

NGHIÊN CỨU TẠO QUE THỬ PHÁT HIỆN NHANH KHÁNG NGUYÊN F1 CỦA VI KHUẨN YERSINIA PESTIS

Mai Thị Thu¹, Nguyễn Phượng Minh^{1*}, Lê Trọng Tài¹, Nguyễn Ngọc Hưng²
Phạm Tiến Dũng³, Lê Quang Hòa^{3*}

Tóm tắt: Vi khuẩn *Yersinia pestis* là tác nhân gây bệnh dịch hạch, một trong những loại bệnh truyền nhiễm tối nguy hiểm và có thể được sử dụng làm vũ khí sinh học có tính hủy diệt cao. Mục tiêu của nghiên cứu này là nhằm xây dựng quy trình chế tạo que thử phát hiện nhanh kháng nguyên nang F1 đặc trưng của *Y. pestis* dựa trên kỹ thuật sắc ký miễn dịch kẹp đôi. Để đạt được mục tiêu này, chúng tôi đã tiến hành khảo sát các thông số như loại và lượng kháng thể vach thử nghiệm và kháng thể phát hiện cũng như loại đệm sử dụng khi chạy que thử. Các kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng cấu hình tối ưu của que thử phát hiện kháng nguyên F1 là sử dụng kháng thể đơn dòng G20 tại vị trí vach thử nghiệm, kháng thể đơn dòng 3YP8-YPF19 làm kháng thể phát hiện gắn nano vàng và đệm chạy que thử là đệm PBS pH 7,4 có bổ sung 0,5% BSA và 0,05% Tween 20. Liều lượng kháng thể G20 cần in lên màng là 2 $\mu\text{g}/\text{cm}$ và thể tích cộng hợp phát hiện 3YP8-YPF19 cần sử dụng là 4 $\mu\text{l}/\text{que thử}$. Với các thông số tối ưu này, que thử cho phép phát hiện kháng nguyên F1 tinh khiết ở ngưỡng phát hiện từ 1-5 ng/ml trong 15 phút.

Từ khóa: *Yersinia pestis*, Kháng nguyên F1, Sắc ký miễn dịch.

1. MỞ ĐẦU

Dịch hạch là một bệnh truyền nhiễm tiến triển cấp tính, cực nguy hiểm do vi khuẩn *Yersinia pestis* gây ra. Bệnh lưu hành trong quần thể một số loài động vật gặm nhấm (chủ yếu là chuột) và bọ chét ký sinh trên chúng rồi từ đó lây truyền sang người qua trung gian bọ chét nhiễm khuẩn. Trong lịch sử loài người được ghi nhận cho đến nay, dịch hạch là loại bệnh truyền nhiễm với số ca tử vong cao nhất (khoảng 200 triệu ca) (Perry và Fetherston, 1997). Hiện nay, bệnh dịch hạch vẫn đang lưu hành rải rác tại một số quốc gia trên thế giới (CDC, 2017). Trong những năm gần đây, tại Việt Nam không ghi nhận trường hợp nào mắc bệnh dịch hạch. Tuy nhiên, trong bối cảnh giao thương toàn cầu hóa hiện nay, nguy cơ lây lan bệnh dịch hạch từ nước ngoài vào Việt Nam là hiện hữu. Mặt khác, vi khuẩn *Y. pestis* còn có thể được sử dụng làm vũ khí sinh học với tính hủy diệt rất lớn, gây lo ngại cho cộng đồng quốc tế đặc biệt trong thời điểm hiện nay khi các vụ khủng bố diễn ra liên tiếp trên thế giới.

