

КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Марданлы С.Г.^{1,2}, Ротанов С.В.^{1,3}, Гашенко Т.Ю.^{1,2}, Попова Т.В.²

РАЗРАБОТКА И АПРОБАЦИЯ НОВОЙ ИММУНОФЕРМЕНТНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К СТОЛБНЯЧНОМУ АНАТОКСИНУ

¹ АО «ЭКОлаб», 142530, г. Электрогорск, Россия;

² ГОУВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет» (ГОУ ВО МО «ГТТУ»), 142611, г. Орехово-Зуево, Россия;

³ Федеральное бюджетное учреждение науки «ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора (ФБУН «ГНЦ ПМБ» Роспотребнадзора), 142279, г.о. Серпухов, п. Оболенск, Россия

Представлена новая тест-система «ИФА-Столбняк-IgG» и результаты ее доклинической апробации с 200 клиническими образцами сыворотки/плазмы крови. По результатам испытаний установлены высокие характеристики клинической чувствительности, специфичности и воспроизводимости нового набора; а по показателю аналитической чувствительности превосходящие полученные показатели с тест-системой сравнения (разрешенной к применению в РФ). Установленная аналитическая чувствительность (предел обнаружения) – не более 0,01 МЕ/мл. Не выявлено потенциально интерферирующего воздействия на результаты ИФА таких эндогенных факторов как: гемоглобин (до 8 мг/мл), билирубин (до 0,3 мг/мл) и триглицериды (до 5 мг/мл). Содержание в исследуемых пробах специфических антител к дифтерийному анатоксину (в концентрации до 10 МЕ/мл) или коклюшному анатоксину (в концентрации до 100 МЕ/мл) также не оказывает конкурирующего влияния на результаты тестирования. Набор реагентов представлен к официальной регистрации в Российской Федерации.

Ключевые слова: столбнячный анатоксин; лабораторная диагностика; ИФА набор реагентов; количественный тест

Для цитирования: Марданлы С.Г., Ротанов С.В., Гашенко Т.Ю., Попова Т.В. Разработка и апробация новой иммуноферментной тест-системы для количественного определения антител к столбнячному анатоксину. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2024; 29(3): 182-187.

DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-3-182-187>

Для корреспонденции: Ротанов Сергей Владимирович, научный консультант отдела перспективных разработок АО «ЭКОлаб», ведущий научный сотрудник отдела информационных технологий ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, 111399, г. Москва, ул. Новогиреевская, 22-52. сл. тел. +7-909-993-21-41; моб. тел. +7-916-690-37-78, e-mail: svrotanov@mail.ru.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено в соответствии с научным производственным планом предприятия при полном финансировании АО «ЭКОлаб».

Поступила 21.07.2024

Принята к печати 13.09.2024

Опубликовано 01.10.2024

Mardanly S.G.^{1,2}, Rotanov S.V.^{1,3}, Gashenko T.Yu.^{1,2}, Popova T.V.²

DEVELOPMENT AND APPROBATION OF A NEW ENZYME IMMUNOASSAY TEST SYSTEM FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF ANTIBODIES TO TETANUS TOXOID

¹ JSC «EKOLab», 142530, Elektrogorsk, Russia;

² State educational institution of higher education of the Moscow region «State Humanitarian University of Technology» (GGTU), 142611, Orekhovo-Zuyevo, Russia;

³ Federal budgetary institution of Science «State Scientific Centre of Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор (FSBI "SSC PMB" of Rosпотребнадзор), 142279, Serpukhov, Obolensk, Russia

A new test system "ELISA-Tetanus-IgG" and the results of its preclinical testing with 200 clinical samples of serum/plasma are presented. According to the test results, high characteristics of clinical sensitivity, specificity and reproducibility of the new set were established; and in terms of analytical sensitivity, they surpassed the obtained indicators with a test comparison system (approved for use in the Russian Federation). The established analytical sensitivity (detection limit) is no more than 0.01 IU/ml. There was no potentially interfering effect on the results of ELISA of such endogenous factors as hemoglobin (up to 8 mg/ml), bilirubin (up to 0.3 mg/ml) and triglycerides (up to 5 mg/ml). The content of specific antibodies to diphtheria toxoid (in concentrations up to 10 IU/ml) or pertussis toxoid (in concentrations up to 100 IU/ml) in the studied samples also does not have a competing effect on the test results. A set of reagents has been submitted for official registration in the Russian Federation.

