

Центр экономических исследований



НАРОДНОЕ ХОЗЯЙСТВО

ВОПРОСЫ ИННОВАЦИОННОГО РАЗВИТИЯ

Всероссийский научно-практический журнал

1
2012



ИЗДАТЕЛЬСТВО МИИ НАУКА МОСКВА

Э.А. Шуралев

Казанский (Приволжский) федеральный университет, старший преподаватель кафедры прикладной экологии, кандидат ветеринарных наук

МУЛЬТИПЛЕКСНАЯ ИММУНОФЕРМЕНТНАЯ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ ТЕСТ-ПЛАТФОРМА ДЛЯ ИНДИКАЦИИ БИОПАТОГЕНОВ В ОРГАНИЗМАХ

Обеспечение биологической безопасности относится к числу важнейших проблем в современном мире. На современном этапе развития общества патогенные микроорганизмы, в том числе возбудители зоонозов и зооантропонозов, относятся к основным источникам биологической опасности для населения, животных и окружающей среды, и чрезвычайных ситуаций биолого-социального характера. Планета Земля находится в ситуации, когда эпидемии инфекционных заболеваний бесконтрольно распространяются по всему миру вследствие изменившихся условий жизни (урбанизация, ухудшение социально-экологических условий жизни, международный туризм и торговля, микробные адаптации и мутации, разрушение природных экологических систем и др.). К инфекционным биологическим рискам относятся как массовые инфекционные заболевания (эпидемии, вспышки, пандемии, эпизоотии), так и естественные резервуары патогенов в дикой природе. Наибольшую биологическую угрозу представляют: преодоление микроорганизмами межвидовых барьеров (антропозоозы, инфекции отдаленных биологических видов); «возвращающиеся», управляемые с помощью вакцинации инфекции, активизировавшиеся после периода эпидемиологического благополучия; инфекции, возникающие на новых территориях (завоз редких или ранее не встречавшихся инфекций); новые инфекции, вызываемые ранее неизвестными патогенами; и другие факторы.

Проблема своевременного обнаружения инфекционного агента как в окружающей среде, так и в организме людей и животных остается открытой. Ведутся научные исследования в разработке новых методов ускоренного обнаружения микроорганизмов в объектах окружающей среды, а также специфических антител в организме животных и человека¹.

Мониторинг инфекций в экосистемах с использованием высоко эффективных диагностических тест-систем является ключом к противозидемическим и противоэпизоотическим мероприятиям. Особое внимание уделяется природным очагам возбудителей зоонозных и зооантропонозных заболеваний, в частности микобактериальных инфекций, представляющих угрозу и для человека. Туберкулез остается серьезной проблемой во многих странах, причем распространение инфекции зачастую тесно связано с сохранением резервуаров в дикой природе, включая кабана, барсука, оленей. Создание высокоэффективных тест-систем, удобных для индикации микобактериальных инфекций у разных видов животных, облегчит своевременное выявление резервуаров возбудителей, с последующим рациональным применением специфических мер снижения распространения этого заболевания.

Особенностью инфекционного процесса при заражении патогенными микобактериями является его специфическое индивидуальное проявление в организме хозяина разных видов, цикличностью патогенеза самого возбудителя в макроорганизме. Обнаружено множество антигенов синтезируемых патогенами родов *M.*

tuberculosis и *M. bovis*, а также образующихся в процессе их разрушения клетками иммунной системы. Однако разные виды животных по-разному реагируют на микобактериальные антигены и синтез специфических антител у них к конкретным антигенам отличен. Также надо отметить, что патогенез при туберкулезе на ранних стадиях характеризуется образованием, так называемых, ранних синтезируемых антигенов, а на более поздних стадиях – антигенов микробного цикла развития инфекции. Соответственно, к тем или иным антигенам в организме инфицированного животного или человека в разные стадии иммуногенеза будут синтезироваться специфические антитела. Данный фактор указывает на тот факт, что для индикации возбудителя в макроорганизме серологическими методами, пригодными для прижизненной диагностики туберкулеза, необходимо проводить тестирование сывороток крови животных к нескольким антигенам микобактерий одновременно.

Иммуноферментный анализ (ИФА) является высокочувствительным и специфичным методом обнаружения антител к антигенам возбудителей инфекционных заболеваний. Однако тестирование проб сывороток крови к каждому антигену микобактерий делает этот метод малоэффективным и нерациональным. А чувствительность и специфичность каждого отдельно взятого антигена не удовлетворяют требованиям, достаточным для использования их для индикации возбудителя в инфицированном организме.

Совместно с компанией «Enfer Scientific» (Ирландия) была разработана мультиплексная диагностическая тест-платформа для обнаружения микобактериальных инфекций, чувствительность и специфичность анализа в которой были повышены за счет одновременного использования нескольких антигенов. Мультиплексный иммуноферментный хемилюминесцентный анализ, может одновременно обнаруживать уровень антител к 25 антигенам в одной лунке 96-луночного полистиролового планшета. Хемилюминесцентный сигнал улавливается цифровой системой визуализации, который затем анализируется с помощью программного обеспечения и макрос-программами для измерения уровня антител к каждому отдельному антигену в биологических жидкостях¹.

Мультиплексная система обладает высокой производительностью и простотой использования. Специфика метода заключается в следующем. Внутри каждой из 96 лунок точно наносятся до 25 отдельных антигенов в объеме 15 – 30 нл. Каждый антиген анализируется индивидуально, тем самым в каждой планшете анализу подвергается до 2400 реакций (в стандартном ИФА – 96 реакций). Скрининг проб сывороток крови с помощью этой технологии – огромный шаг вперед для диагностических лабораторий (ветеринарных, медицинских, экологических), что позволит экономить время и деньги. Система использует усовершенствованную технологию хемилюминесценции для образования сигналов. Диапазон измерений составляет от 0 до 65000 относительных световых единиц (relative light units – RLU), за счет использования хемилюминесцентной метки высокой чувствительности. Этот динамический диапазон дает потенциал для значительного улучшения чувствительности метода по сравнению со стандартными ИФА системами и может быть использован для количественного и качественного анализа.

Постановка анализа сходна со стандартным методом ИФА. После нанесения антигенов планшета пригодна для использования в течение года. В лунки планшеты

¹ Осин Н.С., Храмов Е.Н., Злобин В.Н. Технические средства индикации биопатогенов как основа обеспечения биологической безопасности. // Молекулярная Медицина, 2006. №3. С. 24-33.

¹ Whelan C., Shuralev E., O'Keefe G., Hyland P., Kwok H.F., Snoddy P., O'Brien A., Connolly M., Quinn P., Groll M., Watterson T., Call S., Kenny K., Duignan A., Hamilton M.J., Buddle B.M., Johnston J.A., Davis W.C., Olwill S.A., Clarke J. Multiplex immunoassay for serological diagnosis of Mycobacterium bovis infection in cattle. Clin Vaccine Immunol. 2008;15(12):1834-1838.