



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **29409** (13) **U**  
(51) МПК (2006)  
G01N 33/50МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ**ОПИС**  
**ДО ПАТЕНТУ**  
**НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**видається під  
відповідальність  
власника  
патенту**(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ІНФЕКЦІЇ СТАФІЛОКОКОВОЇ ЕТІОЛОГІЇ**

1

(21) u200710710

(22) 28.09.2007

(24) 10.01.2008

(72) ПОЗУР ВОЛОДИМИР КОСТЯНТИНОВИЧ, UA,  
СЕНЧИЛО НАТАЛІЯ ВАСИЛІВНА, UA,  
ОСТАПЧЕНКО ЛЮДМИЛА ІВАНІВНА, UA, СКІВКА  
ЛАРИСА МИХАЙЛІВНА, UA, ПОЗУР ВАЛЕНТИНА  
ВОЛОДИМИРІВНА, UA, ГРИЦЕНКО ЛЮДМИЛА  
МИХАЙЛІВНА, UA, ВОРОБІЙОВА ГАННА  
МИХАЙЛІВНА, UA(73) КІЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, UA

2

(56)

(57) Спосіб діагностики інфекції стафілокової етіології, що включає дослідження сироватки крові хворого з використанням антигену стафілококів, який **відрізняється** тим, що як антиген використовують клітинні стінки *Staphylococcus aureus* штаму Wood-46, які адсорбують на тверду фазу, вносять досліджувану сироватку крові, проводять імуноферментний аналіз, вимірюють оптичну густину одержаного розчину і визначають титр специфічних антитіл, за значенням якого діагностують інфекцію стафілокової етіології.

Корисна модель відноситься до галузі медицини та імунології, зокрема, до імунохімічних методів діагностики інфекційних хвороб стафілокової етіології.

В цій галузі прийнято використовувати такі терміни і скорочення:

БСА - бичачий сироватковий альбумін

ІФА - імуноферментний аналіз

ОФД - ортофенілендіамін

ТФБ - твін-фосфатний буфер

ТК - тейхоева кислота

КС - клітинна стінка

Відомий спосіб діагностики захворювань стафілокової етіології, такий як висів гнійного ексудату на поживне середовище, з подальшим інкубуванням та ідентифікацією виділених мікроорганізмів, що займає кілька днів і є достатньо трудомістким [Кузьминский С.Н., Знаменский В.А., Чайковская В.Л., и др. Идентификация коагулазоотрицательных стафилококков при ведении диагностических исследований // Лабор. дело, - 1981, №8, - с.498-501].

Відомий спосіб діагностики з використанням корпускул стафілока та сироватки хворих, який здійснюється за допомогою реакції аглютинації [Тимофеева Г.А., Кротова Т.А., Смирнова А.И. и др. Применение антистафилококкового гамма-глобулина, антистафилококковой плазмы и иммунной крови доноров в комплексной терапии стафилококковой инфекции у детей первого года

жизни // Педиатрия. - 1978. №10. - с.18-22]. Недоліком способу є тривалий час проведення реакції аглютинації, протягом 18-24 годин, крім того, вона лише орієнтовно може дати відповідь про наявність стафілокової інфекції і потребує подальшого підтвердження іншими методами.

Більш близьким до запропонованої корисної моделі є спосіб серологічної діагностики інфекцій стафілокової етіології [Опис до патенту України №56125, МПК<sup>7</sup> G01N33/50, 2005], що включає дослідження сироватки крові хворого з використанням антигена стафілококів. Спосіб передбачає наступне: сироватку змішують з 0,01% розчином пептидоглікану *Staphylococcus aureus* у співвідношенні 1:1, інкубують при 37°C-40°C 15-30 хвилин, додають 10%-ну суспензію клітин *Staphylococcus aureus* штаму Wood-46 у співвідношенні 1:1, інкубують при 37°C-40°C 15-30 хвилин, осаджують центрифугуванням, а надосадову рідину відділяють, змішують у кількості 0,02-0,05мл з 0,02-0,05мл стафілокового реагенту, що являє собою підготовлену суспензію стафілококу штаму Cowan-1, яка містить протеїн А, та проводять облік реакції.

Недоліком цього способу є невисока точність діагностики через можливість перехресних реакцій між пептидогліканами різних видів бактерій, що в деякій мірі обмежує використання пептидоглікану в серологічних методах досліджень, а також низька

(19) **UA** (11) **29409** (13) **U**

інформативність, яка дає лише візуальну оцінку і не дає кількісної характеристики антитіл.

В основу корисної моделі поставлена задача створити спосіб діагностики інфекції стафілокової етіології, шляхом виявлення специфічних антитіл до клітинних стінок *Staphylococcus aureus* Wood 46, який би забезпечив можливість діагностики інфекції стафілокової етіології і мав би високу точність за рахунок використання клітинних стінок стафілокока, в якості антигена, в тест-системі на основі імуноферментного аналізу.

Поставлене завдання вирішується тим, що в способі діагностики інфекції стафілокової етіології, який включає дослідження сироватки крові хворого з використанням антигена стафілококів, згідно корисної моделі, в якості антигена використовують клітинні стінки *Staphylococcus aureus* штаму Wood 46, які адсорбують на тверду фазу, вносять досліджувану сироватку крові, проводять імуноферментний аналіз, вимірюють оптичну густину одержаного розчину і визначають титр специфічних антитіл, за значенням якого діагностують інфекцію стафілокової етіології.

Досліджено 90 зразків сироваток крові хворих на гайморит, отит та ендокардит стафілокової етіології, та 30 контрольних сироваток. Етіологію захворювання встановлено на основі клінічних спостережень, даних анамнезу і підтверджено виділенням *Staphylococcus aureus* з урахуванням його патогенних властивостей.

Приклад конкретного використання:

У лунки планшета вносили клітинні стінки та інкубували в термостаті протягом 30 хвилин, при температурі 37°C, додавали розчин бичачого сироваткового альбуміну, інкубували протягом 30 хвилин при температурі 37°C, після кожної інкубації планшети відмивали розчином твіну - 20 при перемішуванні, вносили досліджувані сироватки крові, розведені у твін-фосфатному буфері, інкубували впродовж 30 хвилин при температурі 37°C, планшети відмивали в описаному вище режимі, вносили антитіла проти імуноглобулінів людини, мічені пероксидазою хрину у робочому розведенні 1:800 (в ТФБ), планшети інкубували протягом години при 37°C, відмивали чотири рази розчином твіну-20 в 3ФР, для проявлення реакції в лунки планшета вносили розчин хромоген-субстрата, що містить ортофенілендіамін і перекис водню, зупиняли реакцію внесенням двох-молярної сірчаної кислоти в лунки планшета, вимірювали оптичну густину одержаного розчину, визначали титр специфічних антитіл, який порівнювали з контрольними показниками. Час проведення реакції становив 2,5-3 години.

Дослідження показали, що спосіб діагностики, з використанням клітинних стінок *Staphylococcus aureus* штаму Wood-46 в тест-системі на основі імуноферментного аналізу, які виступають в ролі специфічного діагностикума, забезпечує високу точність діагностики.

Спосіб діагностики інфекції стафілокової етіології, що патентується, дозволяє здійснити його

технічно простими засобами, не потребує особливого обладнання і може бути здійснений на існуючому обладнанні.