Key words: tetanus toxoid; laboratory diagnostics; ELISA reagent kit; quantitative test

For citation: Mardanly S.G., Rotanov S.V., Gashenko T.Yu., Popova T.V. Development and approbation of a new enzyme immunoassay test system for the quantitative determination of antibodies to tetanus toxoid. *Epidemiologiya i Infektsionnyye bolezni (Epidemiology and Infectious Diseases)*. 2024; 29(3): 182-187. (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-3-182-187>

For correspondence: Sergey V. Rotanov, Senior Researcher at the Information Technology Department FSBI "State Scientific Center of Applied Microbiology and Biotechnology" of Rosпотребнадзор, Doctor of Medical Sciences; e-mail: svrotanov@mail.ru

Information about authors:

Mardanly S.G., <https://orcid.org/0000-0003-3650-2363>;
Rotanov S.V., <https://orcid.org/0000-0002-3222-1401>;
Гашенко Т.Ю., <https://orcid.org/0000-0001-6768-2251>;
Попова Т.В., <https://orcid.org/0000-0003-0426-3126>.

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

Financing. *The study was carried out in accordance with the scientific production plan of the enterprise with full funding from JSC ECOLab.*

Received 21.07.2024

Accepted 13.09.2024

Published 01.10.2024

Столбняк является опасной острой сапронозной инфекцией, возбудитель которой *Clostridium tetani*, в естественной природе в виде спор сохраняется в неживых объектах (почве, кале животных, воде, на поверхности ржавых инструментов, гвоздей, колючей проволоки). Оптимальные условия для роста и развития столбнячной палочки создаются в кишечнике крупных травоядных животных и человека (которые не страдают от этого), откуда с испражнениями бактерии попадают в почву и превращаются в споры. В связи с высокой устойчивостью спор к высоким температурам и большинству природных почвенных антисептиков, они могут сохраняться во внешней среде годами (более 10 лет). В странах с жарким климатом при высокой температуре среды и влажности столбнячная палочка может вегетировать и в почве, в этих случаях ее инфекционность значительно возрастает. Вопрос о том, какая среда обитания *Clostridium tetani* является первичной (почва или кишечник травоядных животных) до настоящего времени окончательно ещё не решён [1-4]. По данным ряда клиницистов и эпидемиологов высокая обсемененность почвы столбнячной палочкой отмечается на территории животноводческих ферм, в угодьях свободного выпаса животных, вблизи скотомогильников [3-4].

Заражение человека и некоторых животных происходит при травматическом повреждении кожи и глубже расположенных тканей; споры при попадании в рану прорастают только при наличии благоприятных для патогена анаэробных условий. Большую опасность заражения столбняком создают небольшие поверхностные травмы, особенно колотые раны стоп, так как по этому поводу больные редко обращаются за медицинской помощью. В связи со слабой васкуляризацией тканей стопы в ране создаются благоприятные анаэробные условия, что способствует активации спор столбнячной палочки и развитию болезни через 3-14 дней. Неслучайно столбняк называют «болезнью босых ног».

Передача возбудителя столбняка от больного к здоровому человеку или животному никогда не происходит; столбняк не является контагиозным заболеванием. Другими словами, столбняк не представляет опасности для окружающих лиц.

В периоды военных компаний столбняк регистрируется у 1,2-1,4% от общего числа раненых (инфицирование происходит в полевых условиях и при транспортировке), заболевание сопровождается высоким процентом летальности [5].

