

В.В. Джелали, Д.Н. Чернышенко, Н.А. Короткова,
Н.И. Игумнова, В.И. Юхименко, А.В. Мартынов

РАЗРАБОТКА ИММУННЫХ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИХ БИОСЕНСОРОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

ГУ "Институт микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова НАМН Украины", г. Харьков

В работе рассмотрено современное состояние в области разработок электрохимических биосенсорных систем.

Целью работы является разработка метода высокоскоростной циклической вольтамперометрии для идентификации и детектирования микроорганизмов.

Приведены обобщенные результаты исследований, направленных на создание биосенсора с нанопереходами по координате электрохимической реакции для избирательной и высокоселективной регистрации антигенов (АГ) и антител (АТ).

Измерения и регистрацию циклических вольтамперных характеристик (ЦВАХ) осуществляли с помощью потенциостата ПИ — 50.1.1, управляемого программатором ПР — 8 и цифрового осциллографа RIGOL DS1022DC.

Измерения и анализ ЦВАХ проведены для границ раздела фаз:

$$\text{Au} | 1 \text{ НАНО ИМ АТ } S. aureus | \times \% \text{ АГ } S. aureus \text{ в СКЧ в PBS; } \quad (1)$$

$$\text{Au} | 1 \text{ НАНО ИМ АГ } S. aureus | \times \% \text{ АТ } S. aureus \text{ в СКЧ в PBS; } \quad (2)$$

$$\text{Au} | 1 \text{ НАНО ИМ АТ } S. aureus | \times \% \text{ АГ } S. aureus \text{ в ПКЧ в PBS; } \quad (3)$$

$$\text{Au} | 1 \text{ НАНО ИМ АГ } S. aureus | \times \% \text{ АТ } S. aureus \text{ в ПКЧ в PBS; } \quad (4)$$

$$\text{Au} | 1 \text{ НАНО ИМ АТ } S. aureus | \times \% \text{ АГ } S. aureus \text{ в ЭМКЧ в PBS; } \quad (5)$$

$$\text{Pt} | 1 \text{ НАНО ИМ АТ } S. aureus | \times \% \text{ АГ } S. aureus \text{ в СКЧ в PBS; } \quad (6)$$

$$\text{Pt} | 1 \text{ НАНО ИМ АГ } S. aureus | \times \% \text{ АТ } S. aureus \text{ в СКЧ в PBS; } \quad (7)$$

$$\text{Pt} | 1 \text{ НАНО ИМ АТ } S. aureus | \times \% \text{ АГ } S. aureus \text{ в ПКЧ в PBS; } \quad (8)$$

$$\text{Pt} | 1 \text{ НАНО ИМ АГ } S. aureus | \times \% \text{ АТ } S. aureus \text{ в ПКЧ в PBS; } \quad (9)$$

$$\text{Au} | 1 \text{ НАНО ИМ АТ } S. aureus | \times \% \text{ АГ } S. aureus \text{ в СКЧ в PBS; } \quad (10)$$

$$\text{Au} | 1 \text{ НАНО ИМ ФАТ } S. aureus | \times \% \text{ АГ } S. aureus \text{ в PBS; } \quad (11)$$

$$\text{Au} | 1 \text{ НАНО ИМ АГ } S. aureus | \times \% \text{ ФАТ } S. aureus \text{ в PBS; } \quad (12)$$

$$\text{Pt} | 1 \text{ НАНО ИМ ФАТ } S. aureus | \times \% \text{ АГ } S. aureus \text{ в PBS; } \quad (13)$$

$$\text{Pt} | 1 \text{ НАНО ИМ АГ } S. aureus | \times \% \text{ ФАТ } S. aureus \text{ в PBS; } \quad (14)$$

где 1 НАНО ИМ — мономолекулярный наноразмерный иммобилизованный слой, СКЧ — сыворотка крови человека, ПКЧ — плазма крови человека, ЭМКЧ — эритроцитарная масса крови человека, PBS — фосфатный буферный раствор, ФАТ *S. aureus* — низкомолекулярные фрагменты *S. aureus*.

Разработанные биосенсоры с нанопереходами по наноразмерной координате электрохимической реакции позволяют регистрировать как качественно, так и количественно концентрацию АТ *S. aureus* и АГ *S. aureus* в сыворотке, плазме и эритроцитарной массе крови человека, а также в модельных системах.

