

# ОЦЕНКА МЕТОДА МУЛЬТИПЛЕКСНОГО ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К ВОЗБУДИТЕЛЯМ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

А.Г. Полтавченко, О.В. Нечитайло, П.В. Филатов, А.В. Ерш

ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», п. Кольцово,  
Новосибирская область, Россия

**Резюме.** Первичное обследование групп населения с повышенным риском заражения инфекционными заболеваниями (ИЗ) предполагает выполнение ряда анализов с использованием моноспецифических диагностических систем и представляет собой длительную, трудоемкую и дорогостоящую процедуру. Ранее нами разработан мультиплексный тест, позволяющий оперативно и недорого проводить комплексное первичное тестирование. Создан набор, позволяющий одновременно выявлять в препаратах крови антитела к 6 возбудителям ИЗ: вирусу иммунодефицита человека, вирусам гепатитов В и С, цитомегаловирусу, *Treponema pallidum* и *Toxoplasma gondii*. Набор основан на мультиплексном дот-иммуноанализе на плоских белковых матрицах (иммуночипах) с использованием конъюгатов коллоидного золота и серебряного проявления. Он позволяет выполнять комплексный анализ при комнатной температуре в течение 70 мин и не требует высокой квалификации оператора. В настоящей статье представлены результаты лабораторных испытаний экспериментального образца мультиплексного набора в сравнении с наборами для иммуноферментного анализа (ИФА) пяти российских производителей с использованием массива из 240 образцов препаратов крови, включающих 200 клинических проб сывороток (плазмы) крови от больных ИЗ и 40 образцов плазмы доноров. Показано, что мультиплексный тест обладает чувствительностью и специфичностью анализа не менее 95%, а оптические сигналы дот-анализа хорошо коррелируют с показателями оптической плотности, полученными с использованием коммерческих наборов для ИФА, и позволяют проводить полуколичественную оценку содержания специфических антител в образце. При этом мультиплексный дот-анализ более оперативен и экономичен, по сравнению с ИФА и может выполняться во внелабораторных условиях. Набор для мультиплексного дот-иммуноанализа антител может обеспечить комплексный подход к диагностике ИЗ, значительно облегчить проведение первичного тестирования, сделать его более оперативным и доступным для пациентов.

**Ключевые слова:** инфекционные заболевания, первичное комплексное обследование, мультиплексный дот-иммуноанализ, чувствительность, специфичность, количественное определение.

## A VERIFIED MULTIPLEXED IMMUNOASSAY FOR DETECTING ANTIBODIES AGAINST INFECTIOUS PATHOGENS

Poltavchenko A.G., Nechitaylo O.V., Filatov P.V., Ersh A.V.

State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltzovo, Novosibirsk region, Russian Federation

**Abstract.** Baseline screening of population groups at increased risk of developing infectious diseases (ID) includes a number of ELISA-based analyses, thereby accounting for high cost laborious and time-consuming examination. Earlier we

---

**Адрес для переписки:**

Полтавченко Александр Георгиевич  
630559, Россия, Новосибирская обл., п. Кольцово  
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор».  
Тел./факс: 8 (383) 336-74-09 (служебн.); 8 (913) 735-91-74 (моб.).  
E-mail: poltav@vector.nsc.ru; apoltav@gmail.com

**Contacts:**

Alexander G. Poltavchenko  
630559, Russian Federation, Novosibirsk Region, Koltzovo,  
State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector".  
Phone/fax: +7 (383) 336-74-09 (office); +7 (913) 735-91-74 (mobile).  
E-mail: poltav@vector.nsc.ru; apoltav@gmail.com

**Библиографическое описание:**

Полтавченко А.Г., Нечитайло О.В., Филатов П.В., Ерш А.В. Оценка метода мультиплексного выявления антител к возбудителям инфекционных заболеваний // Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9, № 1. С. 209–215. doi: 10.15789/2220-7619-2019-1-209-215

