

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-81-86

УДК 616.98:578.833.25

А.Г. Полтавченко, В.А. Терновой, А.В. Ерш, П.В. Филатов, Р.Б. Баяндин, А.О. Семенцова,  
Л.И. Еремеева, В.Б. Локтев, А.П. Агафонов

## ВЫЯВЛЕНИЕ МАРКЕРОВ ЛИХОРАДКИ ДЕНГЕ МЕТОДОМ ДОТ-ИММУНОАНАЛИЗА

ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», п. Кольцово, Российская Федерация

**Цель.** Разработка диагностического набора для выявления маркеров лихорадки денге на всех стадиях заболевания. **Материалы и методы.** В сыворотках крови от пациентов с подозрением на лихорадку денге проводили выявление антигена NS1 и специфических IgM и IgG методом иммуно-хроматографии, методом дот-иммуноанализа, иммуноферментного анализа, с использованием коммерческих тест-систем, а также экспериментальным набором «Денге-спектр». **Результаты и обсуждение.** Разработан диагностический набор для выявления маркеров лихорадки денге, основанный на механизме одновременного дифференциального выявления белка NS1 возбудителя и антител класса IgM и класса IgG с образованием специфических комплексов между маркерами из исследуемого образца и известными иммунореагентами захвата, в определенном порядке дискретно зафиксированными на плотной подложке. Установлено, что эффективное выявление специфических IgG и IgM к вирусу денге может быть осуществлено по схеме, при которой захват IgG производится на суммарном антигене вируса с детекцией с помощью меченных антител против IgG человека, а выявление IgM осуществляется захватом на антителах против IgM человека с детекцией меченым суммарным вирусным антигеном. Выявление белка NS1 вируса денге может быть выполнено с использованием подложки с иммобилизованными моноклональными антителами к NS1 и иммунозола золота, связанного с антителами к NS1. При такой постановке дот-анализа лимит определения рекомбинантного аналога белка NS1 составил 100 нг/мл. Сравнительные испытания набора на панели клинических образцов показали хорошее совпадение результатов с данными, полученными с использованием импортных коммерческих тестов. Разработанный набор может найти применение для скрининга клинических образцов, как в лабораторных, так и в полевых условиях.

**Ключевые слова:** вирус денге, дот-иммуноанализ, иммуноферментный анализ.

Корреспондирующий автор: Терновой Владимир Александрович, e-mail: tern@vector.nsc.ru.

Для цитирования: Полтавченко А.Г., Терновой В.А., Ерш А.В., Филатов П.В., Баяндин Р.Б., Семенцова А.О., Еремеева Л.И., Локтев В.Б., Агафонов А.П. Выявление маркеров лихорадки денге методом ДОТ-иммуноанализа. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 3:81–86. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-81-86

A.G. Poltavchenko, V.A. Ternovoi, A.V. Eorsh, P.V. Filatov, R.B. Bayandin, A.O. Sementsova,  
L.I. Eremeeva, V.B. Loktev, A.P. Agafonov

## Identification of Dengue Fever Markers by Dot Immunoassay

State Scientific Centre of Virology and Biotechnology “Vector”, Kol'tsovo, Russian Federation

**Abstract. The aim.** Development of diagnostic kit for identifying markers of dengue fever at all stages of the disease. **Materials and methods.** In blood serum from patients with suspected dengue fever, NS1 antigen and specific IgM and IgG were detected by immune chromatography, dot immunoassay, enzyme-linked immunosorbent assay, using commercial test systems, as well as the “Dengue Spectrum” experimental kit. **Results and discussion.** A diagnostic kit has been developed for the detection of dengue fever markers, based on the mechanism of simultaneous differential detection of the agent NS1 protein and IgM and IgG class antibodies with the formation of specific complexes between markers from the test sample and known capture immune reagents, in a certain order, discretely fixed on a dense substrate. It was found that the effective detection of specific IgG and IgM to dengue virus can be carried out according to the scheme in which IgG is captured on the total antigen of the virus with detection using labeled anti-human IgG antibodies, and IgM is detected by capture on anti-human IgM antibodies with detection using total viral antigen. Detection of dengue virus NS1 protein can be performed using a substrate with immobilized monoclonal antibodies to NS1 and a gold immune sol bound to antibodies against NS1. This protocol of the dot analysis provides the limit for determining the recombinant analogue of the NS1 protein equal to 100 ng/ml. Comparative testing of the kit against the panel of clinical samples showed a good agreement between the results and the data obtained using imported commercial tests. The developed kit can be used for screening clinical samples, both in laboratory and in the field.

**Key words:** dengue virus, dot immunoassay, enzyme-linked immunosorbent assay.

**Conflict of interest:** The authors declare no conflict of interest.

Corresponding author: Vladimir A. Ternovoi, e-mail: tern@vector.nsc.ru.

