Tạp chí Khoa học Đại học Quốc gia Hà Nội:
Khoa học Tự nhiên và Công nghệ
Website: https://js.vnu.edu.vn/NST

Nghiên cứu chế tạo cảm biến miễn dịch điện hóa sử dụng kháng thể IgY chiết xuất trực tiếp từ trứng gà làm phần tử dò ứng dụng trong phát hiện virus Newcastle

Trần Thị Luyến[1,*], Trần Quang Thịnh[2], Trần Vĩnh Hoàng[1], Nguyễn Thị Tuyết Mai[1], Mai Anh Tuấn[2]

[1]*Đại học Bách khoa Hà Nội, 1 Đại Cồ Việt, Hà Nội, Việt Nam*
[2]*Viện Ứng dụng Công nghệ Nacentech, C6, C7 Khuất Duy Tiến, Hà Nội, Việt Nam*

Nhận ngày 04 tháng 5 năm 2018
Chỉnh sửa ngày 11 tháng 6 năm 2018; Chấp nhận đăng ngày 13 tháng 6 năm 2018

Tóm tắt: Trong nghiên cứu này, hệ ba điện cực sử dụng điện cực so sánh thay thế Ag/AgCl được tích hợp vớimột bình phản ứng mini.Kháng thể IgY kháng virus Newcastle chiết xuất trực tiếp từ trứng gà được cố định thành công lên trên bề mặt điện cực vàng (cảm biến miễn dịch) thay vì sử dụng kháng thể IgG tinh chế với qui trình tách chiết phức tạp đòi hỏi chi phí cao và thời gian dài.Cảm biến miễn dịch điện hóa tích hợp bình phản ứng mini đã chế tạo được thử nghiệmphát hiện virus Newcastle sử dụng phương pháp CV (Cyclic Voltammetry). Kết quả thử nghiệm bước đầu cho thấy cảm biến có phản ứng tương đối tốt và đặc hiệu với virus Newcastle.

Từ khóa: Cảm biến miễn dịch điện hóa, kháng thể IgY, virus Newcastle.

1. Mở đầu

Theo thống kê của Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, hiện nay cả nước có trên 317 triệu con gia cầm. Trong các dịch bệnh do virus đối với gia cầm, bệnh Newcastle là một bệnh phổ biến, có tỷ lệ chết cao (có thể lên đến 100 %) và tốc độ lây lan rất nhanh, có thể lây lan trên một diện rộng. Do tính chất nguy hiểm của bệnh nên trong chăn nuôi, bệnh Newcastle luôn được chú trọng hàng đầu. Bệnh do một loại virus thuộc nhóm *Paramysovirus*gây ra, virus có thể tồn tại nhiều năm trong môi trường. Gà và các loại chim đều có thể mắc bệnh. Bệnh có thể xảy ra vào bất cứ thời điểm nào, không phụ thuộc vào thời vụ và độ tuổi của gia cầm. Bệnh lây lan qua đường tiêu hóa, hô hấp và qua tiếp xúc với gia cầm bệnh.

Đối với các bệnh truyền nhiễm do virus nói chung và bệnh Newcastle ở gia cầm nói riêng, kỹ thuật chẩn đoán nhanh sử dụng thiết bị đơn giản, dễ chế tạo, có độ nhạy và độ chọn lọc cao, thao tác mẫu dễ dàng là yếu tố quan trọng để phát hiện sớm dịch bệnh, từ đó có các biện pháp

*Tác giả liên hệ. ĐT.: 84-914400923.
Email: luyen.tranthi@hust.edu.vn
https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.4742

ngăn chặn quá trình lây nhiễm và đưa ra phác đồ điều trị hiệu quả [1]. Cảm biến miễn dịch là một trong những thiết bị được kỳ vọng đáp ứng được hầu hết yêu cầu trên và có triển vọng thay thế một phần hay hoàn toàn các kỹ thuật chẩn đoán truyền thống [2-4]. Năm 1985, khái niệm cảm biến miễn dịch lần đầu tiên được John R. North công bố trên tạp chí Trends in Biotechnology [5]. Cảm biến miễn dịch, một loại cảm biến sinh học, hoạt động dựa trên cơ sở phản ứng đặc hiệu kháng nguyên/kháng thể trên bề mặt của một bộ chuyển đổi (transducer). Chất được gắn trên bộ phận chuyển đổi được gọi là "phần tử dò", chất cần phân tích trong mẫu được gọi là "phần tử đích". Các kỹ thuật điện hóa có thể được sử dụng để đánh giá một cách định lượng (theo nồng độ) hoặc định tính (âm tính/dương tính) sự có mặt của kháng nguyên/kháng thể trong dung dịch.

