World Health Organization, Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark*

Abstract. To estimate ELISA serological studies results of IgM and IgG specific Measles and Rubella Viruses (MRV) antibodies detection the "in-house" laboratory controls (ILC) including the specific markers of MRV infections were for the first time commercially prepared by the Vector Best PLC (Russia): "Measles-IgM, ser.1", "Measles-IgM, ser.2", "Rubella-IgM", "Measles-IgG" and "Rubella-IgG". This task was realized under the special Executive Order of the Government of Russia N 523-г, 2014, April, 4. According to passport characteristics ILC samples are the lyophilized human sera, inactivated by heating (1 hour at 56°C) and stabilized by the mixture of sucrose (5%) and ProClin-3000 as the conservation agent. Samples are free of HBs Ag, anti-HVC, T.Pallidum, HIV-1/2, HIV-1Ag p24. The aim of the study was to evaluate the possibility of using the ILC for detection of the MRV IgM and IgG antibodies by ELISA with commercial ELISA kits used in Russia and CIS countries. In the process of detecting the specific activity of "Measles-IgM, ser.1", "Measles-IgM, ser.2" and "Rubella-IgM" by ELISA kits of different formats (Vector Best, EcoLab and Siemens Companies) the statistically different results were received ($p < 0.05$). The optical density (OD) values of IgM in the "Measles-IgM, ser.1" and "Measles-IgM, ser.2" ILC, obtained by ELISA "VectoMeasles IgM" (Vector Best) were significantly higher than those obtained by ELISA IgEnzygnost®Anti-MeaslesVirus/IgM. These values consisted for the ser. 1— 1.33 ± 0.02 o.u. vs. 0.18 ± 0.01 o.u. ($p < 0.05$) and for the ser. 2— 2.83 ± 0.03 o.u. vs. 0.7 ± 0.02 o.e. ($p < 0.05$) in the Vector Best and Siemens ELISA kits correspondently. In the "Rubella-IgM" ILC the OD values of the specific IgM by the "ELISA-Rubella IgM" EcoLab were also higher than those obtained by IgEnzygnost®Anti-RubellaVirus/IgM ELISA kit. These values consisted 2.92 ± 0.04 o.u. vs. 0.88 ± 0.03 o.u. ($p < 0.05$) in EcoLab and Siemens ELISA test-systems correspondently. In the studies when the ILC working solution parameters for ELISA of "capture" and "indirect" formats were evaluated the statistic reliability and high information capability of the mathematic models of the OD value changes vs. the degree of dilution of the initial ILC were determined. For the "capture" and "indirect" formats the determination coefficient (R2) consisted 97.34 and 99.29 correspondently, the Fisher criteria (F) — 219.62 and 556.55 correspondently, the significance level (p) — < 0.05 for both formats. The evaluated optimal working dilution degrees of the IgM-containing ILC make possible to exclude the influence of the IgG antibodies as the non-target marker in the ILC. On the other hand, taking into account the format of the used ELISA kit the optimal working dilution degrees give the possibility to obtain the desirable 2–3 "cut-off" values of the specific marker. Moreover, the issue of the target marker quantitative content in ILC is discussed in the study. In order to improve the quality of the commercial MRV IgM and IgG ELISA test-systems the joint studies with those who develop and produce these systems are desirable to be organized.

Key words: measles, rubella, "in-house" laboratory control, ELISA test-system, specific IgM and IgG antibodies.

Введение

В 2003 г. в рамках реализации программы ВОЗ по элиминации кори/краснухи была создана лабораторная сеть, включающая референс-лабораторию ЕРБ ВОЗ (МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, Москва), 10 национальных и 13 субнациональных лабораторий стран СНГ и России.

На этапе элиминации этих инфекций лабораторное подтверждение диагноза корь/красну-

ха с привлечением современной системы оценки качества исследований и интерпретации результатов приобретает решающее значение. Необходимость совершенствования лабораторных подходов неоднократно обсуждалась на Совещаниях Глобальной лабораторной сети ВОЗ по кори и краснухе и освещалась в литературе [5, 6, 7, 13, 17, 24].

Методы контроля серологических исследований являются частью системы контроля каче-

ства [12], обеспечивающей адекватность функционирования всей работы диагностических лабораторий. Среди аналитических методов, требующих контроля качества исследований, одно из ведущих мест занимает наиболее сложный иммуноферментный метод (ИФА). Выбор критериев оценки пригодности тест-систем зависит от области их применения и может охватывать более широкий спектр показателей, чем те, которые указаны производителем [3, 4, 20]. При проведении качественных и полуколичественных исследований используются разные контрольные материалы: встроенные в тест-системы и традиционные, приготовленные из биологического материала, родственного исследуемым пробам обследуемых пациентов [12]. Несмотря на то, что встроенные контроли дают некоторую степень уверенности в правильности результатов, они не обеспечивают достаточного контроля всех условий, которые могут повлиять на результат. Для большей уверенности в правильности и надежности результатов исследований рекомендуется использовать традиционные контрольные материалы, которые полнее оценивают правильность всей аналитической системы, приемлемость условий окружающей среды (продолжительность инкубации, калибровка оборудования, работа оператора, качество исследуемого образца), а также чувствительность используемых тест-систем [12].

Актуальность настоящей работы определяется отсутствием отечественных разработок по контролю качества исследований методом ИФА при определении серологических маркеров коревой и краснушной инфекций, а также необходимостью получения достоверных результатов, позволяющих оптимизировать мероприятия по элиминации этих инфекций на территории РФ и в странах СНГ.

