

Федорова О.В., Заярнюк Н.Л., Петрина Р.А., Новиков В.П.
Национальный университет «Львовская политехника», Украина, Львов
Грицкова И.А., Станишевский Я.М.
Московская государственная академия тонкой химической
технологии им. М.В.Ломоносова, Россия, Москва

Перспективы создания диагностикумов для нужд ветеринарии

Получены новые высокочувствительные диагностические тест-системы на основе полимерных носителей для определения вирусов различной этиологии в биожидкостях крупного рогатого скота. Сравнительный анализ с существующими традиционными методами диагностики показал совпадение в 98% случаев. Сконструировано биотест-систему для определения острого воспалительного процесса в организме человека и животных.

New highly sensitive diagnostic test systems based on polymeric carriers to determine the etiology of various viruses in bio fluids of the cattles body were obtained. Comparative analysis with existing traditional methods of diagnosis showed coincidence in 98% of cases. Biotest-system to determine acute inflammation in humans and animals has been designed

Проблема теории и методов экспресс диагностики заболеваний различной этиологии остается актуальной задачей здравоохранения и ветеринарии. Появление новых штаммов микроорганизмов приводит к развитию новых инфекционных и вирусных заболеваний, среди которых наблюдаются подобные эпизоотологические данные, клинические симптомы, морфологические изменения, случаи атипичных и латентных форм протекания заболеваний, а также наличие смешанных инфекций. Своевременно и правильно поставленный диагноз позволяет четко оценить ситуацию и выбрать систему адекватных мер.

Медицинская практика широко использует иммунодиагностические методы, среди которых значительные преимуществами обладают полимерные диагностические тест-системы. Принципом их работы является реакция латексной агглютинации (РЛА) между антителом, иммобилизованным на поверхности полимерного носителя, и антигеном, что определяется в биожидкостях человека или животного. Относительная дешевизна анализа, высокая чувствительность, специфичность и воспроизводимость методов РЛА, простота и возможность постановки теста в любых условиях позволяет проводить более качественную диагностику, как при единичных, так и при скрининговых исследованиях.

Значительные риски для здоровья людей обусловлены суммарным действием быстрых структурных изменений в секторе животноводства, территориальной концентрацией предприятий интенсивного животноводства недалеко от крупных населенных пунктов, а также миграцией животных, людей и патогенных микроорганизмов между системами интенсивного и традиционного производства. Наиболее серьезной угрозой является человеческая пандемия, что подтверждается появлением нового штамма гриппа А (H1N1), который объединяет генетический материал из человеческого, свиного и птичьего гриппа. Создание системы идентификации респираторно-кишечной патологии крупного рогатого скота (КРС) является чрезвычайно актуальным в современной ветеринарии. Достаточно распространенными являются заболевания, вызываемые вирусами парагриппа-3 (ПГ-3), инфекционного ринотрахеита (ИРТ), вирусной диареи (ВД), респираторно-синцитиальный и аденовирусной (Аден) инфекции. При разработке биотест-систем для выявления антител к вирусам различной этиологии на примере аденовирусной инфекции нами было изучено влияние природы биолигандов (аденовирион, гексоний) и способ их иммобилизации на поверхность полимерных микросфер, как содержащих, так и не содержащих функциональные группы, на чувствительность РЛА. Выбор двух биолигандов-аденовириона и его структурного белка - гексония определялся расположением типоспецифических антигенных детерминант, которые обеспечивают связывание с активными центрами антител.

Результаты титров РЛА при обнаружении антител к аденовирусу разработанными диагностическими биотест-системами представлены в таблице. Наиболее высокая чувствительность РЛА наблюдается с использованием разработанной биотест-системы с ковалентно иммобилизованным аденовирусом на поверхности полимерных микросфер.

Биотест-система	Титр РЛА с позитивной сывороткой к аденовирусу КРС	Титр РЛА с негативной сывороткой к аденовирусу КРС	Контроль (1% НСК)
аденовирион- СТ, ССН	1:512 – 1:1024	отрицательный	отрицательный
аденовирион- СТ, ССН, АК	1: 512 – 1:2048	отрицательный	отрицательный
гексон- СТ, ССН	1:8	отрицательный	отрицательный
гексон- СТ, ССН, АК	1:64	отрицательный	отрицательный

Примітка:

СТ, ССН – кополимерные микросферы стирола (СТ) та стиролсульфоната натрия (ССН)

СТ, ССН, АК - кополімерні мікросфери стирола (СТ), стиролсульфоната натрия (ССН) та акролеина (АК)

НСК – нормальная сыворотка кролика

Диагностическую биотест-систему " аденовирион - СТ , ССН , АК " были апробированы на панели сывороток крови коров (20 образцов) . Одновременно данные сыворотки были исследованы на выявление антител к аденовирусу традиционными методами: реакцией нейтрализации на культуре клеток (РН) и реакцией непрямой гемагглютинации (РНГА). По чувствительности РНГА и РН была меньше в 1,5 раза чем РЛА. Совпадение результатов обнаружения антител к аденовируса методами РНГА, РН и РЛА с использованием панели сывороток были определены в 98 % случаев.

При наличии в организме человека и животных острой фазы воспаления стремительно повышается уровень С - реактивного белка (СРБ). Это касается паразитарных инфекций, травм, опухолей, и всех процессов, которые сопровождаются воспалением и некрозом тканей. Именно поэтому диагностика СРБ является важным фактором защиты организма человека и животных от инфекций. Нами были получены новые высокочувствительные диагностические биотест - системы для выявления СРБ в интервале концентраций 0,07 - 100 мкг / мл с использованием в качестве лиганда яичного фосфатидилхолина, иммобилизованного на поверхности полимерных микросфер .

Сконструированы нами биотест-системы с использованием полимерных микросфер и специфическими биолигандами предоставляют новые методологические подходы для определения в биожидкостях животных гормонов роста и антибиотиков.

Література

1. Синтез полимерных суспензий для биоаналитических исследований / Федорова О., Петрина Р., Новиков В., Станішевський Я., Грицкова І., Прокопов М. // Вісник НУ «Львівська політехніка». Хімія, технологія речовин та їх застосування. – 2006. –№ 553.-С. 315-317.
2. Полімерні носії для створення діагностичних тест-систем / Федорова О.В., Петрина Р.О., Заярнюк Н.Л., Новиков В.П., Станішевський Я.М., Грицкова І.О., Прокопов М.І // Вопросы химии и химической технологии. – 2007. –№6.- С.123-126.
3. Adsorbtion of bioligands on spare of polymeric microspheres. Fedorova O.V., Stanishevsky Ya.M. , Zayarnyuk N.L., Novikov V.P. // 3rd International Summer School “Supramolecular Systems in Chemistry and Biology”. – 6-10 September 2010. – Lviv. – S. 74.
4. Fedorova O., Zayarnyuk N., Petrina R., Stadnytska N., Stanishevsky Ya., Gritskova I., Novikov V. Use of polymeric carriers for imunodiagnostic studes // VI Polsko-Ukrainska conference “Polymers of Special Application”, 25-27 sept. 2012, Radom, Pologne.