Trong nghiên cứu này, hệ ba điện cực sử dụng điện cực so sánh thay thế Ag/AgCl được tích hợp vớimột bình phản ứng mini; kháng thể IgY kháng virus Newcastle chiết xuất trực tiếp từ trứng gà được cố định lên trên bề mặt điện cực vàng (cảm biến miễn dịch); cuối cùng, cảm biến miễn dịch điện hóa tích hợp bình phản ứng mini đã chế tạo được ứng dụng trong phát hiện virus Newcastle.

2. Thực nghiệm

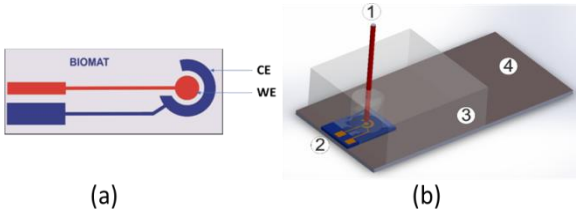
2.1. Hóa chất

Protein A, BSA (Bovine Serum Albumin) và đệm phốt phát PBS (pH = 7,4) được cung cấp bởi Sigma (Hoa Kỳ). GA (Glutaraldehyde) do Prolabo (Pháp) sản xuất. Các hóa chất phụ trợ như KCl, N_2: 99,9 %, $K_3Fe(CN)_6$ và $K_4Fe(CN)_6$ đều đạt chuẩn phân tích.

Kháng thể IgY kháng kháng nguyên virus Newcastle chủng M được cung cấp bởi công ty cổ phần công nghệ sinh học thú y BTV (Biotech-Vet), nhà máy sản xuất thuốc thú y tại Biên Giang, Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam.Vacxin Newcastle (virus vô hoạt) hệ 1, chủng M được cung cấp bởi công ty cổ phần dược và vật tư thú y Hanviet, Việt Nam, lưu giữ ở -15 ^oC trước khi sử dụng. Virus (bất hoạt) viêm não Nhật Bảnchủng Beijing-1được cung cấp bởi Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương, lưu giữ ở -20 ^oC trước khi sử dụng.

2.2. Thiết kế và chế tạo hệ điện cực tích hợp bình phản ứng mini

Hệ điện cực được thiết kế và chế tạo bao gồm ba điện cực: điện cực làm việc (WE)/cảm biến miễn dịch (cố định kháng nguyên, kháng thể); điện cực đối (CE);và điện cực tham chiếu (so sánh) (RE). Hai điện cực vàng WE và CE được tích hợp lên trên cùng một chip, hình 1a.



Hình 1. (a): Hai điện cực vàng tích hợp (WE và CE); (b): Bình phản ứng mini: (1)- Điện cực so sánh Ag/AgCl, (2)-Điện cực vàng, (3)-PDMS (Polydimethylsiloxane), (4)-đế thủy tinh

Kích thước của chíp là 12 x 3,6 mm, đường kính của WE là 1 mm, diện tích của WE là: $\pi R^2 = \pi 0{,}5^2 = 0{,}785\ mm^2$. Trong thiết kế này, diện tích CE lớn hơn của WE khoảng 5 lần.

