

УДК 535.016

АПТАСЕНСОРЫ НА ОСНОВЕ ТРЕКОВЫХ МЕМБРАН С НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫМ СЛОЕМ СЕРЕБРА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИРУСОВ ГРИППА А И Б

© 2023 г. В. И. Кукушкин¹, О. В. Криставчук², Г. А. Жданов³, А. К. Кешек³, А. С. Гамбарян⁴,
Е. В. Андреев², А. Н. Нечаев², Е. Г. Завьялова³, *

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт физики твердого тела имени Ю.А. Осипяна Российской академии наук, Черноголовка, Россия

²Международная межправительственная научно-исследовательская организация
Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
“Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова”, Москва, Россия

⁴Федеральное государственное автономное научное учреждение
“Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов имени М.П. Чумакова
Российской академии наук” (Институт полиомиелита), Москва, Россия

*E-mail: zlenka2006@gmail.com

Поступила в редакцию 17.09.2022 г.

После доработки 05.10.2022 г.

Принята к публикации 26.10.2022 г.

Предложен биосенсор на основе трековой мембраны из полиэтилентерефталата с покрытием из наночастиц серебра для определения вирусов гриппа А и Б с использованием аптамеров для специфической сорбции вирусов на поверхности мембраны, а также для введения раман-активной или флуоресцентной метки. Аналитический сигнал регистрировали с помощью рамановского спектрометра, наблюдая эффекты поверхностного усиления интенсивности оптических откликов от меток.

DOI: 10.31857/S0367676522700375, EDN: AEMCJO

ВВЕДЕНИЕ

Спектроскопия гигантского комбинационно-го рассеяния (ГКР, SERS, surface-enhanced Raman scattering) – высокочувствительный метод определения молекулярных веществ, основанный на усилении интенсивности рамановского рассеяния на границах раздела металла и диэлектрика [1, 2]. Помимо усиления интенсивности рамановского рассеяния происходит усиление сигнала флуоресценции (SEF, surface-enhanced fluorescence) [3, 4]. Многократное усиление сигнала может быть использовано для создания биосенсоров с ультранизкими пределами обнаружения аналитов [5–10]. Специфичность биосенсоров и предел обнаружения аналитов значительно увеличиваются в вариантах с введением раман-активных меток или флуорофоров [6, 8]. Безметочные методы уступают вариантам с введением меток из-за схожести химической структуры аналитов со структурами других компонентов биологических жидкостей: например, белки состоят из одних и тех же аминокислот, соединенных в разной последовательности, а нуклеиновые кислоты – из ограниченного количества нуклео-

тидов. Спектральные методы не позволяют дискриминировать последовательность, в которой соединены аминокислоты и нуклеотиды в макромолекулах. В настоящее время значительное количество работ направлено на использование антител и аптамеров, которые узнают эпитоп поверхности биомолекулы, в SERS- и SEF-биосенсорах [6, 11, 12]. Аптамеры более технологичны по сравнению с антителами, поскольку их синтез дешевле, есть возможность введения разнообразных модификаций, их структуре не свойственна необратимая денатурация [13, 14].

Сравнение работоспособности сенсоров в биологических жидкостях, например, в плазме крови, показало, что требуется разбавление растворов для снижения уровня неспецифической сорбции на поверхность сенсоров [15]. Использование мембранной фильтрации снижает предел обнаружения вируса гриппа А с 1.7 РГА/мл до $2.2 \cdot 10^{-5}$ РГА/мл [16] (РГА – единицы реакции геммагглютинации, отражающие способность вируса взаимодействовать с клетками).

В литературе описаны способы создания пористых поверхностей, на основе которых кон-

струируются оптические сенсоры, работающие на эффектах SERS/SEF [17]. Поры могут выступать в роли концентраторов, которые пропускают анализируемую жидкость на поверхность сенсора [18, 19] или в качестве проточного SERS-чипа, в котором одновременно реализуется две функции – фильтрация и усиление оптического сигнала [20].

