



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **17184** (13) **U**
(51) МПК (2006)
A61K 39/12

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ТЕСТ-СИСТЕМА ІМУНОФЕРМЕНТНА ПІДВИЩЕНОЇ ЧУТЛИВОСТІ ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ АНТИГЕНУ P24 ВІРУСУ ІМУНОДЕФІЦИТУ ЛЮДИНИ (DIA-HIV-P24-SENSITIVE)

1

2

(21) u200603067

(22) 22.03.2006

(24) 15.09.2006

(46) 15.09.2006, Бюл. № 9, 2006 р.

(72) Семиноженко Володимир Петрович, Шевчук Олександр Анатолійович, Пилипенко Віталій Григорович, Іванська Наїля Валєєвна, Троянський Василь Васильович, Горлов Юрій Іванович, Терещенко Михайло Іванович, Ганова Лариса Олександрівна, Михайленко Людмила Петрівна, Трохимчук Тетяна Юріївна, Грабченко Наталія Іванівна, Мельник Анатолій Іванович, Мойса Лариса Миколаївна

(73) АКЦІОНЕРНЕ ТОВАРИСТВО ЗАКРИТОГО ТИПУ НАУКОВО-ВИРОБНИЧА КОМПАНІЯ "ДІАПРОФ-МЕД"

(57) Тест-система імуноферментна підвищеної чутливості для кількісного визначення антигену p24 вірусу імунодефіциту людини (DIA-HIV-p24-sensitive), в якій на полістироловий планшет сорбовані антитіла проти ВІЛ-1, а як кон'югат використовують біотинільовані антитіла проти p24 ВІЛ-1 та стрептавідин, зв'язаний з пероксидазою; яка **відрізняється** тим, що додатково для ампліфікації сигналу в систему додаються біотинтирамін і стрептавідин, мічений пероксидазою.

Корисна модель належить до біотехнології, імунохімії та медицини і може бути використана в клініці для підтвердження діагнозу і моніторингу лікування ВІЛ-інфекції та СНІДу, а також для науково-дослідних робіт.

В Україні розроблена і випускається тест-система для виявлення антигенів ВІЛ (DIA-HIV-p24) виробництва НВК Діапроф-Мед [1]. Також існує тест-система "Elavia HIV-1Ag" виробництва "Sanofi Diagnostics Pasteur" (Франція) для детекції антигену вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ-1) методом імуноферментного аналізу [2]. В цих тест-системах на полістироловий планшет сорбовані антитіла проти ВІЛ-1, а як кон'югат використовують біотинільовані антитіла проти ВІЛ-1 та стрептавідин, зв'язаний з пероксидазою.

В основу корисної моделі покладено завдання створити імуноферментну тест-систему підвищеної чутливості для кількісного визначення антигену p24 ВІЛ-1.

Суть корисної моделі в створенні імуноферментної тест-системи, що діє за принципом твердофазного імуноферментного аналізу "сандвіч" варіанту з додатковою ампліфікацією сигналу шляхом введення біотинтирамін-стрептавідинового підсилення.

Поставлене завдання вирішують шляхом використання імуносорбенту з сорбованими моноклональними антитілами проти антигену p24 ВІЛ,

кон'югату – біотинільованих поліклональних або моноклональних антитіл проти ВІЛ та стрептавідину, зв'язаного з пероксидазою. Ампліфікація сигналу виконується за рахунок введення в систему біотинтираміну і додатковою інкубацією з кон'югатом стрептавідину з пероксидазою.

Приклад 1. Визначення p24 ВІЛ в сироватці крові хворого Д. 1980р. народження.

Визначення проводять за методикою [1]. При внесенні в лунки планшету зразків сироваток інфікованої крові антиген p24 зв'язується як зі специфічними антитілами на твердій фазі, так і з біотинільованими анти-p24 антитілами в складі кон'югату, створюючи комплекси антиген-антитіло (АТ-АГ). Інкують планшет при 37°C протягом 1 години і відмивають лунки 6 разів. Імунні комплекси виявляють за допомогою стрептавідину з пероксидазою, який вносять в лунки планшету на 15хв. Після відмивання лунок в них додають біотинтирамін, а потім знову кон'югат стрептавідину з пероксидазою. Після відмивання 6 разів в лунки додають розчин проявника (субстратний розчин з хромогеном) та інкують при 18-22°C у темряві 30хв. Зупиняють кольорову реакцію, вносячи до всіх проб по 50мкл стоп-реагенту.

Після зупинення кольорової реакції визначають оптичну густину (ОГ) в лунках у двохвильовому режимі за допомогою спектрофотометра. Значення ОГ зразка прямо пропорційне кількості

(13) **U**
(11) **17184**
(19) **UA**

антигену р24 вірусу імунодефіциту людини у сироватці.

В таблиці приведені дані порівняння значень оптичної густини зразків з підсиленням і без нього.

Приклад 2. Порівняння чутливості пропонованої тест-системи з комерційними тест-системами "DIA HIV-p24" і "Elavia HIV 1 Ag" проводили з вико-

ристанням стандартного препарату нативного корового антигену вірусу імунодефіциту р24 (Natutec 30 АН79).

Визначення проводили аналогічно прикладу 1 та інструкціям до діагностиків. Порівняльні результати приведені в таблиці.

Таблиця

Порівняння чутливості тест-систем.

Концентрація р24, пкг	DIA-HIV-p24 ОГ/ГЗ	DIA-HIV-p24-sensitive, ОГ/ГЗ	ElaviaHIV-1 Ag, ОГ/ГЗ
1000	12,3	16,5	13,0
500	11,5	15,3	12,1
250	10,6	13,9	9,6
100	8,2	11,6	8,1
50	4,6	8,3	5,2
20	0,9	4,6	2,1
10	0,7	3,4	1,2
5	0,5	2,2	0,8
1	0,3	0,8	0,6

Таким чином, пропонована тест-система забезпечує виявлення 5пкг антигену р24 ВІЛ-1. Проста і надійна в роботі.

Використана література.

1. Горлов Ю.І., Раєвська Г.Є., Семиноженко В.П. та ін. Тест-система імунофермента для виявлення антигену р24 ВІЛ у сироватці або плазмі

крові (DIA-P24-HIV). Деклараційний патент на винахід UA №67617 А від 15.06.2004. Бюл.№6.

2. Инструкция по применению тест-системы "Elavia HIV-IAg – kit for detection of HIV-1 Ag by enzyme immunoassay" виробництва "Sanofi Diagnostics Pasteur" (Франція) 2002, 17с.