



---

## Original Article: MULTIPLEX MALATTIE INFETTIVE IMMUNODIAGNOSTICHE

### Citation

Ersh A.V., Poltavchenko A.G., Nikonov A.M. Multiplex malattie infettive immunodiagnostiche. *Italian Science Review*. 2014; 9(18). PP. 12-17.

Available at URL: <http://www.ias-journal.org/archive/2014/september/Ersh.pdf>

### Authors

Anna V. Ersh, The State Research Center of Virology and Biotechnology "VECTOR", Russia.

Alexander G. Poltavchenko, The State Research Center of Virology and Biotechnology "VECTOR", Russia.

Anatoliy M. Nikonov, The State Research Center of Virology and Biotechnology "VECTOR", Russia.

Submitted: August 25, 2014; Accepted: September 5, 2014; Published: September 21, 2014

Per determinare l'eziologia della malattia infettiva è spesso necessario eseguire diversi test immunologici. Tali situazioni si presentano nelle cosiddette infezioni miste quando il corpo è influenzata da diversi agenti, nonché la differenziazione delle malattie con quadro clinico simile. Il mercato moderno offre sistemi di test immunodiagnostiche monospecifici e esame completo del paziente al loro uso è un processo lungo e costoso. I progressi in questi ultimi anni nello sviluppo di immunochimica, in particolare anticorpi monoclonali ricombinanti, e antigeni sintetici permettono un notevole grado di armonizzazione delle loro proprietà e per consentire la condivisione in multiplex (multidisciplinare, integrato) analisi su array proteici (array di proteine). Matrice proteica (spesso definito come "chips di proteine" o "immunohip") può avere un design e metodologia di applicazione [1] diverso.

Descriviamo un approccio alla diagnosi complesse, multiplexing combina la semplicità di fabbricazione e l'uso immunohip. I nostri kit per analisi complessa di anticorpi (Vedere figura 1A) comprende una proteina della matrice

prodotta sotto forma di un pettine di plastica con i denti 5, ciascuno dei quali è collocato immunohip; e bagni di analisi, le cellule sono piene di soluzioni già pronte e sigillati con un foglio. Sul immunohip parte lavora in un certo ordine applicato come macchie singole (2-3 mm) di antigeni diversi (fino a 8) di malattie infettive e di anticorpi umani - sistema di monitoraggio sanitario. Nel procedere all'analisi della lamina sul numero desiderato (in numero di campioni) di colonne di celle vasche aperte martello, nella prima riga di celle è dovuto il 10 studio ul di siero di sangue e livello immunohip. Inoltre, vengono spostati ad intervalli prestabiliti nel seguente serie di celle.

Dopo la rimozione dalla ultima cella nel risultato rappresentato visivamente per la presenza di macchie scure nel sito dell'antigene. Chance registrazioni strumentali semiquantitativi dei risultati analizzando l'immagine immunohip digitalizzata con uno speciale programma per computer [2].

Applicazione Metodologia immunohip rappresenta il dot-immunodosaggio che utilizza sol immuno-oro e una maggiore manifestazione fisica del segnale ottico [3].

Schema di passi e durata dell'analisi presentata nella figura 2 L'analisi viene eseguita per 60 min a temperatura ambiente, non richiede particolare abilità dell'operatore e può essere utilizzato in condizioni non di laboratorio.

Un esempio di un sistema per l'analisi multiplex di anticorpi è un test per la valutazione integrata dell'immunità post-vaccinale per l'infanzia vaccino-prevenibili malattie. Morbillo, parotite e rosolia (Vedere figura 1) [2] Dati comparativi delle prestazioni per la rilevazione degli anticorpi di classe G rosolia, morbillo e parotite con monospecifico kit ELISA imprese Novosibirsk "Vector-Migliore", "MBS" e "IMDI", nonché i sistemi di test multiplex sul pannello di 45 sieri di cui La tabella 1 indica che il multiplex di test definisce adeguatamente i campioni di prova in questo senso sembra peggio delle prove di confronto. Il compito di valutare post-vaccinazione immunità umorale non è solo una dichiarazione di presenza o assenza di anticorpi all'agente infettivo, ma anche per determinare il loro livello sufficiente a proteggere contro la malattia. Per la calibrazione di un multi-test utilizzato campioni con un certo contenuto di anticorpi specifici. Visualizza immunochip dopo la calibrazione è mostrato in Figura 1 C. I campioni contenenti anticorpi di morbillo e rosolia livelli di protezione superiore (0,5 UI / ml per il morbillo e 10 UI / ml per la rosolia), prodotta nel nostro sistema di test è chiaramente distinguibile per il nudo macchie oculari nel campo di applicazione di antigene in questione.