В данной работе предложен биосенсор на основе трековой мембраны с нанесенными наночастицами металлов для определения вирусов гриппа А и Б с использованием аптамеров для специфической адсорбции вирусов на поверхности мембраны и их мечения раман-активными и флуоресцентными красителями.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Неорганические соли приобретены в Sigma-Aldrich (США). Органические растворители были приобретены в MP Biomedicals (Франция). ДНК-аптамеры, модифицированные тиолом, (RNA0385-SH, (SH-dT)-5'-ttg₃ttat₄g₃ag₃cg₅tt-3', и BV42-SH, SH-5'-aacgctcactc₅aagaagaac₂₂agtgagcgtt-3'), аминокислотной группой (RNA0385-амино, NH₂-5'-ttg₃ttat₄g₃ag₃cg₅tt-3') и Cyanine-3 (RNA0385-Cy3, Cy3-5'-ttg₃ttat₄g₃ag₃cg₅tt-3', и BV42-Cy3, Cy3-5'-aacgctcactc₅aagaagaac₂₂agtgagcgtt-3') синтезированы ООО Синтол (Россия). Малахитовый зеленый изотиоцианат приобретен у Thermo Fisher Scientific (США). Все растворы приготовлены в ультраочищенной воде (удельное сопротивление менее 18.2 МОм · см).

Инактивированные вирусы

Вирус гриппа А подтипа H5N1 (A/chicken/Kurgan/3654-at/2005), вирус гриппа А подтипа H7N1 (A/chicken/Rostock/45/1934), вирус гриппа Б (B/Victoria/2/1987) и вирус болезни Ньюкасла были выращены в аллантоисной полости 10-дневных куриных яиц. Яйца инкубировались при 37°C, охладились до 4°C через 48 ч после инфицирования, и аллантоисная жидкость собиралась через 16 ч. Вирусосодержащие аллантоисные жидкости были инактивированы путем добавления 0.05 об. % глутарового альдегида и законсервированы путем добавления 0.03 мас. % NaN₃ и хранились при +4°C. Титр вирусов определяли с помощью реакции гемагглютинации (РГА) с использованием 0.5% суспензии куриных эритроцитов в 0.14 М NaCl. За значение титра РГА в пробе принималось максимальное разведение вируса, при котором наблюдается положительный результат агглютинации эритроцитов.

SERS-мембраны

На поверхность трековых мембран из полиэтилентерефталата (средний диаметр пор на поверхности 0.36 мкм, плотность пор составляла $2.6 \cdot 10^8 \text{ см}^{-2}$, мембраны получены в Лаборатории ядерных реакций им. Г.Н. Флерова ОИЯИ [21]) с использованием системы вакуумного термического напыления NANO 38 (Kurt J. Lesker Company, США) с автоматическим контролем толщины напылялись слои металлов (либо Ag толщиной 8 нм, либо комбинация Cr толщиной 1 нм и Ag толщиной 8 нм) при давлении в камере $8 \cdot 10^{-7}$ Торр со скоростью напыления 0.4 Å/с. Затем проводилось нагревание мембраны на плитке HP-20D-Set (Daihan Scientific, Южная Корея) при температуре 120°C в течение 6 мин.

Синтез аптамера, модифицированного малахитовым зеленым

Раствор буры Na₂B₄O₇ · 10H₂O готовили растворением навески 1.9 г в 50 мл воды. 10 мг изотиоцианата малахитового зеленого растворили в 560 мкл диметилсульфоксида. Затем 14 мкл изотиоцианата малахитового зеленого смешивали с 7 мкл воды, 75 мкл раствора буры и 4 мкл 3 мМ раствора RNA0385-амино. После 18 ч инкубации при комнатной температуре меченый аптамер был отделен от непрореагировавшей краски центрифугированием с помощью колонки Vivaspin 500 с отсечкой по молекулярной массе 3000 а. е. м. (Sartorius, Великобритания) при 12000 об./мин в течение 10 мин. Для промывки аптамера было добавлено 30 мкл 40% этилового спирта с последующим центрифугированием при 12000 об./мин в течение 10 мин. Затем было добавлено 70 мкл изопропилового спирта с последующим центрифугированием при 12000 об./мин в течение 10 мин. К оставшейся жидкости с осадком было добавлено 50 мкл изопропанола и 50 мкл воды. Конечная концентрация аптамера, модифицированного малахитовым зеленым (RNA0385-MG) – 80 мкМ.