Citation: Poltavchenko A.G., Ternovoi V.A., Eorsh A.V., Filatov P.V., Bayandin R.B., Sementsova A.O., Eremeeva L.I., Loktev V.B., Agafonov A.P. Identification of Dengue Fever Markers by Dot Immunoassay. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; 3:81–86. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-81-86

Received 17.09.19. Revised 20.09.19. Accepted 23.09.19.

Ternovoi V.A., <http://orcid.org/0000-0003-1275-171X>

Bayandin R.B., <https://orcid.org/0000-0002-6460-0828>

Sementsova A.O., <https://orcid.org/0000-0002-7188-5948>

Eremeeva L.I., <http://orcid.org/0000-0003-1675-1397>

Loktev V.B., <http://orcid.org/0000-0002-0229-321X>

Agafonov A.P., <http://orcid.org/0000-0003-2577-0434>

В настоящее время, в связи с ростом объема международного туризма и участвовавшими посещениями гражданами России стран, расположенных в тропических и субтропических поясах земного шара, все чаще встречаются завозные случаи заболеваний, эндемичных для этих регионов. Одно из первых мест среди наиболее часто регистрируемых завозных заболеваний занимает лихорадка денге (ЛД) – острое вирусное заболевание, возбудителем которого является вирус семейства *Togaviridae* рода *Flavivirus*.

Денге является наиболее быстро распространяющимся переносимым комарами вирусным заболеванием в мире. За последние 50 лет заболеваемость увеличилась в 30 раз с ростом географической экспансии в новые страны, а в настоящее десятилетие – из городских биотопов в сельские [1, 2]. Ежегодно регистрируется более 50 млн случаев заражения лихорадкой денге, 2,5 млрд человек живут в эндемичных по денге странах [3]. Особое значение имеет резолюция WHA58.3 Всемирной ассамблеи здравоохранения о пересмотре Международных медико-санитарных правил, в которых предусмотрено включение лихорадки денге в перечень заболеваний, способных вызвать чрезвычайные ситуации международного значения с последствиями для безопасности здоровья населения [4].

Источником инфекции служат больной человек, обезьяны и, возможно, летучие мыши, а человеку инфекция передается комарами *Aedes aegypti* [5]. Лихорадка денге распространена в тропических и субтропических районах и встречается в странах Южной и Юго-Восточной Азии, Океании, Африки и бассейна Карибского моря. Рост числа российских граждан, посещающих эти страны, увеличивает риск появления завозных случаев заболевания лихорадкой денге на территории Российской Федерации [6–10]. Более того, комары *A. aegypti*, *A. albopictus* и *A. koreicus*, являющиеся основными векторами для вируса денге, встречаются в регионах России, примыкающих к Черному морю [6]. Наличие комаров-переносчиков может способствовать формированию локальных природных очагов лихорадки денге в южных регионах РФ.

Вирус денге (Dengue virus – DENV) содержит геномную РНК положительной полярности, размером 11 тыс. пар нуклеотидов (п.н.), которая кодирует один полипротеин, расщепляющийся посттрансляционно на три структурных белка (NP, гликопротеин и ргМ) и семь неструктурных (NS) белков (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B и NS5) [11, 12]. Структурные белки определяют вирусные серотипы и обеспечивают прикрепление и проникновение вируса в клетку [11]. Неструктурные белки необходимы для репликации вируса DENV. DENV заражают иммунные и дендритные клетки, а также эндотелиальные клетки человека [13–15].

Заболевание протекает с общими для многих инфекционных заболеваний симптомами, поэтому для постановки диагноза необходимы лабораторные

исследования. Серологическая диагностика, основанная на выявлении антигенов и специфических иммуноглобулинов (маркеров) в сыворотке крови больных позволяет наиболее оперативно установить диагноз и дифференцировать первичную и повторную инфекцию. Для ЛД, как и для многих других инфекционных заболеваний, характерны периоды в течение которых серологические маркеры заболевания сменяют друг друга. И если белки NS1 и IgM указывают на острое заболевание, то наличие IgG свидетельствует о поздней стадии заболевания, повторном заражении или о ранее перенесенной инфекции.

В России зарегистрированы иммуноферментные системы зарубежного производства: «Anti-Dengue virus ELISA (IgM)», «Anti-Dengue virus ELISA (IgG)» фирмы Euroimmun (Германия) [16] и «Dengue ELISA G/IgM» производства Viracell Microbiologists (Испания) для ИФА одиночных маркеров ЛД. Иммунохроматографические (lateral-flow immunoassay) системы «Dengue NS1Ag + Ab Combo system» и «Dengue NS1», «Dengue IgM», «Dengue IgG» (Республика Корея), ProDetect™ Dengue IgG/IgM Rapid Test, Medical Innovation Ventures Sdn. Bhd (Малайзия) рассчитанные на выявление всех трех маркеров ЛД, а также наборы с визуальным учетом результатов «ImmunoComb® II Dengue IgM&IgG BiSpot» (Израиль), позволяющие одновременно определять наличие IgM и IgG к ЛД методом дот-иммуноанализа. Зарегистрированных отечественных тест-систем для иммуноферментной экспресс-диагностики денге нет.

