

В.Г.Помелова<sup>1</sup>, Т.А.Быченкова<sup>1</sup>, Н.С.Осин<sup>2</sup>

### ИММУНОЧИП НА ОСНОВЕ МИКРОПЛАНШЕТНОЙ ТЕХНОЛОГИИ ФОСФАН ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ G К ВИРУСАМ ЗАПАДНОГО НИЛА, КРЫМСКОЙ-КОНГО ГЕМОМРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ И КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

<sup>1</sup>ГНЦ ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения»,  
<sup>2</sup>ЗАО «ИММУНОСКРИН», Москва

Продемонстрирована возможность использования микропланшетной технологии ФОСФАН для одновременного обследования сывороток крови человека и выявления в них специфических IgG антител к трем арбовирусам: Западного Нила (ЗН), Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) и клещевого энцефалита (КЭ). Чувствительность и специфичность анализа с помощью иммуночипа были сопоставимы с показателями ИФА при раздельном тестировании проб. На основе не менее чем 2-кратного превышения значения P/N с гомологичным антигеном над гетерологичным удалось дифференцировать группоспецифические антитела к флавивирусам КЭ и ЗН примерно в 60 % перекрестно-реагирующих сывороток. Преимущества ФОСФАН связаны с миниатюризацией формата иммуноанализа и повышением его мультиплексности, что может способствовать снижению стоимости обследования клинических образцов.

**Ключевые слова:** вирус Западного Нила, вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки, вирус клещевого энцефалита, иммуночип, фосфоресцентный иммуноанализ, ФОСФАН, серодиагностика.

Перспективным методическим подходом к выявлению инфекционных заболеваний при проведении скринингово-сероэпидемиологических исследований эндемичных территорий является разработка мультиплексных тестов (иммуночипов), позволяющих определять специфические антитела к нескольким возбудителям при обследовании одной пробы от больного. В отличие от обычных иммунохимических методов, таких как иммуноферментный анализ (ИФА), проведение реакции в формате иммуночипа включает взаимодействие обследуемой сыворотки с набором диагностически значимых иммунодоминантных и контрольных антигенов, «напечатанных» в виде микрозон («микроэреев» или микропятен) на поверхности стеклянных слайдов [11], микросфер [15] или на дне лунок микропланшетов [14], что позволяет охарактеризовать спектр содержащихся в пробе специфических антител.

Ранее мы сообщали о разработке на основе микропланшетной технологии фосфоресцентного анализа (ФОСФАН) [4, 5, 6, 12] иммуночипов для выявления иммуноглобулинов М (IgM) и иммуноглобулинов G (IgG) к вирусу клещевого энцефалита (КЭ), антигенов и кДНК вируса КЭ [5], специфических антигенов других вирусов и бактерий [6, 12].

Цель настоящей работы – продемонстрировать возможность создания на основе метода ФОСФАН теста для выявления специфических IgG к трем арбовирусам: Западного Нила (ЗН), Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) и КЭ и дифференцировать группоспецифические IgG к флавивирусам ЗН и КЭ в перекрестно-реагирующих сыворотках.

Выбор вирусных моделей основывался на данных о заболеваемости лихорадкой ЗН (ЛЗН) и ККГЛ

в южном районе европейской части России [1, 7, 10], возможности существования активных очагов КЭ в Краснодарском крае в горных и предгорных лесных зонах Кавказа, где распространен клещ *Ixodes ricinus* – переносчик вируса КЭ [7], а также сведениях о завозных случаях этих инфекций в неэндемичные регионы. Исследование проводили на панели сывороток от больных ЛЗН, ККГЛ или КЭ, у которых клинический диагноз был подтвержден серологически выявлением IgM, при этом каждая сыворотка была охарактеризована по наличию IgG к гомологичному вирусу в ИФА.

#### Материалы и методы

**Сыворотки.** В исследовании были использованы 24 пробы, в том числе 18 сывороток крови больных ЛЗН, ККГЛ или КЭ, у которых клинический диагноз был подтвержден выявлением специфических IgM к гомологичному вирусу, и 6 сывороток от клинически здоровых доноров крови (табл. 1).

Сыворотки больных ЛЗН (1 проба) и ККГЛ (6 проб) были получены из лаборатории биологии и индикации арбовирусов НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН. Согласно паспортным данным, эти сыворотки были собраны в 2007 г. в Астраханской области и охарактеризованы в экспериментальных ИФА-тест-системах, разработанных сотрудниками этой лаборатории (табл. 1). В 3 сыворотках больных ЛЗН (№ 1) и ККГЛ (№ 6 и № 7) были выявлены специфические IgG только к гомологичному вирусу; в 4 сыворотках больных ККГЛ – IgG к обоим вирусам (табл. 1).