SERS-сенсор для определения вируса гриппа А на мембранах, не допированных хромом

Для образования активной конформации аптамера в концентрации 2 мкМ в буфере 1 (10 мМ трис-НСl, 10 мМ KNO₃, 140 мМ NaNO₃) нагревали 5 мин при 95°C и охлаждали при комнатной температуре. Вирусосодержащую аллантоисную жидкость разбавляли в 1000 раз буфером 1 и добавляли RNA0385-MG (конечная концентрация 2.5 нМ). Аптамер RNA0385 специфически взаимодействует с вирусом гриппа А, не связываясь с вирусами гриппа Б и болезни Ньюкасла [9, 22, 23]. После 5 мин инкубации смесь пропускали через мембрану с SERS-активным покрытием. Фраг-

мент мембраны диаметром 2 мм помещали на дно блока центробежной фильтрации центрифужной пробирки с ацетат-целлюлозной мембраной с размером пор 0,45 мкм. В экспериментах по модификации мембран аптамером, образцы были предварительно выдержаны в 20 нМ растворе RHA0385-SH в течение 5 мин. Затем 200 мкл образца вирусосодержащей жидкости с RHA0385-MG центрифугировали через мембрану при 2400 об./мин 2 мин. Измерения сигнала SERS проводились в течение 8 с (10 повторов) с использованием рамановского спектрометра RamanLife RL532 SERS (ООО “ФОТОН-БИО”, РФ) с лазерным излучением с длиной волны 532 нм.

SERS-сенсор для определения вирусов гриппа А на мембранах, допированных хромом

Для образования активной конформации аптамеры в концентрации 2 мкМ в фосфатном буфере PBS нагревали 5 мин при 95°C и охлаждали при комнатной температуре. Вирусосодержащую аллантоисную жидкость разбавляли в $20 \cdot 10^9$ раз PBS и добавляли RHA0385-Cy3 (конечная концентрация 200 нМ). После 5 мин инкубации смесь пропускали через мембрану с SERS-активным покрытием, предварительно выдержанную в 200 нМ растворе RHA0385-SH в течение 15 мин. Фрагмент мембраны диаметром 2 мм помещали на дно блока центробежной фильтрации центрифужной пробирки с ацетат-целлюлозной мембраной с размером пор 0,45 мкм. Затем 200 мкл образца вирусосодержащей жидкости с RHA0385-Cy3, центрифугировали через мембрану при 2400 об./мин 2 мин. Измерения сигнала SERS проводились в течение 0,4 с (20 повторов) с использованием рамановского спектрометра RamanLife RL532 SERS (ООО “ФОТОН-БИО”, РФ) с лазерным излучением с длиной волны 532 нм.

SERS-сенсор для определения вирусов гриппа Б на мембранах, допированных хромом

Для образования активной конформации аптамеры в концентрации 2 мкМ в буфере 1 нагревали 5 мин при 95°C и охлаждали при комнатной температуре. Вирусосодержащую аллантоисную жидкость разбавляли в $20 \cdot 10^9$ раз буфером 1 и добавляли BV42-Cy3 (конечная концентрация 200 нМ). Аптамер BV42 связывается как с вирусами гриппа А, так и с вирусами гриппа Б, обладая структурой i-мотива [24, 25]. После 5 мин инкубации смесь пропускали через мембрану с SERS-активным покрытием, предварительно выдержанную в 20 нМ растворе BV42-SH в течение 15 мин. Фрагмент мембраны диаметром 2 мм помещали на дно блока центробежной фильтрации центрифужной пробирки с ацетат-целлюлозной мембраной с размером пор 0,45 мкм. Затем

200 мкл образца вирусосодержащей жидкости с BV42-Cy3, центрифугировали через мембрану при 2400 об./мин 2 мин. Измерения сигнала SERS проводились в течение 0,4 с (20 повторов) с использованием рамановского спектрометра RamanLife RL532 SERS (ООО “ФОТОН-БИО”, РФ) с лазерным излучением с длиной волны 532 нм.

Сканирующая электронная микроскопия

Сканирующую электронную микроскопию (СЭМ) проводили с помощью микроскопа SU 8020, оснащенного холодным полевым катодом (Hitachi, Япония). Чтобы улучшить разрешение и контрастность изображений, на образцы наносился слой сплава золото-палладий толщиной 5 нм. Некоторые изображения были сделаны без распыления проводящих металлических слоев.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Мембраны из полиэтилентерефталата, покрытые наноструктурированным слоем серебра были описаны ранее в качестве поверхностей, усиливающих сигнал рамановского рассеяния [26]. В наших экспериментах мембраны позволяли увидеть SERS-спектр метки аптамера (малахитового зеленого) при достаточно низких концентрациях красителя – 2,5 нМ. Сигнал появлялся в образцах с вирусами гриппа А разных подтипов (H5N1 и H7N1), которые узнаются аптамером RHA0385-MG, и отсутствовал в образцах контрольных вирусов – вирусов гриппа Б и болезни Ньюкасла (рис. 1). При этом спектр малахитового зеленого отсутствовал при попытке сборки тройного комплекса RHA0385-SH – вирус гриппа А – RHA0385-MG.

