



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **95219** (13) **U**
(51) МПК (2014.01)
A61B 10/00
G01N 33/48 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2014 07838**
(22) Дата подання заявки: **11.07.2014**
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **10.12.2014**
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **10.12.2014, Бюл.№ 23**

(72) Винахідник(и):
Мартиненко Сергій Іванович (UA),
Лобинцева Галина Степанівна (UA),
Шаблій Володимир Анатолійович (UA),
Задорожна Вікторія Іванівна (UA),
В'ялих Жанна Едуардівна (UA),
Бойко Оксана Іванівна (UA),
Безкоровайна Лілія Володимирівна (UA),
Вихристюк Ірина Олександрівна (UA),
Ціленко Лариса Миколаївна (UA),
Покас Олена Вікторівна (UA),
Приходько Тетяна Олександрівна (UA)
(73) Власник(и):
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ
ЕПІДЕМІОЛОГІЇ ТА ІНФЕКЦІЙНИХ
ХВОРОБ ІМ. Л.В. ГРОМАШЕВСЬКОГО
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ
НАУК УКРАЇНИ",
вул. М. Амосова, 5, м. Київ, 03680 (UA),
ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ "ІНСТИТУТ
КЛІТИННОЇ ТЕРАПІЇ",
вул. Комарова, 3, м. Київ, 03148 (UA)

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ ЗРАЗКІВ ТКАНИНИ ПЛАЦЕНТИ ДЛЯ ПОДАЛЬШОЇ ДІАГНОСТИКИ ДНК ЗБУДНИКІВ УРОГЕНІТАЛЬНИХ ІНФЕКЦІЙ МЕТОДОМ ПОЛІМЕРАЗНО-ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ

(57) Реферат:

Спосіб отримання зразків тканини плаценти для подальшої діагностики ДНК збудників уrogenітальних інфекцій включає відбір зразка для досліджень. При цьому знімають амніотичну оболонку з плаценти з декількох місць, по всій поверхні якої роблять зскрібок та вміщують отриманий зразок в пробірку ємністю 2 мл, що містить 0,75 мл фармакопейного стерильного 0,9 % розчину натрію хлориду.

UA 95219 U

Корисна модель належить до біотехнології, медицини, а саме до трансплантології, і може використовуватися з метою отримання зразків тканини плаценти в банках пуповинної крові, інших тканин і клітин людини для дослідження цих зразків методом полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) на наявність ДНК збудників уrogenітальних інфекцій.

Відомий спосіб отримання зразків тканини плаценти [1], що включає відбір зразка для досліджень, за яким плаценту отримують після нормальних термінових пологів або кесаревого розтину у породіль після фізіологічної вагітності. Плаценту заздалегідь охолоджують до температури +4 - +10 °С, яку підтримують постійно, потім відмивають стерильним фізіологічним розчином, після чого здійснюють гомогенізацію на гомогенізаторі типу "РТ-1" з доданням багатокомпонентного сольового розчину з рН, близькою до нейтральної (розчин "Квартасоль").

Недоліком такого способу є його складність та мала інформативність отриманих зразків при подальшому дослідженні їх на наявність ДНК уrogenітальних інфекцій (*Chlamidia trachomatis*, *Ureaplasma* sp., *Mycoplasma genitalium*).

В основу корисної моделі поставлена задача створити новий спосіб отримання зразків тканини плаценти для забезпечення отримання найбільш інформативного результату ПЛР, а також спрощення процесу отримання зразка для дослідження.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб отримання зразків тканини плаценти для подальшої діагностики ДНК збудників уrogenітальних інфекцій включає відбір зразка для досліджень. Новим є те, що знімають амніотичну оболонку з плаценти з декількох місць, по всій поверхні якої роблять зскрібки та вміщують отриманий зразок в пробірку ємністю 2 мл, що містить 0,75 мл фармакопейного стерильного 0,9 % розчину натрію хлориду.