Về tác nhân gây bệnh, *Y. pestis* là trực khuẩn, Gram âm, không di động, không hình thành bào tử thuộc họ *Enterobacteriaceae*. Ở người và động vật, vi khuẩn này sinh trưởng trong đại thực bào, lan tràn trong các tế bào biểu mô sau đó lan ra toàn bộ cơ thể (Zhou và đồng tác giả, 2006). Khi lây nhiễm vào cơ thể, *Y. pestis* tiết ra một lượng lớn kháng nguyên nang F1, vốn có bản chất protein, vào máu và trong các hạch (Chanteau và đồng tác giả, 1998). Một đặc điểm đáng chú ý là chỉ có ở *Y. pestis* mới có kháng nguyên này. Do vậy, kháng nguyên F1 thường được sử dụng trong chẩn đoán bệnh dịch hạch hay phát hiện *Y. pestis* trong môi trường.

Các phương pháp phân tích kháng nguyên F1 đều là các phương pháp miễn dịch trong đó phổ biến nhất là ELISA kẹp đôi và sắc ký miễn dịch kẹp đôi (Spletstoeser và đồng tác giả, 2004). Ưu điểm cơ bản của các phương pháp ELISA là có độ nhạy phát hiện cao và có khả năng định lượng (Spletstoeser và đồng tác giả, 2004). Tuy nhiên, điểm hạn chế của các phương pháp này là đòi hỏi trang thiết bị cùng trình độ kỹ thuật cao để tránh hiện tượng dương tính giả, và do đó, chỉ thích hợp với các phân tích tại phòng thí nghiệm,

không có khả năng ứng dụng tại hiện trường. Trái lại, que thử nhanh sử dụng kỹ thuật sắc ký miễn dịch lại có quy trình phân tích rất đơn giản, không cần trang thiết bị do vậy rất thích hợp với các phép phân tích tại hiện trường; đáp ứng nhu cầu của các phân đội lính trinh sát làm nhiệm vụ tại các vùng rừng núi hẻo lánh. Nghiên cứu đầu tiên phát triển que thử nhanh phát hiện kháng nguyên nang F1 được công bố trên tạp chí danh tiếng Lancet vào năm 2003 (Chanteau và đồng tác giả, 2003). Bằng cách sử dụng hai kháng thể đơn dòng từ chuột, các tác giả đã tạo ra được que thử cho phép phát hiện F1 với ngưỡng rất thấp là 0,5 ng/ml trong vòng 15 phút. Cũng dựa trên kỹ thuật sắc ký miễn dịch kẹp đôi nhưng Tsui và đồng tác giả (2015) lại sử dụng hai kháng thể đa dòng từ thỏ để phát hiện F1. Ngưỡng phát hiện F1 của que thử trong nghiên cứu này chỉ đạt ở mức 50 ng/ml ứng với 10^5 CFU/ml của *Y. pestis*. Trên thị trường hiện cũng có một số loại sinh phẩm dựa trên kỹ thuật sắc ký miễn dịch cho phép phát hiện nhanh *Y. pestis* như BADD Plague (*Y. pestis*) Biowarfare Detection Test Kit của công ty Advnt Biotechnologies (ngưỡng phát hiện: 10^5 CFU/ml, giá: 257 USD/10 test); Plague BioDetect™ Test Strips của công ty Alexeter Technologies; IMASS của công ty BBI cho phép phát hiện đồng thời 8 tác nhân vũ khí sinh học bao gồm *Y. pestis* (ngưỡng phát hiện: 10^8 CFU/ml, giá: 1200 USD/10 test); BioThreat Alert® Test Strips của công ty Tetracore (ngưỡng phát hiện: 10^{5-6} CFU/ml, giá: 605 USD/25 test). Có thể nhận thấy rằng các bộ sinh phẩm thương mại có giá thành rất cao và ngưỡng phát hiện cũng ở mức trung bình khi so với công bố của Chanteau và đồng tác giả (2003). Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã xây dựng quy trình chế tạo que thử phát hiện nhanh kháng nguyên nang F1 của *Y. pestis*, góp phần cung cấp một công cụ phân tích nhanh vi khuẩn dịch hạch với độ nhạy cao và có giá thành phù hợp với điều kiện Việt Nam.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu và hóa chất