По данным сканирующей электронной микроскопии наноструктурированная поверхность на мембране претерпевает значительные изменения при взаимодействии с биологической жидкостью (разбавленной аллантоисной жидкостью). Обработка поверхности аптамером RHA0385-SH не изменяет ее геометрию, но усиливает изменения при фильтрации биологической жидкости, приводя к полному снятию наноструктурированного слоя вирусом гриппа А (рис. 2). В отсутствие тиомодифицированного аптамера наноструктурированная поверхность нарушена, дополнительный этап промывки мембраны буфером смывает остатки слоя, при этом исчезает спектр малахитового зеленого и появляется спектр материала мембраны – полиэтилентерефталата.

Для увеличения стабильности наноструктурированного слоя был добавлен этап напыления хрома, что создает допированный хромом слой наночастиц серебра, с увеличенной адгезией к поверхности мембраны. Новый вариант мембраны стабильнее: покрытие сохраняется в присутствии

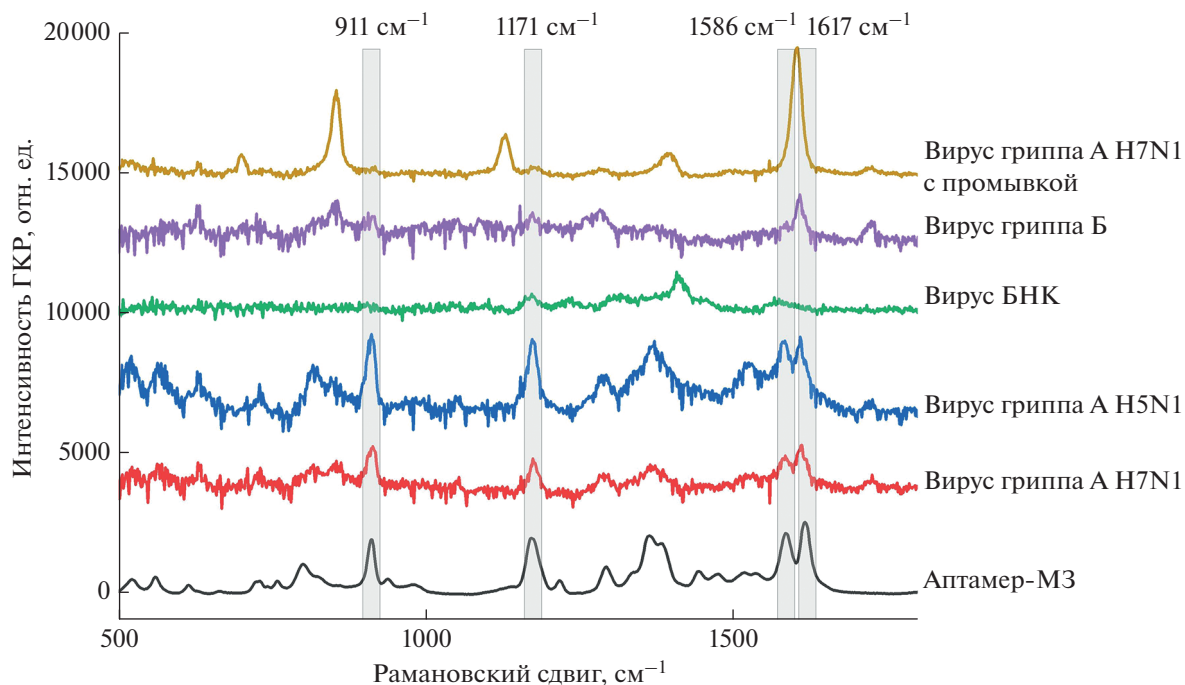


Рис. 1. SERS-спектры мембран с SERS-активным покрытием в присутствии вирусов гриппа А (подтипы H5N1 и H7N1), гриппа Б и болезни Ньюкасла (БНК), а также контрольные спектры мембраны с промывкой и аптамера RNA0385-MG.