**Citation:**

Poltavchenko A.G., Nechitaylo O.V., Filatov P.V., Ersh A.V. A verified multiplexed immunoassay for detecting antibodies against infectious pathogens // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2019, vol. 9, no. 1, pp. 209–215. doi: 10.15789/2220-7619-2019-1-209-215

developed a cheap multiplex assay allowing to quickly perform a complex initial testing. Here, we would like to describe a novel kit designed to simultaneously detect antibodies against the six ID pathogens in blood products (plasma, serum etc.): human immunodeficiency virus, hepatitis B and C viruses, cytomegalovirus, *Treponema pallidum* and *Toxoplasma gondii*. The kit is based on multiplex dot-immunoassay over flat protein arrays (immune chips) utilizing colloidal gold conjugates and silver development. It allows carrying out complex analysis at room temperature within 70 minutes and does not require highly-qualified personnel. In this article, the results of laboratory tests of the experimental sample of a multiplex kit are compared with commercial ELISA kits from five Russian manufacturers using an array of 240 blood product samples including 200 clinical serum (plasma) samples from patients with ID and 40 plasma samples from donors. It was shown that the multiplex test analysis has a sensitivity and specificity of at least 95%, and optical signals of the dot-assay correlate well with the optical density values obtained using commercial ELISA kits and allow a semiquantitative evaluation of the content of specific antibodies in the sample. Furthermore, multiplex analysis is quicker and cheaper compared to ELISA and can be carried out in field. The kit for multiplex dot-immunoassay of antibodies can provide a complex approach to the diagnosis of ID, significantly simplify initial testing, make it faster, more efficient and affordable for patients.

**Key words:** *infectious diseases, antibodies, initial complex testing, multiplex dot-immunoassay, sensitivity, specificity, quantitation.*

## Введение

Мультиплексная иммунодиагностика — новое направление, предполагающее использование устройств (так называемых «белковых матриц» или «иммуночипов»), позволяющих одновременно определять в исследуемом образце множество различных аналитов. Мультиплексные анализы требуют меньше времени, реагентов и объема образца, они более информативны и экономически эффективны по сравнению с моноспецифичными тестами [14]. Несмотря на очевидные преимущества, иммуночипы не смогли пока радикально изменить диагностику, поскольку технические и эксплуатационные проблемы, препятствуют их реализации в клинических условиях [5, 6]. Большинство проблем при разработке белковых чипов обусловлено чрезвычайным разнообразием в биохимических свойствах, структуре и аффинности белков [5, 6, 10]. Значительные усилия ученых направлены на разработку мультиплексных анализов для одновременного обнаружения различных наборов клинически значимых аналитов [10], в частности для комплексного выявления маркеров инфекционных заболеваний у доноров крови и органов, хирургических больных и населения из групп риска [3, 7]. Для такого обследования может быть особо востребована мультиплексная тест-система, обеспечивающая надежное, оперативное и недорогое тестирование [3, 8, 10]. Попытки создания таких систем включали: микрожидкостные устройства [8]; иммунохроматографические системы с боковым потоком [4]; флуориметрический анализ с двойными метками [9]; суспензионные иммуночипы [15]; микроматрицы, напечатанные на поверхности дна ячеек микротитровального планшета [13]; а также иммуночипы на плоских слайдах [3]. Однако применение большинства из перечисленных тестов в клинической диагности-

ке остается проблематичным из-за сложности процессов их изготовления, значительных затрат и необходимости использования сложных устройств [5, 6, 10, 14].

Ранее мы сообщали о разработке и результатах первичных лабораторных испытаний экспериментального образца тест-системы для мультиплексного выявления в образцах сыворотки (плазмы) крови антител к 6 патогенам, способным передаваться с кровью: возбудителям сифилиса (*Treponema pallidum*) и токсоплазмоза (*Toxoplasma gondii*), цитомегаловирусу (ЦМВ), вирусам иммунодефицита человека (ВИЧ 1, 2), гепатитов В (ВГВ) и С (ВГС) [11]. Используемый нами подход позволяет совместить достоинства мультиплексного анализа с простотой изготовления и применения иммуночипов. В настоящей работе представлены результаты испытаний набора в сравнении с наборами для ИФА ведущих отечественных производителей диагностических систем с использованием массива из 240 клинических образцов.