Продемонстрирована возможность использования полученных двухмерных наномембран на основе иммобилизованных специфических АТ *S. aureus*, специфических АГ *S. aureus*, фрагментов Fab, как части распознающего устройства биосенсоров для регистрации иммунного отклика. Разработанные биосенсоры для детекции антигенов *S. aureus* не дают отклика на введение в фоновый раствор электролита бактериальных клеток *E. coli*.

Предложен протокол оптимизации последовательности химических и электрохимических операций, направленных на оптимизацию нового метода лабораторной диагностики инфекционных заболеваний на основе биосенсора с наноразмерной индикаторной электрохимически активной биоорганической фазой. Разработанная технология получения биосенсоров с нанопереходами по координате электрохимической реакции может

быть с успехом применена для индикации других возбудителей инфекционных заболеваний, что проверено на примере детекции возбудителей ветряной оспы *V. Zoster*.

В работе показано, что использование в качестве индикаторной фазы мономолекулярных конденсированных пленок АТ и АГ приводит к улучшению основных характеристик биосенсора.

И.В. Дзюблик¹, О.В. Обертинская¹, А.Я. Дзюблик²

РОЛЬ ВИРУСОВ В ИНФЕКЦИОННОМ ОБОСТРЕНИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

¹Государственное учреждение “Национальная медицинская академия последипломного образования им. П.Л. Шупика МЗ Украины”, г. Киев

²Государственное учреждение “Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии имени Ф.Г. Яновского НАМН Украины”, г. Киев

Сегодня уже стало очевидно, что бронхиальная астма (БА) является глобальной проблемой: в Европе около 30 млн. человек страдают этим хроническим заболеванием, в США ежегодно более 2 млн. попадают в реанимационные отделения, 500 000 госпитализируют по поводу тяжелого инфекционного обострения (ИО) БА. Эпидемиологические и иммунопатофизиологические исследования показывают, что самой распространенной причиной обострений болезни — в 80–85% случаев у детей и 75% у взрослых — являются острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ). И хотя инфекционные обострения БА зависят и от других факторов (фенотипических, анамнестических, от проводимого лечения, длительности обострения и т.д.), эти цифры указывают на колоссальную роль вирусов в этом процессе.

Таким образом, **целью работы** стало изучение спектра вирусных возбудителей ИО БА среди взрослого населения.

Объектом и методами исследования были мазки из полости носа, отобранные сухими стерильными зондами на пластиковой основе с дакроновыми тампонами в транспортную среду для хранения и транспортировки респираторных мазков; мокрота, собранная в стерильные одноразовые контейнеры, после предварительного полоскания полости рта водой, 116 (236) больных с ИО БА (60 (120) мужчин и 56 (112) женщин в возрасте 26–76 лет) с подтвержденными результатами комплекса клинико-функциональных и лабораторных методов исследования.

Для выявления и идентификации респираторных вирусов широко применяют молекуляр-

ные методы, специфичность которых основана на уникальности нуклеотидных последовательностей вирусных геномов. Нами были использованы тест-системы на основе мультиплексной ПЦР в режиме реального времени (PCR-FRT) для идентификации респираторно-синцитиального вируса (human Respiratory Syncytial virus — hRSv), метапневмовируса (human Metapneumovirus — hMpV), вирусов парагриппа 1, 2, 3 и 4 типов (human Parainfluenza virus — 1–4-hPiv), коронавирусов (human Coronavirus — hCov), риновирусов (human Rhinovirus — hRv), аденовирусов групп В, С и Е (human Adenovirus В,С,Е — hAdv) и бокавируса (human Bocavirus — hBoV) в клиническом материале из верхних и нижних дыхательных путей. Экстракцию ДНК/РНК из исследуемого биологического материала и обратную транскрипцию проводили, используя набор реагентов РИБО-преп “АмплиСенс® ОРВИ-скрин-FL”, производства ФБУН ЦНИИЭ (РФ). Для анализа и интерпретации результатов исследования использовали Rotor-Gene Q (Германия), что позволило в одной пробирке проводить и детектировать в режиме реального времени от 2 до 6-ти независимых реакций, с использованием зондов, меченных различными флуоресцентными красителями.

Результаты исследования. Применение мультиплексной ПЦР-тест-системы дало возможность определить вирусные возбудители и идентифицировать их у 57,5% больных с ИО БА. Наибольшую этиологическую значимость среди вирусных возбудителей ИО БА верхних и нижних дыхательных путей имели hRV — в 52,2% случаев; значительно реже выявляли hBoV — в 13,0% случаев; hMpV —