

ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ У ВЕТЕРИНАРІЇ БІОСЕНСОРІВ НА ОСНОВІ ЯВИЩА ПОВЕРХНЕВОГО ПЛАЗМОННОГО РЕЗОНАНСУ

К. т. н. Г. В. Дорожинський¹, Ю. Ю. Дремух², А. Ю. Ющенко²,
к. вет. н. Н. В. Гаврасьєва², к. вет. н. О. Ф. Блоцька², д. вет. н., проф. З.С. Клестова²,
к. ф.-м. н. С. О. Кравченко¹, Ю. В. Ушенін¹, д. т. н. В. П. Маслов¹

¹Інститут фізики напівпровідників ім. В. Є. Лашкарьова НАН України,

²Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів

Україна, м. Київ

gvdorozinsky@ukr.net

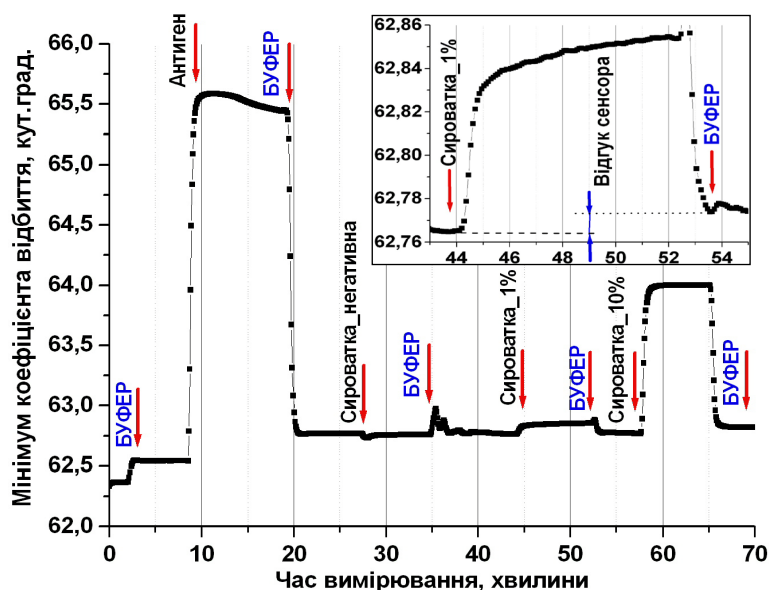
Показана можливість виявлення антитіл до вірусів інфекційних хвороб свійських тварин методом поверхневого плазмонного резонансу (ППР). Проведені дослідження з негативними та позитивними сироватками крові тварин показали, що метод ППР дозволяє проводити експрес-аналіз (менше години) та має більшу чутливість, ніж інші методи. Результати дослідження можуть бути застосовані в лабораторній практиці для діагностики хвороб тварин та ветеринарними закладами та організаціями України.

Ключові слова: вірусні хвороби, ветеринарія, біосенсор, поверхневий плазмонний резонанс.

Основною перепоною для благополуччя галузі тваринництва є хвороби вірусної етіології. Залежно від збудника рівень захворюваності у господарстві може становити 70—80%, а летальність сягати 100%. Окрім прямих витрат на лікування та профілактичні засоби, значних збитків завдають зниження несучості, молочної та м'ясної продукції а також вимушений забій тварин. На сучасному етапі існує багато методів виявлення збудників вірусних інфекційних хвороб, що визнані «золотим стандартом» лабораторної діагностики. Основним методом прижиттєвої діагностики сьогодні в усьому світі є серологічний, тобто виявлення антитіл в сироватці крові тварин [1]. Найбільш поширеними методами є імуноферментний аналіз (ІФА), в деяких випадках — реакція імунодифузії в агаровому гелі (РІД) [2]. Однак ці методи мають ряд недоліків, основними серед яких є висока вартість аналізу та низький рівень чутливості, довготривале очікування результату (понад 72 години), неможливість використання у польових умовах. Альтернативним методом виявлення збудників вірусних інфекційних хвороб може бути оптичний метод, оснований на явищі поверхневого плазмонного резонансу (ППР), оскільки відомо, що аналітичні ППР-пристрої мають високу чутливість до малих концентрацій досліджуваних рідких та газоподібних речовин [3, 4].