## Материалы и методы

В работе использовали следующие реагенты захвата: иммуноглобулин класса G человека (Имтек, Россия), рекомбинантный антиген HВcore вируса гепатита В (ВГВ); рекомбинантный, мозаичный антиген NC34ab вируса гепатита С (ВГС) и рекомбинантный антиген p150 цитомегаловируса (ЦМВ) (ООО «Диа ПрофМед», Украина); рекомбинантный, химерный антиген gp41+gp120+gp36 вируса иммунодефицита человека (ВИЧ 1,2) и рекомбинантный, химерный антиген *T. gondii* (Faron Biotech Inc., Китай); рекомбинантные антигены p17 и TmpA *T. pallidum* (ЗАО БТК «Биосервис», Россия).

Исследования выполняли на массиве из 240 образцов, включающих 200 клинических проб сывороток (плазмы) крови от инфекционных больных и 40 образцов плазмы доноров, сфор-

мированном специалистами ЗАО «ИмДи» (г. Новосибирск) и предоставленный для экспериментов в виде слепого набора образцов.

Экспериментальный образец набора для мультиплексного дот-иммуноанализа антител (МДИА) рассчитан на 20 анализов. Он содержит 4 модуля для выполнения 5 анализов, флаконы с компонентами проявляющей системы и CD-диск с компьютерной программой учета результатов. Каждый модуль содержит блок из 5 белковых матриц из синтетической бумаги с дискретно нанесенными реагентами захвата и аналитическую ванну, объединяющую 5 блоков из 12 ячеек, заполненных готовыми рабочими растворами и герметизированных фольгой. Вид набора и описание методологии его изготовления приведено в предыдущей публикации [11].

Методология мультиплексного анализа представляет собой дот-иммуноанализ на белковых матрицах с низкой плотностью нанесения реагентов захвата, с применением конъюгатов на основе коллоидного золота, серебряного проявления и дополнительного усиления и стабилизации оптического сигнала [12]. Анализ выполняли с объемами рабочих растворов в ячейках 0,3 мл и исследуемых образцов 15 мкл в течение 70 мин при комнатной температуре. Хронологическая схема и описание методики анализа приведены ранее [11].

Обработку данных мультиплексного анализа выполняли с применением компьютерной программы, позволяющей автоматически определять оптическую плотность в каждой зоне нанесения антигена и выражать ее в относительных единицах [процентах диапазона от положительного контроля — IgG человека (К+ = 100%) до отрицательного контроля — зоны свободной от антигенов (К- = 0%)]; а также задавать отсекаемые значения — ОП<sub>крит</sub>, определенные предварительно по панели отрицательных сывороток [2].

В качестве тестов сравнения использовали наборы для ИФА: ГепаБест анти-НВс-IgG, Бест анти-ВГС, РекомбиБест антипаллидум — IgG, КомбиБест анти-ВИЧ-1+2 (АО «Вектор-Бест» (В-Бест), г. Новосибирск); Инвитролоджик «НВcore-антитела», ВГС-ДСМ, Сиф-IgG-ДС-стрип, Инвитролоджик ВИЧ-1,2-АТ, Мелиса Токсо-IgG, Инвитролоджик ЦМВ-IgG (АО «Медико-биологический союз» (МБС), г. Новосибирск); ИФА-анти-НВcore, ИФА-антипаллидум-IgG, ИФА-ВИЧ-1,2-Ат, (АО «ЭКОлаб», г. Электрогорск); ДС-ИФА-Анти-ТОКСО-Г, МилаЛаб-ИФА-АНТИ-НСV, ИФА-АНТИ-ЛЮИС, ДС-ИФА-АНТИ-ЦМВ-Г (ООО «НПО «Диагностические системы» (ДС), Нижний Новгород); ЦМВ-IgG, Токсо-IgG (ООО «ИмДи-спектр» (ИмДи), р.п. Кольцово, Новосибирской

область). ИФА выполняли в соответствии с прилагаемыми инструкциями. Результаты регистрировали на сканирующем спектрофотометре «Multiscan 310С» (Titertek, Финляндия) при  $\lambda = 450$  нм.

