



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **69573**

(13) **U**

(51) МПК

**G01N 33/50** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2011 07064**

(22) Дата подання заявки: **06.06.2011**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **10.05.2012**

(46) Публікація відомостей **10.05.2012, Бюл.№ 9**  
про видачу патенту:

(72) Винахідник(и):

**Павляк Андрій Ярославович (UA),  
Ткачук Олег Любомирович (UA),  
Марків Галина Дмитрівна (UA)**

(73) Власник(и):

**Павляк Андрій Ярославович,  
вул. Курінного Чорноти, 2, корп. 3, кв. 24, м.  
Івано-Франківськ, 76000 (UA),  
Ткачук Олег Любомирович,  
вул. Набережна, 26, кв. 6, м. Івано-  
Франківськ, 76019 (UA),  
Марків Галина Дмитрівна,  
вул. Б. Хмельницького, 51/б, кв. 8, м. Івано-  
Франківськ, 76000 (UA)**

**(54) СПОСІБ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ РІВНЯ ЕНДОТОКСИКОЗУ У ХВОРИХ З  
РОЗПОВСЮДЖЕНИМ ГНІЙНИМ ПЕРИТОНІТОМ**

(57) Реферат:

Спосіб кількісного визначення рівня ендотоксикозу у хворих з розповсюдженим гнійним перитонітом включає постановку, реєстрацію і оцінку реакцій клітинної тест-системи на токсичні чинники внутрішнього середовища організму. Кількісне визначення рівня ендотоксикозу проводять за допомогою методу LAL.

**UA 69573 U**



Корисна модель належить до медицини, а саме до хірургії при клініко-біохімічному методі дослідження і може бути використана в клінічній практиці для кількісного визначення ендотоксикозу у хворих з розповсюдженим гнійним перитонітом.

Синдром ендогенної інтоксикації розглядають як основний патогенетичний фактор розвитку поліорганної недостатності при розповсюдженному гнійному перитоніті, смертність від якого коливається від 40 до 84 %.

Відомий спосіб визначення ендотоксикозу, який включає постановку реакції клітинної тест-системи на токсини внутрішнього середовища організму, які полягають в інкубації клітин парамецію, лейкоцитів, та інших тест-систем, та наступному дослідженні специфічних реакцій клітин. При збільшенні в рідинах організму токсичних субстанцій відповідно змінювалися прояви клітинних реакцій, на основі чого робилися висновки про рівень ендотоксикозу [Способ определения токсичности сыворотки крови, А.С. № 1476382, 1989 р.].

Недоліком відомого способу є недостатній рівень технологічності, оскільки методика його виконання пов'язана з необхідністю інвазивного взяття рідкого субстрату внутрішнього середовища організму для дослідження, наприклад, сироватки крові або інтерстиціальної рідини (лімфи).

Найбільш близьким до корисної моделі, що заявляється, є спосіб визначення ендотоксикозу, який включає постановку, реєстрацію і оцінку реакцій клітинної тест-системи на токсичні чинники внутрішнього середовища організму. При цьому клітинні тест-системи інкубують із змивом поту з поверхні шкіри [Способ визначення ендотоксикозу, патент України на корисну модель № 42934, Бюл. № 10, 2004 р.].

Даний спосіб полягає в тому, що тест-систему отримують протиранням попередньо зволоженим дистильованою водою стерильним марлевым тампоном шкірної поверхні тіла з площі 30-40 см, а з просоченого тампону змив поту відтискають у мікропробірку, після чого на предметне скло послідовно вносять 0,020-0,050 мл клітинної тест-системи і вигляді суспензії клітин, наприклад лейкоцитів або інфузорій парамецій, змішують із рівним об'ємом змиву поту і, залежно від виду внесеної клітинної тест-системи, досліджують реакцію її на токсичні компоненти поту у полі зору люмінесцентного або світлового мікроскопа.

Проте даний спосіб не є кількісним методом визначення ендотоксикозу і має недостатню чутливість і специфічність при діагностиці ендогенної інтоксикації у хворих з розповсюдженим гнійним перитонітом.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб специфічного кількісного визначення рівня ендотоксикозу саме у хворих з розповсюдженим гнійним перитонітом, для подальшого визначення тактики лікування таких хворих шляхом використання Hbt LAL-тесту (Лізат амебоцитів Limulus) хромогенного методу визначення ендотоксину по кінцевій точці забезпечити адекватну оцінку тяжкості стану хворого за кількісним визначенням рівня ендотоксикозу при розлитому гнійному перитоніті і прогнозувати летальність.

Поставлена задача корисної моделі вирішується тим, що спосіб кількісного визначення рівня ендотоксикозу у хворих з розповсюдженим гнійним перитонітом, який включає постановку, реєстрацію і оцінку реакцій клітинної тест-системи на токсичні чинники внутрішнього середовища організму, при цьому, згідно з корисною моделлю, кількісне визначення рівня ендотоксикозу у хворих з розповсюдженим гнійним перитонітом проводять за допомогою методу LAL (Лізат амебоцитів Limulus) хромогенного методу визначення ендотоксину по кінцевій точці з діапазоном вимірюваних концентрацій від 0,01 до 10 МЕО/мл і порогом чутливості 0,01 МЕО/мл.