В настоящее время реализуется национальный план мероприятий по программе «Элиминация кори и краснухи в Российской Федерации» на 2016–2020 гг. На основании распоряжения Правительства Российской Федерации от 4 апреля 2014 г. № 523-р для проведения научно-практических исследований по заданию ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского» на производстве ЗАО «Вектор-Бест» были приготовлены внутренние лабораторные контроли (ВЛК), содержащие антитела к вирусам кори/краснухи и отрицательная донорская сыворотка (ОДС). Материалом для приготовления ВЛК служил пул положительных сывороток, полученный от больных, переболевших корью и краснухой, а также привитых против этих инфекций и доноров. Серии ВЛК были охарактеризованы с помощью тест-систем ИФА производителя («Вектор-Бест»). Согласно паспортным данным, образцы ВЛК и ОДС представляют со-

бой лиофилизированную сыворотку крови человека, инактивированную прогреванием (56°C в течение 1 ч), стабилизированную с помощью смеси сахарозы (5%) и консерванта ProClin-3000. Препараты не содержат HBsAg, антител к ВГС, *T. pallidum*, ВИЧ-1,2, антиген р24 ВИЧ-1.

В связи с тем, что контрольные препараты были охарактеризованы только с помощью тест-систем ИФА производителя, целью данного исследования явилась оценка возможности использования образцов ВЛК при определении IgM и IgG к вирусам кори/краснухи методом ИФА, в тест-системах, используемых лабораторной сетью по надзору за корью/краснухой в странах СНГ и в России.

Для этого было необходимо:

- определить специфическую активность образцов ВЛК, содержащих коревые и краснушные антитела IgM и IgG класса: «Корь-IgM серия 1», «Корь-IgM серия 2», «Рубелла-IgM», «Корь-IgG», «Рубелла-IgG», в тест-системах производителей «SIEMENS», «ЭКОлаб» и «Вектор-Бест»;
- определить разведения образцов ВЛК («Корь-IgM серия 1», «Корь-IgM серия 2», «Рубелла-IgM», «Корь-IgG» и «Рубелла-IgG»), обладающие оптимальной активностью специфических антител к вирусам кори/краснухи (2–3 «cut-off») для тест-систем разного формата («capture», «indirect»);
- определить содержание нецелевых маркеров к вирусам кори/краснухи в исходных образцах ВЛК и разведениях, содержащих 2–3 «cut-off» целевого маркера.

Материалы и методы

Материалом исследования были восстановленные в 200 мкл дистиллированной воды и двукратно разведенные с помощью ОДС (1:2–1:128; 1:5–1:40) образцы ВЛК: «Корь-IgM серия 1», «Корь-IgM серия 2», «Рубелла-IgM», «Корь-IgG», «Рубелла-IgG».

Специфическую активность образцов ВЛК, содержащих антитела к вирусам кори/краснухи, определяли методом ИФА с помощью тест-систем разных производителей и разных форматов:

- «SIEMENS»: IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgM, indirect; IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgG, indirect; IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgM, indirect; IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgG, indirect;
- «ЭКОлаб»: ИФА-краснуха IgM, capture; ИФА-краснуха IgG, indirect;
- «Вектор-Бест»: ВектоКорь IgM, capture; ВектоКорь IgG, indirect; ВектоРубелла-IgG-авидность, indirect;
- «EUROIMMUN»: Avidity: Anti-Measles Viruses ELISA/IgG, indirect.

Оценку специфической активности исходного раствора ВЛК и его разведений осуществляли по величине оптической плотности (ОП) в оптических единицах (о.е.), согласно нормативно-технической документации (инструкции) на используемые тест-системы. Среднюю величину ОП IgM и IgG антител в исходном растворе ВЛК рассчитывали при проведении 24 измерений каждого образца; среднюю величину ОП специфических антител в разведениях ВЛК определяли при исследовании 10 образцов каждого разведения. Для расчета показателя специфической активности антител к вирусам кори/краснухи в исходных образцах и разведениях ВЛК было использовано число «cut-off».

$$\text{Число «cut-off»} = \frac{\text{ОП образца}}{\text{ОПкрит., ОПпор., «cut-off»}},$$

где ОП образца — ОП IgM- или IgG-антител к вирусам кори/краснухи в исходном образце ВЛК или его разведениях; ОПкрит., ОПпор., «cut-off» — пороговые величины в тест-системах разных производителей; ОПкрит. и ОПпор. — представляют собой непостоянную величину ОП встроенного в тест-систему контроля с расчетом для каждой постановки, согласно инструкции производителя («Вектор-Бест», «ЭКОлаб»). Для тест-систем производителя «SIEMENS» значение «cut-off» является величиной постоянной, равной 0,2.

Обоснованием расчета оптимального содержания целевого маркера (2–3 «cut-off») в рабочих разведениях ВЛК, явились рекомендации ВОЗ [24].

Определение достоверности различий между показателями ОП IgM- и IgG-антител к вирусам кори и краснухи в исследуемых образцах ВЛК проводили с помощью метода параметрической статистики — двухвыборочного t-теста (критерий Стьюдента) с различными дисперсиями средних значений ОП [2, 11]. Для оценки результатов изменений ОП специфических антител при различных разведениях исходного образца ВЛК использовали однофакторный регрессионный анализ [8, 15].

Все исследования проводились на базе референс-лаборатории ЕРБ ВОЗ, МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского (Москва).

Результаты

Результаты тестирования образцов ВЛК с помощью тест-систем производителей «Вектор-Бест», «ЭКОлаб» и «SIEMENS» показали, что все образцы ВЛК, содержащие IgM антитела к вирусам кори/краснухи, обладают специфической активностью, которая регистрируется в тест-системах этих производителей (табл. 1).

Показатели ОП IgM, полученные при анализе контролей «Корь-IgM с.1», «Корь-IgM с.2» и «Рубелла-IgM» с помощью тест-систем «Вектор-Корь IgM» и «ИФА-краснуха IgM» были достоверно выше значений ОП, полученных с использованием тест-систем «IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgM» и «IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgM» ($p < 0,05$).