При сравнении массива из 240 сывороток подсчитывали общее число положительных и отрицательных образцов, одинаково квалифицированных более чем половиной референс-тестов, а также количество положительных и отрицательных образцов, определенных каждым тестом. Чувствительность и специфичность по каждому маркеру и для каждого теста рассчитывали по общепринятой формуле:

$$x = \frac{\text{число правильно квалифицированных образцов}}{\text{число исследованных образцов данной квалификации}}$$

Чувствительность вычисляли по положительным, а специфичность по отрицательным образцам. Статистическую обработку и корреляционный анализ данных со статистической значимостью 95% выполняли с помощью программы «Microsoft Excel».

## Результаты и обсуждение

Задачей первичного тестирования является установление факта контакта пациента с возбудителем инфекционного заболевания. В последующем, при необходимости, выполняется детальное изучение последствий такого контакта с применением других диагностических наборов и/или более сложных подтверждающих тестов [7, 10]. На практике значительная часть образцов, позитивных при первичном тестировании, в подтверждающих тестах не верифицируются [1], что указывает на вариабельность результатов, полученных в разных диагностических системах. Мы сравнивали результаты мультиплексного дот-иммуноанализа, с данными, полученными на наборах для ИФА пяти отечественных производителей (не менее 3 наборов по каждому определяемому маркеру). Сравнение проводили на массиве из 240 клинических образцов сывороток крови. Результаты, полученные с применением разных наборов для ИФА, существенно различались по величине оптических сигналов, а в ряде случаев и по качественной квалификации образцов, что, вероятно, может быть связано с использованием производителями разных иммунореагентов захвата и детекции, а также технологических приемов изготовления наборов. Следует отметить, что разная трактовка качественных результатов перечисленными наборами установлена при анализе сывороток с низким содержанием определяемых антител.

**Таблица 1. Сравнительный анализ специфических антител в массиве из 240 образцов сывороток с применением коммерческих референс-наборов для ИФА и набора для мультиплексного дот-иммуноанализа (МДИА)**

Table 1. A comparative analysis of detecting specific antibodies in 240 serum sample array by using commercial ELISA kits vs. multiplex dot-immunoassay (MDIA) kit

Наборы <sup>1</sup> Kits <sup>1</sup>	Число выявленных образцов, положительных и отрицательных по содержанию антител к: Number of detected positive and negative samples relative to antibody amount:											
	ВИЧ 1,2 HIV 1,2		ВГС HCV		ВГВ HBV		<i>T. pallidum</i>		<i>T. gondii</i>		ЦМВ CMV	
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
<b>Определено референс-наборам<sup>2</sup></b> Detected by referens-kits <sup>2</sup>	<b>197</b>	<b>43</b>	<b>148</b>	<b>92</b>	<b>113</b>	<b>127</b>	<b>24</b>	<b>210</b>	<b>84</b>	<b>156</b>	<b>201</b>	<b>39</b>
<b>В-Бест</b> Vector-Best	197/197	43/43	148/148	87/92	109/113	121/127	21/24	210/210	н.о. ND	н.о. ND	н.о. ND	н.о. ND
<b>Чувствительность, %</b> Sensitivity, %	100		100		96		88		н.о. ND		н.о. ND	
<b>Специфичность, %</b> Specificity, %		100		94		95		100		н.о. ND		н.о. ND
<b>МБС</b> MBU	197/197	43/43	145/148	89/92	107/113	122/127	24/24	210/210	82/84	153/156	200/201	37/39
<b>Чувствительность, %</b> Sensitivity, %	100		98		95		100		98		99	
<b>Специфичность, %</b> Specificity, %		100		97		96		100		98		95
<b>ДС</b> DS	197/197	43/43	148/148	80/92	н.о. ND	н.о. ND	24/24	209/210	84/84	148/156	196/201	37/39
<b>Чувствительность, %</b> Sensitivity%	100		100		н.о. ND		100		100		98	
<b>Специфичность, %</b> Specificity, %		100		86		н.о. ND		99		95		95
<b>ЭКОлаб</b> EKOlabor	197/197	43/43	н.о. ND	н.о. ND	111/113	121/127	24/24	205/210	н.о. ND	н.о. ND	н.о. ND	н.о. ND
<b>Чувствительность, %</b> Sensitivity, %	100		н.о. ND		98		100		н.о. ND		н.о. ND	
<b>Специфичность, %</b> Specificity, %		100		н.о. ND		95		98		н.о. ND		н.о. ND
<b>ИмДи</b> ImDi	н.о. ND	н.о. ND	н.о. ND	н.о. ND	н.о. ND	н.о. ND	н.о. ND	н.о. ND	82/84	149/156	188/201	39/39
<b>Чувствительность, %</b> Sensitivity%	н.о. ND		н.о. ND		н.о. ND		н.о. ND		98		94	
<b>Специфичность, %</b> Specificity, %		н.о. ND		н.о. ND		н.о. ND		н.о. ND		95		100
<b>МДИА</b> MDIA	197/197	43/43	147/148	90/92	109/113	121/127	24/24	205/210	84/84	150/156	198/201	38/39
<b>Чувствительность, %</b> Sensitivity%	100		99		96		100		100		98	
<b>Специфичность, %</b> Specificity, %		100		98		95		98		96		97