Сыворотки больных КЭ (11 проб) были собраны

Характеристика сывороток, включенных в исследование

Номер сыворотки	Место и год сбора	Диагноз больного	Данные ИФА о наличии (+) или отсутствии (-) антител к вирусу:					
			ЗН		ККГЛ		КЭ	
			IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG
1	АО, 2007	ЛЗН	+	+	-	-	н.и.	н.и.
2	АО, 2007	ККГЛ	-	+	+	+	н.и.	н.и.
3	АО, 2007	ККГЛ	-	+	+	+	н.и.	н.и.
4	АО, 2007	ККГЛ	-	+	+	+	н.и.	н.и.
5	АО, 2007	ККГЛ	-	+	+	+	н.и.	н.и.
6	АО, 2007	ККГЛ	-	+	+	+	н.и.	н.и.
7	АО, 2007	ККГЛ	-	-	+	+	н.и.	н.и.
8	ПО, 2003	КЭ	н.и.	н.и.	н.и.	н.и.	+	+
9	ПО, 2003	КЭ	н.и.	н.и.	н.и.	н.и.	+	+
10	ПО, 2003	КЭ	н.и.	н.и.	н.и.	н.и.	+	+
11	ПО, 2003	КЭ	н.и.	н.и.	н.и.	н.и.	+	+
12	ПО, 2003	КЭ	н.и.	н.и.	н.и.	н.и.	+	+
13	ПО, 2003	КЭ	н.и.	н.и.	н.и.	н.и.	+	+
14	ПО, 2003	КЭ	н.и.	н.и.	н.и.	н.и.	+	+
15	ПО, 2003	КЭ	н.и.	н.и.	н.и.	н.и.	+	+
16	ПО, 2003	КЭ	н.и.	н.и.	н.и.	н.и.	+	+
17	ПО, 2003	КЭ	н.и.	н.и.	н.и.	н.и.	+	+
18	ПО, 2003	КЭ	н.и.	н.и.	н.и.	н.и.	+	+
19	ПО, 2006	Донор	н.и.	н.и.	н.и.	н.и.	-	-
20	ПО, 2006	Донор	н.и.	н.и.	н.и.	н.и.	-	-
21	ПО, 2006	Донор	н.и.	н.и.	н.и.	н.и.	-	-
22	ПО, 2006	Донор	н.и.	н.и.	н.и.	н.и.	-	-
23	ПО, 2006	Донор	н.и.	н.и.	н.и.	н.и.	-	-
24	ПО, 2006	Донор	н.и.	н.и.	н.и.	н.и.	-	-

Примечания: АО – Астраханская область, ПО – Пермская область, н.и. – не исследовали.

в Пермской области в 2003 г. (получены из клинической инфекционной больницы № 1 Перми). По данным ИФА (в тест-системе «Векто ВКЭ-IgG стрип», Новосибирск), все сыворотки содержали IgG к вирусу КЭ (табл. 1).

Сыворотки доноров Пермской областной станции переливания крови (6 проб) были получены в 2006 г. вне сезона активности клещей-переносчиков КЭ. По данным ИФА (в тест-системе «Векто ВКЭ-IgG стрип», Новосибирск), эти сыворотки не содержали IgG к вирусу КЭ (табл. 1).

Все сыворотки до исследования хранились при температуре минус 20 °С.

**Контрольные сыворотки.** Контрольные сыворотки (положительная и отрицательная) приготовлены нами. В первом случае были объединены сыворотки № 4 и № 11, которые, по данным ИФА, содержали IgG к вирусам ЗН, ККГЛ и КЭ, во втором случае – несколько сывороток доноров, не содержащих антитела к вирусу КЭ (табл. 1).

**Дизайн флуоресцентного иммуночипа.** Иммуночип представлял собой 96-луночный полистироловый микропланшет. На дне лунок с помощью наноплоттера для контактной печати (разработка

ЗАО «ИММУНОСКРИН», Москва) были «напечатаны» 4 микрозоны (диаметром примерно 0,7 мм каждая), содержащие моноклональные антитела (МКА) к одному из вирусов (ЗН, ККГЛ, КЭ) и нормальный иммуноглобулин (внутренний контроль специфичности), а затем добавлены вирусспецифические антигены. Таким образом, активные микрозоны для улавливания IgG к вирусам ЗН, ККГЛ и КЭ из исследуемых сывороток представляли собой комплекс специфических антигенов с иммобилизованными МКА. Оптимальные концентрации МКА и вирусных антигенов были определены титрованием в предварительных опытах.