По данным Всемирной организации здравоохра-

нения (ВОЗ) в странах с низким уровнем развития общественного здравоохранения встречаются «столбняк матерей» и «столбняк новорожденных», обусловленные тем, что роды могут происходить в антисанитарных условиях, и перерезание пуповины совершается нестерильными инструментами. С 1989 года ЮНИСЕФ, ВОЗ и Фонд ООН по народонаселению осуществляют Инициативу по элиминации столбняка, связанного с деторождением (установлен целевой показатель - менее одного случая столбняка на 1000 новорождений в регионе). По состоянию на июль 2023 года эта величина показателя еще не была достигнута в 11 странах мира [6].

В настоящее время в мире от столбняка ежегодно умирает около 160 000 человек. Характерна возрастная структура заболеваемости столбняком: болеют люди крайних возрастов с ослабленным иммунитетом, то есть новорожденные и престарелые [2, 5, 6].

В России и Европе отмечается сезонность заболеваний столбняком: 85 % всех случаев - с мая по сентябрь; при этом заражение, произошедшее летом, протекает более тяжело, так как возбудитель часто попадает в рану в вегетативной форме. По данным официальной статистики в России ежегодно регистрируется в среднем 30-35 случаев столбняка человека, из них 12-14 случаев заканчиваются смертью больного, а остальные - выздоровлением (летальность составляет 40 %); подавляющее большинство заболевших составляют люди старше 65 лет (70 % случаев), проживающие в сельской местности, не привитые от столбняка [1, 2].

Клеточная стенка столбнячной палочки включает О и Н антигены (по Н-антигену выделяют 10 сероваров возбудителя). Все варианты *Clostridium tetani* продуцируют в тканях больного идентичные по антигенным свойствам эндотоксины: тетаноспазмин и тетанолизин. Распространение тетаноспазмина с кровотоком ведет к поражению клеток центральной нервной системы (с выпадением функции тормозных нейронов), что проявляется длительными и одновременными сокращениями (тоническими спазмами) поперечнополосатой мускулатуры. Тетанолизин, в свою очередь, обеспечивает некроз тканей вокруг раны и внутрисосудистое разрушение эритроцитов. Причиной смерти больного часто является паралич сердца или дыхательная недостаточность, асфиксия [1, 2, 5]. Пациенты, которые выживают после заболевания столбняком, приобретают иммунитет, но он не предохраняет от повторного заболевания. Ферменты желудочно-кишечного тракта человека и животных легко расщепляют токсины столбнячной па-

лочки, и они не всасываются через слизистую оболочку кишечника. В связи с этим в случае проглатывания спор или вегетативных форм кишечной палочки они не представляют опасности.

Для обеспечения защиты человека от столбняка ВОЗ рекомендует проводить профилактическую иммунизацию вакцинами, содержащими столбнячный анатоксин. Анатоксин представляет собой фильтрат 7-дневной бульонной культуры возбудителя *Clostridium tetani*, который обрабатывают путем добавления 0,3-0,4% раствора формалина с последующим инкубированием при температуре 37-39°C в течение 21-25 дней до состояния анатоксина [7]. Каждый человек должен получать до 6 вакцинирующих доз (3 первичные дозы начинают вводить в возрасте 1,5 месяцев с интервалом в 4 недели, еще 3 бустерные дозы рекомендуется вводить на втором году жизни, в 4-7 лет и 9-15 лет); перерывы между бустерными дозами должны составлять 4 года.

Оценку напряженности специфического иммунитета в отношении столбнячного анатоксина проводят лабораторными методами (иммуноферментный анализ, ИФА, или реакция пассивной гемагглютинации, РПГА); протективным признается титр противостолбнячных антител более 0,01 Ед/мл (в ИФА) или 1:160 (в РПГА) [8-10]. Однако иммуносерологические методы мало информативны для клинической диагностики столбняка. Экзотоксины *Clostridium tetani* не всегда могут быть выявлены в крови, а определение антител к столбняку может быть результатом ранее проводившейся вакцинации. Нарастание титра антител к токсину при исследовании парных сывороток может быть незначительным, в пределах ошибки лабораторного измерения даже при генерализованной форме столбняка [1-3, 7].

