



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 101547

(13) U

(51) МПК

G01N 33/571 (2006.01)

A61K 39/245 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	u 2015 00454	(72) Винахідник(и):	Брошков Михайло Михайлович (UA), Дегтяренко Тетяна Володимирівна (UA)
(22) Дата подання заявки:	21.01.2015	(73) Власник(и):	Брошков Михайло Михайлович, вул. Нова, 6, с. Нова Долина, Овідіопольський р-н, Одеська обл., 67822 (UA), Дегтяренко Тетяна Володимирівна, вул. Тополева, 12/43, м. Одеса, 65000 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	25.09.2015		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	25.09.2015, Бюл. № 18		

## (54) СПОСІБ ІМУНОДІАГНОСТИКИ СЕНСИБІЛІЗАЦІЇ ОРГАНІЗМУ ДО ВІРУСУ ГЕРПЕСУ

### (57) Реферат:

Спосіб імунодіагностики сенсibilізації організму до вірусу герпесу, за яким у тварин натщесерце здійснюють забір 0,3-0,5 мл периферичної крові. Виділяють лейкоцитарно - лімфоцитарну суміш клітин. Запроваджують постановку навантажувального тесту "активних" Е-РУЛ in vitro з додаванням герпесвірусного антигену (1 доза герпетичної вакцини розводиться в 10 мл фізіологічного розчину. Потім 0,2 мл приготованого розчину розводиться ще в 1 мл фізіологічного розчину, для реакції використовують 100 мкл такого розчину). Визначають відносну кількість "активних" Е-РУЛ на 100 клітин лімфоїдного ряду в контрольному і дослідному зразках. За отриманими даними визначають показник інверсії - різницю у відсотках "активних" Е-РУЛ в дослідній пробі порівняно з контролем. Якщо значення показника інверсії становить 10 відсотків і більше, тварині діагностують сенсibilізацію організму до вірусу герпесу і обов'язково призначають фармакологічні засоби протівірусної та імуноотропної дії.

UA 101547 U



Корисна модель належить до галузі клінічної та ветеринарної медицини, зокрема до імунофізіології, і може використовуватися в різних галузях практичної ветеринарної медицини для імунодіагностики і визначення необхідності призначення протівірусних та імунотропних препаратів, що буде сприяти підвищенню ефективності терапевтичних заходів в доклінічній та ветеринарній медицині.

Встановлено, що кількість мікроорганізмів постійної мікрофлори в організмі тварин на декілька порядків більше, ніж власних імунозахисних клітин. До різноманіття мікрофлори, яка спостерігається в середовищі існування та в організмі, слід додати достатньо широкий спектр вірусів, які знаходяться в організмі людини і тварин. Дослідження проведені по виявленню вірусу чуми всеїдних у собак показали, надзвичайну розповсюдженість вірусоносійства навіть без клінічних ознак хвороби, і це вказує на те, що негативна реакція на антиген по ІФА не виключає можливості самого захворювання. Дослідження людей з встановленим діагнозом розсіяний склероз виявили високі титри специфічних імуноглобулінів IgG проти вірусу чуми всеїдних, в той час як у людей які знаходяться в постійному контакті з собаками (ветеринарні лікарі) зазначені антитіла не виявлені. Симбіотичне співіснування організму і його різноманітної мікрофлори може порушуватись та при певних умовах мікроорганізми можуть викликати тяжкі ендогенні запальні процеси. Безперечно, що довершена нейроімуноендокринна регуляція спрямована на жорсткий імунологічний контроль, який не допускає розвиток клінічних ознак захворювання в організмі людей і тварин.

Герпесвірусна інфекція - найбільш розповсюджена серед людей і тварин. Вірус характеризується відносно коротким реплікативним циклом (до 24 годин), швидкою руйнацією уражених клітин і здатністю перебувати в латентній формі переважно в нервових клітинах (В.Н.Сюрин, А.Я. Самуйленко и др. Вирусные болезни животных.- Москва.-2013).