Un altro esempio è un test di multiplex per un sondaggio globale di donne in gravidanza per la presenza di anticorpi contro agenti infettivi perinatale periodo: la sifilide (*Treponema pallidum*), herpes simplex virus (HSV-1), micoplasmosi (*Mycoplasma hominis*), Chlamydia (*Chlamydia trachomatis*), citomegalovirus (CMV), toxoplasmosi (*Toxoplasma gondii*) e ureaplasmosi (*Ureaplasma urealyticum*). Composizione kit diagnostico ed eseguendo un circuito di analisi simile a quello

descritto sopra, uno schema di applicare gli antigeni sulla matrice e formare immunochip dopo prova illustrato nella Figura 3.

Valutazione delle prestazioni di una prova completa, effettuata con pannelli standard di test di sieri e di riferimento hanno mostrato che la sensibilità e specificità diagnostica del test multiplex non è caratteristiche inferiori sono utilizzati in sistemi di test monospecifico pratica clinica per ELISA, e hanno davanti a loro un certo numero di vantaggi operativi [4].

Con lo stesso principio, ma con produzioni regime leggermente modificati possono creare dei test per la rilevazione dell'antigene complesso [5]. La Figura 4 mostra la forma della matrice proteica dopo la rivelazione di agenti infettivi in tamponi vaginali di pazienti con varie patologie genito-urinario.

I dati sopra riportati indicano la possibilità di un uso efficace delle multiplex imposta per la diagnostica complessa di malattie infettive. Tale analisi può essere effettuata in aree remote, in cui l'importo da rilevare è piccolo, e l'hardware non consente la diagnostica ELISA. Secondo i dati preliminari (numero limitato di esperimenti) per questo test può essere utilizzato sangue intero capillare, che può facilmente ottenere un bastone dito. Questo è particolarmente importante nei pazienti pediatrici, come i bambini, anche la selezione di 5 ml di sangue dalla vena è considerata significativa perdita di sangue. Al costo, test globale è leggermente più alto di uno studio in monospecifico ELISA. Così, i test multiplex possono servire come uno strumento efficace per lo screening primario, la diagnosi e grigio-monitoraggio differenziale delle malattie infettive. Il problema principale di fabbricazione di multi-test è la necessaria gamma di conformazione altamente specifico, altamente purificato e stabile quando si lega alle immunoreagenti fase solida.

#### References:

1. Poltavchenko A.G., Yakovtchenko A.M., Krivenchuk N.A., Zaitsev B.N. 2006.

Multidisciplinary serodiagnosis of infectious diseases. Select the format of protein chips and material for the substrate. *Biotechnology*. P. 77-87.

2. Poltavchenko A.G., Ersh A.V., P'yankov S.A. 2013. Multidisciplinary serodiagnosis of infectious diseases. Instrumental records of the results of analysis. P. 74-82.

3. Poltavchenko A.G., Yakovtchenko A.M., Krivenchuk N.A., Karpyshev N.N.

Multidisciplinary serodiagnosis of infectious diseases.

4. Poltavchenko A.G., Yakovtchenko A.M. 2007. Multidisciplinary serodiagnosis of infectious diseases. Laboratory tests versatile test. P. 88-94

5. Poltavchenko A.G., Yakovtchenko A.M., Krivenchuk N.A. 2006. Multidisciplinary immunochemical indication of infectious agents. *Clinical Laboratory*. P. 39-42.

**Questo lavoro è stato in parte sostenuto dal Ministero dell'Istruzione e della Scienza della Federazione Russa (sovvenzione # 14.607.21.0020)**