Các kháng thể đơn dòng 3YP8-YPF19, G20 và kháng nguyên nang F1 tinh khiết có nguồn gốc từ Antibodies-online. Màng nitrocellulose Hi-Flow Plus HF075 có nguồn gốc từ Millipore. Hạt nano vàng kích thước 40 nm có nguồn gốc từ Cytodiagnosics. Kháng thể kháng IgG từ chuột số hiệu M5899 và các hóa chất khác có nguồn gốc từ Sigma.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tạo cộng hợp phát hiện kháng thể kháng F1 gắn nano vàng

Cộng hợp phát hiện được chế tạo bằng phương pháp hấp phụ thụ động kháng thể lên trên bề mặt nano vàng theo hướng dẫn của nhà sản xuất Cytodiagnosics. Một cách cụ thể, 500 μ l bi vàng 1OD được trộn với 50 μ l đệm HEPES 22 mM pH 7,0. Tiếp đó, 50 μ l kháng thể đơn dòng nồng độ 5 mg/ml trong đệm borat 2 mM pH 8,5 được nhỏ từ từ vào bi vàng rồi đảo trộn ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Lượng kháng thể dư không bám lên bi vàng được loại bỏ bằng cách ly tâm ở 2500 g trong 30 phút và loại dịch nổi. Sau đó, tiến hành hai lần rửa bằng 1 ml đệm bảo quản có thành phần 10 mM PBS pH 7,5 và 0,1% BSA. Cuối cùng, cộng hợp được hòa tan lại trong 0,5 ml đệm bảo quản và giữ ở 4-8°C.

2.2.2. Cố định kháng thể lên màng nitrocellulose

Kháng thể đơn dòng 3YP8-YPF19 hoặc G20 trong đệm 5 mM borat (pH 8,5) được in phun lên vị trí vạch thử nghiệm trên màng nitrocellulose bằng thiết bị Linomat 5 (CAMAG) theo phương pháp đã được miêu tả bởi Koets và đồng tác giả (2006). Lượng kháng thể đơn dòng được in phun biến đổi từ 0,5 đến 2 μ g/cm màng. Đối với vạch kiểm chứng, kháng thể đa dòng M5899 trong đệm 5 mM borat (pH 8,5) được in phun với nồng độ 0,5 μ g/cm màng. Vị trí cố định của vạch thử nghiệm và vạch kiểm chứng lần lượt là 14 và 18 mm tính từ đầu que thử. Sau đó, màng được ủ ở 37°C qua đêm để làm khô. Sau khi gắn thêm giấy thấm, màng được cắt thành từng que thử có bề rộng là 4 mm bằng máy cắt Autokun Cutter.

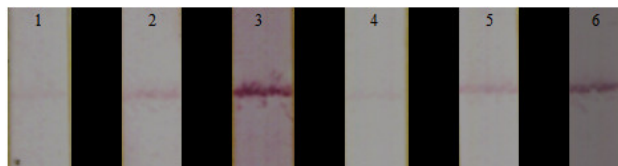
2.2.3. Phân tích mẫu bằng que thử

Phương pháp phân tích mẫu được thực hiện theo phương pháp đã được miêu tả bởi Koets và đồng tác giả (2006). Mẫu kháng nguyên F1 tinh khiết được pha loãng trong đệm chạy borat (100 mM borat, pH 8,5; 0,5% BSA; 0,05% Tween 20) hoặc đệm chạy phosphat (PBS pH 7,4; 0,5% BSA; 0,05% Tween 20) sau đó lấy 100 µl dung dịch nhận được trộn với cộng hợp phát hiện (1-8 µl) và cắm que thử vào ống. Quan sát kết quả sau 15 phút. Kết quả được coi là âm tính nếu chỉ xuất hiện vạch kiểm chứng. Ngược lại, kết quả được coi là dương tính nếu xuất hiện tín hiệu tại cả vạch thử nghiệm và vạch kiểm chứng.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Lựa chọn kháng thể vạch thử nghiệm và kháng thể phát hiện