**Целью** работы явилась разработка диагностического набора для выявления маркеров лихорадки денге на всех стадиях заболевания. В статье описан экспериментальный набор для дот-иммуноанализа денге, позволяющий в одном образце одновременно выявлять антиген NS1 и антитела IgM и IgG к денге и пригодный для применения как в лабораторных, так и в полевых условиях.

## Материалы и методы

**Образцы сывороток крови человека.** Сыворотки крови от пациентов, заболевших во время возвращения из стран Юго-Восточной и Центральной Азии, Африки, Карибских островов и Ближнего Востока, госпитализированных с подозрением на лихорадку денге, поступили в период с июня 2012 г. по июнь 2018 г.

**Иммунореагенты:** Anti-Dengue NS1 monoclonal antibody (BRJNS1S101 (a/NS101), BRCNS1S103 (a/NS103), BRCNS1S104 (a/NS104) и BRCNS1S105 (a/NS105)); Dengue NS1 control (GRNDEN201J (NS1)); Anti-Human IgM monoclonal antibody (BECIGMC101 (a/IgM<sub>1</sub>), BECIGMC102J (a/IgM<sub>2</sub>)); Anti-Human IgG monoclonal antibody (BRJIGGI102J (a/IgG<sub>1</sub>)); IgM native antigen (BBNIGMN101J (IgM)) и IgG Human native antigen (BBNIGGN102J (IgG)) фирмы Fapion (Китай); Monoclonal Anti-Human IgG<sub>2</sub> (Fc specific)

antibody produced in mouse, Clone 6001 (a/IgG<sub>2</sub>) фирмы Sigma-Aldrich (США).

**Рекомбинантные белки вируса денге типов I-IV** (AgD1, AgD2, AgD3, AgD4) получали с использованием иммунодоминантной области третьего домена гликопротеина Е. Размер гликопротеина Е для генотипов вируса Денге 1,2,4 составил 1485 п.н. (495 аминокислотных остатков (а.а.)), для генотипа 3 – 1479 п.н. (493 а.а.). Данная область включала в себя третий домен вируса с 883 по 1182 п.н. Рекомбинантный белок NS1 составил 389 а.а. Все Е-белки и NS1 содержали на N-конце полигистидиновый тракт.

**Тесты сравнения.** В сыворотках крови пациентов проводили выявление антигена NS1, специфических IgM и IgG методом иммунохроматографии (ИХА) с применением набора «Dengue NS1Ag + Ab Combo system» (Республика Корея); методом дот-анализа с использованием набора «ImmunoComb® II Dengue IgM/IgG Bispot» (Израиль); а также методом иммуноферментного анализа (ИФА) при помощи тест-системы «Dengue ELISA IgG/IgM» (Испания).

**Соблюдение этических норм.** Участие пациентов в исследовании проводилось в соответствии с их информированными согласиями, оформленными в медицинских учреждениях. При проведении лабораторных исследований, все пробы подвергались кодированию. Исследования выполнялись в соответствии с приказами № 88 от 17.03.2008 г. и № 1116 от 01.12.2017 г. Роспотребнадзора.

**Экспериментальный набор «Денге-спектр»** (Российская Федерация) для дот-иммуноанализа маркеров лихорадки денге включал в себя 4 блока белковых матриц, 4 аналитические ванны (Патенты RUS 2517035 от 13.02.2013 г. и RUS 2495434 от 09.12.2011 г.), флаконы с бидистиллированной водой и с жидким компонентом проявляющей системы (рисунок, А). Иммунореагенты захвата, разведенные в 0,005 М боратном буферном растворе (рН 6,0) до концентрации 10–20 мкг/мл, наносили на лицевую сторону [17] каждой матрицы отдельными пятнами

