



УКРАЇНА

(19) UA (11) 36084 (13) A

(51) 6 A61K39/21, C12N1/00, C12N7/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ АНТИТІЛ КЛАСУ М ПРОТИ ТРЕПОНЕМА PALLIDUM (ІФА-ТРЕП-IGM)

(21) 99115958

(22) 01.11.1999

(24) 16.04.2001

(33) UA

(46) 16.04.2001, Бюл. № 3, 2001 р.

(72) Мартиненко Дмитро Леонідович, Черепанов
Пьотр Алексєєвич, RU, Михайлова Татьяна Гаврі-
ловна, RU, Іванська Наїля Валєєвна, Рєєвська Га-
лина Євгенівна, Терещенко Михайло Іванович,
Чумак Ростислав Максимович, Шевчук Олександр
Анатолійович, Скробот Катерина Леонідівна, Тро-
янський Василь Васильович, Пилипенко Віталій
Григорович, Устіменка Олег Ігорєвич, ВУ, ПетрікінаІрина Владиславівна, ВУ, Калюжна Лідія Денисів-
на, Сєребрякова Тєтяна Леонідівна(73) Акціонерне товариство закритого типу науко-
во-виробнича компанія "Діапроф-Мед"(57) Тест-система для виявлення антитіл класу М
проти Трепонема pallidum, що має за основу вико-
ристання імуносорбенту з нанесеними моноклона-
льними анти-IgM-антитілами і рекомбінантними
поліпептидами-аналогами антигенів Трепонема
pallidum, яка відрізняється тим, що використову-
ється суміш рекомбінантних поліпептидів p15, p17,
p41 та p47 в складі кон'югату.

Винахід належить до імунології, медицини та може бути використаний для проведення імунологічних досліджень, діагностичних аналізів інфекційності окремих осіб на ранніх стадіях захворювання та скринінгових досліджень немовлят від хворих на сифіліс матерів.

Відома тест-система [1] для імуноферментного виявлення антитіл (АТ) проти Трепонема pallidum в сироватках та плазмі крові людини. В основі тест-системи лежать рекомбінантні поліпептиди-аналоги антигенів Т. pallidum з імунодомінантними епітопами, які реагують з антитілами проти цього збудника. Як кон'югати використовуються антивидові антитіла чи білок А золотистого стафілокока, що мічені ферментом та дають змогу виявляти імуноглобуліни класів G та M.

В основу винаходу поставлено завдання створити імуноферментну тест-систему на основі моноклональних антитіл проти IgM людини та рекомбінантних поліпептидів-аналогів антигенів Т. pallidum, які використовуються в складі кон'югатів та дають змогу виявляти імуноглобуліни класу М проти Т. pallidum на ранніх стадіях захворювання.

Поставлене завдання вирішують шляхом використання моноклональних анти-IgM-антитіл на твердій фазі та рекомбінантних поліпептидів p15; p17, p41, p47 у складі кон'югату, за рахунок чого забезпечується виявлення IgM-антитіл проти Т. pallidum, підвищується надійність та специфічність системи.

Приклад 1. Визначення антитіл проти антигенів Т. pallidum в сироватці хворого Р. 1985 року народження.

Визначення проводиться за методикою так званого IgM-захвату [3] твердофазного імуноферментного аналізу (ТІФА). В заглиблення планшету сорбують моноклональні анти-IgM-антитіла, інкубують 2 години при 37°C. Відмивають планшети та вносять у заглиблення по 30 мкл сироватки крові хворого в розчині кон'югату - суміші рекомбінантних поліпептидів p15, p17, p41 та p47, мічених ферментом. Планшет інкубують протягом 60-90 хв. в термостаті при температурі 37°C, відмивають 6 разів, вносять в усі заглиблення планшета по 100 мкл проявника; витримують в темряві 20-30 хв., а потім зупиняють ферментативну реакцію кислотою. Облік результатів проводять на спектрофотометрі. Значення оптичної густини зразка прямо пропорційне кількості антитіл у сироватці. Кількість антитіл у сироватці хворого, визначену із застосуванням нашої тест-системи, порівнювали з даними, отриманими при застосуванні відомих тест-систем "Pathozyne syphilis M capture" виробництва фірми Omega Diagnostics Limited (Великобританія) та "Trepanostika TP" виробництва фірми Organon Teknika (Нідерланди).

Досліджена сироватка ідентифікована як позитивна на наявність антитіл класу М проти антигенів Т. pallidum.

Приклад 2. Визначення чутливості та специфічності пропонованої тест-системи.

(19) UA (11) 36084 (13) A

З використанням названих тест-систем досліджували сироватки з Залізничного шкіро-венерологічного диспансеру (м. Київ) (10 достеменно позитивних та 12 достеменно негативних сироваток). Усі сироватки досліджували у 4 повторностях кожною тест-системою за описаною методикою. Усі 10 позитивних сироваток показали наявність антитіл класу IgM проти *Treponema pallidum*, що становить 100% чутливості; 12 негативних зразків виявилися справді негативними (100% специфічність) в пропорованій та у порівнюваній тест-системах. Таким чином, пропорована тест-система забезпечує виявлення антитіл класу М проти антигенів *T. pallidum*, надійна, проста в роботі і проявляє високу специфічність та чутливість.

Джерела інформації.

1. Інструкція до тест-системи "Trepanostika TP. Enzyme-linked immunosorbent assay for the qualitative determination of specific antibody to *Treponema pallidum* in human serum or plasma " - Organon Teknika. - 1998.
2. Інструкція що до застосування діагностичного імуноферментного набору "Pathozyme syphilis M capture. Capture enzyme immunoassay (EIA) for the detection of IgM antibodies to *Treponema pallidum* in human serum". - Omega Diagnostics Limited. - 1998.
3. А.Т. Михайлов, В.Н. Симиірський. Методы иммунохимического анализа в биологии развития. - М. "Наука", 1981.

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26
(044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку _____ 2001 р. Формат 60x84 1/8.
Обсяг _____ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. _____

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.
(044) 268-25-22