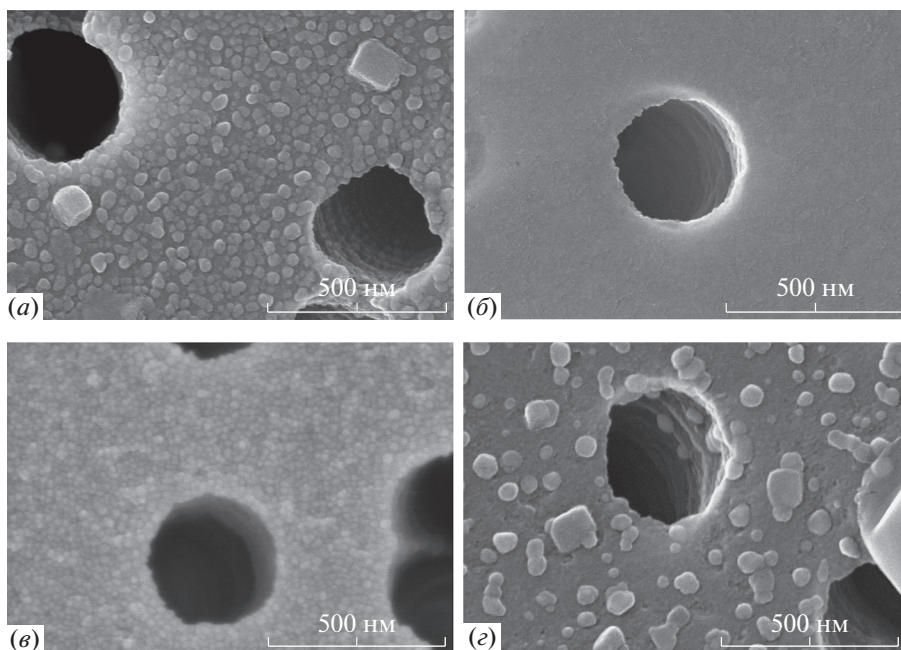


Рис. 2. Сканирующая электронная микроскопия образцов мембраны со слоем наноструктурированного серебра после фильтрации смеси вируса гриппа А H7N1 и RNA0385-MG (a), мембраны, предварительно обработанной RNA0385-SH с последующей фильтрацией смеси вируса гриппа А H7N1 и RNA0385-MG (б), исходной мембраны, обработанной RNA0385-SH без последующей фильтрации (в), мембраны, предварительно обработанной RNA0385-SH с последующей фильтрацией смеси неспецифического вируса (вируса болезни Ньюкасла) и RNA0385-MG (г).