Антитела класса IgM в образце ВЛК «Корь-IgM с.1» были определены в тест-системах «Вектор-Корь IgM» ($1,33 \pm 0,02$) о.е., а результат ОП IgM ($0,18 \pm 0,02$) о.е., полученный с помощью тест-систем «Enzygnost® Anti-measles Virus/IgM», согласно критериям оценки производителя, находился в «серой зоне» при значении «cut-off» = 0,2.

При исследовании образцов ВЛК «Корь-IgG» и «Рубелла-IgG» на содержание антител класса IgG установлено, что показатель ОП высокоavidных ($83,4 \pm 0,95$)% краснушных IgG в исходном растворе ВЛК «Рубелла-IgG», полученный с помощью тест-систем «ЭКОлаб», был достоверно выше значения ОП IgG, которое было определено в тест-системах производителя «SIEMENS»: ($1,45 \pm 0,02$) о.е. против ($0,7 \pm 0,05$) о.е. при $p < 0,05$. Показатель ОП коревых IgG при исследовании образцов ВЛК «Корь-IgG» с помощью тест-систем «Вектор-Бест» был достоверно выше значения, полученного с помощью тест-систем «SIEMENS»: ($0,89 \pm 0,02$) о.е. против ($0,6 \pm 0,03$) о.е. при $p < 0,05$ соответственно.

Подбор разведений контрольного препарата «Корь-IgM с.2», обладающих оптимальной активностью специфических антител к вирусам кори/краснухи (2–3 «cut-off»), проводили с помощью тест-систем производителей «Вектор-Бест» и «SIEMENS». Зависимость изменений ОП специфических антител от степени разведения исходного образца ВЛК была получена с помощью однофакторного регрессионного анализа. В результате моделирования для тест-систем производителей «Вектор-Бест» и «SIEMENS» были получены степенные выражения следующего вида:

$$Y_1 = 4,169 \times X^{-0,719} \quad (1) \quad \text{и} \quad Y_2 = 0,746 \times X^{-0,533} \quad (2),$$

где: Y_1 — значения ОП, полученные при использовании тест-системы «Вектор-Бест», о.е.; Y_2 — значения ОП, полученные при использовании тест-системы «SIEMENS», о.е.; X — значения разведений исходного образца.

Коэффициент детерминации (R^2) для выражения (1) и (2) составляет 97,34 и 99,29 соответственно, значения критерия Фишера (F) для выражений (1) и (2) — 219,62 и 556,55 соответственно, уровень значимости (p) — 0,000 ($< 0,05$) и 0,000 ($< 0,05$) соответственно, что демонстрирует статистическую достоверность и высокую

Таблица 1. Средние значения показателей специфической активности ВЛК в тест-системах для определения коревых и краснушных антител классов IgM и IgG и достоверность их различий

Table 1. The mean values of the ILC ("in-house" laboratory control) specific activity in the ELISA test-systems for the determination of measles and rubella IgM and IgG antibodies and significance of their differences

ВЛК ILC	Тест-система (фирма) Test-system (firm)	Среднее значение ОП (о.е.) Mean value OD (o.u.)	Дисперсия (D) Dispersion (D)	t-статистика t-statistics	t-критическое t-critical	Уровень значимости (p) Significance level (p)
Корь-IgM с.1 Measles-IgM s.1	ВектоКорь IgM (Вектор-Бест) VectoMeasles IgM (Vector-Best)	1,33	0,006	68,51	2,06	5,65E-30 ($< 0,05$)
	IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgM (SIEMENS)	0,18	0,0003			
Корь-IgM с.2 Measles-IgM s.2	ВектоКорь IgM (Вектор-Бест) VectoMeasles IgM (Vector-Best)	2,83	0,02	59,78	2,03	7,85E-30 ($< 0,05$)
	IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgM (SIEMENS)	0,70	0,007			
Рубелла-IgM Rubella-IgM	ИФА-Краснуха IgM (ЭКОлаб) ELISA-Rubella IgM (ECOlab)	2,92	0,0425	41,748	2,026	9,97E-33 ($< 0,05$)
	IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgM (SIEMENS)	0,88	0,0146			
Корь-IgG Measles-IgG	ВектоКорь IgG (Вектор-Бест) VectoMeasles IgG (Vector-Best)	0,89	0,018	9,32	2,030	5,21E-11 ($< 0,05$)
	IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgG (SIEMENS)	0,60	0,005			
Рубелла-IgG Rubella-IgG	ИФА-Краснуха IgG (ЭКОлаб) ELISA-Rubella IgG (ECOlab)	1,45	0,004	30,083	2,023	1,34E-28 ($< 0,05$)
	IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgG (SIEMENS)	0,70	0,011			

информативность полученных степенных моделей. Графическая интерпретация выражений (1) и (2) представлена на рисунке.

Результаты расчетов зависимостей ОП специфических антител от разведений исходного образца ВЛК, представленные на рисунке, показывают, что направленность изменений ОП, полученная с помощью указанных тест-систем, совпадает. Однако выраженность изменений величины ОП образца в изученных тест-системах различна, что согласуется с результатами в таблице 1 и подтверждает различия в чувствительности тест-систем разных форматов. Полученные данные позволили установить, что разведения образцов ВЛК, которые обеспечивают получение рекомендуемой величины (2–3 «cut-off») целевого маркера, составляют для тест-системы производителя «Вектор-Бест» 1:10 (ОП = $0,94 \pm 0,06$) о.е., а для тест-системы «SIEMENS» 1:4 (ОП = $0,4 \pm 0,04$) о.е. Таким же образом были определены разведения образцов ВЛК, содержащие специфические антитела к вирусам кори/краснухи (2–3 «cut-off»), для других видов контрольных препаратов (табл. 2).