Технічним результатом є спрощення процедури відбору зразків для подальшого ПЛР дослідження на наявність ДНК уrogenітальних інфекцій. Для зразку відбирають не гомогенат плаценти, а зскрібок амніотичної оболонки, яка є бар'єром для проникнення збудників уrogenітальних інфекцій. Реалізація способу потребує меншої кількості компонентів та меншої кількості дій. Отримані зразки плацент є найбільш інформативним матеріалом для виявлення ДНК *Ureaplasma* spp. і інших збудників уrogenітальних інфекцій. Процес приготування такого зразку заснований на застосуванні традиційного обладнання та реактивів.

Приклад 1

В ламінарному боксі за допомогою стерильного пінцету та стерильних ножиць знімають амніотичну оболонку з плаценти. За допомогою стерильного шпателя знімають зскрібок з амніотичної оболонки плаценти з декількох місць по всій поверхні та вміщують його в стерильну підписану пробірку ємністю 2 мл, що містить 0,75 мл фармакопейного стерильного 0,9 % розчину натрію хлориду для передачі в ПЛР - лабораторію для визначення ДНК збудників уrogenітальних інфекцій.

Визначення ефективності корисної моделі.

Всього досліджували 495 плацент. Плаценту отримували після пологів (фізіологічних або кесаревого розтину) на 39-41 тижні вагітності за інформативної згоди породіль. З плацент готували зразки для дослідження: 1) ГП - гомогенат плаценти, звільнений від оболонок, 2) ЗА - зскрібок амніотичної оболонки. Дослідження проводили методом полімеразно-ланцюгової реакції з гібридизаційно-флюоресцентною детекцією в режимі реального часу на термоциклері Rotor Gene 6000 (Corbett Research, Австралія). Для виділення нуклеїнових кислот з біологічного матеріалу з подальшим проведенням ПЛР використовували тест-набори Рибо-Преп і "АмпліСенс *C.trachomatis* / *Ureaplasma* / *M.genitalium* - Мультипрайм – FI " (ФГУН ЦНДІ епідеміології Росспоживнагляду, РФ).

Експериментальні дані оброблялися загальноприйнятими методами варіаційної статистики. Розрахунки проводили з використанням програмного забезпечення "Microsoft Office Excel". Порівняння середніх і відносних величин здійснювали, використовуючи t-критерій Стюдента. Відмінності вважали достовірними при $p < 0,01$ і $< 0,05$.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що в 17,58 % (n=495) була виявлена *Ureaplasma* spp. (видів *Parvum* і *Urealyticum*), в 0,40 % (n=495) - *Chlamidia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium* не була виявлена в жодному із зразків плацент.

Кількість ГП, позитивних по ДНК *Ureaplasma* spp. становив $6,97 \pm 1,25$ % (n=416). В ЗА ДНК цього мікроорганізму було виявлено - в $15,42 \pm 1,63$ % (n=493) випадків, що достовірно частіше, ніж в ГП ($p < 0,01$).

Встановлено, що з досліджуваних зразків плацент найбільш інформативним матеріалом для виявлення ДНК *Ureaplasma* spp. і інших уrogenітальних інфекцій є зскрібок амніотичної оболонки в порівнянні з гомогенатом плаценти, звільненим від оболонок.

Джерело інформації:

1. Спосіб отримання препарату з плаценти. Деклараційний патент на винахід UA 54249, дата подання заявки: 21.06.2002, дата публікації: 17.02.2003 р., № бюлетеня: 2.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

5

Спосіб отримання зразків тканини плаценти для подальшої діагностики ДНК збудників уrogenітальних інфекцій, що включає відбір зразка для досліджень, який **відрізняється** тим, що знімають амніотичну оболонку з плаценти з декількох місць, по всій поверхні якої роблять зскрібок та вміщують отриманий зразок в пробірку ємністю 2 мл, що містить 0,75 мл фармакопейного стерильного 0,9 % розчину натрію хлориду.

10

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

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