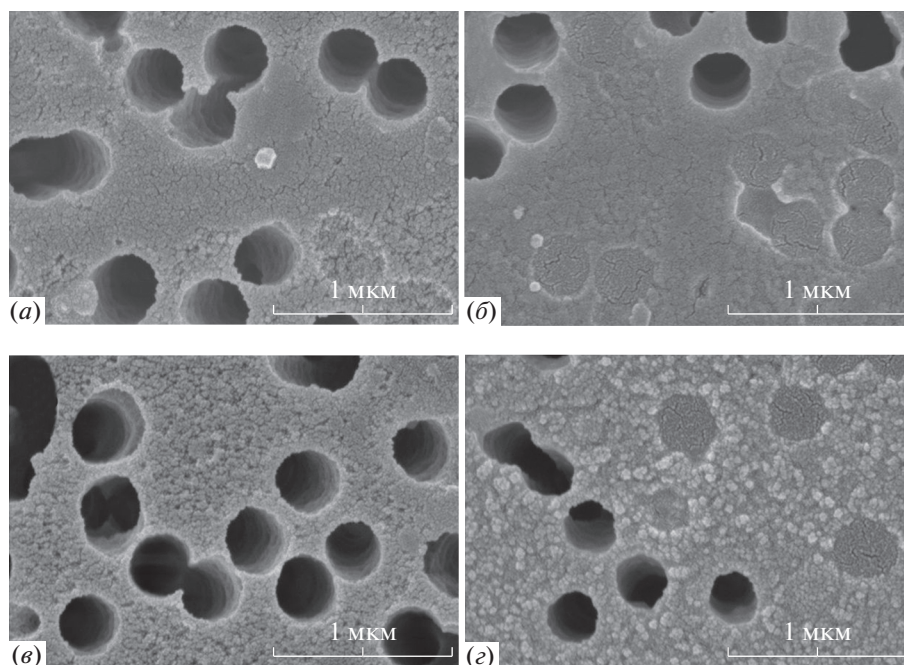


Рис. 3. Сканирующая электронная микроскопия образцов мембраны со слоем наноструктурированного серебра с допированием хромом, предварительно обработанной RHA0385-SH с последующей фильтрацией смеси RHA0385-Su3 с: буфером без биологической жидкости (а); вирусом гриппа А H7N1 в концентрации $3.7 \cdot 10^{10}$ (б), $2.4 \cdot 10^4$ (в) и $3.8 \cdot 10^3$ частиц/мл (г).

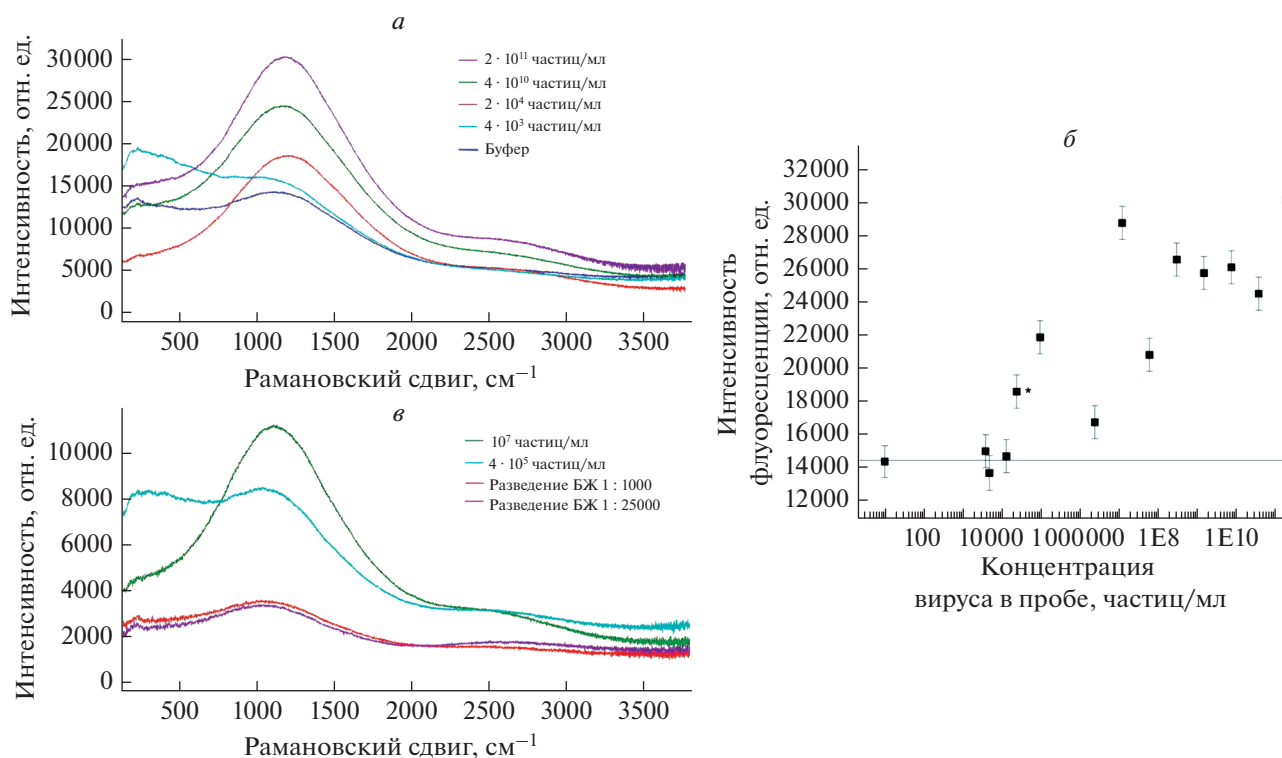


Рис. 4. Спектры флуоресценции образцов мембраны со слоем наноструктурированного серебра с допированием хромом, предварительно обработанной RHA0385-SH с последующей фильтрацией смеси RHA0385-Su3 с разными концентрациями вируса гриппа А подтипа H7N1 (а). * Помечен наблюдаемый предел обнаружения вируса гриппа А. Спектры флуоресценции образцов мембраны со слоем наноструктурированного серебра с допированием хромом, предварительно обработанной BV42-SH с последующей фильтрацией смеси BV42-Su3 с разными концентрациями вируса гриппа Б (в). В качестве контролей приведены спектры, полученные после фильтрации образцов биологической жидкости без вируса (БЖ), разбавленной идентично образцам с вирусом.