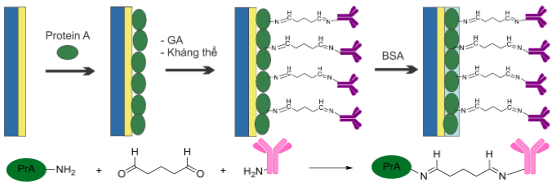
Điện cực so sánh thay thế Ag/AgCl được chế tạo bằng cách nhúng dây Ag vào dung dịch $FeCl_3$ 0,1 M trong 3 phút nhằm tạo ra một lớp muối AgCl phủ trên dây Ag. Sau đó, điện cực được rửa sạch nhiều lần bằng nước khử ion và được làm khô bằng dòng khí N_2. Điện cực so sánh thay thế Ag/AgCl được chế tạo với kích thước rất nhỏ gọn (đường kính 1 mm, chiều dài 10 mm). Thiết kế này cho phép ghép nối với một bình phản ứng mini có thể tích nhỏ dao động từ 100 µL tới 1 ml, cho phép thực hiện các phép đo với lượng mẫu rất nhỏ, đồng thời đảm bảo độ chính xác cao, hình 1b.

2.3. Cố định kháng thể trên bề mặt cảm biến

Bề mặt điện cực vàng trước tiên đượclàm sạch bằng dung dịch $K_2Cr_2O_7/H_2SO_4$ (bão hòa),

sau đóđược hoạt hóa điện hóa trong dung dịch H_2SO_4 0,5 M bằng kỹ thuật điện hóa quét thế tuần hoàn ở điện áp từ -0,5 V đến 1 V, tốc độ quét 50 mV/s cho đến khi CV đặc trưng ổn định.

Điện cực vàng sau khi được làm sạch bề mặt, được ủ với 20 µl dung dịch PrA (1 mg/ml) ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, sau đó tiếp tục được ủ với 20 µl dung dịch GA 5 % (30 phút, nhiệt độ phòng), cuối cùng, điện cực được ủ với 20 µl kháng thể (60 µg/ml) ở 4 ^oC trong 3 giờ. Sau khi kháng thể được cố định lên bề mặt điện cực, 20 µl BSA 1% được sử dụng để khóa phủ các vị trí không đặc hiệu (30 phút, nhiệt độ phòng).



Hình 2. Qui trình cố định kháng thể IgY từ trứng gà lên trên bề mặt cảm biến miễn dịch

Hình 2 biểu diễn tóm tắt qui trình cố định kháng thể IgY chiết xuất trực tiếp từ trứng gà lên trên bề mặt cảm biến miễn dịch điện hóa trên cơ sở điện cực Au.Sau mỗi bước cố định, điện cực đều được rửa sạch bằng nước khử ion và được sấy khô bằng khí N_2 nhằm loại bỏ những phần tử không tương tác hoặc tương tác yếu.

2.4. Phát hiện virus (bất hoạt) sử dụng cảm biến miễn dịch điện hóa

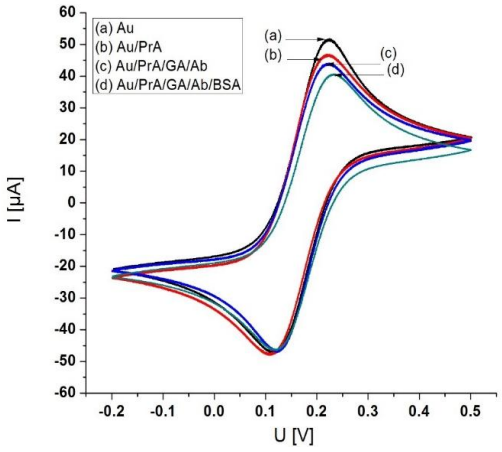
Mẫu virus chuẩn được sử dụng và pha loãng trong dung dịch đệm PBS (nồng độ 0,01 M và giá trị pH = 7,4). 20 µl virus bất hoạt Newcastle được nhỏ lên trên điện cực ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Sau đó, điện cực được rửa với nước khử ion để loại bỏ những phần tử đích không tương tác hoặc tương tác yếu. Quá trình đo CV (Cyclic Voltammetry) được thực hiện trên hệ điện hóa EC301 từ Stanford Research Systems. Bình điện hóa sử dụng ba điện cực: điện cực làm việc (WE) là điện cực cảm biến miễn dịch/virus, điện cực đối (CE) là điện cực Au tích hợp và điện cực so sánh (RE) là điện cực so sánh thay thế Ag/AgCl, hình 1b. Dung dịch điện li gồm $K_3Fe(CN)_6$ /$K_4Fe(CN)_6$ 0,03, KCl 0,1 M, khoảng quét thế từ -0,2 đến 0,5 V và tốc độ quét 25 mV/s.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Đặc trưng tín hiệu cố định kháng thể

