



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **83155** (13) **U**  
(51) МПК (2013.01)  
**A61B 5/00**  
**G01N 33/49** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2013 03375**  
(22) Дата подання заявки: **19.03.2013**  
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **27.08.2013**  
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **27.08.2013, Бюл.№ 16**

(72) Винахідник(и):  
**Соловей Юрій Миколайович (UA),**  
**Польовий Віктор Павлович (UA),**  
**Мігайчук Манолій Михайлович (UA),**  
**Каратєєва Світлана Юрїївна (UA),**  
**Андрущак Андрій Васильович (UA),**  
**Нурдінов Хайруло Нізімідінович (UA),**  
**Соловей Валентина Манолїївна (UA)**  
(73) Власник(и):  
**Соловей Юрій Миколайович,**  
вул. Івана Франка, 4, с. Кам'яна,  
Сторожинецький р-н, Чернівецька обл.,  
59050 (UA),  
**Польовий Віктор Павлович,**  
вул. Фастівська, 2, м. Чернівці, 58000 (UA),  
**Мігайчук Манолій Михайлович,**  
вул. Фастівська, 2, м. Чернівці, 58000 (UA),  
**Каратєєва Світлана Юрїївна,**  
вул. Фастівська, 2, м. Чернівці, 58000 (UA),  
**Андрущак Андрій Васильович,**  
вул. Головна, 137, м. Чернівці, 58000 (UA),  
**Нурдінов Хайруло Нізімідінович,**  
вул. Фастівська, 2, м. Чернівці, 58000 (UA),  
**Соловей Валентина Манолїївна,**  
вул. Івана Франка, 4, с. Кам'яна,  
Сторожинецький р-н, Чернівецька обл.,  
59050 (UA)

## (54) СПОСІБ ФОТОМЕТРИЧНО-БІОСЕНСОРНОГО ВИЗНАЧЕННЯ РІВНЯ ЕНДОТОКСИКОЗУ ПРИ ПЕРИТОНІТІ

### (57) Реферат:

Спосіб фотометрично-біосенсорного визначення рівня ендотоксикозу при перитоніті включає визначення рівня едотоксикозу шляхом застосування біосенсора (одноклітинної водорості *Dunaliella viridis*). Проводять визначення оптичної густини стандартизованої зависі одноклітинної водорості *Dunaliella viridis* в сироватці венозної крові хворих на перитоніт при довжині хвилі  $\lambda=492$ .

UA 83155 U



Корисна модель належить до медицини, а саме до хірургії, та може бути використана, як діагностика ендотоксикозу при перитоніті в практичній діяльності хірурга.

Відомо, що для патогенезу гострого перитоніту, характерні три провідних синдроми: синдром ендогенної інтоксикації або ендотоксикоз, вторинного імунodefіциту та поліорганної недостатності (Бойко В.В., Криворучко І.А., и др. Распространенный гнойный перитонит: Монография. - Х.: Прапор, 2008.-280 с.). Якщо останніх два синдроми проявляються при вираженій клінічній картині, то синдром ендогенної інтоксикації виникає вже на початкових етапах розвитку гострого гнійного перитоніту, ініціює розвиток двох інших та є, згідно з даними різних авторів, причиною смерті в 42-58 % випадків (В.Г. Иванов. Лабораторная диагностика эндогенной интоксикации в клинической практике: Ученное пособие. - Ижевск. 2006.-36 с.).

Таким чином, проблема діагностики ендогенної інтоксикації та ступеня важкості його перебігу залишається на сьогоднішній день актуальною, оскільки саме вона визначає перебіг, прогноз та результати лікування перитоніту.

Як найближчий аналог вибраний спосіб експрес-діагностики стану компенсаторно-захисних сил організму на ендотоксикоз при перитоніті (Пат на корисну модель. Експрес-діагностика стану компенсаторно-захисних сил організму на ендотоксикоз при перитоніті № 50174, МПК G01N 33/48 Бюл. № 10/2010, авт. В.П. Польовий та співавт.). Згідно з яким, для оцінки рівня ендотоксикозу у хворих на гострий гнійний перитоніт визначення рівня ендотоксикозу застосовують біосенсорний метод (оцінка типу реакції тест системи культури *Dunaliella viridis* системи культури *Dunaliella viridis* на ендотоксикоз), та співставляють отримані показники з лейкограмою, що дозволяє на ранніх етапах розвитку перитоніту діагностувати важкість перебігу.

Недоліками цього способу є: оцінка типу реакції тест системи культури *Dunaliella viridis* здійснюється за допомогою світлової мікроскопії, що вимагає певних затрат часу, недостатня інформативність через суб'єктивність, висока чутливість найпростіших до змін зовнішнього середовища.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити вдосконалений спосіб фотометрично-біосенсорного визначення рівня ендотоксикозу при перитоніті шляхом застосування біосенсора (одноклітинної водорості *Dunaliella viridis*) та визначення його оптичної густини в сироватці крові, який був позбавлений недоліків найближчого аналога.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі фотометрично-біосенсорного визначення рівня ендотоксикозу при перитоніті, що включає застосування біосенсора, згідно з корисною моделлю, проводять визначення оптичної густини стандартизованої зависі одноклітинної культури водорості *Dunaliella viridis* в сироватці венозної крові хворих при довжині хвилі 492 нм.

Далі проводиться співставлення отриманого показника з показником оптичної густини контролю (буферний розчин, що містить стандартизовану завись одноклітинної водорості *Dunaliella viridis* в середовищі оптична густина якого дорівнює оптичній густині сироватки крові здорової людини). Збільшення досліджуваного показника більше ніж на 0,05 свідчить про наростання ендотоксикозу.