биологических жидкостей и вируса гриппа А, в том числе, при модификации поверхности аптамером RHA0285-SH (рис. 3).

Стабилизация покрытия снизила интенсивность рамановских спектров как в случае бинарных (вирус гриппа А – RHA0285-метка), так и тройных комплексов RHA0385-SH – вирус гриппа А – RHA0385-метка. В данном случае динамичное покрытие было важным для усиления сигнала, возможно, за счет образования слоя наночастиц на поверхности вируса. Покрытие, допированное хромом, обладает эффектом усиления флуоресценции, например флуоресценции красителя Суанине-3 (рис. 4), что было использовано для создания сенсоров. Была получена зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации вируса с характерным увеличением сигнала в диапазоне концентраций вируса от $2 \cdot 10^4$ до $2 \cdot 10^{11}$ частиц/мл. Предел обнаружения данного сенсора – $2 \cdot 10^4$ частиц/мл – превосходит тест-системы экспресс-анализа на основе антител ($1 \cdot 10^6$ – $4 \cdot 10^8$ частиц/мл), но уступает методу ПЦР ($3 \cdot 10^2$ – $1.2 \cdot 10^3$ частиц/мл) [27–29]. Низкий для тест-систем экспресс-анализа предел обнаружения и широкий диапазон определяемых количеств вируса гриппа А был достигнут благодаря использованию мембраны, которая удаляет значительную часть примесных биомолекул. Эффективность фильтрации вирусов гриппа А через полиэтилентерефталатную мембрану с таким же размером пор была оценена в нашей недавней работе, где показано, что SERS в коллоидных системах с образцами биологических жидкостей может быть улучшен за счет такой фильтрации [16].

