

Винахід належить до біотехнології, імунохімії та медицини і може бути використаний в клініці для підтвердження діагнозу гострої цитомегаловірусної інфекції.

В Україні тест-системи для виявлення гострої цитомегаловірусної інфекції не виробляються. В Росії випускається тест-система "ВектоЦМВ-IgM-стрип" (ЗАО "Вектор-Бест", Новосибірськ), в складі якої на твердій фазі сорбовані антигени цитомегаловірусу; сироватки досліджуються в розведенні 1:100, а як кон'югат беруть моноклональні антитіла проти імуноглобулінів класу М людини, мічені пероксидазою [1].

В основу винаходу покладено завдання створити імуноферментну тест-систему на основі імуносорбенту з сорбованими моноклональними антитілами проти IgM людини. Досліджувані сироватки використовують в розведенні 1:10. До складу кон'югатів входять суміш очищених рекомбінантних поліпептидів р28 та р150 - аналогів антигенів цитомегаловірусу, мічених пероксидазою. Ферментативну реакцію визначають за допомогою субстратного розчину з хромогеном. За одну постановку (2 години) можна проаналізувати 91 сироватку.

#### Приклад 1

Визначення антитіл класу IgM проти цитомегаловірусу у сироватці крові хворої К., 1977 року народження.

Визначення проводять за відомою методикою [2] твердофазного імуноферментного аналізу. Для цього вносять у лунки планшета-імуносорбенту з фіксованими на ньому моноклональними антитілами проти IgM людини по 90мкл розчину для розведення сироваток та по 10мкл досліджуваної сироватки крові хворої для виявлення в ній антитіл класу М та контрольні зразки (2 позитивних і 3 негативних).

Накривають планшет клейкою плівкою або кришкою та інкубують при температурі 37°C протягом 30хв.

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 кон'югату - суміші рекомбінантних поліпептидів р28 та р150 - аналогів антигенів цитомегаловірусу, мічених пероксидазою, та інкубують планшет у термостаті 30хв. при 37°C.

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.

Результати визначення антитіл класу IgM проти цитомегаловірусу в сироватці хворої, визначене при застосуванні нашої тест-системи, порівнювали з даними, отриманими при використанні тест-системи виробництва ЗАО "Вектор-Бест" (Росія).

Досліджені сироватки хворої було ідентифіковано як позитивні на наявність антитіл класу IgM проти антигенів цитомегаловірусу.

#### 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 класу IgM проти цитомегаловірусу, 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 20 також були позитивними. Чутливість тест-системи становила 100%. З 100 негативних сироваток - 2 сироватки були виявлені як хибно-позитивні. Специфічність порівняльної тест-системи становила 98%.

Таким чином, пропонована тест-система забезпечує виявлення антитіл класу IgM проти антигенів цитомегаловірусу в сироватках людей. Проста і надійна в роботі, проявляє високу чутливість та специфічність.

Використана література

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

2. А.Т. Михайлов, В.К. Симирийский "Методы иммунохимического анализа в биологии развития." Наука, 1981.