Использовали группоспецифические МКА 9Е2 к структурному гликопротеину Е вируса ЗН (штамм Vlg99-27889), обладающие нейтрализующей и антигемагглютинирующей активностью [13] (получены из НПО Вектор, Новосибирск, Россия); МКА ГЕМА-12 к структурному нуклеокапсидному гликопротеину N вируса КГЛ (штамм УЗ 10145), обладающие нейтрализующей и комплементсвязывающей активностью [2] (получены из НИИ вирусологии РАМН); МКА КЭН 46-8 к поверхностному гликопротеину Е вируса КЭ, обладающие нейтрализующей активно-

Результаты исследования сывороток на IgG к вирусам ЗН, ККГЛ и КЭ в тесте на основе ФОСФАН  
(жирным шрифтом выделены положительные реакции; жирным шрифтом с подчеркиванием – гомологичные реакции)

Номер пробы	Значение P/N с антигеном вируса:			Отношение между значениями P/N с антигенами вирусов ЗН и КЭ	Выявлены IgG к вирусу:
	ЗН	ККГЛ	КЭ		
1	226,1	<2,1	70,8	3,2	ЗН
2	306	1114	19,5	15,7	ЗН и ККГЛ
3	300	8,9	6,0	50	ЗН и ККГЛ
4	320,4	4,1	2,9	110,5	ЗН и ККГЛ
5	12	4,8	<2,1	н.о.	ЗН и ККГЛ
6	<2,1	13	<2,1	н.о.	ККГЛ
7	<2,1	181,5	<2,1	н.о.	ККГЛ
8	68,5	<2,1	57,1	1,2	ЗН? КЭ?
9	51,2	<2,1	92,2	1,8	ЗН? КЭ?
10	45,7	<2,1	91,4	2,0	КЭ
11	38,2	<2,1	72,5	1,9	ЗН? КЭ?
12	4,6	<2,1	13,3	2,9	КЭ
13	86,9	<2,1	95,8	1,1	ЗН? КЭ?
14	33,8	<2,1	87,8	2,6	КЭ
15	48	<2,1	50,4	1,1	ЗН? КЭ?
16	59,6	<2,1	83,7	1,4	ЗН? КЭ?
17	<2,1	<2,1	8,5	н.о.	КЭ
18	97,7	<2,1	71,4	1,4	ЗН? КЭ?
19	<2,1	<2,1	<2,1	н.о.	Не выявлены
20	<2,1	<2,1	<2,1	н.о.	Не выявлены
21	<2,1	<2,1	<2,1	н.о.	Не выявлены
22	<2,1	<2,1	<2,1	н.о.	Не выявлены
23	<2,1	<2,1	<2,1	н.о.	Не выявлены
24	<2,1	<2,1	<2,1	н.о.	Не выявлены

Примечание. н.о. – показатель не оценивается.

стью [3] (получены из НИИ вирусологии РАМН). Специфические антигены вирусов ЗН, ККГЛ и КЭ были выделены методом сахарозо-ацетоновой экстракции из мозга инфицированных новорожденных белых мышей; нормальный иммуноглобулин – из асцитической жидкости незараженных белых мышей (эти препараты были получены из НИИ вирусологии РАМН).

**Проведение ФОСФАН.** Фосфоресцентный иммуноанализ проводили в микролунках аналогично ТИФА. Исследуемые пробы вносили в разведении 1:100 и инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре и встряхивании на шейкере. Каждую пробу исследовали в дублях в двух лунках планшета. При постановке иммуноанализа в состав анализируемых проб включали контрольную положительную и контрольную отрицательную сыворотки. Для проявления реакции использовали биотинилированные МКА против IgG человека и конъюгат стрептавидина с Pt копропорфирином; время инкубации составляло, соответственно, 1 ч и 15 мин при комнатной температуре и встряхивании на шейкере. На финальной стадии лунки планшета промывали 3 раза промывочным буфером и еще 3 раза дистиллированной

водой, затем высушивали на воздухе. Интенсивность фосфоресценции (ИФ) измеряли путем сканирования дна микролунки с помощью прибора-сканера «Фосфан» (разработка ЗАО «ИММУНОСКРИН»).