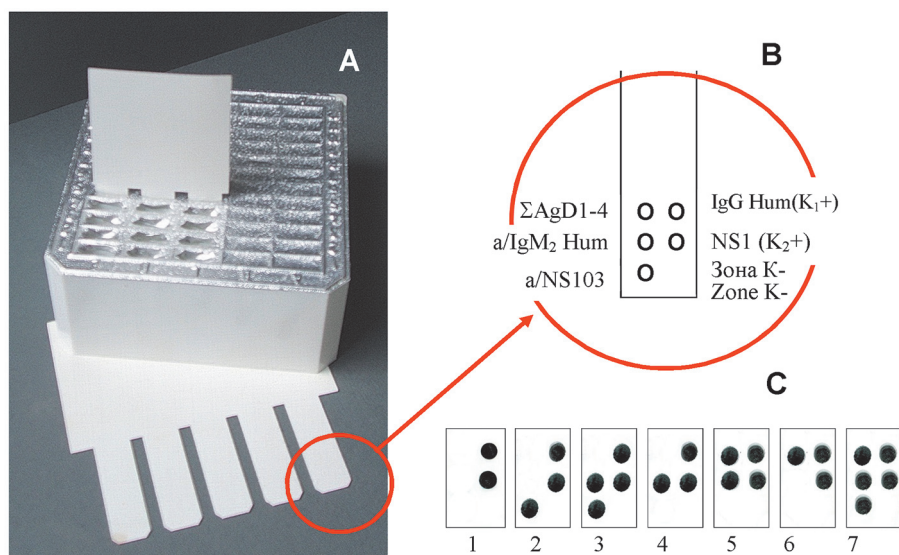
2,5 мм в диаметре по схеме, приведенной на рисунке В. Получение золей золота (15–20 нм) проводили, как описано ранее [18].

**Дот-иммуноанализ** выполняли при температуре 20–25 °С в аналитических ваннах с объемом рабочих растворов в ячейках 0,3–0,4 мл. Иммуночипы погружали в первый ряд ячеек и инкубировали 25 мин, а затем последовательно перемещали по следующим рядам с периодами инкубации: ряды 2, 3, 5 и 6 – по 2 мин; ряды 7, 8, 10, 11 и 12 – по 1 мин; ряд 4 – 20 мин и ряд 9 – 7 мин. Непосредственно перед внесением матриц в ячейки ряда 9 в них добавляли по 200 мкл жидкого компонента физического проявителя. После выемки из последней ячейки иммуночипы подсушивали на воздухе и визуально учитывали результаты анализа по наличию или отсутствию темных пятен в местах нанесения соответствующих антигенов (рисунок, В).

## Результаты и обсуждение

Механизм одновременного дифференциального выявления в исследуемых образцах специфических иммунологических маркеров ЛД – белка NS1 возбудителя и антител класса IgM и класса IgG, заключается в образовании специфических комплексов между маркерами из исследуемого образца и известными иммунореагентами захвата, в определенном порядке дискретно зафиксированными на плотной подложке. Образовавшиеся комплексы затем обнаруживаются с помощью иммунореагентов детекции, связанных с легко выявляемой меткой – каталитически активными золями золота.

Известны системы дот-иммуноанализа, позволяющие по одному образцу одновременно определять наличие IgM и IgG к ЛД. Например, в наборе «ImmunoComb® II Dengue IgM&IgG BiSpot» (Израиль) [9] в качестве реагентов захвата используются антитела против IgM и IgG человека, которые отдельными пятнами нанесены на пластмассовую подложку и позволяют выделять весь пул соответ-



Основные элементы диагностического набора «Денге-спектр» (А), схема нанесения реагентов захвата на подложку белковой матрицы (В) и возможные варианты результатов анализа (С): 1 – отрицательный, 2 – положительный по NS1, 3 – положительный по NS1 и IgM, 4 – положительный по IgM, 5 – положительный по IgM и IgG, 6 – положительный по IgG, 7 – положительный по всем маркерам ЛД.  $\Sigma AgD1-4$  – смесь из равных концентраций антигенов вируса денге типов I–IV

The main elements of the «Dengue Spectrum» diagnostic kit (A), the scheme for application of capture reagents on the protein matrix underlay (B) and possible options for the analysis results (C): 1 – negative, 2 – positive for NS1, 3 – positive for NS1 and IgM, 4 – positive for IgM, 5 – positive for IgM and IgG, 6 – positive for IgG, 7 – positive for all dengue fever markers.  $\Sigma AgD1-4$  – a mixture of equal concentrations of dengue virus antigens of types I–IV



ствующих антител из образца. Но если выявление специфических IgM при таком подходе может быть эффективным, поскольку в общем спектре IgM в образце антитела к текущей острой инфекции будут преобладать или составлять значительную долю, то в противоположность этому, специфические IgG составляют ничтожную долю на общем фоне суммарных IgG, приобретенных в результате перенесенных заболеваний или вакцинации. Поэтому в наборе используются последовательные длительные операции обработки подложки биотинилированными антигенами вируса денге, а затем конъюгатом авидина с щелочной фосфатазой, увеличивающих время анализа до 2 ч. При использовании в качестве реагента захвата вирусных антигенов теряется возможность дифференциации IgG и IgM на одной подложке.

Более рациональным вариантом одновременно раздельного выявления специфических IgG и IgM представляется схема, при которой захват IgG производится на суммарном антигене вируса денге с их детекцией с помощью меченных антител против IgG человека, а выявление IgM осуществляется захватом на антителах против IgM человека с детекцией меченым суммарным вирусным антигеном (рисунок, B).