Hình 3 biểu diễn đường CV của điện cực vàng (WE), hình3a, điện cực Au/PrA, hình 3b, điện cực Au/PrA/GA/Ab, hình 3c và điện cực Au/PrA/GA/Ab/BSA (WE - cảm biến miễn dịch),hình3d, trong dung dịch $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ 0,03 M, KCl 0,1 M, tốc độ quét 25 mV/s.Từ các đường CV thực nghiệm, có thể tính các giá trị I_{peak} theo công thức (1), bảng 1:

$$I_{peak} = I_{p,a} - I_{p,c} \qquad (1)$$



Hình 3. Đường CV của điện cực: (a): Au; (b): Au/PrA; (c): Au/PrA/GA/Ab và (d): Au/PrA/GA/Ab/BSA (cảm biến miễn dịch) trong dung dịch $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ 0,03 M, KCl 0,1 M, tốc độ quét 25 mV/s.

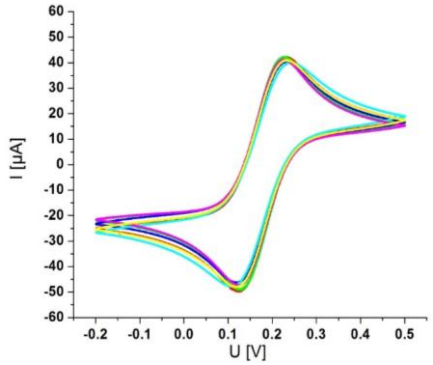
Bảng 1 cho thấy, giá trị I_{peak} của điện cực Au/PrA ($I_{peak,\ Au/PrA}$= 118,43 µA) giảm so với điện cực Au ($I_{peak,\ Au}$ = 123,25 µA). Sau khi cố định kháng thể, giá trị I_{peak} của điện cực Au/PrA/GA/Ab ($I_{peak,\ Au/PrA/GA/Ab}$ = 114,51 µA)

giảm so với điện cực Au/PrA ($I_{peak,\ Au/PrA}$ = 118,43 µA). Cuối cùng, sau khi khóa phủ các vị trị tương tác không đặc hiệu sử dụng BSA, giá trị I_{peak} của điện cực Au/PrA/GA/Ab/BSA ($I_{peak,\ cảm\ biến\ miễn\ dịch}$ = 112,01 µA) giảm so với điện cực Au ($I_{peak,\ Au}$ = 123,25 µA). Kết quả trên được giải thích là do việc hấp phụ các lớp PrA, PrA/GA/Ab và cuối cùng là PrA/GA/Ab/BSA đã dẫn đến sự sụt giảm điện thế tại bề mặt các lớp này, do đó làm tăng giá trị điện trở chuyển điện tích của cặp oxi hóa khử $[Fe(CN)_6]^{3-}$ /$[Fe(CN)_6]^{4-}$ vào điện cực Au và làm giảm cường độ dòng của cảm biến.

Bảng 1. Các giá trị $I_{p,a}$, $I_{p,c}$, I_{peak} thu được từ kết quả đo CV đối với điện cực vàng (WE) sau mỗi bước cố định kháng thể

Điện cực	$I_{p,a}$ (µA)	$I_{p,c}$ (µA)	I_{peak} (µA)
Au	64,00	- 59,25	123,25
Au/PrA	61,52	- 56,91	118,43
Au/PrA/GA/Ab	58,9	- 55,61	114,51
Au/PrA/GA/Ab/BSA	56,67	- 55,35	112,01

Các phép đo CV được thực hiện tương tự với sáu điện cực cảm biến miễn dịch (cùng sử dụng qui trình cố định kháng thể như trên) nhằm kiểm tra độ lặp lại của kết quả đo và hiệu quả của qui trình cố định kháng thể lên trên bề mặt cảm biến, hình 4.