Відомо, що в сучасному світі (Козлова В.И., Пухнер А.Ф. Вирусные, хламидийные и микоплазменные заболевания гениталий. - Москва, 1993) практично всі люди інфіковані вірусами герпесу (ВПГ) і цитомегаловірусом (ЦМВ), отже всі існуючі дані вказують на достатньо широку розповсюдженість вірусів зокрема ВПГ і ЦМВ, їх існування в латентній формі та періодичну активацію під час дисбалансу в стані окремих ланок імунної системи, що призводить до уражень, насамперед нервової системи і розвитку захворювань.

Об'єктивна пропозиція, яка належить до корисної моделі, полягає в тому, що діагностика ступеня аутосенсibilізації організму до вірусних антигенів здійснюється на підставі розробленого навантажувального тесту *in vitro* з герпесвірусним антигеном завдяки підрахунку відсотку інверсії "активних" Т-лімфоцитів (Е-РУЛ) відносно до контрольної проби без додавання герпесвірусного антигену (Т.В. Дегтяренко, Р.Ф. Макулыеин Биогенные стимуляторы и иммунореактивность.- Одесса, 1997.)

В основу корисної моделі поставлена задача розробки способу імунодіагностики сенсibilізації організму до вірусу герпесу (ВПГ) шляхом запровадження постановки навантажувального тесту "активних" Е-РУЛ *in vitro* з додаванням герпесвірусного антигену, за рахунок чого створюються умови для визначення показника інверсії герпесвірусної рецепції Т-лімфоцитів, що дозволить встановити наявність сенсibilізації до герпетичного антигену і обґрунтувати доцільність проведення протівірусної імунокорекції.

Поставлена задача вирішується тим, що натщесерце здійснюють забір 0,3-0,5 мл периферичної крові, виділяють лейкоцитарно- лімфоцитарну суміш клітин, запроваджують останкову навантажувального тесту "активних" Е-РУЛ *in vitro* з додаванням герпесвірусного антигену (1 доза герпетичної вакцини розводиться в 10 мл фізіологічному розчині, потім 0,2 мл приготованого розчину розводиться ще в 1 мл фізіологічного розчину; для реакції використовується 100 мкл такого розчину), визначають відносну кількість "активних" Е-РУЛ на 100 клітин лімфоїдного ряду в контрольних і дослідних зразках і за отриманими даними визначають показник інверсії - різниця у відсотках "активних" Е-РУЛ в дослідній пробі порівняно з контролем, і якщо його значення становить 10 відсотків і більше, встановлюють сенсibilізацію організму до ВПГ і доцільність обов'язкового призначення фармакологічних засобів протівірусної та імунотропної дії.

Причинно-наслідкові зв'язки:

1) запровадження постановки навантажувального тесту "активних" Е-РУЛ *in vitro* з додаванням герпесвірусного антигену дозволяє визначити показник інверсії герпесвірусної рецепції Т-лімфоцитів

2) отримання значення показника інверсії дозволяє встановити наявність сенсibilізації до герпетичного антигену і відповідно обґрунтувати доцільність проведення протівірусної імунокорекції.

Корисну модель виконують наступним чином:

Вранці натщесерце у собаки беруть 0,3-0,5мл периферичної крові і ниділяють лейкоцитарно-лімфоцитарну суміш клітин. Розкапують лейкоцитарно-лімфоцитарну суміш клітин по 0,05 мл у лунки імунологічних планшет. Додають в дослідні лунки 100 мкл розчину герметичного антигену, а контрольні лунки 0,05 мл фізіологічного розчину. Проводять інкубацію суміші в імунологічних планшетах у термостаті протягом 30 хвилин при  $t=37^{\circ}\text{C}$ .

Додають у лунки імунологічних планшет до всіх проб 0,05 еритроцитів барана (КБ) в стандартній концентрації. Проводять інкубацію 5 хвилин при кімнатній температурі, відразу готують мазки та забарвлюють за Романовським-Гімзою. Рахують відносну кількість "активних" Е-РУЛ на 100 клітин лімфоїдного ряду в контрольних і дослідних зразках; різниця у відсотку "активних" Т-лімфоцитів в контрольних і дослідних зразках визначає ступінь сенсibilізації організму собак до вірусного антигену. За рівнем герпесвірусної рецепції "активних" Т-лімфоцитів визначають необхідність проведення протівірусної імунокорекції: збільшення відсотку інверсії "активних" Е-РУЛ в дослідних пробах більше 10 % -- визначають наявність сенсibilізації до ВПГ і обов'язково призначають фармакологічні засоби протівірусної дії.