Для выбора пары антител наиболее эффективно выявляющих белок NS1 подложки с иммобилизованными моноклональными антителами a/NS101, a/NS103, a/NS104 и a/NS105 обрабатывали иммунозолями Au- NS101, Au- NS103, Au- NS104, Au- NS105 в течение 30 мин и проявляли. При такой постановке дот-анализа лимит определения рекомбинантного аналога белка NS1 составил 100 нг/мл.

Установлено, что использованные в качестве реагента захвата антитела a/IgM<sub>1</sub> провоцируют мощные оптические сигналы при прямом взаимодействии со всеми используемыми конъюгатами, а Au-a/IgG<sub>1</sub> напрямую реагирует с антителами a/NS103 и суммарным антигеном  $\Sigma$ AgD1-3<sub>1</sub> на подложке. Применение альтернативных вариантов реагента захвата на подложке (a/IgM<sub>2</sub> и реагента детекции в конъюгате a/IgG<sub>2</sub>) устраняет перекрестные реакции и обеспечивает эффективное выявление всех маркеров ЛД в исследуемом образце.

Наиболее эффективное дифференциальное выявление специфических IgG и IgM осуществлено

по схеме, при которой захват IgG производился на суммарном антигене вируса денге с детекцией с помощью меченных антител a/IgG<sub>2</sub> человека, а выявление IgM осуществлялось захватом на антителах a/IgM<sub>2</sub> человека с детекцией меченым суммарным вирусным антигеном. Выявление белка NS1 вируса денге выполнено с использованием подложки с иммобилизованными моноклональными антителами a/NS103 и иммунозоля золота, связанного с антителами a/NS101.

Таким образом, создан экспериментальный набор, включающий белковые матрицы с иммобилизованными по схеме (рисунок, B) реагентами захвата: суммарным антигеном вирусов денге всех типов –  $\Sigma$ AgD1-4, антителами против иммуноглобулинов M человека – a/IgM<sub>2</sub> Hum, антителами против белка NS1 – a/NS103, а также двумя контролями работоспособности теста – IgG человека и белком NS1 вируса денге; а также сложный конъюгат, представленный смесью равных концентраций иммунозолой: Au-AgD1, Au-AgD2, Au-AgD3, Au-AgD4, Au-a/NS101 и Au-a/IgG<sub>2</sub>.

**Испытания экспериментального набора.** Образцы сывороток от пациентов [1], заболевших во время или сразу после возвращения из эндемичных по ЛД регионов, на разных сроках заболевания, исследовали с использованием разработанного экспериментального набора «Денге-спектр» и доступных коммерческих тестов. Результаты сравнительных испытаний приведены в таблице. Используя критерий Мак-Немара для анализа связанных измерений с помощью дихотомической переменной, были рассчитаны значения Хи-квадрат для полученных данных измерения положительных и отрицательных образцов для маркеров NS1, IgM и IgG.

Поскольку рассчитанные значения критерия в сравнительных испытаниях различных тест-систем (для NS1  $p=0,8148$ ,  $p_y=0,9214$  и  $p=0,7526$ ,  $p_y=0,8550$ , для IgM  $p=0,1566$ ,  $p_y=0,1955$  и  $p=0,2411$ ,  $p_y=0,2928$ , для IgG  $p=0,6838$ ,  $p_y=0,7986$  и  $p=0,7948$ ,  $p_y=0,9199$ ) оказались больше чем 0,05, мы не можем отвергнуть нулевую гипотезу об отсутствии различий между ними на выбранном уровне значимости.

Лихорадка денге является наиболее распространенным арбовирусом в мире и, не смотря на то, что

**Результаты сравнительного исследования клинических образцов с использованием разработанного экспериментального набора и коммерческих тестов**

**The results of a comparative study of clinical samples using the developed experimental set and commercial tests**

Тест-система	NS1			IgM			IgG			Отр.
	+/%	-/%	n	+/%	-/%	n	+/%	-/%	n	
«Денге-спектр» («ФБУН ГНЦ ВБ Вектор», Российская Федерация) «Dengue Spectrum» manufactured by the «Vector», Russian Federation	35/33	71/67	106	57/54	41/52	106	26/17	130/83	156	43
«Dengue NS1Ag + Ab Combo system» («Standard Diagnostics, Inc», Республика Корея / Korea)	38/35	70/65	108	41/37	67/63	108	24/15	139/85	163	46
«Dengue ELISA IgG/IgM» («Viracell Microbiologists», Испания / Spain)	42/36	75/64	117	45/41	66/59	111	21/18	95/82	116	40

**Примечание:** n – количество положительных и отрицательных (+/-) значений из выборки. Отр. – количество отрицательных контрольных образцов взятых в испытание.

**Note:** (+/-) n – the number of positive and negative values from the panel. Neg. – the number of negative control samples taken in the testing.