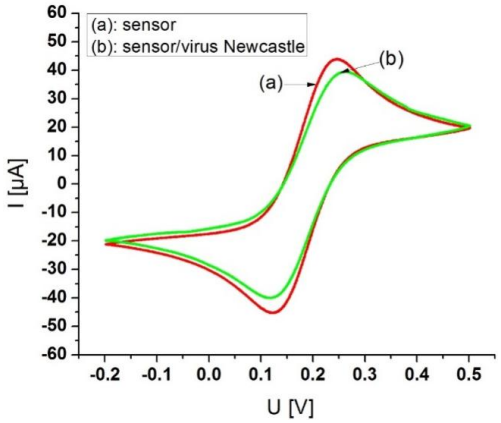


Hình 4. Đường CV của các điện cực Au/PrA/GA/Ab/BSA (cảm biến miễn dịch) khác nhau (cùng sử dụng một qui trình cố định kháng thể) trong dung dịch $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ 0,03 M, KCl 0,1 M, tốc độ quét 25 mV/s.

Từ các đường CV thực nghiệm, có thể nhận thấy, đối với sáu mẫu điện cực cảm biến miễn dịch, dạng đường CV là không đổi, đồng thời các giá trị $I_{p,a}$, $I_{p,c}$, $E_{p,a}$, $E_{p,c}$ là không đổi. Kết quả trên chứng tỏ qui trình cố định kháng thể kháng virus Newcastle lên trên bề mặt điện cực vàng có độ lặp lại tốt.

3.2. Đặc trưng tín hiệu tương tác virus - kháng thể

Điện cực cảm biến miễn dịch sau khi được quét CV trong dung dịch $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ 0,03 M, KCl 0,1 M, tốc độ quét 25 mV/s, được lấy ra, rửa với nước khử ion và được ngâm trong dung dịch virus 10^5 EID50/ml (PBS, pH = 7,4), thời gian 1 giờ. Sau đó, điện cực tiếp tục được rửa với nước khử ion và được quét lại CV trong điều kiện tương tự như trên. Hình5 là đường CV của cảm biến miễn dịch, hình 5a và cảm biến miễn dịch/virus Newcastle, hình 5b.

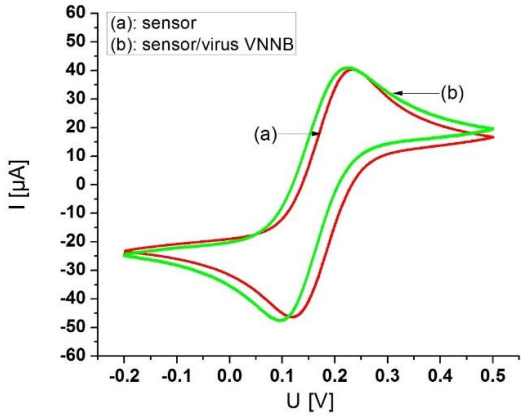


Hình 5. Đường CV của điện cực: (a): cảm biến miễn dịch và (b): cảm biến miễn dịch/virus Newcastle trong dung dịch $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ 0,03 M, KCl 0,1 M, tốc độ quét 25 mV/s.

Từ hình 5 có thể xác định được dòng cực đại I_{peak} của điện cực cảm biến miễn dịch và cảm biến miễn dịch/virus Newcastle theo công thức (1). Kết quả cho thấy, giá trị I_{peak} của điện cực cảm biến miễn dịch/virus Newcastle($I_{peak,\ cảm\ biến\ miễn\ dịch/virus\ Newcastle}$ = 97,90 µA) giảm 13,03 %so với I_{peak} của cảm biến đo được khi chưa có tương tác sinh học với virus Newcastle ($I_{peak,\ cảm\ biến\ miễn\ dịch}$ = 112,57 µA). Kết quả trên được giải

thích là do virus Newcastle đã được gắn kết trên bề mặt cảm biến miễn dịch trên cơ sở tương tác đặc hiệu virus - kháng thể, dẫn đến cản trở quá trình chuyển điện tích của cặp oxi hóa khử $[Fe(CN)_6]^{3-}/[Fe(CN)_6]^{4-}$ vào điện cực Au, kết quả là mật độ dòng điện giảm.