Метою даної роботи було дослідження можливості виявлення антитіл до вірусів інфекційних хвороб свійських тварин методом ППР. Для цього застосовували методику рецептор-аналіт, суть якої полягала у селективному зв'язуванні аналіту (антитіл) із відповідними комплементарними ім вірусами (рецептором) закріпленими на поверхні чутливого елемента біосенсору. Було досліджено сироватки крові з антитілами трьох типів у буферному розчині (фіз. розчині рН 7,24): слабо позитивні (10% об.), розведені слабо позитивні (1% об.) та негативні. Дослідження виконували на біосенсорі «Плазмон», розробленому в ІФП ім. В. Є. Лашкарьова НАН України. Цей прилад дозволяє вимірювати з високою точністю кінетику фізичних та біохімічних процесів на поверхні свого чутливого елемента за зміною кутового положення мінімуму коефіцієнта відбиття, якщо ці процеси протікають зі зміною діелектричної проникності та/або коефіцієнта поглинання взаємодіючих реагентів. Всі процеси взаємодії відслідковували у реальному часі вимірюванням кінетики (див. рисунок). Спочатку на чутливому елементі біосенсора формували рецепторну поверхню шляхом іммобілізації антигену вірусу, для чого прокачували антиген через вимірювальну кювету приладу протягом 12 хвилин. Потім промивали кювету буферним розчином, після чого виконували по чергове заміщення в кюветі сироватки та буферного розчину.

Результати експерименту показали, що розведені сироватки з концентрацією антитіл 1 та 10% специфічно взаємодіяли з антигеном, про що свідчать відповідні відгуки біосенсора. При цьому тривалість аналізу була у 70 разів менша за тривалість аналізу методом РІД.



Кінетика відгуку біосенсору «Плазмон» на реакцію взаємодії антиген-антитіло

Таким чином, експериментально показана можливість виявлення антитіл в сироватці крові хворих свійських тварин методом ППР, який надає можливість проводити експрес-аналіз (45 хв.) та має більшу чутливість у порівнянні з такими існуючими методами, як імуноферментний аналіз та реакція імунодифузії в агаровому гелі, оскільки дозволяє з високою достовірністю визначати на порядок нижчу концентрацію антитіл, що дає можливість лабораторно підтвердити діагноз на ранніх стадіях захворювання.

ВИКОРИСТАНІ ДЖЕРЕЛА

1. World organisation for animal health. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals.— Paris: World organisation for animal health, 2008.
2. Сюрин В.Н., Самуйленко А.Я., Соловьєв Б.В., Фомина Н.В. Вирусные болезни животных.— Москва: ВНИТИБП, 2001.
3. Gridina N., Dorozinsky G., Khristosenko R. et al. Surface plasmon resonance biosensor // Sensors & Transducers Journal.— 2013.— Vol. 149(2).— С. 60—68.
4. Дорожинский Г.В., Лобанов М.В., Маслов В.П. Обнаружение паров метанола методом поверхностного плазмонного резонанса // Восточно-Европейский журнал передовых технологий.— 2015.— № 4(76).— С. 4—7.

G. V. Dorozinsky, Yu. Yu. Dremuh, A. Yu. Yuschenko, N. V. Gavrasieva, O. F. Blotska, Z. S. Klestova, S. O. Kravchenko, Yu. V. Ushenin, V. P. Maslov

Prospects for veterinary application of biosensors based on the phenomenon of surface plasmon resonance

The authors show the possibility to detect antibodies to viruses of infectious diseases of domestic animals using the surface plasmon resonance (SPR) method. The studies carried out with negative and positive blood serum from diseased animals have shown that the SPR method allows for rapid analysis (less than an hour) and has a higher sensitivity than existing ELISA and AGRID methods. The results of the study can be applied in laboratory practice for the control of blood serum of diseased animals and vaccines by veterinary control institutions and organizations of Ukraine.

Keywords: veterinary, biosensor, surface plasmon resonance.