С помощью тест-систем «capture» формата «ВектоКорь IgM», «ИФА-краснуха IgM» были определены разведения образцов ВЛК «Корь-IgM с.2» (1:10) и «Рубелла-IgM» (1:8), содержа-

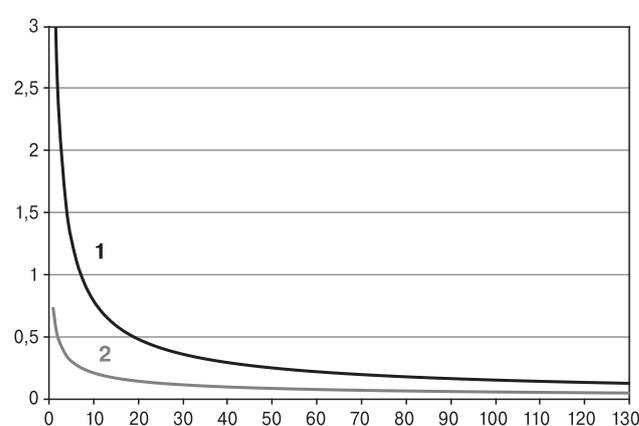


Рисунок. Зависимость изменений оптической плотности ВЛК «Корь IgM с.2» от разведения исходного образца при использовании тест-системы «Вектор-Бест» (линия 1) и тест-системы «SIEMENS» (линия 2)

Figure. The dependence of the optical density changes ILC "Measles IgM с.2" dilution of the original sample using the test-system "Vektor-Best" (line 1) and the test system, "SIEMENS" (line 2)

Ось ординат: оптическая плотность образца, о.е.
Ось абсцисс: значения разведений образца ВЛК.
y-axis: optical density of the sample ILC (o.u.).
x-axis: significance dilution of the sample ILC.

Таблица 2. Результаты определения оптимального разведения ВЛК, содержащего 2–3 «cut-off» целевого маркера к вирусам кори/краснухи, в тестах разного формата

Table 2. The results of the determination of the ILC ("in-house" laboratory control) optimal dilutions containing 2–3 «cut-off» of the target marker to the measles/rubella viruses in the tests of different formats

ВЛК ILC	Рабочее разведение Working dilution	Тест-системы (формат) Test-systems (format)	Количество «cut-off» Quantity of the «cut-off»
Корь-IgM с. 1 Measles-IgM s. 1	1:2 не разв./undil.	ВектоКорь IgM/VectoMeasles IgM IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgM	(capture) (indirect) 2,3 < 1*
Корь-IgM с. 2 Measles-IgM s. 2	1:10 1:4	ВектоКорь IgM/VectoMeasles IgM IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgM	(capture) (indirect) 2,7 2,0
Рубелла-IgM Rubella-IgM	1:8 1:4	ИФА-краснуха IgM/ELISA-rubella IgM IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgM	(capture) (indirect) 2,1 2,3
Корь-IgG Measles-IgG	1:2 не разв./undil.	ВектоКорь IgG/VectoMeasles IgG IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgG	(indirect) (indirect) 2,7 3,0
Рубелла-IgG Rubella-IgG	1:4 не разв./undil.	ИФА-краснуха IgG/ELISA-rubella IgG IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgG	(indirect) (indirect) 2,5 3,0

Примечание. * Значение коревых IgM менее 1 «cut-off» в исходном образце ВЛК «Корь-IgM с.1», не позволяет использовать его в тест-системах «indirect» формата «IgEnzygnost® Anti-MeaslesVirus/IgM» по назначению.

Notes. *Measles IgM value less than 1 «cut-off» in the initial «Measles-IgM series 1» ILC makes impossible to use this ILC for Measles IgM testing by the ELISA test-systems of «indirect» format i.e.«IgEnzygnost® Anti-MeaslesVirus/IgM».

шие 2–3 «cut-off» целевого маркера. Образец ВЛК «Корь-IgM с.1», из-за относительно низкой исходной специфической активности (ОП = 1,33±0,02) о.е, может использоваться в тест-системах «capture» формата «ВектоКорь IgM» в разведении 1:2.

Разведения образцов ВЛК «Корь-IgM с.2» и «Рубелла-IgM», которые обеспечивают получение рекомендуемой величины (2–3 «cut-off») целевого маркера в тест-системах indirect формата («IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgM» и «IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgM») были одинаковыми — 1:4.

Образцы ВЛК Корь-IgG и Рубелла-IgG могут быть использованы в тест-системах «ВектоКорь IgG», «IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgG» и «IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgG» в разведе-

нии 1:2, а разведение 1:4 образцов ВЛК «Рубелла-IgG» в тест-системах indirect формата «ИФА-краснуха IgG», обеспечивает специфическую активность (2–3 «cut-off») целевого маркера.

Как было показано выше, исходным материалом для приготовления образцов ВЛК был пул сывороток крови, полученный от больных, переболевших корью и краснухой и доноров, в связи с чем не исключена вероятность содержания нецелевых маркеров к вирусам кори/краснухи в исходных образцах ВЛК. В результате исследований контрольных препаратов по определению нецелевых маркеров было установлено, что исходные образцы ВЛК «Корь-IgM с.1» «Корь-IgM с.2» не содержат антитела IgM класса к вирусу краснухи, а в образцах «Рубелла-IgM» не выявлены коревые

Таблица 3. Результаты определения нецелевых маркеров (IgG) в разведениях ВЛК, содержащих 2–3 «cut-off» целевых маркеров вирусов кори/краснухи

Table 3. The results of determination of the non-target markers (IgG) in dilutions of "in-house" laboratory controls (ILC) containing 2–3 «cut-off» of the target markers the measles/rubella viruses

ВЛК ILC	Разведения ВЛК, содержащие 2–3 «cut-off» целевого маркера ICL dilutions, containing 2–3 «cut-off» values of the target marker	ВектоКорь IgG VectoMeasles IgG	ИФА-Краснуха IgG ELISA-Rubella IgG
Корь-IgM с.1 Measles-IgM s.1	1:2 (capture) 1:2 (capture)	отрицательный negative	отрицательный negative
Корь-IgM с.2 Measles-IgM s.2	1:4 (indirect) 1:4 (indirect)	положительный positive	отрицательный negative
Корь-IgM с.2 Measles-IgM s.2	1:10 (capture) 1:10 (capture)	отрицательный negative	отрицательный negative
Краснуха-IgM Rubella-IgM	1:4 (indirect) 1:4 (indirect)	отрицательный equivocal	отрицательный equivocal
Краснуха-IgM Rubella-IgM	1:8 (indirect) 1:8 (indirect)	отрицательный negative	отрицательный negative

IgM. Не определены маркеры острой инфекции (IgM) к вирусам кори/краснухи в ВЛК «Корь-IgG» и в «Рубелла-IgG».