**Примечания.** <sup>1</sup> Аббревиатуры производителей наборов и наименования наборов приведены в разделе «Материалы и методы». <sup>2</sup> Число проб, одинаково квалифицированных не менее чем половиной референс-наборов. Серой заливкой выделены расчетные данные (способ расчета в разделе «Материалы и методы»). Н.о. — не определяли

Notes. <sup>1</sup> Abbreviation of kit manufacturers and kits names are presented in Section "Materials and Methods". <sup>2</sup> Number of samples uniformly verified at least by half of the reference kits. Estimated data highlighted by gray shading (data processing are described in Section "Materials and Methods"). ND — not determined.

Учитывая выявленные разночтения, в обработке использовали только образцы, одинаково квалифицированные более чем половиной референс-тестов, среди которых подсчитывали количество положительных и отрицательных сывороток, определенных каждым тестом, и вычисляли чувствительность и специфичность для каждого набора. Результаты приведены в таблице 1.

Приведенные данные показывают, что дот-иммуноанализ с использованием набора для мультиплексного анализа обеспечивает чувствительность и специфичность выявления

всех антител не ниже 95% и не уступает характеристикам коммерческих наборов для ИФА.

Результаты корреляционного анализа значений оптических сигналов, полученных при выявлении антител разными тест-системами в массиве из 240 образцов сывороток, приведены в таблице 2. Данные таблицы 2 свидетельствуют о том, что величины оптических сигналов дот-иммуноанализа хорошо коррелируют с соответствующими значениями оптической плотности в тест-системах для ИФА и сопоставимы по своему значению с корреляцией данных между этими ИФА-системами.

**Таблица 2. Коэффициенты корреляции значений оптических сигналов, полученных при выявлении маркеров инфекционных заболеваний разными тест-системами ( $p = 0,05$ )**

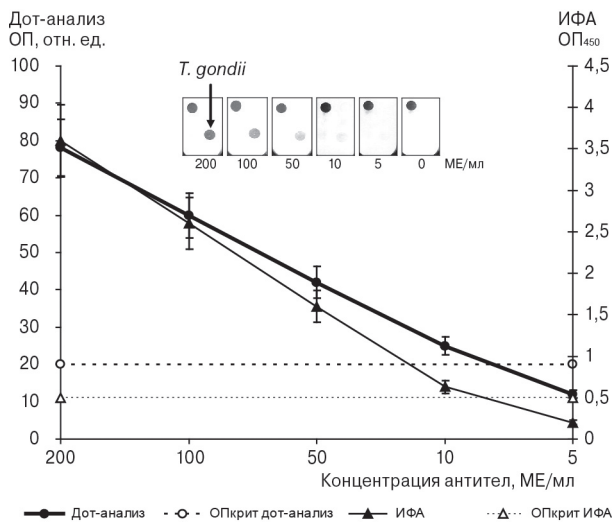
Table 2. Correlation coefficients for optical signal values obtained by various test systems identifying infectious disease markers ( $p = 0.05$ )

