



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **91677** (13) **U**  
(51) МПК  
**A61K 39/42** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: <b>u 2014 01784</b>	(72) Винахідник(и): <b>Іванська Наїля Валєєвна (UA), Рибалко Світлана Леонтіївна (UA), Беньковська Леся Костянтинівна (UA)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>24.02.2014</b>	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>10.07.2014</b>	(73) Власник(и): <b>ДЕРЖАВНА НАУКОВА УСТАНОВА "НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ ЦЕНТР ПРОФІЛАКТИЧНОЇ ТА КЛІНІЧНОЇ МЕДИЦИНИ" ДЕРЖАВНОГО УПРАВЛІННЯ СПРАВАМИ, вул. Верхня, 5, м. Київ, 01014 (UA), ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ЕПІДЕМІОЛОГІЇ ТА ІНФЕКЦІЙНИХ ХВОРОБ ІМ. Л.В. ГРОМАШЕВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ", вул. Академіка Амосова, 5, м. Київ, 03680 (UA)</b>
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.07.2014, Бюл.№ 13</b>	(74) Представник: <b>Черепов Леонід Володимирович, реєстр. №19</b>

## (54) СПОСІБ ЗНЯТТЯ НЕСПЕЦИФІЧНОГО ЗВ'ЯЗУВАННЯ АНТИТІЛ ПРИ СЕРОЛОГІЧНІЙ ДІАГНОСТИЦІ ВІЛ-ІНФЕКЦІЇ ТА ГЕПАТИТУ С

### (57) Реферат:

Спосіб зняття неспецифічного зв'язування антитіл при серологічній діагностиці ВІЛ-інфекції та гепатиту С шляхом використання блокатора, що додають у розчини для розведення сироваток при проведенні серологічних реакцій, причому як блокатор застосовують антитіла протибактеріальних мімікринів, які мають гомологічні амінокислотні послідовності з білками вірусів імунодефіциту людини та гепатиту С.

UA 91677 U



Корисна модель належить до медицини, біотехнології та імунохімії і може бути використана для зняття неспецифічного зв'язування антитіл (АТ) при серологічній діагностиці вірусних інфекцій, зокрема вірусів імунодефіциту людини (ВІЛ) та гепатиту С (ВГС).

В останні роки досить активно проводяться дослідження щодо вивчення антигенної мімікрії, тобто наявності у різних гомологічних чи негомологічних білкових або нуклеотидних структур ділянок, які містять тотожні послідовності амінокислот. Антигенна мімікрія найчастіше пов'язана з подібністю лінійної або конформаційної структури вірусних або бактеріальних антигенів і клітин макроорганізму, в результаті чого АТ із сироваток крові взаємодіють перехресно з ними, що призводить до виникнення хибних результатів при проведенні аналізів серологічними методами. Існує декілька блокаторів, такі як знежирене молоко, альбумін великої рогатої худоби, тритон Х-100, які додаються в розчини для розведення сироваток при проведенні серологічних реакцій [Guide of Solid Phase Immunoassays / Rowell V., ed. - Nunc Brand Products - 1999. - 149 p.; Гураль А.Л. Серологічна діагностика ВІЛ-інфекції. Практичний посібник / Гураль А.Л., Іванська Н.В., Кислих О.М. та ін./ під ред. Гуралю А.Л. - К.: ДМП "Полімед". - 2004. - 58 с.].

Найближчим до корисної моделі, що заявляється, є спосіб діагностики ВІЛ-інфекції, згідно з яким в тест-системах для діагностики ВІЛ-інфекції як блокатор використовують сироватку великої рогатої худоби (ВРХ) [Інструкція по виготовленню тест-системи для діагностики ВІЛ-інфекції. НВК "Діапроф-Мед". - 2010].

Проте цей блокатор. Як і попередні аналоги, не завжди допомагає при наявності в сироватках, що досліджуються, перехресно реагуючих антитіл.

В основу корисної моделі поставлено задачу створення способу зняття неспецифічного зв'язування антитіл при серологічній діагностиці ВІЛ-інфекції та гепатиту С за допомогою зміни блокатора.

Поставлену задачу вирішують тим, що у способі зняття неспецифічного зв'язування антитіл при серологічній діагностиці ВІЛ-інфекції та гепатиту С шляхом використання блокатора, який додають у розчини для розведення сироваток при проведенні серологічних реакцій, згідно з корисною моделлю, як блокатор застосовують антитіла протибактеріальних мімікринів, що мають гомологічні амінокислотні послідовності з білками вірусів імунодефіциту людини та гепатиту С.

