

Винахід належить до біотехнології, імунохімії та медицини і може бути використаний для дослідження сироватки або плазми крові людини на наявність поверхневого антигену вірусу гепатиту В методом імуноферментного аналізу.

Відома тест-система "Monolisa Ag HBs PLUS" виробництва "Sanofi Diagnostics Pasteur" (Франція) для детекції HBsAg вірусу гепатиту В методом імуноферментного аналізу [1], в якій на полістироловий планшет сорбовані моноклональні анти-HBs антитіла, а як кон'югат використовують анти-HBs антитіла, мічені пероксидазою.

В основу винаходу покладено завдання створити вітчизняну імуноферментну тест-систему на основі імуносорбенту з сорбованими моноклональними антитілами проти поверхневого антигену вірусу гепатиту В. Досліджувані матеріали використовують без розведення. Позитивний контроль - рекомбінантний HBsAg з відомою концентрацією. До складу кон'югату входять моноклональні антитіла до інших епітопів HBsAg, мічені ферментом. Ферментативну реакцію визначають за допомогою субстратного розчину з хромогеном. За одну постановку (2,5 години) можна проаналізувати 91 пробу досліджуваного матеріалу.

#### Приклад 1

Визначення HBsAg вірусу гепатиту В у сироватці крові хворої І., 1977 року народження.

Визначення проводять за відомою методикою [2] твердофазного імуноферментного аналізу. Для цього вносять у лунки імуносорбенту з фіксованими на ньому моноклональними антитілами проти HBsAg по 100мкл досліджуваних зразків сироватки від хворої для виявлення поверхневого антигену вірусу гепатиту В та контрольні зразки (2 позитивних з відомою концентрацією HBsAg і 3 негативних). Витримують 10хв. при кімнатній температурі, а потім вносять в усі лунки по 50мкл кон'югату моноклональних антитіл до інших епітопів HBsAg, мічених ферментом. Накривають планшет клейкою плівкою або кришкою та інкубують при температурі 37°C протягом 2 годин.

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-реагенту.

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

Результати визначення HBsAg в сироватці хворої, визначене при застосуванні нашої тест-системи, порівнювали з даними, отриманими при використанні тест-системи "Monolisa Ag HBs PLUS".

Досліджені сироватки хворої було ідентифіковано як позитивні на наявність HBsAg вірусу гепатиту В; концентрація HBsAg перевищує 200пкг/мл.

#### Приклад 2

Визначення чутливості та специфічності запропонованої 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. Обидві тест-системи показали однакові результати: в 20 позитивних сироватках виявлено HBsAg вірусу гепатиту В з концентрацією від 200пкг/мл та більше, що складає 100% чутливості. З 100 негативних сироваток від донорів, вагітних жінок та хворих на алергічні та імунні захворювання виявилися справді негативними 99 (специфічність - 99%).

Таким чином, запропонована тест-система забезпечує виявлення поверхневого антигена вірусу гепатиту В у досліджуваному матеріалі. Проста і надійна в роботі, проявляє високу чутливість та специфічність.

Використана література:

1. Инструкция по применению тест-системы "Monolisa Ag HBs PLUS" виробництва "Sanofi Diagnostics Pasteur" (Франція), 2002, 17с.

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