Cũng như các kỹ thuật miễn dịch khác, độ nhạy và độ đặc hiệu của sắc ký miễn dịch phụ thuộc rất nhiều vào các kháng thể sử dụng. Đặc biệt là đối với sắc ký miễn dịch, cần lựa chọn kháng thể có ái lực cao với kháng nguyên do thời gian tiếp xúc giữa kháng nguyên và kháng thể tại vị trí vạch thử nghiệm chỉ tính bằng giây thay vì giờ như trong kỹ thuật ELISA (Wong và Tse, 2009). Như đã trình bày ở trên, khi sử dụng hai kháng thể đơn dòng từ chuột, Chanteau và đồng tác giả (2003) đã tạo được que thử có khả năng phát hiện kháng nguyên F1 với ngưỡng là 0,5 ng/ml, trong khi đó, trong nghiên cứu của Tsui và đồng tác giả (2015), việc sử dụng hai kháng thể đa dòng từ thỏ cho ngưỡng phát hiện F1 cao hơn 100 lần (50 ng/ml). Trong khuôn khổ của nghiên cứu này, hai kháng thể đơn dòng từ chuột với số hiệu 3YP8-YPF19 và G20 được lựa chọn do có ái lực cao với F1 theo thông số nhà sản xuất. Việc tiếp theo là cần xác định được kháng thể nào trong hai kháng thể thương mại 3YP8-YPF19 và G20 sẽ được in lên vạch thử nghiệm để tăng độ nhạy của que thử. Để tiến hành công việc này, hai kháng thể 3YP8-YPF19 và G20 đã được in riêng rẽ lên vị trí vạch thử nghiệm của hai loại que thử khác nhau với liều lượng đều là 1 µg/cm. Bên cạnh đó, các cộng hợp bi vàng của 3YP8-YPF19 và G20 cũng được tạo ra bằng phương pháp hấp phụ thụ động. Sau đó, sử dụng hai loại que thử với cấu hình lần lượt như sau (kháng thể vạch thử nghiệm G20 kết hợp với kháng thể phát hiện 3YP8-YPF19) và (kháng thể vạch thử nghiệm 3YP8-YPF19 kết hợp với kháng thể phát hiện G20) để phân tích mẫu kháng nguyên F1 tinh khiết được pha loãng trong đệm chạy borat về nồng độ 50 ng/ml. Kết quả chạy que thử với các lượng cộng hợp khác nhau (hình 1) cho thấy tất cả các que thử đều cho vạch màu tại vị trí vạch thử nghiệm chứng tỏ cặp kháng thể 3YP8-YPF19 và G20 nhận biết hai yếu tố quyết định kháng nguyên khác nhau trên protein F1. Cường độ màu tăng cùng với lượng cộng hợp phát hiện được sử dụng và đạt cực đại với que thử có G20 là kháng thể vạch thử nghiệm và 4 µl cộng hợp phát hiện 3YP8-YPF19. Như vậy, cấu hình tối ưu của que thử phát hiện kháng nguyên F1 trong trường hợp này sẽ là kháng thể đơn dòng G20 là kháng thể bắt cặp cần cố định tại vị trí vạch thử nghiệm, kháng thể đơn dòng 3YP8-YPF19 là kháng thể phát hiện cộng hợp với hạt nano vàng.



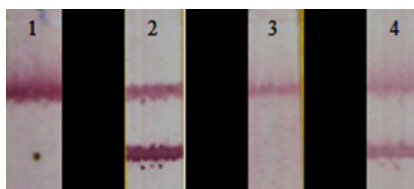
Hình 1. Ảnh hưởng của loại kháng thể đến cường độ tín hiệu vạch thử nghiệm.

1, 2 và 3: Que thử với G20 là kháng thể vạch thử nghiệm, thể tích cộng hợp phát hiện 3YP8-YPF19 sử dụng lần lượt là 1; 2 và 4 µl;

4, 5 và 6: Que thử với 3YP8-YPF19 là kháng thể vạch thử nghiệm, thể tích cộng hợp phát hiện G20 sử dụng lần lượt là 1; 2 và 4 µl.