**Анализ результатов сканирования.** Результаты сканирования представляли как интегральное число фотоимпульсов от каждой микрозоны. После компьютерной обработки картина распределения сигнала фосфоресценции по поверхности дна микролунки была представлена в виде 4 окрашенных микрозон. В микрозонах, содержащих вирусспецифические антигены, интенсивность окраски была пропорциональна концентрации IgG к соответствующему антигену в исследуемой пробе; интенсивность окрашивания в контрольной микрозоне, содержащей нормальный иммуноглобулин, показывала уровень неспецифического связывания данной пробы.

**Критерии выбора положительного результата.** Результаты исследования каждой пробы в данной микролунке представляли в виде значений P/N, где P – ИФ пробы при взаимодействии с антигенами вирусов ЗН, ККГЛ или КЭ, N – ИФ пробы в контрольной микрозоне. Результат исследования пробы считали положительным (антитела к данному вирусу

выявлены), если P/N было равно или выше значения 2,1, а величина N не превышала 50 имп.

**Дифференциация IgG к вирусам КЭ и ЗН.** Для дифференциации IgG к вирусам КЭ и ЗН сравнивали значения P/N исследуемой сыворотки с антигенами этих вирусов и рассчитывали их отношение. С учетом предложенных критериев [8], определение видовой принадлежности антител проводили на основе не менее чем 2-кратного превышения значения P/N пробы с антигеном гомологичного вируса по сравнению с гетерологичным.

### Результаты и обсуждение

При исследовании в ФОСФАН, IgG к вирусу ККГЛ были выявлены только в сыворотках больных ККГЛ (табл. 2). IgG к вирусу ЗН были выявлены в 15 из 24 (62,5 %) исследованных проб, в том числе в сыворотке больного ЛЗН, в 4 из 6 сывороток больных ККГЛ и в большинстве сывороток больных КЭ (табл. 2). IgG к вирусу КЭ были обнаружены в 15 из 24 (62,5 %) исследованных проб, в том числе в сыворотке больного ЛЗН, в 3 сыворотках больных ККГЛ и во всех сыворотках больных КЭ (табл. 2). Эти результаты совпали с данными ИФА, полученными при тестировании проб из групп «ЛЗН», «ККГЛ» и «КЭ» с гомологичными антигенами (табл. 1).

В сыворотках доноров IgG к какому либо из включенных в исследование вирусов не были выявлены (табл. 2).

Из числа положительных проб сыворотка больного ЛЗН, 3 сыворотки больных ККГЛ (в которых были выявлены IgG не только к гомологичному вирусу, но и к гетерологичному вирусу ЗН) и 10 сывороток больных КЭ (всего 14 проб) взаимодействовали с антигенами двух флавивирусов: ЗН и КЭ (табл. 2). Значения P/N проб из групп «ЛЗН» и «ККГЛ» были от 3 до 111 раз выше с антигеном вируса ЗН, чем с антигеном вируса КЭ. Значения этого показателя для проб из группы «КЭ» были, в среднем, в 1,7 раза выше с антигеном вируса КЭ, чем с антигеном вируса ЗН (табл. 2). По критерию 2-кратной (или более) разницы в значениях P/N с гомологичным и гетерологичным антигеном видовая принадлежность антител была правильно определена для всех проб из групп «ЛЗН» и «ККГЛ», содержащих IgG к вирусу ЗН, и только для 4 из 10 сывороток больных КЭ. Не удалось идентифицировать 6 проб из группы «КЭ», для которых соотношение P/N с гомологичным и гетерологичным антигеном было менее 2 (табл. 2).

В настоящей работе показано, что иммуночип на основе микропланшетной технологии ФОСФАН может быть использован для одновременного обследования сывороток крови человека и выявления в них специфических IgG к трем арбовирусам: ЗН, ККГЛ и КЭ. При этом чувствительность и специфичность методов ФОСФАН и ИФА (при раздельном тестировании проб) оказались одинаковыми.

При обследовании методами ФОСФАН и ИФА

проб, собранных в Астраханской области, специфические IgG к буньявирусу ККГЛ были обнаружены только в сыворотках больных ККГЛ. В противоположность этому, IgG к вирусу ЗН были выявлены не только в сыворотке больного ЛЗН, но также более чем в половине проб, полученных от больных ККГЛ (табл. 1, 2). Эти данные подтверждают известные сведения о высоком уровне иммунной прослойки к вирусу ЗН у населения Астраханской области [9].

