



УКРАЇНА

(19) UA (11) 40595 (13) U  
(51) МПК (2009)  
C07K 16/08  
G01N 33/535  
G01N 33/537 (2006.01)  
C12Q 3/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

**(54) ІМУНОФЕРМЕНТНА ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ ІМУНОГЛОБУЛІНІВ КЛАСУ G ДО ЕНТЕРОВІРУСІВ КОКСАКИ A І B ТА ЕКХОВІРУСІВ В СИРОВАТЦІ КРОВІ**

1

2

(21) u200508724

(22) 13.09.2005

(24) 27.04.2009

(46) 27.04.2009, Бюл.№ 8, 2009 р.

(72) ПРИЛУЦЬКИЙ ОЛЕКСАНДР СЕРГІЙОВИЧ,  
UA, БАБЕНКО СЕРГІЙ ВІТАЛІЙОВИЧ, UA

(73) ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДА-  
ЛЬНІСТЮ "УКРМЕДСЕРВІС", UA

(57) Імуноферментна тест-система для виявлення імуноглобулінів класу G до ентеровірусів Коксаки A і B та екховірусів в сироватці крові, що містить сорбований планшет з антигеном і кон'югат, яка **відрізняється** тим, що на планшет засорбовано антиген ентеровірусу, попередньо нашарований на колонку з антитілами до антигенів поліовірусів 1-3.

Корисна модель належить до медицини, а саме, до лабораторної діагностики і може бути використана для якісного визначення в сироватці крові імуноглобулінів класу G до ентеровірусів методом ІФА.

Є відомі тест-системи для виявлення імуноглобулінів класу G до ентеровірусу в сироватці крові, що включають сорбований антиген на планшеті та кон'югат [1, 2, 3]. Антиген сорбується на дно лунки і зв'язує IgG до ентеровірусу сироватки обстежуваного під час інкубації. При цьому кількість зв'язаних IgG повинна бути пропорційно його концентрації в пробі. Комплекс, що утворився, виявляється за допомогою кон'югата моноклональних антитіл до комплексу антиген-імуноглобулін G, зв'язаного з пероксидазою хрому. У результаті утворюється зв'язаний із пластиком комплекс, що містить пероксидазу. Зв'язаний фермент визначається за допомогою кольорової реакції з хромогенним субстратом. Недоліком цитованих тест-систем є або недостатня специфічність, або можливість одержання хибних результатів, що знижує вірогідність діагностики інфікованості ентеровірусом. Значне поширення даної інфекції серед населення, а також широкий спектр патологічного впливу на організм підкреслює особливу актуальність розробки тест-систем для швидкого і точного виявлення імуноглобулінів класу G до ентеровірусу в сироватці крові.

З відомих тест-систем, найбільш близьких по технічній сутності і результату, що досягається, є тест-система, описана в [3]. Тест-система включає сорбований антигеном планшет та кон'югат.

Однак дана тест-система також має низьку специфічність, що може негативно позначитися на об'єктивному виявленні імуноглобулінів класу G до різних штамів ентеровірусів, зокрема роду Коксаки та Екхо.

В основу корисної моделі поставлена задача створення імуноферментної тест-системи для виявлення імуноглобулінів класу G до ентеровірусів (рід Коксаки та Екхо) в сироватці крові, яка забезпечувала би очистку агента та зниження неспецифічних взаємодій, і за рахунок цього більш об'єктивне виявлення імуноглобулінів класу G до вірусів Коксаки груп A і B та екховірусів.

Поставлена задача вирішується таким чином. У відомій тест-системі, що містить сорбований антигеном планшет і кон'югат, відповідно до корисної моделі, на планшет засорбовано антиген ентеровірусу, попередньо нашарований на колонку з антитілами до антигенів поліовірусів 1-3.