Ни краснушные, ни коревые антитела IgG класса в исходном образце ВЛК «Корь-IgM с.1» выявлены не были. В образцах ВЛК «Корь-IgM с.2», помимо коревых антител IgG класса, содержание которых было определено с использованием тест-систем производителей «ВекторБЕСТ» и «SIEMENS»: $(2,7 \pm 0,05)$ о.е. и $(2,1 \pm 0,02)$ о.е. соответственно, были обнаружены краснушные высокоавидные IgG $(79,8 \pm 1,4)\%$, с помощью тест-систем производителей «ЭКОлаб» $(0,65 \pm 0,04)$ о.е. и «SIEMENS» $(0,48 \pm 0,03)$ о.е. В контрольном препарате «Рубелла-IgM», кроме краснушных низкоавидных $(12,0 \pm 0,095)\%$ IgG, определены коревые высокоавидные $(74,0 \pm 1,2)\%$ антитела класса IgG с помощью тест-систем производителей «Вектор-Бест» $(0,54 \pm 0,03)$ о.е. и «SIEMENS» $(0,55 \pm 0,04)$ о.е.

В связи с тем, что исключить отрицательно-го влияния нецелевых IgG-антител на выявление целевых маркеров (IgM) нельзя [24] были проведены исследования по определению IgG-антител к вирусам кори/краснухи в образцах разведений ВЛК, содержащих 2–3 «cut-off» целевого маркера (IgM). Определение нецелевых маркеров (IgG) к вирусам кори/краснухи было проведено с помощью тест-систем «ВектоКорь IgG» и «ИФА-краснуха IgG» (табл. 3).

При исследовании разведений образцов ВЛК «Корь-IgM с.1» (1:2) и «Корь-IgM с.2» (1:4, 1:10) краснушные IgG-антитела выявлены не были, а коревые IgG были определены с помощью тест-системы «ВектоКорь IgG» $(0,92 \pm 0,02)$ о.е. в образце «Корь-IgM с.2» в разведении 1:4. Согласно критериям оценки производителей, показатель ОП IgG-антител к вирусам кори/краснухи при исследовании образцов ВЛК «Рубелла-IgM» находился в «серой зоне» при разведении 1:4 и в «отрицательной зоне» в разведении 1:8.

Обсуждение

Попытка введения контроля качества лабораторных неколичественных исследований при использовании ИФА была осуществлена в 2003–2004 гг. при скрининг-тестировании сывороток на анти-ВИЧ-1. Авторами были предложены контрольные образцы, с помощью которых была дана оценка сходимости и воспроизводимости результатов анализа [1, 16, 18, 21].

Согласно требованиям, установленным нормативными документами ВОЗ, МЗ России, а также организациями по разработке международных стандартов, такими как Международная организация по стандартизации (ISO), надежность лабораторных исследований, про-

водимых методом ИФА, обеспечивается и контролируется путем введения двух взаимосвязанных форм контроля качества: внешней оценки качества (ВОК) и использования внутрилабораторного контроля (ВЛК) [10, 12, 19, 24]. В рамках реализации программы элиминации кори и краснухи с 2003 г. ЕРБ ВОЗ ежегодно осуществляет ВОК лабораторий стран СНГ и России путем аккредитации, одним из критериев которой является решение задачи по расшифровке панели сывороток методом ИФА [5]. Кроме того, каждая лаборатория самостоятельно формирует образцы ВЛК из пула положительных сывороток, который использует далее при серологических исследованиях методом ИФА. Однако такая процедура приготовления ВЛК связана с определенными трудностями при отборе необходимых образцов. С 2015 г. лабораторная сеть России и стран СНГ использует единые образцы ВЛК к вирусам кори/краснухи. Образцы ВЛК относятся к традиционным контрольным препаратам, которые по данным ISO и ВОЗ [12], в отличие от встроенных в тест-системы контролей, полнее оценивают правильность всей аналитической системы.

Полученные нами результаты оценки образцов ВЛК показывают возможность использования образцов ВЛК в тест-системах производителей «SIEMENS», «ЭКОлаб» и «Вектор-Бест». Данные, представленные в таблице 1, свидетельствуют о различной чувствительности используемых тест-систем и необходимости подбора разведений образцов ВЛК, обладающих оптимальной активностью специфических антител к вирусам кори/краснухи (2–3 «cut-off») для проведения контроля качества исследований методом ИФА. При этом значения специфической активности (ОП) IgM и IgG в образцах ВЛК, содержащих 2–3 «cut-off» целевого маркера зависят от особенностей (формата) используемой тест-системы. Это подтверждает известное положение о том, что формат тест-системы, а также природа сорбированных на планшете антигенов, определяют чувствительность тест-систем. Показатели ОП IgM, полученные при анализе образцов ВЛК «Корь-IgM с.1» и «Корь-IgM с.2» с помощью тест-систем «ВектоКорь IgM», были достоверно выше значений, полученных с использованием наборов «IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgM»: $(1,33 \pm 0,02)$ о.е. против $(0,18 \pm 0,01)$ о.е. при $p < 0,05$ и $(2,83 \pm 0,03)$ о.е. против $(0,7 \pm 0,02)$ о.е. при $p < 0,05$. В образцах «Рубелла-IgM» значения ОП IgM в наборах «ИФА-краснуха IgM» также были достоверно выше показателей, полученных с помощью «IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgM»: $(2,92 \pm 0,04)$ о.е. против $(0,88 \pm 0,03)$ о.е. при $p < 0,05$.