Важно отметить, что значительная часть положительных проб из групп «КЭ», «ЛЗН» и «ККГЛ» взаимодействовали с антигенами двух флавивирусов: ЗН и КЭ. Сыворотки групп «ЛЗН» и «ККГЛ» были получены от жителей эндемичного по ЛЗН региона (Астраханская область), где не выявлена циркуляция вируса КЭ. Наоборот, сыворотки группы «КЭ» были получены от жителей высокоэндемичного по КЭ региона (Пермская область), где не циркулирует вирус ЗН. Поэтому антитела, выявленные при взаимодействии указанных сывороток с гетерологичным антигеном, в этом случае, являются группоспецифическими, так как реагируют одновременно с двумя родственными флавивирусами. Это необходимо учитывать при дифференциальной диагностике КЭ и ЛЗН [8] и оценке результатов лабораторного исследования сывороток.

Благодаря использованию панели охарактеризованных сывороток от больных ЛЗН, ККГЛ и КЭ, в которых наличие антител к флавивирусам ЗН и КЭ было выявлено в ИФА, удалось правильно установить видовую принадлежность антител к этим вирусам при анализе примерно 60 % сывороток этих групп. Исключение составили 7 проб из группы «КЭ», для которых значения P/N с антигенами обоих флавивирусов различались менее чем в 2 раза. Эти результаты свидетельствуют о необходимости повышения дифференцирующей способности разработанного на основе ФОСФАН теста за счет целенаправленного подбора МКА и, возможно, вирусных антигенов (например, рекомбинантных антигенов вместо сахарозацетоновых).

Таким образом, технология ФОСФАН позволяет выявлять IgG к вирусам ЗН, ККГЛ и КЭ при исследовании одной пробы сыворотки в одной лунке планшета, что обеспечивает экономию биоматериала и является преимуществом по сравнению с ИФА. Вместе с тем при использовании обоих методов положительный результат выявления антител к вирусам ЗН и КЭ может быть следствием перекрестных реакций между этими антигенно-родственными флавивирусами, что необходимо учитывать при интерпретации результатов.

Перспективы ФОСФАН для сероэпидемиологического мониторинга и серодиагностики арбовирусных инфекций, на наш взгляд, связаны с созданием мультиплексных тестов для определения IgM и IgG к 6–8 вирусам, циркулирующим в сочетанных очагах. Мы имеем технические возможности для «печати» на дне лунки до 16–36 микрозон, которые могут



включать набор антигенов одного или нескольких вирусов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта ВТЕР 104/ МНТЦ 3135.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Азарян А.Р., Гришанова А.П., Бутенко А.М. и др. Серологическая диагностика арбовирусных инфекций в Астраханской области. В кн.: Арбовирусы и арбовирусные инфекции: Матер. расширенного пленума проблемной комиссии «Арбовирусы» и науч.-практич. конф. «Арбовирусы и арбовирусные инфекции»; 17–20 октября 2006; Астрахань. Москва; 2007. С. 115–9.
2. Гайдамович С.Я., Мельникова Е.Э., Шуткова Т.М. и др. Характеристика моноклональных антител, индуцированных вирусом Крымской геморрагической лихорадки. Вopr. вирусол. 1989; 3: 201–4.
3. Гайдамович С.Я., Мельникова Е.Э., Gresikova M. Два типа моноклональных антител против вируса клещевого энцефалита. Acta virol. 1986; 206–12.
4. Gaidamovich S.Ya., Melnikova Ye.E., Gresiková M., Sekeyová M., Novokhatsky A.S., Kushch A.A., Novák M., Sveshnikova N.A., Mikheeva T.G., Krasnobayeva Z.N., et al. Two kinds of monoclonal antibodies to tick-borne encephalitis virus. Acta Virol. 1986; 30(3):206–12.
5. Осин Н.С., Помелова В.Г., Быченкова Т.А., Соколов А.С. Новая технология фосфоресцентного иммуноанализа для обнаружения микроорганизмов и вирусов. В кн.: Современные технологии в диагностике особо опасных инфекционных заболеваний: Матер. 4-й Межгос. науч.-практич. конф. стран СНГ; 29 сентября – 2 октября 2003 г. Саратов, 2003. С. 138–42.
6. Осин Н.С., Помелова В.Г., Быченкова Т.А. Фосфоресцентный микроанализ (ФОСФАН) как новая технология для диагностики инфекций. В кн.: Арбовирусы и арбовирусные инфекции: Матер. расширенного пленума проблемной комиссии «Арбовирусы» и науч.-практич. конф. «Арбовирусы и арбовирусные инфекции»; 17–20 октября 2006; Астрахань. Москва; 2007. С. 79–87.
7. Осин Н.С., Помелова В.Г., Соколов А.С. и др. Фосфоресцентный микроанализ как новая технологическая платформа для молекулярной диагностики. Вестник РАМН. 2007; 12:3–8.
8. Пилюкова О.М., Юничева Ю.В., Ларичев В.Ф. Изучение циркуляции арбовирусов на территории, курируемой Причерноморской противочумной станцией. В кн.: Арбовирусы и арбовирусные инфекции: Матер. расширенного пленума проблемной комиссии «Арбовирусы» и науч.-практич. конф. «Арбовирусы и арбовирусные инфекции»; 17–20 октября 2006; Астрахань. Москва; 2007. С. 152–5.
9. Распопин В.В., Топычанова Н.Г., Жуков В.А. Дифференциальная серодиагностика клещевого энцефалита и лихорадки Западного Нила. Новости «Вектор-Бест». 2006; 2 (40):4.
10. Шишкина Е.О. Серологическая диагностика лихорадки Западного Нила [автореф. дис. ... канд. мед. наук]. М.; 2003. 20 с.
11. Шелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Москвина Т.М. и др. Выявление циркуляции вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки в предгорных степях Северного Кавказа. Вopr.