Спосіб дає можливість зняти неспецифічне зв'язування перехресно реагуючих антитіл шляхом використання блокатора з антитілами проти бактеріальних мімікринів, що мають гомологічні амінокислотні послідовності з білками ВІЛ і ВГС, і додавання цього блокатора в розчин для розведення сироваток.

Корисна модель пояснюється прикладами.

#### Приклад 1

Для отримання блокатора імунізували кролів внутрішньобульбарно мімікринами із *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium tuberculosis* і *Candida albicans*, які одержували з культурального середовища після культивування бактерій. Сироватку крові кроля тестували на наявність АТ до мімікринів імуноферментним методом. Титр анти-мімікринових АТ становив від 1:100 до 1:1000. Були проведені дослідження по зниженню зв'язування перехресно реагуючих АТ із хибно-позитивних сироваток (ХПС) з рекомбінантними білками ВІЛ за допомогою АТ з кролячих анти-мімікринових сироваток. В таблиці 1 наведено результати визначення таких досліджень за показниками оптичної густини (ОГ), отриманими при проведенні імуноферментного аналізу (ІФА).

Таблиця 1

Результати впливу анти-міміринових АТ на взаємодію АТ із ХПС з білками ВІЛ

Білки ВІЛ	Анти-ВІЛ АТ + сироватка ВРХ	Анти-ВІЛ АТ + анти-міміринові АТ з сироваток							
		1		2		3		4	
		ОГ	% нейтр	ОГ	% нейтр	ОГ	% нейтр	ОГ	% нейтр
Gp160	0,391	0,322	17,7	0,365	6,7	0,376	3,9	0,370	5,4
Env	1,442	1,003	30,5	0,654	54,7	0,504	35,0	1,045	27,5
Gag	1,463	0,985	32,7	0,823	43,8	0,735	49,5	1,296	11,4
Env+Gag	1,295	1,208	6,7	1,068	17,5	1,200	7,3	1,005	22,4
ОГ сер	1,013	0,709	24,3	0,572	36,0	0,485	41,8	0,622	37,4

Примітка. Сироватки: 1 - проти мімікрину із *Bacillus subtilis*, 2 - проти мімікрину із *Mycobacterium tuberculosis*, 3 - проти мімікрину із *Staphylococcus aureus* та 4 - проти мімікрину із *Candida albicans*.

% нейтр - відсоток нейтралізації перехресно реагуючих АТ.

За даними, наведеними в таблиці 1, анти-міміринові АТ частково знижують значення оптичної густини (ОГ) зразків, що свідчить про їхню взаємодію з антитілами із ХПС. Так, АТ з сироватки № 1 проти мімікрину з *Bacillus subtilis* знижує значення ОГ<sub>сер</sub> на 24,3 %, сироватки № 2 проти мімікрину із *Staphylococcus aureus* - на 36 %, сироватки № 3 проти мімікрину з *Mycobacterium tuberculosis* - на 41,8 % і сироватки № 4 проти мімікрину з *Candida albicans* - на 37,4 %. Це свідчить про те, що анти-міміринові антитіла здатні блокувати неспецифічне зв'язування антитіл із ХПС з білками ВІЛ.

Вплив анти-міміринових сироваток на зміну значень ОГ в ХПС від вагітних жінок наведено в таблиці 2.

Таблиця 2

Вплив анти-міміринових сироваток на значення ОГ ХПС  
від вагітних при діагностиці ВІЛ-інфекції

№ ХПС	Анти-ВІЛ**	Анти-ВІЛ АТ + анти-міміринова сироватка					
		№ 1		№ 2		№ 3	
		ОГ	% нейтр	ОГ	% нейтр	ОГ	% нейтр
38	0,407	0,283	31	0,135	67	0,133	67
41	1,871	0,142	92	0,160	91	0,115	94
56	0,820	0,187	77	0,073	91	0,142	83
64	1,802	0,200	89	0,111	94	0,143	92
81	0,717	0,206	72	0,230	68	1,250	-74
83	2,328	0,716	69	0,874	63	0,875	63
85	0,753	0,139	82	0,104	86	0,153	80
182	0,494	0,138	72	0,212	57	0,175	65
сер	1,149	0,251	78	0,237	79	0,373	68

Примітка. Сироватки: 1 - проти мімікрину із *Staphylococcus aureus*, сироватки № 2 - проти мімікрину із *Mycobacterium tuberculosis* і сироватки № 3 проти мімікрину із *Candida albicans*

\*\*Анти-ВІЛ - специфічна сироватка проти ВІЛ з додаванням сироватки ВРХ.