DENV-2 реплицируется быстрее и является более патогенным, чем остальные генотипы, все четыре серотипа являются инфекционными и патогенными [19]. Нами разработан набор дот-иммуноанализа для всех генотипов и стадий лихорадки денге. Установлено, что эффективное дифференциальное выявление специфических антител IgG и IgM может осуществляться по схеме, при которой захват IgG производится на суммарном антигене вируса денге, с детекцией с помощью меченных антител против IgG человека, а выявление IgM осуществляется захватом на антителах против IgM человека с детекцией меченым суммарным вирусным антигеном. Выявление белка NS1 вируса денге может выполняться с использованием подложки с иммобилизованными моноклональными антителами к NS1 и иммунозола золота, связанного с антителами к NS1. При такой постановке дот-анализа лимит определения рекомбинантного аналога белка NS1 составил 100 нг/мл. Сравнительные испытания набора на панели клинических образцов показали хорошее совпадение результатов с данными полученными с использованием импортных коммерческих тестов. Разработанный набор, после проведения процедуры регистрации, может найти применение для скрининга клинических образцов как в стационарных лабораториях, так и в полевых условиях, непосредственно у постели больного.

**Финансирование.** Исследование проводилось в рамках выполнения государственного задания Федеральной службы в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

**Конфликт интересов.** Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

## Список литературы

- Guzman M.G., Harris E. Dengue. *Lancet*. 2015; 385(9966):453–65. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)60572-9.
- Monteiro D.C.S., Souza N.V., Amaral J.C., Lima K.B., Araújo F.M.C., Ramalho I.L.C., Martins V.E.P., Colares J.K.B., Cavalcanti L.P.G., Lima D.M. Dengue: 30 years of cases in an endemic area. *Clinics (Sao Paulo)*. 2019; 74:e675. DOI: 10.6061/clinics/2019/e675.
- Guo C., Zhou Z., Wen Z., Liu Y., Zeng C., Xiao D., Ou M., Han Y., Huang S., Liu D., Ye X., Zou X., Wu J., Wang H., Zeng E.Y., Jing C., Yang G. Global Epidemiology of Dengue Outbreaks in 1990–2015: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2017; 7:317. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00317.
- Резолюция Всемирной ассамблеи здравоохранения WHA58.3 Пересмотр Международных медико-санитарных правил. [Электронный ресурс]. URL: [http://apps.who.int/gb/archive/e/e\\_wha58.html](http://apps.who.int/gb/archive/e/e_wha58.html) (дата обращения 13.09.2019).
- Sergeeva E.I., Ternovoi V.A., Chausov E.V., Berillo S.A., Demina O.K., Shikov A.N., Plasunova I.V., Kartashov M.J., Agafonov A.P. Imported cases of dengue fever in Russia during 2010–2013. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 2015; 8(2):90–3. DOI: 10.1016/S1995-7645(14)60194-2.
- Ganushkina L.A., Patraman I.V., Rezza G., Migliorini L., Litvinov S.K., Sergiev V.P. Detection of *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and *Aedes koreicus* in the Area of Sochi, Russia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2016; 16(1):58–60. DOI: 10.1089/vbz.2014.1761.
- Ларичев В.Ф., Сайфуллин М.А., Акиншина Ю.А., Хуторецкая Н.В., Бутенко А.М. Завозные случаи арбовирусных инфекций в Российской Федерации. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2012; (1):35–8.
- Slon Campos J.L., Poggianella M., Marchese S., Mossenta M., Rana J., Arnoldi F., Bestagno M., Burrone O.R. DNA-immunisation with dengue virus E protein domains I/II, but not domain III, enhances Zika, West Nile and Yellow Fever virus infection. *PLoS One*. 2017; 12(7):e0181734. DOI: 10.1371/journal.pone.0181734.
- Бахметьева С.В., Пуховская Н.М., Здановская Н.И.,

Иванов Л.И., Белозерова Н.Б., Уткина О.М., Журавлев Я.А., Ларичев В.Ф. Этиологическая расшифровка завозных случаев тропических лихорадок в дальневосточном регионе. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии*. 2014; 25:91–3.