Маркер Marker	Антитела к ВИЧ 1,2 Anti-HIV 1,2 antibodies				Антитела к вирусу гепатита В Anti-HBV antibodies				
	В-Бест V-Best	МБС MBU	ЭК Олаб EKOlabor	МДИА MDIA	В-Бест V-Best	МБС MBU	ЭКОлаб EKOlabor	МДИА MDIA	
<b>В-Бест</b> V-Best	1	0,84	0,65	0,86	1	0,71	0,78	<b>0,81</b>	
<b>МБС</b> MBU		1	0,90	<b>0,90</b>		1	0,76	0,70	
<b>ЭКОлаб</b> EKOlabor			1	0,70			1	0,68	
<b>МДИА</b> MDIA				1				1	
Маркер Marker	Антитела к <i>T. gondii</i> Anti- <i>T. gondii</i> antibodies				Антитела к цитомегаловирусу Anti-CMV antibodies				
	ИмДи ImDi	МБС MBU	ДС DS	МДИА MDIA	ИмДи ImDi	МБС MBU	ДС DS	МДИА MDIA	
<b>ИмДи</b> ImDi	1	0,96	0,95	0,89	1	0,52	0,50	0,49	
<b>МБС</b> MBU		1	0,97	<b>0,90</b>		1	0,81	0,72	
<b>ДС</b> DS			1	<b>0,90</b>			1	<b>0,74</b>	
<b>МДИА</b> MDIA				1				1	
Маркер Marker	Антитела к вирусу гепатита С Anti-HCV antibodies				Антитела к <i>T. pallidum</i> Anti- <i>T. pallidum</i> antibodies				
	В-Бест V-Best	МБС MBU	ДС DS	МДИА MDIA	В-Бест V-Best	МБС MBU	ДС DS	ЭКОлаб EKOlabor	МДИА MDIA
<b>В-Бест</b> Vector-Best	1	0,76	0,82	0,81	1	0,82	0,81	0,92	0,72
<b>МБС</b> MBU		1	0,91	<b>0,90</b>		1	0,95	0,91	0,78
<b>ДС</b> DS			1	0,89			1	0,93	<b>0,79</b>
<b>Эколаб</b> EKOlabor				<b>н.о.</b> ND				1	0,78
<b>МДИА</b> MDIA				1					1

**Примечание.** Аббревиатуры производителей наборов такие же, как в таблице 1.

Note. Abbreviations of kit manufacturers are shown as in Table 1.





**Рисунок. Зависимость оптических сигналов дот-иммуноанализа и ИФА от концентрации антител к *T. gondii* в исследуемом образце (n = 3, p = 0,05)**

Figure. Optical signal (dot-immunoanalysis and ELISA)/anti-*T. gondii* antibody concentration relationship (n = 3 test samples, p = 0.05)

**Примечание.** В верхней части графика приведен вид иммуночипов после проведения дот-анализа, цифрами под иммуночипами обозначена концентрация специфических антител в исследуемых образцах.  
Note. Middle inset: overall immunochip view after dot-analysis, numbers below immunochips indicate concentration of specific antibodies in test samples.

Хорошая корреляция значений оптических сигналов дот-анализа с результатами полуколичественных тестов для ИФА позволяет предполагать то, что мультиплексный дот-анализ также, как ИФА может использоваться для полуколичественной оценки содержания специфических антител в образце. График, построенный по результатам сравнительного анализа калибровочных образцов из набора ИФА-Токсо-IgG ЗАО «ЭКОлаб», представленный на рисунке 1, свидетельствует о том, что показатели чувствительности ИФА и дот-анализа совпадают и составляют около 10 МЕ/мл.