Возбудителя заболевания возможно выявить при гистологическом исследовании тканей, иссеченных при первичной хирургической обработке ран, или микроскопическом исследовании окрашенных препаратов мазков-отпечатков. Культуральная диагностика длительна, что обусловлено медленным ростом возбудителя на искусственных питательных средах.

Цель работы: разработка новой отечественной диагностической иммуноферментной тест-системы для количественного определения в сыворотке/плазме крови иммуноглобулинов класса G к столбнячному анатоксину.

Материалы и методы. Использована стандартная технология разработки нового ИФА набора реагентов для количественного лабораторного определения анализа в крови [11-14] и коммерческие расходные материалы и химические реактивы, используемые для разработки новых наборов реагентов для ИФА, разрешенные к применению в Российской Федерации.

При испытаниях (апробации) нового разработанного набора были применены 3 опытно-производственные серии (1-э, 2-э и 3-э от 2024 г., выпущенные АО «ЭКОлаб»), и наборы реагентов сравнения «Anti-Tetanus Toxoid ELISA (IgG)» для определения IgG к столбнячному анатоксину (производства фирмы «Euroimmun», Германия; РУ № ФСЗ 2010/07324 от 05.07.2010 г.) и набор «Диагностикум столбнячный – РПГА» (фирма ООО «Биохолд», РУ № РЗН 2022/16341 от 19.01.2022 г.).

Были использованы 200 образцов сыворотки крови, заведомо содержавшие (n=148) специфические IgG к столбнячному анатоксину с концентрацией антител $\geq 0,1$ МЕ/мл и не содержавшие (n=52) указанные антитела или содержавшие с концентрацией антител ниже порога определения в ИФА, то есть $<0,1$ МЕ/мл. Образцы крови были получены в соответствии с договорами о безвозмездном сотрудничестве с региональными медицинскими учреждениями Московской области:

- ГБУЗ "Орехово-Зуевская станция переливания крови (лицензия ЛО-50-01-005260 от 02.04.2014 г.);
- ГБУЗ МО «Электрогорская клиническая больница» (лицензия ЛО41-01162-50/00344915 от 19.02.2015 г.);
- Диагностического Центра «El'Clinic» АО «ЭКОлаб» (лицензия № ЛО41-01162-50/00365571 от 08.04.2015 г.);
- ООО «ИНВИТРО» (лицензия ЛО-77-01-012556 от 22 июня 20.06.2016 г.).

Результаты. Разработанный базовый вариант набора реагентов для ИФА, получивший наименование «Тест-система иммуноферментная для определения иммуноглобулинов класса G к столбнячному анатоксину» "ИФА-Столбняк-IgG" по ТУ 21.20.23-375-70423725-2024», включал следующие комплектующие:

- иммуносорбент - разборный 96-луночный полистироловый планшет для иммунологических реакций с плоским дном (ООО «ПКФ Современные Технологии» кат № М-021), лунки которого сенсibilизированы столбнячным анатоксинами (фирма "SigmaAldrich" кат № 582231);
- планшет разборный для предварительного разведения исследуемых образцов (ООО «БИОМЕДИКАЛ», Россия, РУ № ФСР 2010/08676);
- калибровочные пробы (КП1-5), содержащие установленную концентрацию антител к столбнячному анатоксину;
- контрольный положительный образец (КО), содержащий антитела к столбнячному анатоксину в известной концентрации (указывается на этикетке флакона для каждой производственной серии набора) и натрия азид (фирма «PanReac AppliChem», кат № 122712) в концентрации 0,1%; инактивированный;
- конъюгат концентрат моноклональных мышиных антител к IgG человека, меченных пероксидазой хрена (АО «ЭКОлаб» кат № 57.03);
- буферный раствор для предварительного разведения образцов (РПРО), содержащий натрия азид (фирма АО «ЭКОлаб», кат. № 11-254)
- буферный раствор для разведения образцов (РРО), содержащий натрия азид (фирма АО «ЭКОлаб», кат. № 11-239);
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (АО «ЭКОлаб», Россия, кат. № 11-90);
- раствор индикаторный (РИ) - стабилизированный раствор хромогена (тетраметилбензидина) (АО «ЭКОлаб», Россия, кат. № 40.07);
- стоп-реагент – 0,5 моль/л водный раствор кислоты серной (ГОСТ 4204-77);
- наконечники для автоматических пипеток объемом 0,5-250 мкл (ООО "МедЛабСервис; РУ № РЗН 2021/14326);

- клейкая пленка для планшетов с одной насечкой (ООО "Компания Совтех" РУ № РЗН 2022/19122).