Імунологічні дослідження проводили на базі в лабораторії імунології інституту очних хвороб і тканинної терапії ім... В.П.Філатова АМН України та ветеринарної клініки "Долина". Експериментальні дослідження здійснені на 48 домашніх тваринах. В дослідях підбирали тварин, які мали хронічні ураження шкіри, що характеризувалися зонарними алопеціями, депегментацією, свербіжем, висипами та періодично виникаючими рецидивуючими екземами шкіри нез'ясованого етіопатогенезу. У дослідних тварин на підставі запровадження диференціальної діагностики виключили паразитарні захворювання. Тварин після проведення імунологічних досліджень розділили на три групи: перша група (рівень сенсibilізації до 10 %) - на фоні симптоматичного лікування призначена протівірусна імунокорекція; друга група (рівень сенсibilізації більше 10 %) - симптоматичне лікування без призначення протівірусної імунокорекції; третя група (рівень сенсibilізації більше 10 %) - на фоні симптоматичного лікування призначена протівірусна імунокорекція. З метою імунокорекції використовувався препарат "Неовір 12,5 %" з діючою речовиною *Oxodihydroacridmylacetate sodium* з розрахунку 10 мг на кг. живої ваги внутрішньом'язово один раз у 48 годин всього п'ять ін'єкцій. За тваринами спостерігали протягом 6 місяців на предмет необхідності продовження та повторення курсів імунокорекції.

Аналіз показників, що характеризують тривалість імунокорекції за річного рівня сенсibilізації "активних" Т-лімфоцитів по герпетичного антигену, а саме період від початку введення фармакологічних засобів до зникнення клінічного прояву ураження шкіри показав, що тривалість терапевтичного курсу у тварин з низьким ступенем сенсibilізації (до 10 %) - перша група; та тварин з високим ступенем сенсibilізації (більше 10 %) - друга група, без додаткового застосування протівірусних препаратів, була майже однаковою. Проте у тварин третьої групі, яким під час симптоматичного лікування додатково призначали протівірусний препарат, період протягом якого зникали симптоми ураження шкіри був вдвічі коротше. Спостереження за дослідними тваринами протягом 6 місяців показав, що 70 % тварин перших двох груп потребували повторення терапевтичних курсів в той час як в третій групі лише 20 %.

Оцінка показників абсолютної кількості лейкоцитів, лімфоцитів та їх субпопуляції а також фагоцитарної активності нейтрофілів за різних показників сенсibilізації "активних" Т-лімфоцитів до герпетичного антигену показала, що у тварин з високою сенсibilізацією (% інверсії більше 10) абсолютна кількість лейкоцитів більше на  $1,96 \cdot 10^{9/l}$  ніж у тварин другої групи (% інверсії менше 10).

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб імунодіагностики сенсibilізації організму до вірусу герпесу, за яким у тварин натщесерце здійснюють забір 0,3-0,5 мл периферичної крові, виділяють лейкоцитарно-лімфоцитарну суміш клітин, запроваджують постановку навантажувального тесту "активних" Е-РУЛ *in vitro* з додаванням герпесвірусного антигену (1 доза герпетичної вакцини розводиться в 10 мл фізіологічного розчину, потім 0,2 мл приготованого розчину розводиться ще в 1 мл фізіологічного розчину, для реакції використовують 100 мкл такого розчину), визначають відносну кількість "активних" Е-РУЛ на 100 клітин лімфоїдного ряду в контрольному і дослідному зразках, і за отриманими даними визначають показник інверсії - різницю у відсотках "активних" Е-РУЛ в дослідній пробі порівняно з контролем, і якщо значення показника інверсії становить 10 відсотків і більше, тварині діагностують сенсibilізацію організму до вірусу герпесу і обов'язково призначають фармакологічні засоби протівірусної та імуноотропної дії.

---

Комп'ютерна верстка О. Рябко

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601