Thí nghiệm trên được thực hiện tương tự với kháng nguyên không đặc hiệu (virus viêm não Nhật Bản). Hình 6 là đường CV của cảm biến miễn dịch, hình 6a và cảm biến miễn dịch/virus viêm não Nhật Bản, hình 6b, trong dung dịch $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ 0,03 M, KCl 0,1 M, tốc độ quét 25 mV/s.



Hình 6. Đường CV của điện cực:(a): cảm biến miễn dịch; (b): cảm biến miễn dịch/virus VNNB trong dung dịch $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ 0,03 M, KCl 0,1 M, tốc độ quét 25 mV/s.

Từ hình 6 có thể nhận thấy, khi tương tác không đặc hiệu kháng nguyên (virus viêm não Nhật Bản) - kháng thể (kháng virus Newcastle) diễn ra trên bề mặt cảm biến miễn dịch, giá trị I_{peak} ($I_{peak,\ cảm\ biến/virus\ VNNB}$ = 113,10 µA) gần như không thay đổi so với I_{peak} của cảm biến đo được khi chưa có tương tác sinh học với virus viêm não Nhật Bản ($I_{peak,\ cảm\ biến}$ = 112,57 µA). Kết quả trên cho thấy cảm biến miễn dịch điện hóa đã chế tạo có độ chọn lọc tốt, tín hiệu điện hóa đo được thay đổi khi có tương tác đặc hiệu virus - kháng thể diễn ra trên bề mặt cảm biến, mặt khác, tín hiệu điện hóa gần như không thay đổi khi tương tác sinh học là không đặc hiệu.

Như vậy, trong nghiên cứu này, thay vì sử dụng kháng thể IgG đã được tinh chế làm phần tử dò cho cảm biến miễn dịch như trong phần lớn những công bố khác[6-8], các tác giả đã tập trung nghiên cứu qui trình cố định kháng thể IgY kháng virus Newcastle chiết xuất trực tiếp từ trứng gà lên bề mặt cảm biến. Kháng thể IgG (đơn dòng và đa dòng) đều phải được sản xuất và tinh chế tại các phòng thí nghiệm tiêu chuẩn, sử dụng các bộ sinh phẩm thương mại và kỹ thuật hiện đại, vì vậy, đòi hỏi chi phí cao và thời gian dài [9, 10]. Tuy nhiên, theo Jones và cộng sự [11], dịch bệnh truyền nhiễm thường diễn ra bất ngờ, khó có thể dự đoán khi nào sẽ diễn ra dịch bệnh, dẫn đến khó khăn trong việc chủ động nguồn kháng thể IgG tinh chế cần thiết cho các xét nghiệm trong thời gian ngắn. Vì vậy, việc nghiên cứu sử dụng kháng thể IgY thu thập từ trứng gà, không cần phải qua các qui trình tinh chế phức tạp, yêu cầu kỹ thuật hiện đại, chi phí cao và thời gian dài làm phần tử dò cho cảm biến miễn dịch sẽ không những giúp giảm chi phí mà còn là giải pháp hiệu quả nhằm phát hiện kịp thời virus gây bệnh trong các vụ dịch bệnh truyền nhiễm do không còn phụ thuộc nhiều vào nguồn kháng thể IgG tinh chế.

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, kháng thể IgY kháng virus Newcastle chiết xuất trực tiếp từ trứng gà đã được cố định thành công lên trên bề mặt điện cực vàng (cảm biến miễn dịch) thay vì sử dụng kháng thể IgG tinh chế với qui trình tách chiết phức tạp đòi hỏi chi phí cao và thời gian dài.Cảm biến miễn dịch tích hợp bình phản ứng mini đã chế tạođược ứng dụng trong phát hiện virus Newcastle sử dụng phương pháp CV. Cảm biến miễn dịch điện hóa thể hiện độ chọn lọc tốt, tín hiệu điện hóa đo được thay đổi khi có tương tác đặc hiệu virus - kháng thể diễn ra trên bề mặt cảm biến, mặt khác, tín hiệu điện hóa gần như không thay đổi khi tương tác sinh học là không đặc hiệu. Nghiên cứucó tính mới và mở ra khả năng ứng dụng nhằm đáp ứng một nhu cầu cấp thiết hiện nay là nhu cầu phát hiện nhanh gia cầm bị bệnh để nhanh chóng ngănngừa bùng phát dịch, giảm thiểu thiệt hại