Особенностью разработки нового иммуноферментного набора явилась разработка панели калибровочных проб (n=5), содержащих известную концентрацию иммуноглобулинов человека класса G к столбнячному анатоксину: КП₁ - 5,0 МЕ/мл, КП₂ - 1 МЕ/мл, КП₃ - 0,5 МЕ/мл, КП₄ - 0,1 МЕ/мл и КП₅ - 0 МЕ/мл.

Сбор биологического материала (сыворотка/плазма крови человека) должен производиться в соответствии с ГОСТ Р 53079.4-2008 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований». Образцы для исследования хранят не более 7 суток при температуре 2-8 °С. При необходимости длительного хранения, рекомендуется приготовить из них аликвоты и хранить в замороженном состоянии при температуре минус 20-70 °С. С целью обеспечения достоверных результатов исследования рекомендуется использовать только однократное замораживание и оттаивание образцов; размороженные образцы перед исследованием нужно тщательно перемешать. на лабораторном шейкере типа «Вортекс». Для исследования в ИФА с разработанным набором необходимо предоставлять не менее 10 мкл сыворотки / плазмы крови человека, которую перед исследованием разводят буфером в соотношении 1:10 или 1:100. Панель калибраторов и положительный контроль (K+) не разводят, они готовы к применению.

По результатам 2-х стадийной постановки ИФА строят калибровочный график показателей оптической плотности в лунках с калибраторами, по графику определяют содержание определяемого аналита в изучаемых пробах. Срок годности набора – 18 мес.

Аналитические и диагностические характеристики разработанного набора реагентов, установленные в соответствии с ТУ 21.20.23-375-70423725-2024»:

- аналитическая чувствительность (минимально

определяемая концентрация иммуноглобулинов класса G к столбнячному анатоксину) – 0,01 МЕ/мл;

- коэффициент вариации величины содержания иммуноглобулинов класса G к столбнячному анатоксину в одном и том же образце сыворотки/плазмы крови (воспроизводимость) - не более 8 %;

- линейность определения в диапазоне концентраций 0,01–2,0 МЕ/мл составляет 90–110%;

- точность результата (процент открытия) составляет 90-110%

Для интерпретации полученных в ИФА с новым набором результатов определения антител (IgG) к столбнячному анатоксину, в соответствии с современными клиническими рекомендациями были разработаны указания по последующему ведению пациентов:

- при определении в крови <0,1 МЕ/мл (специфический иммунитет у пациента отсутствует) - нужна первичная вакцинация или ревакцинация в зависимости от анамнеза и серологический контроль через 4-8 недель;

- при содержании в крови 0,1-1,0 МЕ/мл (у обследуемого лица имеется неопределенная поствакцинальная защита) – показан серологический мониторинг с последующей ревакцинацией через 1-2 года;

- при определении 1,0-5,0 МЕ/мл (у пациента имеется поствакцинальная защита) - рекомендуется мониторинг и последующая ревакцинация через 2-4 года;

- при концентрации >5,0 МЕ/мл (имеется долговременная поствакцинальная защита) - рекомендуется серологический мониторинг и ревакцинация через 4-8 лет [1, 4, 5, 10].

По результатам аттестационного исследования 200 собранных клинических образцов крови в ИФА с набором реагентов сравнения “Anti-Tetanus Toxoid ELISA (IgG)” (фирмы “Euroimmun”, Германия). было установлено, что 148 образцов содержали антитела к столбнячному анатоксину и 52 образца – их не содержали (табл. 1).