Ряд данных дот-анализа на этом графике в диапазоне чувствительности метода хорошо аппроксимируется прямой, что позволяет проводить ориентировочную количественную оценку содержания специфических антител в исследуемом образце. На изображении иммуночипов, приведенном в верхней части графика, оптические сигналы в диапазоне чувствительности дот-иммуноанализа выглядят как отчетливо различимые невооруженным глазом темные пятна в местах нанесения соответствующего антигена. Таким образом, качественный учет результатов анализа таких образцов может легко и надежно осуществляться визуально.

Приведенные данные свидетельствуют о возможности эффективного использования мультиплексного метода для комплексного первичного тестирования образцов крови. При этом мультиплексный тест может значительно облегчить и ускорить осуществление серомониторинга, позволяет оперативно и с небольшими трудозатратами ограничить спектр подтверждающих тестов. Метод не требует дополнительного оборудования и энергообеспечения, поэтому анализ может выполняться при оказании экстренной медицинской помощи, а также в удаленных населенных пунктах, не имеющих оборудованных лабораторий, когда операция или переливание крови должно быть выполнено неотложно, а доставка пациента или образцов крови в оснащенный медицинский пункт затруднено или невозможно.

## Выводы

Метод мультиплексного дот-иммуноанализа антител к возбудителям инфекционных заболеваний обладает чувствительностью и специфичностью, не уступающими коммерческим наборам для ИФА. Он может обеспечить комплексный подход к диагностике инфекционных заболеваний и полуколичественный учет результатов анализа, значительно облегчить проведение первичного тестирования, сделать его более оперативным и доступным для пациентов.

## Список литературы/References

1. Ляужева Ф.М., Тленкопачев Р.С., Жибурт Е.Б. Выбракровка доноров по маркерам инфекций в Кабардино-Балкарской Республике // Трансфузиология. 2014. № 4. С. 32–36. [Lyauzheva F.M., Tlenkopachev R.S., Zhiburt E.B. Blood donor deferral due to infections in Kabardino-Balkaria. *Transfuziologiya = Transfuziologiya*, 2014, no. 4, pp. 40–46. (In Russ.)]
2. Полтавченко А.Г., Ерш А.В., Пьянков С.А., Никонов А.М., Волков Г.Н., Кривенчук Н.А. Многопрофильная серодиагностика инфекционных заболеваний. Инструментальный учет результатов анализа // Биотехнология. 2013. № 4. С. 74–82. [Poltavchenko A.G., Ersh A.V., P'yankov S.A., Nikonov A.M., Volkov G.N., Krivenchuk N.A. The multiplex serodiagnosis of infection diseases. The tool account results of the analysis. *Biotechnologiya = Biotechnology*, 2013, no. 4, pp. 74–82. (In Russ.)]
3. Burgess S.T.G., Kenyon F., O'Looney N., Ross A.J., Kwan M.C., Beattie J.S., Petrik J., Ghazal P., Campbell J.C. A multiplexed protein microarray for the simultaneous serodiagnosis of human immunodeficiency virus/hepatitis C virus infection and typing of whole blood. *Anal. Biochem.*, 2008, vol. 382, pp. 9–15. doi: 10.1016/j.ab.2008.07.017