Для оценки возможности использования предложенной методики для других вирусов, был предложен сенсор для определения вируса гриппа Б. Сенсор сработал аналогичным образом: в присутствие вируса гриппа Б происходило увеличение флуоресценции по сравнению с биологической жидкостью без вируса (рис. 4в). Были определены титры вируса гриппа 10^7 и $4 \cdot 10^5$ частиц /мл. Таким образом, предложенный подход можно считать универсальным.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 18-74-10019).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кукушкин В.И., Гришина Я.В., Соловьев В.В. и др. // Письма ЖЭТФ. 2017. Т. 105. С. 637; Kukushkin V.I., Grishina Y.V., Solov'ev V.V. et al. // JETP Lett. 2017. V. 105. P. 677.
2. Кукушкин В.И., Гришина Я.В., Егоров С.В. и др. // Письма ЖЭТФ. 2016. Т. 103. С. 572; Kukushkin V.I., Grishina Y.V., Egorov S.V. et al. // JETP Lett. 2016. V. 103. P. 508.
3. Белик А.Я., Кукушкин В.И., Рыбин А.Я. и др. // Докл. РАН. 2018. Т. 481. С. 270; Belik A.Y., Kukushkin V.I., Rybkin A.Y. et al. // Dokl. Phys. Chem. 2018. V. 481. P. 95.
4. Kukushkin V.I., Mukhametzhano I.M., Kukushkin I.V. et al. // Phys. Rev. B. V. 90. Art. No. 235313.
5. Perumal J., Wang Y., Attia A.B.E. et al. // Nanoscale. 2021. V. 13. No. 2. P. 553.
6. Ambartsumyan O., Gribanyov D., Kukushkin V. et al. // Int. J. Mol. Sci. 2020. V. 21. No. 9. Art. No. 3373.
7. Eskandari V., Sahbafar H., Zeinalizad L., Hadi A. // ISSS J. Micro Smart Syst. 2022. V. 11. P. 363.
8. Zavyalova E., Tikhonova D., Zhdanov G. et al. // Analyt. Chim. Acta. 2022. V. 1221. Art. No. 340140.
9. Kukushkin V.I., Ivanov N.M., Novoseltseva A.A. et al. // PLoS One. 2019. V. 14. No. 4. Art. No. e0216247.
10. Ye J., Yeh Y.T., Xue Y. et al. // Proc. National. Acad. Sci. USA. 2022. V. 119. No. 23. Art. No. e2118836119.
11. Lin Y.-J., Wu C.-Y., Li T. et al. // J. Biosens. Bioelectron. 2014. V. 5. P. 2.
12. Lee J.H., Kim B.C., Oh B.K., Choi J.W. // J. Biomed. Nanotechnol. 2015. V. 11. No. 12. P. 2223.
13. Adachi T., Nakamura Y. // Molecules. 2019. V. 24. No. 23. Art. No. 4229.
14. Ni S., Zhuo Z., Pan Y. et al. // ACS Appl. Mater. Interfaces. 2021. V. 13. No. 8. P. 9500.
15. Жданов Г.А., Грибанев Д.А., Гамбарян А.С. и др. // Изв. РАН. Сер. физ. 2022. Т. 86. № 4. С. 527; Zhdanov G.A., Gribanyov D.A., Gambaryan A.S. et al. // Bull. Russ. Acad. Sci. Phys. 2022. V. 86. No. 4. P. 434.
16. Zhdanov G., Nyhrikova E., Meshcheryakova N. et al. // Front. Chem. 2022. V. 10. Art. No. 937180.
17. Kristavchuk O.V., Nikiforov I.V., Kukushkin V.I. et al. // Colloid J. 2017. V. 79. P. 637.
18. Laserna J.J., Campiglia A.D., Winefordner J.D. // Analyt. Chim. Acta. 1988. V. 208. P. 21.
19. Muniz-Miranda M., Neto N., Sbrana G. // J. Mol. Struct. 1997. V. 410. P. 205.
20. Taurozzi J.S., Tarabara V.V. // Environ. Engin. Sci. 2007. V. 24. No. 1. P. 122.
21. Apel P.Yu. // Rad. Inst. 1995. V. 25. No. 1–4. P. 667.
22. Bizyaeva A.A., Bunin D.A., Moiseenko V.L. et al. // Int. J. Mol. Sci. 2021. V. 22. No. 5. Art. No. 2409.
23. Novoseltseva A.A., Ivanov N.M., Novikov R.A. et al. // Biomolecules. 2020. V. 10. No. 1. P. 119.
24. Musafia B., Oren-Banaroya R., Noiman S. // PLoS One. 2014. V. 9. No. 5. Art. No. e97696.
25. Zavyalova E., Kopylov A. // In: Nanostructures for the engineering of cells, tissues and organs. From design to applications. Chennai: William Andrew, Elsevier, 2018. 249 p.
26. Серебренникова С.И., Кукушкин В.И., Криставчук О.В. и др. // Изв. РАН. Сер. физ. 2022. Т. 86. № 4. С. 516; Serebrennikova S.I., Kukushkin V.I., Kristavchuk O.V. et al. // Bull. Russ. Acad. Sci. Phys. 2022. V. 86. No. 4. P. 423.
27. Herrmann B., Larsson C., Zwegyberg B.W. // J. Clin. Microbiol. 2001. V. 39. P. 134.
28. Chan K.-H., To K.K.W., Chan J.F.W. et al. // J. Clin. Microbiol. 2013. V. 51. P. 3160.
29. Peters T.R., Blakeney E., Vannoy L., Poehling K.A. // Diagnostic Microbiol. Infect. Dis. 2013. V. 75. P. 200.

Aptasensors based on track-etched membranes coated with nanostructured silver layer for influenza A and B virus detection

V. I. Kukushkin^a, O. V. Kristavchuk^b, G. A. Zhdanov^c, A. K. Keshek^c, A. S. Gambaryan^d, Ye. V. Andreev^b, A. N. Nechaev^b, E. G. Zavyalova^{c, *}

^a *Institute of Solid State Physics of the Russian Academy of Sciences, Chernogolovka, 142432 Russia*

^b *Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, 141980 Russia*

^c *Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia*

^d *Chumakov Federal Scientific Centre for Research and Development of Immune and Biological Products of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 108819 Russia*

**e-mail: zlenka2006@gmail.com*

A biosensor based on a polyethylene terephthalate track membrane coated with silver nanoparticles is proposed for the detection of influenza A and B viruses using aptamers for specific sorption of the viruses on the membrane surface, as well as for the introduction of a Raman-active or fluorescent label in the complex. The analytical signal was recorded using a Raman spectrometer, observing the effects of surface-enhancing of the intensity of optical responses from the labels.