Таблица 1

Результаты аттестации 200 клинических образцов крови по содержанию в них специфических иммуноглобулинов класса G к столбнячному анатоксину в ИФА с наборами: “Anti-Tetanus Toxoid ELISA (IgG)”

Исследованные образцы крови	Результаты аттестационных исследований (n = n в %)					
	<0,1 МЕ/мл	0,1-0,2 МЕ/мл	>0,2-0,5 МЕ/мл	>0,5-1,0 МЕ/мл	>1,0-5,0 МЕ/мл	>5,0 МЕ/мл
все клинические образцы (n=200); из них:	52 (26%)	3 (1,5%)	30 (15%)	30 (15%)	85 (42,5%)	0 (0%)
оценены как не содержавшие IgG к столбнячному анатоксину или содержавшие с концентрацией ниже порога определения (<0,1 МЕ/мл)	52 (26%)					
оценены как содержавшие IgG к столбнячному анатоксину (>0,1 МЕ/мл)					148 (74%)	
Всего					200 (100%)	

Все аттестованные образцы были исследованы в ИФА с 3 опытно-экспериментальными сериями нового разработанного набора реагентов «ИХА-Хелико-антиген» (табл.2).

Сопоставление полученных данных позволило установить, что аналитическая чувствительность нового набора реагентов несколько отличалась от таковой для тест-системы сравнения. С новым ИФА набором

в 10 сыворотках, предварительно аттестованных как «содержавшие IgG к столбнячному анатоксину в концентрации 0,1 - 0,5 МЕ/мл» были получены результаты, свидетельствующие о более низкой концентрации: «<0,1 МЕ/мл». Эти образцы были дополнительно исследованы в РПГА, и с ними были получены титры IgG в интервале 1:10 – 1:80 (ниже защитного порога 1:160), что указывало на более правильное опреде-

Результаты определений специфических иммуноглобулинов класса G к столбнячному анатоксину при исследовании 200 клинических образцов крови в ИФА с наборами с «ИХА-Хелико-антиген»

Содержание специфических IgG в образцах	Количество образцов (n = и в %) с наборами:			
	“Anti-Tetanus Toxoid ELISA (IgG)”	«ИХА-Хелико-антиген»		
		серия 1-э от 2024 г.	серия 2-э от 2024 г.	серия 3-э от 2024 г.
<0,1 МЕ/мл	52 (26%)	62 (31%)	60 (30%)	59 (29,5%)
0,1 - 0,2 МЕ/мл	3 (1,5%)	4 (2%)	5 (2,5%)	6 (3%)
>0,2 - 0,5 МЕ/мл	30 (15%)	9 (4,5%)	10 (5%)	11 (5,5%)
>0,5 - 1,0 МЕ/мл	30 (15%)	17 (8,5%)	16 (8%)	19 (9,5%)
>1,0 - 5,0 МЕ/мл	85 (42,5%)	27 (13,5%)	27 (13,5%)	27 (13,5%)
>5,0 МЕ/мл	0 (0%)	81 (40,5%)	82 (41%)	78 (39%)
0,1...>5,0 МЕ/мл	200 (100%)	200 (100%)	200 (100%)	200 (100%)

ление с новым набором по сравнению с референтным. Кроме того, в интервале концентраций антител «>1,0 - 5,0 МЕ/мл» и «> 5,0 МЕ/мл» аналитическая чувствительность нового набора реагентов была в среднем на 9,5% выше. Это обстоятельство привело к тому, что в ИФА с опытно-производственными сериями нового набора значительно больше было выявлено образцов с высокими показателями концентрации антистолбнячных антител «>5,0 МЕ/мл»; при этом межсерийные вариации количества образцов в каждой подгруппе составили ±0,5-1,5%. Дополнительное тестирование этих образцов в РПГА установило содержание в них противостолбнячных IgG в интервале 1:640 – 1:1280.