- Keasey S.L., Pugh C.L., Jensen S.M.R., Smith J.L., Hontz R.D., Durbin A.P., Dudley D.M., O'Connor D.H., Ulrich R.G. Antibody Responses to Zika Virus Infections in Environments of Flavivirus Endemicity. *Clin. Vaccine Immunol.* 2017; 24(4):pii: e00036-17. DOI: 10.1128/CI.00036-17.
- Lindenbach B.D., Murray C.L., Thiel H.-J., Rice C.M. Flaviviridae. In: Knipe D.M., Howley P.M., editors. *Fields virology*. 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2013. P. 712–46.
- Kuhn R.J., Zhang W., Rossmann M.G., Pletnev S.V., Corver J., Lenches E., Jones C.T., Mukhopadhyay S., Chipman P.R., Strauss E.G., Baker T.S., Strauss J.H. Structure of dengue virus: implications for flavivirus organization, maturation, and fusion. *Cell*. 2002; 108(5):717–25. DOI: 10.1016/S0092-8674(02)00660-8.
- Balsitis S.J., Williams K.L., Lachica R., Flores D., Kyle J.L., Mehlhop E., Johnson S., Diamond M.S., Beatty P.R., Harris E. Lethal antibody enhancement of dengue disease in mice is prevented by Fc modification. *PLoS Pathog.* 2010; 6(2):e100070. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000790.
- Ho L.J., Wang J.J., Shaio M.F., Kao C.L., Chang D.M., Han S.W., Lai J.H. Infection of human dendritic cells by dengue virus causes cell maturation and cytokine production. *J. Immunol.* 2001; 166(3):1499–506. DOI: 10.4049/jimmunol.166.3.1499.
- Zellweger R.M., Prestwitt T.R., Shresta S. Enhanced infection of liver sinusoidal endothelial cells in a mouse model of antibody-induced severe dengue disease. *Cell Host Microbe*. 2010; 7(2):128–39. DOI: 10.1016/j.chom.2010.01.004.
- Акиншина Ю.А., Ларичев В.Ф., Сайфуллин М.А., Марданлы С.Г., Бутенко А.М. Сравнительное применение экспериментальной ИФА-тест-системы НИИ вирусологии им. Д.И. Иванова «ИФА-IGM-ДЕНГЕ» (Россия) и фирмы Euroimmun ANTI-DENGUE VIRUS ELISA IGM (Германия) для серодиагностики лихорадки денге. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2017; 22(1):4–8. DOI: 10.18821/1560-9529-2017-22-1-4-8.
- Poltavchenko A.G., Zaitsev B.N., Ersh A.V., Korneev D.V., Taranov O.S., Filatov P.V., Nechitaylo O.V. The selection and optimization of the detection system for self-contained multiplexed dot-immunoassay. *J. Immunoassay Immunochem.* 2016; 37(5):540–554. DOI: 10.1080/15321819.2016.1174134.
- Poltavchenko A.G., Zaitsev B.N., Ersh A.V., Taranov O.S., Korneev D.V., Nikonov A.M. Selection of Substrate Material for Protein Matrices. *Prot. Met. Phys. Chem. Surf.* 2016; 52(2):301–7. DOI: 10.1134/S2070205116020234.
- Niu C., Huang Y., Wang M., Huang D., Li J., Huang S., Yang F., Wan C., Zhang R. Differences in the Transmission of Dengue Fever by Different Serotypes of Dengue Virus. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2019. DOI: 10.1089/vbz.2019.2477.

## References

- Guzman M.G., Harris E. Dengue. *Lancet*. 2015; 385(9966):453–65. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)60572-9.
- Monteiro D.C.S., Souza N.V., Amaral J.C., Lima K.B., Araújo F.M.C., Ramalho I.L.C., Martins V.E.P., Colares J.K.B., Cavalcanti L.P.G., Lima D.M. Dengue: 30 years of cases in an endemic area. *Clinics (Sao Paulo)*. 2019; 74:e675. DOI: 10.6061/clinics/2019/e675.
- Guo C., Zhou Z., Wen Z., Liu Y., Zeng C., Xiao D., Ou M., Han Y., Huang S., Liu D., Ye X., Zou X., Wu J., Wang H., Zeng E.Y., Jing C., Yang G. Global Epidemiology of Dengue Outbreaks in 1990–2015: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2017; 7:317. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00317.
- World Health Assembly resolution WHA58.3 Revision of the International Health Regulations. (Cited 13 Sept 2019) [Internet]. Available from: [http://apps.who.int/gb/archive/e/e\\_wha58.html](http://apps.who.int/gb/archive/e/e_wha58.html).
- Sergeeva E.I., Ternovoi V.A., Chausov E.V., Berillo S.A., Demina O.K., Shikov A.N., Plasunova I.V., Kartashov M.J., Agafonov A.P. Imported cases of dengue fever in Russia during 2010–2013. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 2015; 8(2):90–3. DOI: 10.1016/S1995-7645(14)60194-2.
- Ganushkina L.A., Patraman I.V., Rezza G., Migliorini L., Litvinov S.K., Sergiev V.P. Detection of *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and *Aedes koreicus* in the Area of Sochi, Russia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2016; 16(1):58–60. DOI: 10.1089/vbz.2014.1761.
- Larichev V.F., Sayfullin M.A., Akinshina Yu.A., Khutoretskaya N.V., Butenko A.M. Imported cases of arbovirus infections in the Russian Federation. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2012; (1):35–8.
- Slon Campos J.L., Poggianella M., Marchese S., Mossenta M., Rana J., Arnoldi F., Bestagno M., Burrone O.R. DNA-immunisation with dengue virus E protein domains I/II, but not domain III, enhances Zika, West Nile and Yellow Fever virus infection. *PLoS One*. 2017; 12(7):e0181734. DOI: 10.1371/journal.pone.0181734.
- Bakhmeteva S.V., Pukhovskaya N.M., Zdanovskaya N.I.,

Ivanov L.I., Belozeroва N.B., Utkina O.M., Zhuravlev Y.A., Larichev V.F. Etiological decoding of imported cases of tropical fevers in the Far Eastern Region. *[Far Eastern Journal of Infectious Pathology]*. 2014; 25:91–3.