3.2. Lựa chọn đệm chạy que thử

Trong các phương pháp miễn dịch, phản ứng kháng nguyên và kháng thể thường diễn ra trong đệm PBS với pH 7,4. Đây là điều kiện thích hợp để phần lớn các phản ứng kháng nguyên kháng thể có thể xảy ra với ái lực cao. Tuy nhiên, do kỹ thuật sắc ký miễn dịch không có giai đoạn rửa để loại bỏ các liên kết không đặc hiệu giữa cộng hợp phát hiện và kháng thể bắt cặp nên người ta thường sử dụng đệm borat pH 8,5 hoặc 8,8 làm đệm chạy que thử nhằm hạn chế phản ứng không đặc hiệu này (Koets và đồng tác giả, 2006). Do vậy, chúng tôi đã thử nghiệm hai loại đệm PBS pH 7,4 và borat pH 8,5 có bổ sung thêm 0,5% BSA, 0,05% Tween 20 để phân tích mẫu âm tính và mẫu dương tính có nồng độ 50 ng/ml. Kết quả chạy que thử (hình 2) cho thấy cả hai hệ đệm thử nghiệm đều cho kết quả chính xác (âm tính chỉ cho tín hiệu ở vạch kiểm chứng; dương tính cho tín hiệu ở cả vạch thử nghiệm và vạch kiểm chứng). Tuy nhiên, cường độ tín hiệu tại cả vị trí vạch thử nghiệm và vạch kiểm chứng khi chạy trên hệ đệm PBS pH 7,4 đều cao hơn so với khi chạy bằng hệ đệm borat pH 8,5. Điều này khẳng định một lần nữa đệm PBS pH 7,4 là hệ đệm tối ưu cho phản ứng kháng nguyên kháng thể xảy ra.



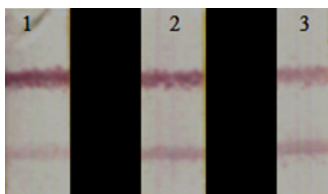
Hình 2. Ảnh hưởng của hệ đệm đến cường độ tín hiệu trên que thử.

1, 2: Mẫu âm tính và dương tính với F1 (50 ng/ml) khi chạy bằng đệm PBS pH 7,4;

3, 4: Mẫu âm tính và dương tính với F1 (50 ng/ml) khi chạy bằng đệm borat pH 8,5.

3.3. Tối ưu lượng kháng thể G20 in lên vị trí vạch thử nghiệm

Như đã nói ở phần trên, do thời gian tiếp xúc giữa kháng nguyên và kháng thể tại vị trí vạch thử nghiệm chỉ tính bằng giây nên cần cố định một lượng lớn kháng thể tại vị trí vạch thử nghiệm để đảm bảo khả năng phản ứng ngay cả khi nồng độ kháng nguyên là nhỏ. Để xác định được lượng kháng thể tối ưu, chúng tôi đã tiến hành in phun 3 liều lượng kháng thể khác nhau lên màng là 0,5; 1 và 2 $\mu\text{g}/\text{cm}$. Sau đó, dùng các que thử này để phân tích mẫu kháng nguyên F1 có nồng độ 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Kết quả chạy que thử ở hình 3 cho thấy cả 3 loại que thử đều cho tín hiệu tại vị trí vạch thử nghiệm và vạch kiểm chứng. Tuy nhiên, cường độ tín hiệu vạch thử nghiệm là cao nhất ở que thử được in phun kháng thể G20 với liều lượng 2 $\mu\text{g}/\text{cm}$. Các thử nghiệm tiếp theo được tiến hành với thông số lượng kháng thể G20 cần in lên vị trí vạch thử nghiệm là 2 $\mu\text{g}/\text{cm}$.