Обязательный раздел исследований с новым набором в формате доклинических испытаний обязательно включает изучение возможного интерферирующего влияния на результаты ИФА веществ, которые могут присутствовать в исследуемых пробах. Так, нами были специально приготовлены пробы сыворотки/плазмы крови, не содержавшие и содержавшие разные уровни IgG к столбнячному анатоксину и разные концентрации гемоглобина, билирубина или триглицеридов. Исследование в этих образцов в ИФА в трех повторах с разными опытно-производственными сериями набора «ИФА-Столбняк-IgG» не выявило интерферирующего воздействия содержания гемоглобина в концентрациях до 8 мг/мл, билирубина – до 0,3 мг/мл и триглицеридов – до 5 мг/мл на отрицательные и положительные результаты анализов.

Особая серия испытаний оценивала специфическую активность разработанного иммуносорбента в отношении иммуноглобулинов другой специфической активности. Было доказано, что на результаты исследований не оказывало влияние присутствие в исследуемой пробе антител к дифтерийному анатоксину (в концентрации до 10 МЕ/мл) или коклюшному анатоксину (в концентрации до 100 МЕ/мл) [12-14].

Заключение. Таким образом, при выполнении плановых научных разработок для обеспечения лечебно-профилактических учреждений системы здравоохранения необходимыми диагностическими медицинскими изделиями, позволяющими обеспечить оказание медицинской помощи населению, на предприятии АО «ЭКОлаб» (г. Электрогорск Московской области) был создан новый отечественный набор реагентов «Тест-система иммуноферментная для определения иммуноглобулинов класса G к столбнячному анатоксину «ИФА-Столбняк-IgG» по

ТУ 21.20.23-375-70423725-2024.

Проведенными доклиническими испытаниями установлена его высокая аналитическая чувствительность (0,01 МЕ/мл). Сравнительные испытания клинических образцов с тест-системой сравнения, разрешенной к применению в учреждениях здравоохранения, позволили определить высокие показатели воспроизводимости, клинической чувствительности и специфичности с новым набором, соответствующие, а по чувствительности превосходящие показатели использованной референтной тест-системы. Не установлено интерферирующего действия на результаты исследований с новым набором повышенного содержания в исследуемых пробах гемоглобина (до 8 мг/мл), билирубина (до 0,3 мг/мл) и триглицеридов (до 5 мг/мл). Показано, что присутствие в исследуемых пробах антител к дифтерийному анатоксину (в концентрации до 10 МЕ/мл) или коклюшному анатоксину (в концентрации до 100 МЕ/мл) также не оказывает конкурирующего влияния на результаты тестирования.

Набор реагентов «ИФА-Столбняк-IgG» по ТУ 21.20.23-375-70423725-2024 в настоящее время проходит в установленном законом порядке процедуру государственной регистрации в России. После получения регистрационного удостоверения АО «ЭКОлаб» планирует организовать регулярный серийный выпуск нового медицинского изделия «ИФА-Столбняк-IgG» в плановом порядке.

ЛИТЕРАТУРА

- Намитокоев Х.А. Столбняк (Пособие для студентов, ординаторов, врачей). Майкоп: ФГБУ ВО «МГТУ», Медицинский институт, 2016.
- Веденин Ю.И., Михин И.В., Косивцов О.А. Столбняк: Учебное пособие. Волгоград: Изд-во ВолгГМУ, 2020.
- Prevots R., Sutter R.W., Strebel P.M. et al. Tetanus surveillance - United States, 1989-1990. *Mor. Mortal Wkly. Rep. CDC Surveill. Summ.* 1992; 41; 8(Dec. 11): 1-9.
- Cannarella R., Agbayani E. Tetanus: a case report, epidemiology review and recommendations for immunization compliance. *W. V. Med. J.* 2001; 97; 5(Sep.-Oct.): 253-256.
- Мальцева Л.А., Мосенцев Н.Ф., Мальцев И.А., Мищенко Е.А. Столбняк: обзор современных рекомендаций по эпидемиологии, этиологии, патогенезу, клинике, интенсивной терапии в период войн и в мирное время. *Медицина неотложных состояний.* 2017; 82 (3): 86-91.
- Глобальный веб-сайт ВОЗ: Столбняк (Информационный бюллетень). Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news-room/fact->