4. Corstjens P.L.A.M., Chen Z., Zuiderwijk M., Bau H.H., Abrams W.R., Malamud D., Niedbala R.S., Tanke H.J. Rapid assay format for multiplex detection of humoral immune responses to infectious disease pathogens (HIV, HCV, and TB). *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2007, vol. 1098, pp. 437–445. doi: 0.1196/annals.1384.016
5. Ellington A.A., Kullo I.J., Bailey K.R., Klee G.G. Antibody-based protein multiplex platforms: technical and operational challenges. *Clin. Chem.*, 2010, vol. 56, pp. 186–194. doi: 10.1373/clinchem.2009.127514
6. Hartmann M., Roeraade J., Stoll D., Templin M.F., Joos T.O. Protein microarrays for diagnostic assays. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2009, vol. 393, pp. 1407–1416. doi: 10.1007/s00216-008-2379-z
7. Len O., Garzoni C., Lumbreras C., Molina I., Meije Y., Pahissa A., Grossi P. Recommendations for screening of donor and recipient prior to solid organ transplantation and to minimize transmission of donor-derived infections. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2014, vol. 20, iss. 7, pp. 10–18. doi: 10.1111/1469-0691.12557
8. Lochhead M.J., Todorof K., Delaney M., Ives J.T., Greef C., Moll K., Rowley K., Vogel K., Myatt C., Zhang X.Q., Logan C., Benson C., Reed S., Schooley R.T. Rapid multiplexed immunoassay for simultaneous serodiagnosis of HIV-1 and coinfections. *J. Clin. Microbiol.*, 2011, vol. 49, pp. 3584–3590. doi: 10.1128/JCM.00970-11
9. Myyrylainen T., Talha S.M., Swaminathan S., Vainionpaa R., Soukka T., Khanna N., Pettersson K. Simultaneous detection of human immunodeficiency virus 1 and hepatitis B virus infections using a dual-label time-resolved fluorometric assay. *J. Nanobiotechnol.*, 2010, vol. 8, pp. 27–32. doi: 10.1186/1477-3155-8-27
10. Petrik J. Diagnostic applications of microarrays. *Transfus. Med.*, 2006, vol. 16, pp. 233–247. doi: 10.1111/j.1365-148.2006.00673.x
11. Poltavchenko A.G., Nechitaylo O.V., Filatov P.V., Ersh A.V., Gureyev V.N. Multiplex method for initial complex testing of antibodies to blood transmitted diseases agents. *J. Virol. Meth.*, 2016, vol. 236, pp. 231–236. doi: 10.1016/j.jviromet.2016.08.003
12. 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, vol. 37, pp. 540–554. doi: 10.1080/15321819.2016.1174134
13. Talha S.M., Saviranta P., Hattara L., Vuorinen T., Hytönen J., Khanna N., Pettersson K. Array-in-well platform-based multiplex assay for the simultaneous detection of anti-HIV- and treponemal-antibodies, and hepatitis B surface antigen. *J. Immunol. Meth.*, 2016, vol. 429, pp. 21–27. doi: 10.1016/j.jim.2015.12.007
14. Tighe P.J., Ryder R.R., Todd I., Fairclough L.C. ELISA in the multiplex era: potentials and pitfalls. *Proteomics Clin. Appl.*, 2015, vol. 9, pp. 406–422. doi: 10.1016/j.jim.2015.12.007
15. Wong J., Sibani S., Lokko N.N., LaBaer J., Anderson K.S. Rapid detection of antibodies in sera using multiplexed self-assembling bead arrays. *J. Immunol. Meth.*, 2009, vol. 350, pp. 171–182. doi: 10.1016/j.jim.2009.08.013

**Авторы:**

**Полтавченко А.Г.**, д.б.н., зав. лабораторией иммунохимической диагностики ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область, Россия;

**Нечитайло О.В.**, стажер-исследователь лаборатории иммунохимической диагностики ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область, Россия

**Филатов П.В.**, к.б.н., научный сотрудник лаборатории иммунохимической диагностики ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область, Россия;

**Ерш А.В.**, к.б.н., научный сотрудник лаборатории иммунохимической диагностики ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область, Россия.

**Authors:**

**Poltavchenko A.G.**, PhD, MD (Biology), Head of Immunochemistry Laboratory, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltzovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;

**Nechitaylo O.V.**, Trainee Researcher, Immunochemistry Laboratory, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltzovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;

**Filatov P.V.**, PhD (Biology), Researcher, Immunochemistry Laboratory, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltzovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;

**Ersh A.V.**, PhD (Biology), Researcher, Immunochemistry Laboratory, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltzovo, Novosibirsk Region, Russian Federation.