У більшості ХПС від вагітних відбувається зміна значень ОГ, що свідчить про їхню взаємодію з анти-міміриновими АТ (нейтралізація в середньому - 68-79 %).

Такі ж результати отримано при блокуванні перехресної взаємодії антитіл із ХПС від хворих на туберкульоз (таблиця 3).

Таблиця 3

Вплив анти-мімікринових АТ на значення ОГ ХПС від хворих на туберкульоз

№ ХПС	Анти-ВІЛ**	Анти-ВІЛ АТ+ анти-мімікринові сироватки*					
		№ 1		№ 2		№ 4	
		ОГ	% нейтр	ОГ	% нейтр	ОГ	% нейтр
2	0,195	0,158	19,0	0,132	32,4	0,125	35,9
5	0,375	0,223	40,6	0,198	47,2	0,167	55,5
7	0,315	0,228	27,7	0,156	50,5	0,147	53,4
10	0,422	0,242	42,7	0,180	57,4	0,150	64,5
12	0,247	0,160	35,3	0,098	40,3	0,057	77,0
20	0,765	0,378	50,4	0,221	71,2	0,162	78,9
21	0,315	0,124	40,7	0,167	47,0	0,135	57,2
сер	0,376	0,216	42,6	0,164	56,4	0,135	64,1

Примітка. \*Сироватки: 1 - проти мімікрину із *Staphylococcus aureus*, сироватки № 2 - проти мімікрину із *Mycobacterium tuberculosis* і сироватки № 3 проти мімікрину із *Candida albicans*

\*\*Анти-ВІЛ - специфічна сироватка проти ВІЛ

За результатами досліджень, представлених в таблиці 3, показник блокування перехресної взаємодії антитіл, що взаємодіють з білками ВІЛ в сироватках від хворих на туберкульоз, становив від 42,6 до 64,1 %. У той же час значення ОГ для ВІЛ-позитивної сироватки № 3 при внесенні цих антитіл збільшувались з 0,991 до 2,0 оптичних одиниць (о.о.)

Приклад 2.

Вплив анти-мімікринових АТ на перехресно реагуючі АТ в ХПС при діагностиці гепатиту С наведено в таблиці 4.

Таблиця 4

Вплив анти-мімікринових сироваток на значення ОГ ХПС від вагітних при діагностиці гепатиту С

№ ХПС	Анти-ВГС**	Анти-ВГС АТ + анти-мімікринова сироватка*					
		№ 1		№ 2		№ 3	
		ОГ	% нейтр	ОГ	% нейтр	ОГ	% нейтр
1	0,623	0,183	70,7	0,235	62,3	0,133	67
2	0,842	0,164	80,5	0,196	76,7	0,115	94
3	0,423	0,107	74,7	0,173	59,1	0,142	83
4	1,322	0,200	84,9	0,162	98,0	0,143	92
5	0,711	0,145	79,6	0,230	67,7	1,250	-74
6	0,328	0,116	64,6	0,174	47,0	0,875	63
7	0,453	0,139	69,4	0,154	66,1	0,153	80
8	0,794	0,238	71,1	0,112	85,9	0,175	65
сер	0,687	0,161	74,4	0,176	79	0,373	68

Примітка. \*Сироватки: 1 - проти мімікрину із *Staphylococcus aureus*, № 2 - проти мімікрину із *Mycobacterium tuberculosis* і № 3 проти мімікрину із *Candida albicans*

\*\* Специфічна сироватка проти вірусу гепатиту С (ВГС) з додаванням сироватки ВРХ

За результатами досліджень, представлених в таблиці 4, показник блокування перехресної взаємодії АТ, що взаємодіють з білками ВГС в сироватках від вагітних, становив від 68 до 79 %.

Таким чином, "неспецифічну" взаємодію АТ в ХПС частково можливо знижувати за допомогою блокування сайтів зв'язування додаванням до досліджуваних сироваток анти-мімікринових АТ.

## ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 5 Спосіб зняття неспецифічного зв'язування антитіл при серологічній діагностиці ВІЛ-інфекції та гепатиту С шляхом використання блокатора, що додають у розчини для розведення сироваток при проведенні серологічних реакцій, який **відрізняється** тим, що як блокатор застосовують антитіла протибактеріальних мімікринів, які мають гомологічні амінокислотні послідовності з білками вірусів імунодефіциту людини та гепатиту С.

---

Комп'ютерна верстка М. Ломалова

---

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

---

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