trong chăn nuôi.Tuy nhiên, khả năng phát hiện nhanh virus Newcastle sử dụng cảm biến miễn dịch điện hóa đã chế tạo cần tiếp tục được nghiên cứu sâu hơn trong thời gian tới nhằm kiểm tra độ lặp lại, độ nhạy, thời gian phát hiện và thời gian khả dụng (lifetime) của cảm biến.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Bách khoa Hà Nội trong đề tài mã số T2017-PC-019.

Tài liệu tham khảo

[1] Phạm Văn Ty (2004) Virus học. Nhà Xuất bản giáo dục.

[2] B. C. Heinze (2010) Lab-on-a-Chip Optical Immunosensor for Pathogen Detection. The University of Arizona.

[3] J. Heo, S. Z. Hua (2009) An overview of recent strategies in pathogen sensing. Sensors, vol. 9, pp. 4483–4502.

[4] O. Lazcka, F. J. Del Campo, and F. X. Munoz (2007) Pathogen detection: A perspective of traditional methods and biosensors. Biosensors and Bioelectronics, vol. 22, pp. 1205–1217.

[5] J. R. North (1985) Immunosensors: Antibody-based biosensors. Trends in Biotechnology, vol. 3, pp. 180–186.

[6] B. Byrne, E. Stack, N. Gilmartin, R. O'Kennedy (2009) Antibody-based sensors: Principles, problems and potential for detection of pathogens and associated toxins. Sensors (Switzerland), vol. 9, pp. 4407–4445.

[7] C. Ding, H. Li, K. Hu, J.-M. Lin (2010) Electrochemical immunoassay of hepatitis B surface antigen by the amplification of gold nanoparticles based on the nanoporous gold electrode.Talanta, vol. 80, pp. 1385–1391.

[8] R. Wang, Y. Wang, K. Lassiter, Y. Li, B. Hargis, S. Tung, L. Berghman, W. Bottje (2009) Interdigitated array microelectrodebasedimpedance immunosensor for detection of avian influenza virus H5N1. Talanta, vol. 79, pp. 159–164.

[9] M. Page, R. Thorpe (2002) Purification of IgG Using Protein A or Protein G. The Protein Protocols Handbook, 2nd Edition, Humana Press Inc., pp. 993–994.

[10] P. J. Conroy, S. Hearty, P. Leonard, R. J. O'Kennedy (2009) Antibody production, design and use for biosensor-based applications. Seminars in Cell and Developmental Biology, vol. 20. pp. 10–26.

[11] K. E. Jones, N. G. Patel, M. a Levy, A. Storeygard, D. Balk, J. L. Gittleman, P. Daszak (2008) Global trends in emerging infectious diseases. Nature, vol. 451, pp. 990–993.

The Development of an Electrochemical Immunosensor Using Chicken Egg Yolk Antibody as a Biological Recognition Element for Detecting Newcastle Disease Virus

Tran Thi Luyen[1], Tran Quang Thinh[2], Tran Vinh Hoang[1], Nguyen Thi Tuyet Mai[1], Mai Anh Tuan[2]

[1]*Hanoi University of Science and Technology, 1 Dai Co Viet, Hanoi, Vietnam*

[2]*National Center for Technological Progress, C6, C7 Khuat Duy Tien, Hanoi, Vietnam*

Abstract: In this work, the three-electrode system using a quasi-reference Ag/AgCl electrodewas integrated with a microchamber.The chicken egg yolk antibodies (IgY) against Newcastle Disease

virusNDV used as the biological recognition element was immobilized successfully onthe immunosensor surfaceto replace purified IgG antibody with the complex process of extraction.The electrochemical immunosensor integrated with the microchamber was tested to detect Newcastle disease virus using Cyclic Voltammetry (CV) method. Initial test results showed that the immunosensor has a relatively good and specific response to Newcastle Disease virus.

Keywords: Electrochemical immunosensor, IgY antibody, Newcastle Disease virus (NDV).