Различия, как это было показано авторами настоящей работы ранее [6], а также в работах других авторов [14, 22], связаны с модифика-

циями используемых наборов: тесты «capture» формата («ВектоКорь IgM» и «ИФА-краснуха IgM»), обладают достоверно большей чувствительностью по сравнению с тестами indirect формата: «IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgM» и «IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgM». Как видно из результатов, представленных в таблице 1, ВЛК «IgM-корь с.1» не может быть использован для оценки чувствительности тест-систем indirect формата из-за низкого содержания специфических антител (менее 1 «cut-off»). В то же время, выявление специфических антител одного класса с помощью тест-систем разных форматов свидетельствует о возможности более широкого использования образцов ВЛК в лабораторной практике. Как известно, чувствительность тест-систем определяется не только форматом набора, но и природой антигенов, сорбированных на планшете. Результаты, полученные при тестировании исходных растворов ВЛК «Корь IgG» с помощью тест-систем indirect формата «ВектоКорь IgG» и «IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgG», выявили различия в содержании коревых IgG: $(0,89 \pm 0,02)$ о.е. против $(0,6 \pm 0,03)$ о.е. при $p < 0,05$ соответственно (табл. 1), что, возможно, связано с использованием в тест-системах «Вектор-Бест» рекомбинантных белков, в отличие от лизатных антигенов в тест-системах производителя «SIEMENS».

До настоящего времени нет единого мнения о том, какой должна быть величина целевых и нецелевых маркеров в образцах ВЛК. Однако, как было сказано выше, исключить отрицательного влияния нецелевых IgG-антител на выявление целевых маркеров (IgM) нельзя [24], поэтому были проведены исследования рабочих разведений образцов ВЛК на содержание нецелевых маркеров (коревых и краснушных IgG) в IgM-содержащих образцах ВЛК («Корь-IgM с.1», «Корь-IgM с.2», «Рубелла-IgM»). Полученные результаты показали, что только в одном случае (разведение 1:4 образца ВЛК «Корь-IgM с.2») результат ОП IgG к вирусу кори был расценен как положительный $(0,92 \pm 0,02)$ о.е. — $0,35$ МЕ/мл. Полученные данные, скорее всего, свидетельствуют об отсутствии нецелевых маркеров (IgG) в разведениях образцов ВЛК, содержащих 2–3 «cut-off» целевого маркера что само по себе снимает вопрос об их влиянии на выявление IgM.

Что же касается содержания целевых маркеров в рабочих разведениях ВЛК, то, с одной стороны, по рекомендациям ВОЗ [24], контрольный препарат должен иметь показатель активности целевого маркера 2–3 «cut-off». В то же время другие исследователи в качестве количественного показателя целевого маркера в ВЛК предлагают использовать значения ОП специфических антител в диапазоне 0,5–1,5 о.е. [10]. Однако эти показатели, несмотря на совпадения для некоторых тест-

систем, имеют разные характеристики. Как было отмечено выше, для одних тестов (производитель «SIEMENS») показатель «cut-off» — величина постоянная, равная 0,2; для других (Вектор-Бест, ЭКОлаб) «cut-off» — это величина ОП встроенного контрольного образца, показатели которого могут меняться при каждой новой постановке. Отмечено, что значение «cut-off», как показатель встроенного контроля, снижается на протяжении срока годности тест-системы. При этом «кривая» ВЛК на стандартной карте Леви–Дженингса может отклоняться от среднего значения контрольного препарата за пределы 3-х стандартных отклонений (SD), что является, согласно правилам Вестгарда, критерием недостоверности результатов, полученных методом ИФА при серологических исследованиях [23].

Более рациональным путем, по нашему мнению, идут производители, использующие коэффициенты, корригирующие результаты ИФА с учетом номинального значения встроенного контроля и его показателя текущей постановки при постоянном значении «cut-off». При таком подходе для оценки чувствительности тест-систем содержание целевого маркера может быть менее 2-х «cut-off», близким к границе чувствительности тест-системы [9, 12], что позволит более качественно оценивать используемые тест-системы для ИФА, избегать систематических ошибок и получать более достоверные результаты. Примером положительной и результативной оценки тест-систем могут быть данные исследований зарубежных авторов, проведенных совместно с производителями при определении антител к ВИЧ-1/2 методом ИФА с использованием ВОК лабораторий и отслеживания результатов в режиме «реального времени» [19, 20].

Таким образом, результаты исследования образцов ВЛК к маркерам вируса кори/краснухи, полученные на базе региональной референс-лаборатории ВОЗ (Москва), могут быть использованы для контроля качества исследований методом ИФА, проводимых для определения специфических IgM- и IgG-антител. Эти результаты могут представлять интерес не только для лабораторных работников, но и для фирм-производителей и разработчиков тест-систем при подготовке рекомендаций по интерпретации результатов тестирования методом ИФА.

Выводы

1. С помощью тест-систем разных производителей и форматов (Вектор-Бест, ЭКОлаб, SIEMENS) показаны достоверно значимые различия в оценке специфической активности (ОП) образцов ВЛК, содержащих специфические антитела к вирусам кори/краснухи: «Корь-IgM с.1», «Корь-IgM с.2», «Рубелла-IgM», «Корь-IgG», «Рубелла-IgG».