- sheets/detail/tetanus (in Russ.) (Available 14.09.24).
7. Мельник Н.В., Ельников В.В., Литенкова И.Ю. и др. Патент на изобретение: Способ получения столбнячного анатоксина. RU 2 797 208 C1. Заявка: 2021137953 от 21.12.2021. Опубликовано 31.05.2023. Бюллетень №16.
 8. Alagappan K. Tetanus: An Over Vilco. *Hospital Physician*. 2001; 8: 23-26.
 9. Pisco T.V., Azzopardi C.M. Tetanus: Forgiven, Not Forgotten. *Malta Medical Journal*. 2004; 4; 16: 34-40.
 10. Tetanus. Control Guideline for Public Health Units. Last updated: 01 July 2012.
 11. Марданлы С. Г., Симонов В. В., Авдонина А. С. Производство наборов реагентов для клинической лабораторной диагностики иммунохимическими методами. Орехово-Зуево: ГОУ ВО МО «ГГТУ», 2017. ISBN 978-5-87471-255-6.
 12. Марданлы С.Г., Самосадова П.В., Токмакова Ж.А. Дополнительная оценка диагностической эффективности новой иммуноферментной тест-системы для выявления антител к дифтерийному экзотоксину. *Известия ГГТУ. Медицина, фармация*. 2023; 16; 4: 12-15. DOI: <https://doi.org/10.51620/2687-1521-2023-4-16-12-15>.
 - Summ. 1992; 41; 8 (Dec. 11): 1-9.
 4. Cannarella R., Agbayani E. Tetanus: a case report, epidemiology review and recommendations for immunization compliance. *W. V. Med. J.* 2001; 97; 5 (Sep.-Oct.): 253-256.
 5. Maltseva L.A., Mosentsev N.F., Maltsev I.A., Mishchenko E.A. Tetanus: a review of modern recommendations on epidemiology, etiology, pathogenesis, clinic, intensive care during wars and in peacetime. *Medicina neotlozhnyh sostoyanij*. 2017; 82 (3): 86-91. (in Russ.)
 6. WHO global website: Tetanus (Newsletter). Access mode: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/tetanus> (in Russ.) (Available 14.09.24).
 7. Melnik N.V., Yelnikov V.V., Litenkova I.Yu., et al. Patent for the invention: A method for producing tetanus toxoid. RU 2 797 208 C1. Application: 2021137953 dated 12.21.2021. Published on 05.31.2023. Bulletin No. 16. (in Russ.)
 8. Alagappan K. Tetanus: An Over Vilco. *Hospital Physician*. 2001; 8: 23-26.
 9. Pisco T.V., Azzopardi C.M. Tetanus: Forgiven, Not Forgotten. *Malta Medical Journal*. 2004; 4; 16: 34-40.
 10. Tetanus. Control Guideline for Public Health Units. Last updated: 01.07.2012.
 11. Mardanly S.G., Simonov V.V., Avdonina A.S. Production of reagent kits for clinical laboratory diagnostics by immunochemical methods. - Orekhovo-Zuyev: SEI VO MO "GGTU", 2017. ISBN 978-5-87471-255-6. (in Russ.)
 12. Mardanly S.G., Samosadova P.V., Tokmakova J.A. Additional assessment of the diagnostic effectiveness of a new enzyme immunoassay system for the detection of antibodies to diphtheria exotoxin. *Izvestiya GGTU. Meditsina, farmatsiya*. 2023; 16; 4: 12-15. DOI: <https://doi.org/10.51620/2687-1521-2023-4-16-12-15>. (in Russ.)

REFERENCES

1. Namitokov N.A. Tetanus (Handbook for students, residents, doctors). Maykop: FGBI IN "MGTU", Medicinskij institut, 2016. (in Russ.)
2. Vedenin Yu.I., Mikhin I.V., Kosivtsov O.A. Tetanus: A textbook. Volgograd: Edition of VolgGMU, 2020. (in Russ.)
3. Prevots R., Sutter R.W., Strebel P.M. et al. Tetanus surveillance - United States, 1989-1990. *Mor. Mortal Wkly. Rep. CDC Surveill.*