Спільною ознакою найближчого аналога та запропонованої корисної моделі є використання одноклітинної водорості *Dunaliella viridis*.

Відмінність запропонованої корисної моделі від найближчого аналога полягає у тому, що для оцінки типу реакції тест-системи культури одноклітинної водорості *Dunaliella viridis* на ендотоксикоз в сироватці крові застосовується визначення їх оптичної густини в за допомогою аналізатора імуноферментних реакцій типу УНІПЛАН-М.

Теоретичні передумови здійснення корисної моделі полягають в наступному:

Стандартні діагностичні лабораторні методи ґрунтуються на кількісній оцінці сигнальних маркерних показників ендотоксикозу в сироватці крові хворого на перитоніт, тобто речовин, зміна вмісту яких в сироватці крові корелює з розвитком тієї чи іншої форми перитоніту. Сукупність патогенетичних сироваткових факторів, викликає мембранотропний цитотоксичний ефект. Діагностична задача для виявлення сигнальних маркерів зводиться до визначення інтегральної біологічної дії цитотоксичних факторів. Інтегральне тестування цитотоксичних компонентів сироватки крові, на різних етапах їх утворення, ефективно вирішується за допомогою різних біодатчиків, так як в біологічній системі відбувається посилення сигналу, який достатньо просто і ефективно реєструється. Біосенсорні методи визначення сироваткових цитотоксичних компонентів ґрунтуються на формуванні специфічного сигналу відповіді біодатчика, тобто біологічно чутливої системи, посиленні цього сигналу і простої системної реєстрації. Оскільки біодатчик дає різноманітні реакції відповіді, біосенсиори можуть розглядатись як універсальні реєстратори цитотоксичних сироваткових факторів. В даній корисній моделі ми використовуємо як біодатчик культуру одноклітинної водорості *Dunaliella viridis*, а оцінку реакції

тест-системи проводимо шляхом визначення оптичної густини за допомогою аналізатора імуноферментних реакцій типу "УНІПЛАН-М".

Суть корисної моделі ілюструється прикладом її конкретного виконання.

Спосіб полягає в наступному.

- 5 Початковий етап - забір крові шляхом венпункції у хворих набирають 2 мл крові, центрифугують протягом 10 хвилин при 1600 об/хв. Сироватку переносять в стандартний імунологічний планшет. Додають готову синхронізовану тест систему *Dunaliella viridis*. Наступний етап полягає в спільній інкубації 30 хвилин в імунологічному планшеті заданих об'ємів клітинної суспензії *Dunaliella viridis* з певною кінцевою концентрацією клітин і
- 10 досліджуваної сироватки крові хворого на перитоніт. Потім проводять визначення оптичної густини за допомогою аналізатора імуноферментних реакцій типу УНІПЛАН-М при довжині хвилі 492 нм. Отриманий показник порівнюють з показником буфера, містить стандартну завись *Dunaliella viridis* в середовищі, оптична густина якого рівна оптичній густині сироватки крові здорової людини). Далі проводиться співставлення отриманого показника з показником контролю (буферний розчин, що містить стандартизовану завись одноклітинної водорості *Dunaliella viridis* в середовищі оптична густина якого дорівнює оптичній густині сироватки крові
- 15 здорової людини). Збільшення досліджуваного показника більше ніж на 0,05 свідчить про наростання ендотоксикозу.

- 20 Приклад практичного використання. Дослідним щурам I, II, III груп перитоніт моделювали шляхом внутрішньоочеревинного введення 30 %-го, 15 %-го, та 7,5 %-го (відповідно ступенів важкості: важкий - 5 балів, середній - 4 бали, легкий - 3 бали) щойно приготовленого розчину автокалу, (попередньо процідженого через 4 шари марлі) з розрахунку 0,5 мл на 100 г маси тіла. Через 12, 24, 48 год. проводили еutanазію тварин з дотриманням вимог Ванкуверської конвенції та проводили забір крові. Рівень ендотоксикозу при перитоніті визначали шляхом визначення
- 25 оптичної густини зависі одноклітинної водорості *Dunaliella viridis* в сироватці крові тварин з експериментальним перитонітом за допомогою аналізатора імуноферментних реакцій типу УНІПЛАН-М при довжині хвилі 492 нм. В якості контролю визначали оптичну густину зависі одноклітинної водорості *Dunaliella viridis* в сироватці крові інтактних тварин. Отримані дані представлені у таблиці.

- 30 Таким чином, запропонований спосіб дозволяє на ранніх етапах розвитку діагностувати рівень ендотоксикозу, оцінити важкість перебігу перитоніту та вчасно призначити відповідну коригуючу терапію, що забезпечить зменшенню кількості ускладнень та скороченню терміну перебування хворого в стаціонарі.

Таблиця

Показники оптичної густини зависі *Dunaliella viridis* в сироватці венозної крові щурів з експериментальним перитонітом в залежності від важкості та часу перебігу.

Групи тварин	Буфер	Перебіг перитоніту, год.		
		12	24	48
1	0,2525	0,4355	0,5585	-
2	0,2525	0,59075	0,606571	0,624188
3	0,2525	0,504	0,591818	0,567696

35

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 40 Спосіб фотометрично-біосенсорного визначення рівня ендотоксикозу при перитоніті, що включає визначення рівня едотоксикозу шляхом застосування біосенсора (одноклітинної водорості *Dunaliella viridis*), який **відрізняється** тим, що проводять визначення оптичної густини стандартизованої зависі одноклітинної водорості *Dunaliella viridis* в сироватці венозної крові хворих на перитоніт при довжині хвилі  $\lambda=492$ .

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