Підбір оптимального агента для сорбції здійснювався за допомогою визначення специфічності результатів у тест-систем з сорбованим антигеном, який перед сорбцією нашаровували на колонку з антитілами до антигенів поліовірусів 1-3 та агентом без попередньої обробки. Визначення специфічності проводили в порівнянні з тест-

(19) UA (11) 40595 (13) U

системами, на яких був сорбований пептидний антиген ентеровірусу. Було встановлено, що середні значення оптичної щільності при обстеженні осіб, щеплених та не щеплених до поліовірусів при використанні тест-систем, на яких антиген перед сорбцією проходив попередню обробку, суттєво не відрізняються між собою. В той же час, на тест системах з використанням антигену без попередньої обробки має місце велика різниця в результатах обстеження даних осіб. Дані представлені на Фіг., зокрема - порівняння результатів при визначенні імуноглобулінів класу G до ентеровірусів Коксаки груп А і В та екховірусів на тест-системах ТОВ "Укрмедсервіс" з сорбованим антигеном, який перед сорбцією наслідуювався на колонку з антитілами до антигенів поліовірусів 1-3га агентом без попередньої обробки, од. оптичної щільності.

Обробка агента здійснюється в такий спосіб:

Виділення ентеровірусів на лінії клітин, що переривається, НЕР-2 та RD проводили за загальноприйнятою методикою з наступною ідентифікацією виділених вірусних агентів за допомогою стандартних полі- і моновалентних діагностичних сироваток. Після цього агент прогрівається при 56°C 15 хвилин та наслідуюється на колонку з антитілами до антигенів поліовірусів 1-3. Потім проводиться елюція агента буфером з рН 7,2-7,4 та його сорбція на полістіролові планшети.

Наводимо конкретні приклади перевірки тест-систем:

1. Хвора Ф., 25 років.

Дослідження вироблялося з використанням тест-систем з сорбованим антигеном, який перед сорбцією наслідуювався на колонку з антитілами до антигенів поліовірусів 1-3.

При п'ятикратному визначенні імуноглобулінів G до ентеровірусу були отримані наступні значення оптичної щільності: 2,149, 2,257, 2,194, 2,316, 2,108од. При обстеженні даної хворої на тест-системі з сорбованим пептидним антигеном значення оптичної щільності склали: 2,165, 2,218, 2,097, 2,138, 2,141.

2. Хворий Д., 19 років.

Дослідження вироблялося з використанням тест-систем з сорбованим антигеном, який перед сорбцією не наслідуювався на колонку з антитілами до антигенів поліовірусів 1-3.

При п'ятикратному визначенні імуноглобулінів G до ентеровірусу були отримані наступні значення оптичної щільності: 0,875, 0,654, 0,774, 0,691, 0,802од. При обстеженні даної хворої на тест-системі з сорбованим антигеном значення оптичної щільності склали: 0,079, 0,093, 0,101, 0,084, 0,088.

Порівняльний аналіз заявленої корисної моделі в порівнянні з відомим рівнем техніки не виявив там впливу запропонованих перетворень на досягнення технічного результату. Таким чином, заявлена корисна модель відповідає вимозі наявності винахідницького рівня і новизни.

Переваги пристрою, що заявляється:

Пропонована тест-система має суттєві переваги і новизну, тому що обробка антигену дозволяє домогтися високої специфічності результатів при визначенні імуноглобулінів класу G до ентеровірусів Коксаки груп А і В та екховірусів. Це уможливує підвищення вірогідності діагностики інфікованості ентеровірусом.

Джерела інформації, прийняті до уваги:

1. Использование иммуноферментного метода для обнаружения энтеровирусов / А.Ф. Фролов, С.Л. Рыбалко, И.Л. Маричев и соавт. // Врачебное дело. - 1990. - №2. - С.113-114.

2. Использование экспресс-методов для детекции энтеровирусов / В.Ф. Еремин, Т. В. Амбросьева, В.И. Вотяков и соавт. // Клин. лаб. диагностика. - 1999. - №3. - С.23, 24, 33.

3. R.Durries and V.ter Meulen Detection of Enterovirus Specific IgM and IgM Antibodies in Human by an Indirect Solid Phase Radioimmunoassay // Med. Microbiol. Immunol. - 1980. - Vol. 168. - P.159-171.