В основі даного способу лежить той факт, що ендотоксин викликає помутніння і загущення LAL, бактерії викликають внутрішньосудинну коагуляцію в американського рачка-мечохвоста (Limulus polyphemus). Речовина, яка відповідає за згортання, постійно присутня в амебоцитах мечохвоста або в циркулюючих клітинах крові. Цей процес базується на ензиматичній реакції. Бактеріальний ендотоксин ензиматично викликає помутніння і гелеутворення. В присутності безбарвного субстрату, ензиматична реакція призводить до жовтого зафарбування у міру розщеплення хромофора, р-нітроаніліну (pNA). Реакція зупиняється при додаванні оцтової кислоти і абсорбція при довжині хвилі 405 нм вимірюється з допомогою спектрофотометра. Концентрація ендотоксину в зразку з невідомою концентрацією, який тестується одночасно зі стандартами, може бути визначена з калібровочної кривої. Метод призначений для кількісного визначення ендотоксину в плазмі, сироватці і інших розчинах. Поріг чутливості становить 0,01 МЕО/мл. Діапазон вимірюваних концентрацій від 0,01 до 10 МЕО/мл.

Нами обстежено 50 хворих віком від 23 до 84 років, із них 29 жінок і 21 чоловік з розлитим гнійним перитонітом, які знаходилися на стаціонарному лікуванні в хірургічному відділенні ЦМКЛ і ОКЛ м. Івано-Франківська за період грудень 2009 р. по квітень 2011 р. У всіх хворих були

симптоми ендогенної абдомінальної інтоксикації і системної запальної відповіді. Хворі відповідно до класифікації ССЗР поділені на 3 групи. До 1-ої групи увійшли 26 (52 %) хворих з абдомінальним сепсисом, до 2-ої групи увійшли 15 (30 %) хворих з проявами "тяжкого" абдомінального сепсису і до 3-ої групи віднесено 9 (18 %) хворих з септичним шоком і поліорганною недостатністю.

Всім хворим проводили визначення кількісного рівня ендотоксикозу шляхом LAL-тесту в першу добу післяопераційного періоду і визначали важкість стану за шкалою APACHE II в модифікації А.П. Радзиховського на основі комплексу клінічних і лабораторних даних. Наслідок захворювання оцінювали по госпітальній летальності: 32 хворих одужали, а 18 хворих померли.

Визначення чутливості і специфічності вихідного рівня показників LAL-тесту і шкали APACHE II проводили за допомогою ROC-аналізу (Receiver Operating Characteristic analysis). Різницю між середніми значеннями LAL-тесту і шкали APACHE II між групами хворих визначали за непараметричним U-тестом Манна-Уїтні, кореляційні зв'язки між показниками LAL-тесту, шкали APACHE II і наслідком захворювання (ті, що одужали - 0, померлі - 1) визначали методом Спірмена.

Отримані результати свідчать про високу чутливість і специфічність показників LAL-тесту в діагностиці ендотоксикозу ( $ROC\ AUC=0,917$ ), середні показники LAL-тесту між групою померлих і тими, які одужали, за даними U-тесту показують статистично достовірну різницю ( $p<0,0001$ ). Коефіцієнт рангової кореляції Спірмена між показниками LAL-тесту і наслідком захворювання вказує на сильний кореляційний зв'язок  $R_s=0,70(p<0,0001)$ .

Різниця середніх показників LAL-тесту між досліджуваними групами хворих теж є статистично достовірною: між 1-ю і 2-ю групами ( $p=0,0001$ ), між 2-ю і 3-ю групами ( $p=0,0008$ ). Також спостерігаються сильні кореляційні зв'язки між показниками LAL-тесту і показниками шкали APACHE II ( $R_s=0,96\ p<0,0001$ ). Діагностична значимість APACHE II за даними ROC  $AUC=0,871$ .

Отже, LAL-тест є високо специфічним і чутливим кількісним методом визначення ендотоксикозу у хворих з розлитим гнійним перитонітом. Виявлена сильна кореляційна залежність між показниками LAL-тесту і тяжкістю стану хворого.

Корисна модель забезпечує адекватно оцінювати тяжкість стану хворого за кількісним визначенням рівня ендотоксикозу при розлитому гнійному перитоніті і прогнозувати летальність.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб кількісного визначення рівня ендотоксикозу у хворих з розповсюдженим гнійним перитонітом, який включає постановку, реєстрацію і оцінку реакцій клітинної тест-системи на токсичні чинники внутрішнього середовища організму, який **відрізняється** тим, що кількісне визначення рівня ендотоксикозу у хворих з розповсюдженим гнійним перитонітом проводиться за допомогою методу LAL (Лізат амебоцитів Limulus) хромогенного методу визначення ендотоксину по кінцевій точці з діапазоном вимірюваних концентрацій від 0,01 до 10 МЕО/мл і порогом чутливості 0,01 МЕО/мл.

---

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

---

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