10. Keasey S.L., Pugh C.L., Jensen S.M.R., Smith J.L., Hontz R.D., Durbin A.P., Dudley D.M., O'Connor D.H., Ulrich R.G. Antibody Responses to Zika Virus Infections in Environments of Flavivirus Endemicity. *Clin. Vaccine Immunol.* 2017; 24(4):pii: e00036-17. DOI: 10.1128/CI.00036-17.

11. Lindenbach B.D., Murray C.L., Thiel H.-J., Rice C.M. Flaviviridae. In: Knipe D.M., Howley P.M., editors. *Fields virology*. 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2013. P. 712–46.

12. Kuhn R.J., Zhang W., Rossman M.G., Pletnev S.V., Corver J., Lenches E., Jones C.T., Mukhopadhyay S., Chipman P.R., Strauss E.G., Baker T.S., Strauss J.H. Structure of dengue virus: implications for flavivirus organization, maturation, and fusion. *Cell*. 2002; 108(5):717–25. DOI: 10.1016/S0092-8674(02)00660-8.

13. Balsitis S.J., Williams K.L., Lachica R., Flores D., Kyle J.L., Mehlhop E., Johnson S., Diamond M.S., Beatty P.R., Harris E. Lethal antibody enhancement of dengue disease in mice is prevented by Fc modification. *PLoS Pathog.* 2010; 6(2):e100070. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000790.

14. Ho L.J., Wang J.J., Shaio M.F., Kao C.L., Chang D.M., Han S.W., Lai J.H. Infection of human dendritic cells by dengue virus causes cell maturation and cytokine production. *J. Immunol.* 2001; 166(3):1499–506. DOI: 10.4049/jimmunol.166.3.1499.

15. Zellweger R.M., Prestwood T.R., Shresta S. Enhanced infection of liver sinusoidal endothelial cells in a mouse model of antibody-induced severe dengue disease. *Cell Host Microbe*. 2010; 7(2):128–39. DOI: 10.1016/j.chom.2010.01.004.

16. Akinshina Yu.A., Larichev V.F., Sayfullin M.A., Mardanly S.G., Butenko A.M. Comparative use of the experimental ELISA test system of DI. Ivanovsky Research Institute of Virology “IFA-IGM-DENGUE” (Russia) and the company Euroimmun ANTI-DENGUE VIRUS ELISA IGM (Germany) for serological diagnostics of dengue fever. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and*

*Infectious Diseases]*. 2017; 22(1):4–8. DOI: 10.18821/1560-9529-2017-22-1-4-8.

17. Poltavchenko A.G., Zaytzev B.N., Ersh A.V., Korneev D.V., Taranov O.S., Filatov P.V., Nechitaylo O.V. The selection and optimization of the detection system for self-contained multiplexed dot-immunoassay. *J. Immunoassay Immunochem.* 2016; 37(5):540–554. DOI: 10.1080/15321819.2016.1174134.

18. Poltavchenko A.G., Zaitsev B.N., Ersh A.V., Taranov O.S., Korneev D.V., Nikonov A.M. Selection of Substrate Material for Protein Matrices. *Prot. Met. Phys. Chem. Surf.* 2016; 52(2):301–7. DOI: 10.1134/S2070205116020234.

19. Niu C., Huang Y., Wang M., Huang D., Li J., Huang S., Yang F., Wan C., Zhang R. Differences in the Transmission of Dengue Fever by Different Serotypes of Dengue Virus. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2019. DOI: 10.1089/vbz.2019.2477.

#### Authors:

Poltavchenko A.G., Ternovoi V.A., Ersh A.V., Filatov P.V., Bayandin R.B., Sementsova A.O., Eremeeva L.I., Loktev V.B., Agafonov A.P. State Scientific Centre of Virology and Biotechnology “Vector”. Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

#### Об авторах:

Полтавченко А.Г., Терновой В.А., Ерш А.В., Филатов П.В., Баяндин Р.Б., Семенцова А.О., Еремеева Л.И., Локтев В.Б., Агафонов А.П. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Поступила 17.09.19.

Отправлена на доработку 20.09.19.

Принята к публ. 23.09.19.