



УКРАЇНА

(19) UA (11) 14747 (13) A

(51)6 A 61 K 39/21; C 01 N 35/15;  
C 12 N 7/00; C 12 Q 1/00ДЕРЖАВНЕ  
ПАТЕНТНЕ  
ВІДОМСТВООПИС ДО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДбез проведення експертизи по суті  
на підставі Постанови Верховної Ради України  
№ 3769-XII від 23.XII 1993 рПублікується  
в редакції заявника

(54) ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ АНТИТІЛ ПРОТИ ВІРУСУ ГЕПАТИТУ С (ІФА-НСV)

1

(21) 96124983  
(22) 30.12.96  
(24) 04.02.97  
(46) 30.06.97. Бюл. № 3  
(47) 04.02.97  
(56) 1. Списание до системи: Monolisa anti HCV, "Detection kit for antibodies to HCV (hepatitis C virus or related variants) in human serum by enzyme immunoassay", 1995.

2. Инструкция по применению набора диагностического для выявления антител к гепатиту С. Научно-производственное объединение "Диагностические системы".

3. Михайлов А.Т., Смирский З.И. Методы иммунохимического анализа в биологии развития. М., "Наука", 1981.

(72) Мартиненко Дмитро Леонідович, Чумак Ростислав Максимович, Іванська Наїля Валіївна, Гураль Анатолій Леонтійович, Щербінська Ала Михайлівна, Марієвський Віктор Федорович, Троянський Василь Ва-

2

сильович, Співак Микола Якович, Славський Василь Петрович, Лященко Руслан Петрович, Шевчук Олександр Анатолійович, Черепанов Пьотр А.іексеевіч (RU), Міхайлова Татьяна Гавріловна (RU)

(73) Акціонерне товариство закритого типу науково-виробнича компанія "Діапроф Мед" (UA)

(57) Тест-система для виявлення антитіл проти вірусів гепатиту С, яка включає імуносорбент, контрольні позитивні і негативні імунореагенти, кон'югат ферментний з пероксидазою, хромоген-ортометиленамін, гідроперит, промиваючий та розбавляючий розчини, яка відрізняється тим, що включає рекомбінантні поліпептиди білка рCore та NS4-PCore – аналоги антигенів вірусу гепатиту С використанням імуносорбенту для імунологічних реакцій з фіксованими аналогами рекомбінантних антигенів рNS4, рCore.

Винахід відноситься до галузі медицини, а точніше, вірусології і може використовуватись для проведення імунологічних досліджень, діагностичних аналізів інфікованості окремих людей та скринінгових досліджень груп населення на інфікованість вірусом гепатиту С.

Відома тест-система [1] для проведення імуноферментного виявлення антитіл (АТ) проти вірусу гепатиту С в сироватках чи плазмі людей. В основі тест-системи лежать

рекомбінантні протеїни – аналоги антигенів рNS4, рNS3, рCore з імунодомінантними епітопами, що реагують з антитілами проти цього вірусу. Вітчизняною промисловістю такі рекомбінантні протеїни не випускаються.

Відома тест-система для імуноферментного виявлення АТ [2] на основі рекомбінантних поліпептидів, фіксованих на твердій фазі – поверхні лунок полістиролових планшет. Для промислового

(19) UA (11) 14747 (13) A

виробництва потрібно закупати велику кількість дорогих препаратів цих рекомбінантних поліпептидів за кордоном.

В основу винаходу поставлено завдання – створити імуноферментну тест-систему на основі нових рекомбінантних поліпептидів аналогів рNS4, рCore I за рахунок цього забезпечити виявлення антитіл проти вірусу, не зменшуючи надійність та специфічність систем. Поставлене завдання вирішують шляхом використання в імуноферментній системі аналогів злитного поліпептиду рNS4-рCore, фіксованих в лунках полістеролових чи поліхлорвінілових планшетів для імуноаналізу.

**П р и к л а д 1.** Визначення антитіл до антигенів вірусу гепатиту С в сироватці крові пацієнта К.

Визначення проводять по відомій методиці [3] імунодефіцитного аналізу (ІФА). Для цього сироватку крові пацієнта розводять фосфорно-натрієвим буфером у співвідношенні 1:10. Планшет-імуносорбент з фіксованими аналогами антигенів рNS4, рCore двічі промивають, вносять в лунки по 50 мкл розчину для розведення сироваток та 10 мкл сироватки. У 3 вільні лунки планшета вносять по 50 мкл розчину та по 50 мкл негативного контролю, в 3 інші лунки вносять 100 мкл позитивного контролю, а дві вільні лунки залишають контрольними. Планшет витримують 40 хв при 37°C, потім 4 рази промивають, висушують, вносять в лунки по 100 мкл кон'югату. Інкують планшет у повітряному термостаті 30 хв при 37°C, знову промивають 6 разів і висушують. Потім вносять в усі лунки проявник з хромогеном-ортофеніллендіаміном (ОФД) та гідроперитом, витримують 30 хв при кімнатній температурі в темному місці, зупи-

няють пероксидазну реакцію внесенням в усі лунки по 50 мкл розчину сірчаної кислоти і не більш ніж через 1 хв вимірюють оптичну щільність (ОЩ) при довжині 492 нм. Величина ОЩ в цьому діапазоні світла пропорційна концентрації антитіл до вірусу гепатиту С у зразках сироватки чи плазми. Сироватку пацієнта для порівняння досліджували на вміст антитіл до вірусу гепатиту С відомими тест-системами фірми Sanofy Diagnostic Pasteur (Франція) і науково-виробничого об'єднання "Диагностические системы" (Н. Новгород).

Дослідження тест-системами сироватки пацієнта ідентифіковані як позитивні на вміст антитіл проти антигенів вірусу гепатиту С.

**П р и к л а д 2.** Визначення надійності та специфічності запропонованої тест-системи.

Досліджують сироватки із станції переливання крові 11 інфікованих і 11 негативних сироваток тест-системами. Усі сироватки досліджувались в 4-х повторях кожною тест-системою по описаній методиці. Дослідження тест-системами 11 інфікованих сироваток дало позитивний результат на наявність в них антитіл проти антигенів вірусу гепатиту С при 100% відтворенні результатів, а також негативні результати досліджень 11 негативних сироваток при 100% відтворенні. У 1 пацієнта була відмічена розбіжність з результатами, отриманими на тест-системі виробництва "Диагностические системы", яка дала 10 позитивних результатів на сироватках інфікованих пацієнтів.

Таким чином, запропонована тест-система забезпечує виявлення антитіл проти антигенів гепатиту С, має високу специфічність, надійна у використанні.

Упорядник

Техред М.Моргентал

Коректор О. Кравцова

Замовлення 4149

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України,  
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл., 8

Відкрите акціонерне товариство "Патент", м. Ужгород, вул.Гагаріна, 101