**Иммунохроматографическая тест-система для одновременного определения вирусных респираторных заболеваний**

***Беднягина О.О.1,2, Моисеева А.А.1, Семейкина А.А.1***

*Студент, 2 курс магистратуры*

*1Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия
2Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, Москва, Россия
E-mail: o.o.bednyagina@gmail.com*

Респираторные заболевания – это часто встречающиеся инфекционные болезни, которые влияют на дыхательную систему и вызываются различными вирусами. Эти патогенные агенты обладают высокой контагиозностью, легко передаются от человека к человеку, нередко вызывают эпидемии. Кроме того, данные инфекции представляют серьезную угрозу для людей с хроническими заболеваниями и ослабленным иммунитетом, так как способны приводить к осложнениям. В свете этой проблемы, разработка быстрого и точного теста для определения конкретного возбудителя становится актуальной задачей в области биотехнологии и медицинской практики.

Цель данного исследования – разработка иммунохроматографической тест-системы для одновременного определения вирусов SARS-CoV-2, гриппа типа А и гриппа типа В в мазках рото- и носоглотки. Определяемыми антигенами выбраны соответствующие нуклеопротеины определяемых вирусов.

В качестве метки использовались полистирольные латексные частицы, имеющие карбоксильные группы на своей поверхности. Через активацию карбодиимидно-сукцинимидным методом функциональных групп достигается прочная связь между латексными частицами и антителами с образованием ковалентных связей, что обеспечивает стабильность конъюгата. Для формирования контрольной и аналитических зон были выбраны латексные частицы разных цветов, что помогает легче интерпретировать результат. На рабочей мембране подобраны положения тестовых зон каждого вируса для получения более высокой чувствительности.

Процесс разработки тест-системы включает оптимизацию состава мультимембранного композита, в том числе выбор подходящих мембран и определение состава применяемых реагентов. В качестве биореагентов использовались моноклональные антитела к каждому из вирусов фирмы «HyTest» (Россия).

В ходе оптимизации тест-системы была подобрана нитроцеллюлозная рабочая мембрана MDI CNPC 15 мкм, характеризующаяся более крупными порами, что обеспечивает легкое прохождение сложного матрикса для достижения наилучшего результата анализа.

Проведена сравнительная характеристика мембран для конъюгата и образца фирм «Ahlstrom» (Финляндия) и «MDI» (Индия), которые отличаются способностью к впитыванию, материалом изготовления и наличием коммерческой предобработки. По результатам эксперимента для мультисистемы была выбрана стекловолоконная мембрана Ahlstrom 8964, которая обеспечивает полное вымывание конъюгата маркер-антитело и мембрана для образца Ahlstrom 601 для достижения наилучшей интенсивности сигнала и эффективной сепарации образцов мазка рото- и носоглотки.

В качестве основы рабочего буфера был выбран 50 мМ Tris/HCl с pH 8.0, содержащий 0,5 % Tween-20 и 100 мМ NaCl, что давало лучший результат детекции вирусов. Методом ускоренного старения подтверждена стабильность тест-системы в течение двух лет.

Предел обнаружения разработанной тест-системы составляет 12 нг/мл для вирусов гриппа А и В и 0.7 нг/мл для вируса SARS-CoV-2. Благодаря быстрому времени анализа (10 минут), одновременному определению нескольких заболеваний данный тест является эффективным инструментом для диагностики и мониторинга респираторных инфекций. Использование маркерных частиц различных цветов облегчает интерпретацию результатов.