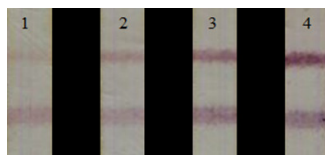
Hình 3. Ảnh hưởng của lượng kháng thể G20 in phun đến cường độ tín hiệu vạch thử nghiệm.

1, 2 và 3: Lượng kháng thể in phun lần lượt là 0,5; 1 và 2 $\mu\text{g}/\text{cm}$.

3.4. Tối ưu lượng cộng hợp phát hiện sử dụng

Cũng tương tự như kháng thể vạch thử nghiệm, lượng cộng hợp phát hiện cũng phải đủ lớn để đảm bảo phản ứng giữa kháng thể phát hiện với F1. Chúng tôi đã thử nghiệm 4

lượng cộng hợp phát hiện 3YP8-YPF19 khác nhau là 1, 2, 4 và 8 μl để phân tích mẫu kháng nguyên F1 có nồng độ 10 $\mu\text{g/ml}$. Kết quả chạy que thử (hình 4) cho thấy từ lượng cộng hợp sử dụng là 4 μl trở lên đã có hiện tượng bão hòa tín hiệu. Do vậy, lượng cộng hợp phát hiện 3YP8-YPF19 được sử dụng cho mỗi que thử là 4 μl trong các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 4. Ảnh hưởng của lượng kháng thể phát hiện 3YP8-YPF19 đến cường độ tín hiệu vạch thử nghiệm.

1, 2, 3 và 4: Lượng cộng hợp phát hiện được sử dụng lần lượt là 1, 2, 4 và 8 μl .

3.5. Xác định ngưỡng phát hiện của que thử với kháng nguyên F1 tinh khiết

Như ở phần trên đã trình bày, các điều kiện tối ưu để tạo que thử là in phun kháng thể G20 lên vị trí vạch thử nghiệm với lượng 2 $\mu\text{g/cm}$, sử dụng 4 μl /que thử cộng hợp phát hiện 3YP8-YPF19 gắn hạt nano vàng, hệ đệm sử dụng là đệm PBS pH 7,4 có bổ sung 0,5% BSA, 0,05% Tween 20. Để xác định ngưỡng phát hiện của que thử với kháng nguyên F1 tinh khiết, F1 được pha loãng trong đệm chạy đến các nồng độ 5; 2; 1; 0,5; 0,2; 0,1 ng/ml và sau đó phân tích bằng que thử. Kết quả chạy que thử ở hình 5 cho thấy ở nồng độ F1 là 1 ng/ml đã xuất hiện tín hiệu tại vị trí vạch thử nghiệm nhưng mờ chỉ có thể quan sát được bằng mắt thường. Ở nồng độ F1 là 5 ng/ml, que thử cho tín hiệu rõ nét. Các kết quả này cho thấy ngưỡng phát hiện của que thử là nằm trong khoảng 1-5 ng/ml.



Hình 5. Đánh giá ngưỡng phát hiện của quy thử.

1, 2, 3, 4, 5, 6 và 7: Nồng độ F1 lần lượt là 0; 0,1; 0,2; 0,5; 1; 2 và 5 ng/ml.

4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tạo thành công que thử phát hiện kháng nguyên nang F1, đặc hiệu cho vi khuẩn gây bệnh dịch hạch *Y. pestis*, với ngưỡng phát hiện nằm trong khoảng 1-5 ng/ml thấp hơn so với sinh phẩm thương mại hiện đang lưu hành. Giá thành của một que thử ước tính khoảng 90.000 đồng cũng rẻ hơn nhiều lần so với sinh phẩm nhập ngoại. Các nghiên cứu tiếp theo đang được tiến hành để xây dựng quy trình chuẩn bị mẫu và xác định độ đặc hiệu của que thử.