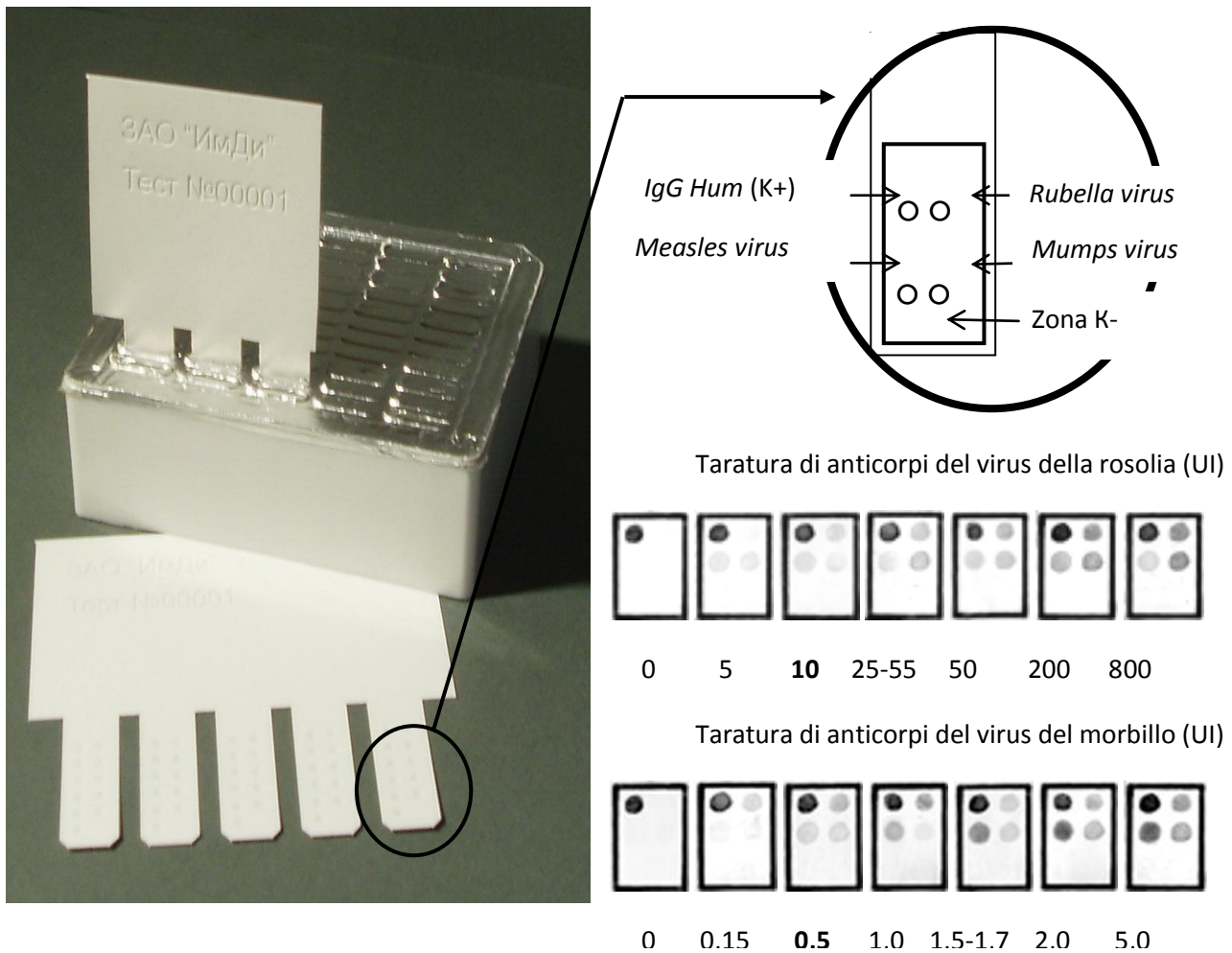


Fig. 1 visita generale del test per la valutazione integrata di immunità umorale al virus della rosolia, morbillo e parotite (A); applicando gli antigeni sulla immunochip circuito (B); ei risultati della determinazione della sensibilità del dot-immunosaggio che utilizza campioni di calibrazione di anticorpi di classe G alla rosolia e morbillo virus dai set corrispondenti per ELISA, prodotti da JSC "Vector Best" (C). Le figure sotto immunochip rappresentano contenuti (UI) di anticorpi specifici nel campione. Livelli di anticorpi protettivi grassetto.

