

## Разработка тест-систем для дифференциальной диагностики флавивирусных инфекций

Научный руководитель – Шишова Анна Андреевна

*Барышникова Виктория Сергеевна*

*Аспирант*

Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН, Москва, Россия

*E-mail: app.viktoria@gmail.com*

Вирус клещевого энцефалита - наиболее распространённый представитель рода *Flavivirus*, вызывающий тяжёлые поражения ЦНС. Смешанные очаги различных представителей данного рода увеличиваются на территории Российской Федерации, что затрудняет дифференциальную диагностику. Для переносимых комарами флавивирусов наблюдается эффект антитело-зависимого усиления инфекции. Специфичная диагностика при заболевании флавивирусными инфекциями является ключевым фактором при лечении и правильной постановке диагноза. Представители рода *Flavivirus* имеют антигенные перекрёсты, которые затрудняют дифференциальную диагностику.

Целью данной работы является разработка тест-системы на основе рекомбинантных белков для дифференциации вируса клещевого энцефалита от других флавивирусов.

Большинство коммерческих наборов для рутинной диагностики используют в качестве антигена цельный вирион, либо его поверхностный антиген, белок Е. Считается, что в доменах I и II содержатся перекрёстные (кросс-реактивные) эпитопы, а иммуноглобулин подобный домен III - является вирус специфичным.

Ранее нами были получены рекомбинантные белки в бактериальной системе: sE(эктодомен), с фрагменты белка Е штамма Сухар вируса клещевого энцефалита.

Полученные рекомбинантные белки использовали в качестве антигена в ИФА. Препараты на основе dI+II обладали низкой чувствительностью, что может быть связана с недостаточным количеством (или отсутствием) антител в сыворотках или с отсутствием гликозилирования. Домен III и sE показали высокую специфичность.

В сыворотках больных и вакцинированных от ВКЭ людей были выявлены антитела. Показана специфичность тест-системы с использованием сывороток мышей, обезьян и человека, инфицированных различными вирусами рода *Flavivirus*: вирус Западного Нила, Повассан, Лангат, денге, вирус омской геморрагической лихорадки, Зика, ВКЭ.

Использовали разработанную нами ИФА тест-систему для выявления широкого спектра антител в сыворотках к клещевому энцефалиту. Были получены и использованы сыворотки кроликов и мышей к различным штаммам вируса клещевого энцефалита, таким как: 256, Яр-82, Кург-284, ВК476, Заусаев, Мо17-Т152, Карл14-Т20468. Данные штаммы являются представителями разных подтипов ВКЭ, распространённых на территории РФ.

Было произведено сравнение между ИФА тест-системой на основе рекомбинантных белков и коммерческой тест-системой, используемой в рутинной диагностике ВКЭ в РФ. Разработанная тест-система выявила антитела против ВКЭ только в сыворотке с антителами против ВКЭ, тогда как коммерческая система показала положительный результат для сывороток против всех вышеописанных вирусов. Это может быть связано с кросс-реактивностью антител рода *Flavivirus*, а в качестве антигена в данном наборе выступает цельный вирион.

Использовали набор человеческих сывороток, которые были положительны на антитела к ВКЭ в коммерческом наборе. В реакции нейтрализации ВКЭ и вируса ЗН

были проверены 10 сывороток. Восемь имели антитела к вирусу ЗН, а две имели близкие титры нейтрализующих антител к обоим вирусам. В нашей тест-системе только в одной сыворотке были выявлены антитела к ВКЭ.

Разработанная тест-система на основе рекомбинантных белков может быть использована в качестве дифференциальной системы для выявления антител к вирусу клещевого энцефалита в сыворотках.