Lời cảm ơn: Công trình được thực hiện bằng nguồn kinh phí Đề tài Nghiên cứu Khoa học Công nghệ cấp Bộ Quốc phòng theo Hợp đồng nghiên cứu khoa học và công nghệ cấp Bộ Quốc phòng, mã số đề tài: 216.33.051.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Centers for Disease Control and Prevention. "Plague in the United States". CDC (2017).
- [2]. Chanteau S., Rabarijaona L., O'Brien T., Rahalison L., Hager J., Boisier P., Burans J., Rasolomaharo M. "F1 antigenaemia in bubonic plague patients, a marker of gravity and efficacy of therapy". Trans R Soc Trop Med Hyg, **92**(5) (1998), tr: 572-573.

- [3]. Chanteau S., Rahalison L., Ralafiarisoa L., Foulon J., Ratsitorahina M., Ratsifasoamanana L., Carniel E., Nato F. “Development and testing of a rapid diagnostic test for bubonic and pneumonic plague”. *Lancet*, **361** (2003), tr. 211–216.
- [4]. Koets M., Sander I., Bogdanovic J., Doekes G., van Amerongen A. “A rapid lateral flow immunoassay for the detection of fungal alpha-amylase at the workplace”. *J Environ Monit*, **8** (2006), tr: 942-946.
- [5]. Spletstoesser W.D., Rahalison L., Grunow R., Neubauer H., Chanteau S. “Evaluation of a standardized F1 capsular antigen capture ELISA test kit for the rapid diagnosis of plague”. *FEMS Immunol Med Microbiol*. **41**(2) (2004), tr: 149-155.
- [6]. Perry R.D., Fetherston J.D. “*Yersinia pestis* etiologic agent of plague”. *Clin Microbiol Rev*. **10**(1) (1997), tr. 35-66.
- [7]. Tsui PY, Tsai HP, Chiao DJ, Liu CC, Shyu RH. “Rapid detection of *Yersinia pestis* recombinant fraction 1 capsular antigen”. *Appl Microbiol Biotechnol*, **99**(18) (2015), tr: 7781-7789.
- [8]. Wong R. and Tse H, “*Lateral Flow Immunoassay*”, Humana Press (2009). 224 p.
- [9]. Zhou D., Han Y., Yang R. “Molecular and physiological insights into plague transmission, virulence and etiology”. *Microbes Infect*. **8**(1) (2006), tr. 273-84.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF A NEW LATERAL FLOW IMMUNOASSAY FOR RAPID DETECTION OF YERSINIA PESTIS F1 ANTIGEN

Yersinia pestis is the etiologic agent of plague, one of the most deadly infectious diseases in human history. It was responsible for millions of deaths over the world, and can be used as a highly lethal biological weapon. The objective of this study is to develop a new rapid test, based on sandwich lateral flow immunoassay, for the detection of F1 antigen which is specific to *Y. pestis*. In order to achieve this objective, we have determined the optimal format of the assay in which the anti-F1 monoclonal antibody G20 is immobilized at the test line; the anti-F1 monoclonal antibody 3YP8-YPF19 is used as detection antibody and conjugated to gold nanoparticles and the running buffer is PBS pH 7.4 supplemented with 0.5% BSA and 0.05% Tween 20. Amounts of the capture antibody and detection conjugate were also optimized to increase the signal intensities at the test line. The detection limit of the optimized assay was between 1 and 5 ng/ml when using pure F1 antigen. The new assay has several advantages including rapidity (15 minutes to get the results), low cost (4 USD/test) and simplicity for on-site analysis.

Keywords: *Yersinia pestis*, F1 antigen, Lateral flow immunoassay.

*Nhận bài ngày 09 tháng 10 năm 2017
Hoàn thiện ngày 03 tháng 11 năm 2017
Chấp nhận đăng ngày 26 tháng 02 năm 2018*

Địa chỉ: ¹Viện Hóa học - Môi trường quân sự, Bộ Tư lệnh Hóa học;
²Viện Vệ sinh Dịch tễ Tây Nguyên;
³Viện Công nghệ Sinh học và Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội.
* Email: nguyenminh_ctet@yahoo.com.vn; hoa.lequang@hust.edu.vn.