



УКРАЇНА

(19) UA (11) 17187 (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 ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ АНТИТІЛ ДО ВІРУСІВ ІМУНОДЕФІЦИТУ ЛЮДИНИ (ВІЛ-1, ВІЛ-2, ВІЛ-0) (DIA-HIV 1/2-0)

1

2

(21) u200603072

(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 для виявлення антитіл до вірусів імунодефіциту людини (ВІЛ-1, ВІЛ-2, ВІЛ-0) (DIA-HIV 1/2-0), в якій в складі імуносорбенту і кон'югату використовуються рекомбінантні поліпептиди - аналоги антигенів р17, р24, gp41, gp120 ВІЛ-1 та р36 ВІЛ-2, яка **відрізняється** тим, що для підвищення чутливості і специфічності діагностикума до імуносорбенту і кон'югату додаються рекомбінантні білки gp10 ВІЛ-2 і злітний Env-Gag поліпептид ВІЛ, що дає змогу за рахунок одностадійної процедури з одночасною інкубацією сироваток і кон'югату провести імуноферментний аналіз і виявити інфікованих на ВІЛ-1, ВІЛ-2 і ВІЛ-0.

Корисна модель належить до біотехнології, імунохімії та медицини і може бути використана для серологічної діагностики ВІЛ-інфекції та СНІДу.

Відома тест-система для виявлення антитіл проти ВІЛ у сироватках і плазмі крові людини при діагностиці ВІЛ-інфекції і СНІДу [1]. В основі тест-системи лежать рекомбінантні поліпептиди аналогів антигенів р17, р24, gp120 ВІЛ-1 і р36 ВІЛ-2, використані в імуносорбенті і в складі кон'югату, які реагують з антитілами проти цього збудника.

В основу корисної моделі поставлене завдання створити імуноферментну тест-систему на основі нових рекомбінантних поліпептидів-аналогів ВІЛ і за рахунок цього забезпечення надійного виявлення антитіл проти ВІЛ-1, ВІЛ-2 та ВІЛ-0 і підвищення чутливості та специфічності діагностикума.

Поставлене завдання вирішують шляхом використання рекомбінантних поліпептидів р17, р24, gp41 і gp120 ВІЛ-1, р36 та gp110 ВІЛ-2 і злітного Env-Gag поліпептиду ВІЛ-0 в складі як імуносорбенту так і кон'югату, що дає змогу за рахунок одностадійної процедури з одночасною інкубацією сироваток і кон'югату провести імуноферментний аналіз і виявити інфікованих на ВІЛ-1, ВІЛ-2 і

ВІЛ-0.

Суть корисної моделі в створенні імуноферментної тест-системи на основі рекомбінантних поліпептидів р17, р24, gp41 і gp120 ВІЛ-1, р36 та gp110 ВІЛ-2 і злітного Env-Gag поліпептиду ВІЛ-0 в складі як імуносорбенту так і кон'югату, за рахунок цього забезпечується надійне виявлення антитіл проти ВІЛ-1, ВІЛ-2 та ВІЛ-0 і підвищується чутливість та специфічність діагностикума.

Приклад 1. Визначення наявності антитіл до ВІЛ-1 в сироватці крові хворої А., 1985 року народження.

Визначення проводять згідно з відомою методикою [2] твердофазного імуноферментного аналізу. Для цього вносять у лунки планшета з фіксованими на ньому рекомбінантними поліпептидами р17, р24, gp41 і gp120 ВІЛ-1, р36 та gp110 ВІЛ-2 і злітного Env-Gag білку ВІЛ-0 досліджуваний матеріал від хворої для визначення наявності ВІЛ-інфекції та контрольні зразки (2 позитивних і 3 негативних) в буфері з кон'югатом - сумішшю рекомбінантних поліпептидів, мічених пероксидазою.

Накривають планшет клейкою плівкою або кришкою та інкубують при температурі 37°C протягом 90хв.

Після закінчення інкубації промивають лунки

(19) UA (11) 17187 (13) U

вісім 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 50мкл стоп-реагенту.

Не більш як через 1хв. після зупинення кольорової реакції визначають оптичну густину (ОГ) в лунках у двохвильовому режимі за допомогою спектрофотометра. При ОГ більше граничного значення досліджувана проба розцінюється як позитивна.

Досліджений матеріал від хворої було ідентифіковано як позитивний на наявність ВІЛ-інфекції.

Приклад 2. Визначення наявності антитіл до ВІЛ-2 в сироватці крові хворого Г., 1978 року народження.

Аналіз проводили аналогічно прикладу 1. Досліджений матеріал від хворого Г. було ідентифіковано як позитивний на наявність ВІЛ-інфекції.

Приклад 3. Визначення наявності антитіл до ВІЛ-0 в сироватці крові хворого С., 1979 року народження.

Аналіз проводили аналогічно прикладу 1. Досліджений матеріал від хворого С. було ідентифіковано як позитивний на наявність ВІЛ-інфекції.

Приклад 4. Визначення чутливості та специфі-

чності пропонованої тест-системи.

Використовуючи пропоновану тест-систему і набір "Genscreen Plus HIV 1/2" (BioRad) [1], досліджували сироватки крові (по 20 достеменно позитивних та 100 достеменно негативних сироваток). Усі сироватки досліджували у двох повторях кожною тест-системою за описаною методикою. Обидві тест-системи показали однакові результати: з 20 позитивних сироваток всі зразки виявлено як позитивні, що складає 100% чутливості. З 100 негативних сироваток виявилися справді негативними 100 (специфічність - 100%).

Таким чином, пропонована тест-система забезпечує виявлення ВІЛ-інфекції. Проста і надійна в роботі, проявляє високу чутливість та специфічність.

Використана література

1. Инструкция по применению тест-системы "Genscreen Plus HIV 1|2 -kit for direction of HIV infection in human serum/plasma by enzyme immunoassay" виробництва "BioRad" (Франція) 2005, 20с.

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