2. Достоверно значимые различия в показателях ОП целевых маркеров (IgM, IgG) к вирусам кори/краснухи, полученные с использованием тест-систем разных форматов, свидетельствуют о необходимости учета модификаций, используемых тест-систем при расчете рабочего показателя числа «cut-off» и оценки результатов ИФА.
3. Рекомендуемые авторами настоящей работы разведения IgM-содержащих образцов ВЛК, позволяют исключить влияние нецелевых маркеров (IgG) на выявление целевых маркеров (IgM) и обеспечивают получение искомой величины показателя 2–3 «cut-off» специфического маркера.
4. Показана возможность использования образцов ВЛК, содержащих специфические антитела к вирусам кори/краснухи: «Корь-IgM с.1», «Корь-IgM с.2», «Рубелла-IgM», «Корь-IgG», «Рубелла-IgG» в качестве контрольных препаратов при серологических исследованиях в рамках надзора за корью и краснухой в России и странах СНГ методом ИФА.

Список литературы/References

1. Бобкова М.Р., Буравцова Е.В., Калашникова Т.В., Покровский В.В., Суворова З.К. Применение контрольных образцов для внутрилабораторного контроля качества скринингового ИФА на наличие антител к ВИЧ. М., 2004. [Bobkova M.R., Buravtsova E.V., Kalashnikova T.V., Pokrovskiy V.V., Suvorova Z.K. Primenenie kontrol'nykh obraztsov dlya vnutrilaboratornogo kontrolya kachestva skringovogo IFA na nalichie antitel k VICH [The use of control samples for internal quality control screening ELISA for the presence of antibodies to HIV]. Moscow, 2004.]
2. ГОСТ Р ИСО 5725-5-2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. М.: Госстандарт России, 2002. С. 2–3. [GOST R ISO 5725-5-2002. Tochnost' (pravil'nost' i pretsizionnost') metodov i rezul'tatov izmerenii. Chast' 1. М.: Accurancy (correctness and precision) of measurement methods and results. Part 1]. Moscow: Russian State Standard, 2002, pp. 2–3.]
3. ГОСТ Р ИСО 15189-2006. Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности. М.: Стандартинформ, 2007. 34 с. [GOST R ISO 15189-2006. Laboratorii meditsinskie. Chastnye trebovaniya k kachestvu i kompetentnosti [Medical laboratories. Particular requirements for quality and competence]. Moscow: Standartinform, 2007. 34 p.]
4. Мамаева Т.А., Тихонова Н.Т., Наумова М.А., Шульга С.В. Национальная лабораторная сеть Российской Федерации по диагностике кори и ее роль в выполнении программы ВОЗ по ликвидации кори // Здоровье населения и среда обитания. 2007. № 11 (176). С. 4–7. [Mamaeva T.A., Tikhonova N.T., Naumova M.A., Shulga S.V. National laboratory network of the Russian Federation for the diagnosis of measles and its role in the implementation of the program to eliminate measles WHO. Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya = Human Health and the Environment Inhabitation, 2007, no. 11 (176), pp. 4–7. (In Russ.)]
5. Мамаева Т.А., Железнова Н.В., Наумова М.А., Говорухина М.В., Калашникова Н.А., Бичурина М.А., Мукомолов С.Л. Алгоритм лабораторного подтверждения и дифференциальной диагностики коревой инфекции в период элиминации кори в Российской Федерации // Инфекция и иммунитет. 2015. Т. 5, № 1. С.55–62. [Mamaeva T.A., Zheleznova N.V., Naumova M.A., Govoruhina M.V., Kalashnikova N.A., Bichurina M.A., Mukomolov S.L. Algorithm of laboratory confirmation and differential diagnosis of measles infection at the stage of the measles elimination program in Russia. Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity, 2015, vol. 5, no. 1, pp. 55–62. doi: 10.15789/2220-7619-2015-1-55-62 (In Russ.)]
6. Мамаева Т.А., Наумова М.А., Железнова Н.В., Тураева Н.В., Баранов Н.И., Говорухина М.В., Владимировна Н.П., Липская Г.Ю. Итоги работы лабораторной сети по реализации программы ликвидации кори в РФ в 2003–2013 гг. // Здоровье населения и среда обитания. 2015. № 3. С. 51–54 [Mamaeva T.A., Naumova M.A., Zheleznova N.V., Turaeva N.V., Baranov N.I., Govoruhina M.V., Vladimirova N.P., Lipskaya G.Y. Results activities of the laboratory network on measles eradication program in the Russian Federation 2003–2013. Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya = Human Health and the Environment Inhabitation, 2015, no. 3, pp. 51–54. (In Russ.)]
7. Медик В.А., Токмачев М.С., Фишман Б.Б. Статистика в медицине и биологии. Теоретическая статистика: в 2 т. Под ред. Ю.М. Комарова. М.: Медицина, 2000. Т. 1. 412 с. [Medik V.F., Njkmachev M.S., Fishman B.B. Statistika v meditsine i biologii. Teoreticheskaya statistika [Statistics in medicine and biology. Theoretical statistics: in 2 vol.]. Ed. Y.M. Komarov. Moscow: Meditsina, 2000. Vol. 1. 412 p.]
8. Нетесова Е.Г., Ярославцева О.А., Цой Л.В., Жуков В.А., Нетесов С.В. Результаты участия 360 лабораторий России в Программе внешней оценки качества исследований HBsAg // Клиническая лабораторная диагностика. 2007. № 3. С. 47–50. [Netesova I.G., Yaroslavtseva O.A., Tsoy L.V., Zhukov V.A., Netesov S.V. Results of the participation of 360 laboratories of Russia in the external quality assessment program for HBsAg tests. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Clinical Laboratory Diagnostics, 2007, no. 3, pp. 47–50. (In Russ.)]
9. О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения Российской Федерации: Приказ Минздрава России от 07.02.2000 № 45. [O sisteme mer po povysheniyu kachestva klinicheskikh laboratornykh issledovaniy v uchrezhdeniyakh zdravookhraneniya Rossiiskoi Federatsii: Prikaz Minzdrava Rossii ot 07.02.2000 № 45 (On the system of measures to improve the quality of clinical laboratory tests in the Russian Federation health facilities: The Russian Ministry of Health Order from 07.02.2000 No 45)]
10. Ризниченко Г.Ю. Лекции по математическим моделям в биологии. М.–Ижевск: Изд-во РХД, 2011. 560 с. [Riznichenko G.Y. Lektsii po matematicheskim modelyam v biologii [Lectures on mathematical models in biology]. Moscow–Izhevsk: Publishing House RHD, 2011. 560 p.]
11. Система управления качеством в лабораториях. ВОЗ, 2013. 270 с. [Laboratory quality management system. WHO, 2013, 270 p.]