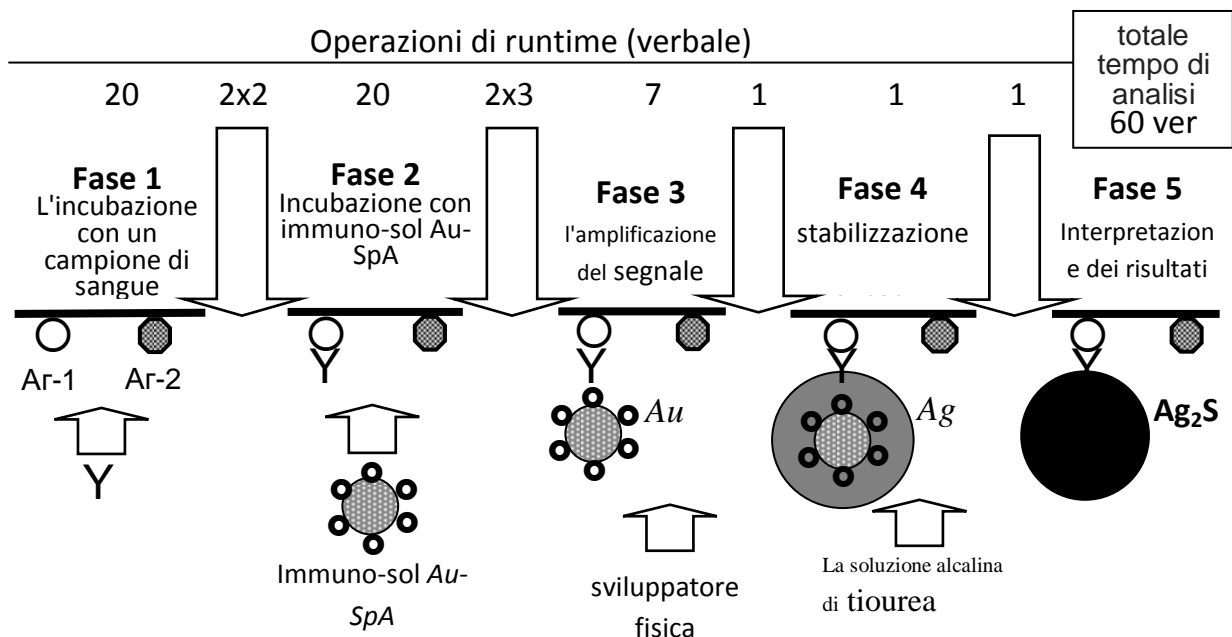


Fig. 2. Lo schema generale del complesso di anticorpi dot-immunosaggio che utilizza oro immunozolya, amplificazione del segnale e la stabilizzazione di una manifestazione fisica di colore con una soluzione alcalina di urea.

Tabella 1

Risultati di uno studio comparativo di un gruppo di 45 sieri utilizzando kit ELISA per le imprese "Vector-Best", "MBS" e "IMDI", così come i sistemi di test multiplex (immunochip).

Sistema di prova	Vector-Best		MBS		IMDI		Immunochip	
Risultato	+	--	+	--	+	--	+	--
<b>Morbillo</b>	<b>32</b>	13	<b>29</b>	16	<b>23</b>	22	<b>31</b>	14
<b>Parotite</b>	<b>16</b>	29	<b>24</b>	21	<b>16</b>	29	<b>17</b>	28
<b>Rosolia</b>	<b>33</b>	12	<b>27</b>	18	<b>32</b>	13	<b>34</b>	11

Note: + - campioni positivi.  
 -- I campioni negativi.

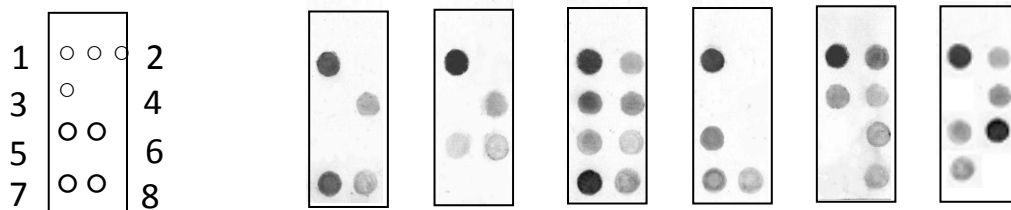


Fig. 3. Visualizza immunochip dopo il rilevamento di anticorpi agenti infettivi perinatali periodo nel siero di pazienti affetti da varie patologie genito-urinario. A sinistra è un disegno schematico sulle proteine antigeni Chip (2 ul, 20 ug / ml): (1) IgG-Hum (K +), (2) p17 + p41 *Treponema pallidum*, (3) HSV-1 (4) *Mycoplasma hominis* (5) *Chlamydia trachomatis*, (6) *Toxoplasma gondii*, (7) CMV, (8) *Ureaplasma urealyticum*

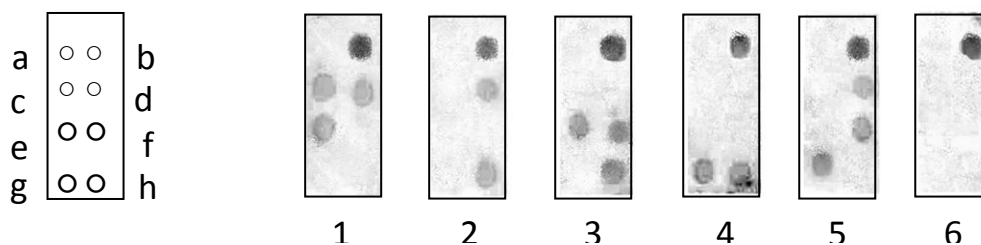


Fig. 4. Risultati dot multiplex campioni immunologici lavande vaginali di pazienti con varie patologie genito-urinario. La sinistra è un disegno schematico su immunochip: (a) liquido ascitico non contenente anticorpo specifico - controllo negativo (K); (B) IgG umane - sistema di monitoraggio delle prestazioni (K +); Gli anticorpi monoclonali a patogeni: (c) *Trichomonas vaginalis*, (d) *Mycoplasma hominis*, (e) *Neisseria gonorrhoeae*, (f) *Chlamydia trachomatis*, (g) *Ureaplasma urealyticum* e (h) *Gardnerella vaginalis*.