вирусол. 2005; 50(5):9–15.

11. Mendoza L.G., McQuary P., Mongan A. et al. High-throughput microarray-based enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Biotechniques. 1999; 27:778–80.

12. Osin N.S., Pomelova V.G. Multi-array immunophorescence technology for the detection of pathogens. In: Frontiers in research. Humana Press; 2008; 24:233–40.

13. Razumov I.A., Kazachinskaja E.I., Ternovoi V.A. et al. Neutralizing monoclonal antibodies against Russian Strain of the West Nile Virus. Viral Immunol. 2005; 18(3):558–68.

14. de Vegvar Neuman H.E., Robinson W.H. Microarray profiling of antiviral antibodies for the development of diagnostics, vaccines, and therapeutics. Clin. Immunol. 2004; 111:196–201.

15. Wong S.J., Demarest V.L., Boyle R.H. et al. Detection of human anti-flavivirus antibodies with a West Nile virus recombinant antigen microsphere immunoassay. J. Clin. Microbiol. 2004; 42(1):65–72.

#### Об авторах:

Помелова В.Г., Быченкова Т.А., Осин Н.С. Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения. 125424, Москва, Волоколамское шоссе, 75, к. 1. E-mail: v.pomelova@immunoscreen.ru

V.G.Pomelova, T.A.Bychenkova, N.S.Ossin

#### PHOSPHAN Microplate Technology-Based Microarray For Detection of IgG Antibodies against West Nile, Crimean Congo Hemorrhagic Fever and Tick-Borne Encephalitis Viruses

Research Institute of Biological Engineering, Moscow;  
CJSC "Immunoscreen", Moscow

Demonstrated was the possibility to use PHOSPHAN microplate technology to examine human sera and detect simultaneously specific IgG antibodies to three arboviruses, including the West Nile virus (WNV), Crimean Congo Hemorrhagic Fever virus (CCHFV), and Tick-borne encephalitis virus (TBEV). Both sensitivity and specificity of microarray immunoassay approach were similar to those of ELISA tests (when serum specimens were investigated separately). Using the criterion of 2-fold or stronger reaction of the examined serum specimen with homologous antigen than with heterologous one, we succeeded in differentiation of group specific anti WNV and anti TBEV IgG antibodies in about 60% of cross reactive sera. From the economical standpoint, the PHOSPHAN technology may have advantages as compared with currently used ELISAs due to miniaturization of immunoassay format and ability to multiplex.

**Key words:** West Nile virus, Crimean-Congo Hemorrhagic Fever virus, Tick-borne encephalitis virus, antigen microarray, Phosphorescence Assay, PHOSPHAN, serodiagnosis.

#### Authors:

Pomelova V.G., Bychenkova T.A. Research Institute of Biological Engineering. 125424, Moscow, Volokolamskoe Shosse, 75, B. 1. E-mail: v.pomelova@immunoscreen.ru

Osin N.S. CJSC "Immunoscreen". Moscow.

Поступила 15.04.09.