12. Гланц С.А. Медико-биологическая статистика: пер. с англ. Под ред. Ю.А. Данилова. М.: Изд-во «Практика», 1999. 462 с. [Glantz S.A. Mediko-biologicheskaya statistika: per. s angl. Pod red. Yu.A. Danilova. [Biomedical statistics. Ed. Yu.A. Danilov]. Moscow: Publishing House "Practica", 1999. 462 p.]
13. Тихонова Н.Т., Мамаева Т.А., Шульга С.В., Ежлова Е.Б., Лыткина И.Н., Цвиркун О.В., Герасимова А.Г. Лабораторное обеспечение Программы ликвидации эндемичной кори в Российской Федерации // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2011. № 1. С. 36–39. [Tikhonova N.T., Mamaeva T.A., Shul'ga S.V., Ezhlova E.B., Lytkina I.N., Tsvirkun O.V., Gerasimova A.G. Laboratory support of the Program elimination of endemic measles in the Russian Federation. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2011, no. 1, pp. 36–39. (In Russ.)]
14. Arista S., Ferraro D., Cascio A., Vizzi E., Di Stefano R. Detection of IgM antibodies specific for measles virus by capture and indirect enzyme immunoassays. *Res. Virol.*, 1995, vol. 3, no. 146, pp. 225–232.
15. Bang H., Davidjan M. Experimental statistics for biological sciences. *Methods Mol. Biol.*, 2010, no. 620, pp. 3–104. doi: 10.1007/978-1-60761-580-4_1
16. Constantine N.T., Saville R.D., Dax E.M. Retroviral testing and quality assurance: essentials for laboratory diagnosis. *MedMira Laboratories, Halifax, Canada*.
17. Dietz V., Rota J., Izurieta H., Carrasco P., Bellini W. The laboratory confirmation of suspected measles cases in setting of low measles transmission: conclusions from the experience in the American 2004. *Herald of the World Health Organization*, 2004, vol. 82, no. 11, pp. 852–857.
18. Fiebig E.W., Wright D.J., Rawal B.D., Garrett P.E., Schumacher R.T., Peddada L., Heldebrant C., Smith R., Conrad A., Kleinman S.H., Busch M.P. Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors: implications for diagnosis and staging of primary HIV infection. *AIDS*, 2003, no. 17, pp. 1871–1879.
19. International Organization for Standardization. Medical laboratories: particular requirements for quality and competence. ISO 15189. *International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland*, 2007.
20. Kim J., Swantee C., Lee B., Gunning H., Chow A., Sidaway F., Sherlock C., Garceau R., Dimech W., Malloch L.; CAHCLS Laboratories. Identification of performance problems in a commercial human immunodeficiency virus type 1 enzyme immunoassay by multiuser external quality control monitoring and real-time data analysis. *J. Clin. Microbiol.*, 2009, vol. 47, no. 10, pp. 3114–3120. doi: 10.1128/JCM.00892-09
21. Perry K.R., Ramskill S., Eglin R.P., Barbara J.A.J., Parry J.V. Improvement in the performance of HIV screening kits. *Transfus. Med.*, 2008, no. 18, pp. 228–240.
22. Ratnam S., Tipples G., Head C., Fauvel M., Fearon M., Ward B.J. Performance of indirect immunoglobulin M (IgM) serology test and IgM capture assays for laboratory diagnosis of measles. *J. Clin. Microbiol.*, 2000, no. 38, pp. 99–104.
23. Westgard J.O., Barry P.L. Basic QC practices: training in statistical quality control for healthcare laboratories; 2nd ed. *Westgard QC, Inc., Madison, WI 2002*. 26 p.
24. WHO. Manual for the laboratory diagnosis of measles and rubella virus infection; 2nd ed. *Geneva, Switzerland: WHO*, 2006, pp. 58–65.

Авторы:

Мамаева Т.А., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории прикладной иммунохимии ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;
Железнова Н.В., к.б.н., ведущий научный сотрудник, ФБУН Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Наумова М.А., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории прикладной иммунохимии ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;
Чехляева Т.С., младший научный сотрудник лаборатории прикладной иммунохимии ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;
Воробейчиков Е.В., к.м.н., старший научный сотрудник «НПО Полифарм», Санкт-Петербург, Россия.
Бен Маму М., координатор лабораторной сети корь/краснуха Европейское региональное бюро ВОЗ, Копенгаген, Дания;
Алешкин В.А., д.б.н., профессор, член-корреспондент РАЕН, директор ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, Москва, Россия.

Authors:

Mamaeva T.A., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Immunochemistry, G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;
Zheleznova N.V., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Viral Hepatitis, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Naumova M.A., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Immunochemistry, G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;
Chekhlyayeva T.S., Junior Researcher, Laboratory of Immunochemistry, G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;
Vorobeychikov E.V., PhD (Medicine), Senior Researcher, "Polypharm Ltd.", St. Petersburg, Russian Federation;
Ben Mamou M., Measles/Rubella Laboratory Coordinator, Regional Office for Europe World Health Organization, Copenhagen, Denmark;
Aleshkin V.A., Corresponding Member of the RANS, PhD, MD (Biology), Professor, Director of the G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation.