

Винахід належить до біотехнології, імунохімії та медицини і може бути використаний для оцінки імунного статусу жінок до або на початку вагітності, а також для проведення сероепідемічних досліджень.

В Україні тест-системи для виявлення зараженості людей, особливо вагітних жінок та немовлят токсоплазмою не виробляється. В Росії випускається тест-система "ВектоТоксо-антитела" (ЗАО "Вектор-Бест", Новосибірськ), в складі якої на твердій фазі використовуються рекомбінантні поліпептиди-аналоги білків *Toxoplasma gondii*; сироватки досліджуються після попереднього розведення 1:100, а як кон'югат беруть антивидові антитіла проти імуноглобулінів класу G людини, мічені пероксидазою [1].

В основу винаходу покладено завдання створити імуноферментну тест-систему на основі імуносорбенту з очищеними поверхневими білками-антигенами *Toxoplasma gondii*. Антигени сорбують на поверхні полістиролових планшетів. Досліджувані сироватки використовують в розведенні 1:10. В складі кон'югатів беруть моноклональні антитіла проти імуноглобулінів людини класу G, мічені ферментом-пероксидазою. Ферментативну реакцію визначають за допомогою субстратного розчину з хромогеном. За одну постановку (2 години) можна проаналізувати 88 сироваток.

#### Приклад 1

Визначення антитіл проти *Toxoplasma gondii* у сироватці крові хворої Л. 1977 року народження.

Визначення проводять за відомою методикою [2] твердофазного імуноферментного аналізу. Для цього вносять у лунки планшета-імуносорбента з фіксованими на ньому білками-антигенами *Toxoplasma gondii* по 90мкл розчину для розведення сироваток та по 10мкл сироватки крові хворої для виявлення антитіл класу G (IgG).

В чотири лунки вносять по 90мкл розчину для розведення сироваток та контрольні зразки: в три лунки - по 10мкл позитивних контрольних зразків-сироваток з визначеними титрами антитіл (для будування калібрувальної кривої), а в одну - 10мкл негативного контролю.

Накривають планшет клейкою плівкою або кришкою та інкубують при температурі 37°C протягом 60хв.

Після закінчення інкубації видаляють вміст лунок за допомогою промивача або 8-канальної піпетки та промивають лунки чотири рази розчином для промивання планшетів.

В лунки планшета вносять по 100мкл розчину моноклонального кон'югату проти імуноглобулінів людини, мічених пероксидазою, та інкубують планшет при 37°C у термостаті 30хв.

Після закінчення інкубації промивають лунки шість разів і вносять по 100мкл розчину проявника (субстратний розчин з хромогеном) та інкубують при 18-22°C у темряві 30хв.

Зупиняють кольорову реакцію, вносячи до всіх проб по 100мкл стоп-реагента.

Не більш як через 1хв. після зупинення кольорової реакції визначають оптичну густину (ОГ) в лунках у двохвильовому режимі за допомогою спектрофотометра. Значення ОГ зразка прямо пропорційне кількості антитіл у сироватці.

Значення кількості антитіл проти *Toxoplasma gondii* у сироватці хворої, визначене при застосуванні нашої тест-системи, порівнювали зі значеннями, отриманими при використанні тест-системи виробництва ЗАО "Вектор-Бест" (Росія).

Досліджені сироватки хворої було ідентифіковано як позитивні на наявність антитіл проти антигенів *Toxoplasma gondii*.

#### Приклад 2

Визначення чутливості та специфічності пропонованої тест-системи.

Використовуючи названі тест-системи, досліджували сироватки крові (по 20 достеменно позитивних та 100 достеменно негативних сироваток). Усі сироватки досліджували у двох повторностях кожною тест-системою за описаною методикою. Усі 20 позитивних сироваток показали наявність антитіл проти *Toxoplasma gondii*, що складає 100% чутливості. З 100 негативних сироваток виявилися справді негативними всі 100 (специфічність - 100%) у пропонованій тест-системі. В порівнюваній тест-системі з Росії з 20 достеменно позитивних сироваток 19 були позитивними. Одну низькотитражну сироватку не виявлено. Чутливість тест-системи становила 95%. З 100 негативних сироваток - 2 сироватки були виявлені як хибнопозитивні. Специфічність порівняльної тест-системи становила 98%.

Таким чином, пропонована тест-система забезпечує виявлення антитіл класу IgG проти антигенів *Toxoplasma gondii* у сироватках людей. Проста і надійна в роботі, проявляє високу чутливість та специфічність.

#### Використана література

1. Инструкция по применению тест-системы "ВектоТоксо-антитела" производства ЗАО "Вектор-Бест", п. Кольцово, Новосибирской обл., 2003, 3с.

2. А.Т. Михайлов, В.Н. Сими́рский "Методы иммунохимического анализа в биологии развития". М, "Наука", 1981.