



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **97891**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 33/50 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2014 11301**

(22) Дата подання заявки: **16.10.2014**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **10.04.2015**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **10.04.2015, Бюл.№ 7**

(72) Винахідник(и):

**Воронцова Лоліта Леонідівна (UA),
Партола Наталя Миколаївна (UA)**

(73) Власник(и):

**ДЕРЖАВНИЙ ЗАКЛАД "ЗАПОРІЗЬКА
МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ
ОСВІТИ МОЗ УКРАЇНИ",**

бул. Вінтера, 20, м. Запоріжжя, 69096 (UA),

Воронцова Лоліта Леонідівна,
вул. Запорізька, 6-а, кв. 114, м. Запоріжжя,
69002 (UA),

Партола Наталя Миколаївна,

вул. Космічна, 102, кв. 35, м. Запоріжжя,
69050 (UA)

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ БАКТЕРІОСПЕРМІЇ У ЧОЛОВІКІВ З ПОРУШЕННЯМ ФЕРТИЛЬНОСТІ

(57) Реферат:

Спосіб діагностики бактеріоспермії у чоловіків з порушенням фертильності включає дослідження сироватки еякуляту на ІФА-аналізаторі. Визначають концентрацію ІЛ-10, ІЛ-12 та розраховують їх співвідношення і при співвідношенні більше, ніж 3,5 діагностують бактеріоспермію.

UA 97891 U

Корисна модель належить до медицини, а саме клінічної лабораторної діагностики, та може бути використана як імунологічний маркер відповіді організму на наявність інфекції.

Існує декілька способів діагностики бактеріоспермії при порушенні фертильності, але основними їх недоліками є те, що вони потребують багато часу для виконання, а в деяких випадках є запатентованими авторськими розробками, якими можуть користуватись тільки автори патенту (тому необхідно доправляти матеріал для дослідження авторам патенту).

Відомий спосіб діагностики бактеріоспермії при порушенні фертильності це бактеріологічне дослідження мікроорганізмів [Медицинские лабораторные технологии. - Т. 2. - Справочник / Под ред. А.И. Карпищенко. - СПб.: "Интермедика", 1999. - С. 83].

Спосіб включає дослідження еякуляту. До 1 л м'ясо-пептонного бульйону додають 25 г агар-агару (2,5 % гель). Кип'ятять до повного розчинення. Фільтрують, розливають в пробірки, стерилізують при 120 °С 20 хв. Приготоване середовище піддають контролю на стерильність, витримують в термостаті 1 добу при 37 °С. Сироватку еякуляту наносять на середовище петлею. Посів інкубують в термостаті 24 години (час для формування колоній мікроорганізмів). Колонії вивчають неозброєним оком в світлі, що проходить та відбивається.

Спільною суттєвою ознакою аналога і корисної моделі, що заявляється, є те, що досліджується еякулят. Цей спосіб є недостатньо ефективним тому, що:

- потребує багато часу для приготування середовища, контролю на стерильність, вирощування колоній мікроорганізмів;

- має місце систематична помилка - т.з. "людський фактор" при вивченні колоній мікроорганізмів.

Найбільш близьким за технічною суттю та результатами є спосіб діагностики бактеріоспермії - визначення концентрації ендотоксину за хромогенним LAL тестом по кінцевій точці за допомогою імуноферментного аналізу (ІФА) [Патент України № 69573, МПК (2006.01) G01N 30/50 / Спосіб кількісного визначення рівня ендотоксикозу у хворих з розповсюдженим гнійним перитонітом / Павляк А.Я., Ткачук О.Л., Марків Г.Д. - 20110764; Заявл. 06.06.2011; опубл. 10.05.2012 // Бюл. № 9]. Спосіб включає дослідження сироватки еякуляту:

В лунки мікропланшету додають 10 мкл сироватки еякуляту та 10 мкл стандарту. У зразок та стандарт додають до 50 мкл лізату, інкубують 10 хв., додають по 100 мкл субстрату, інкубують 10 хв., додають 100 мкл 10 % оцтової кислоти та зупиняють реакцію. Результат визначають при довжині хвилі 405 нм та вимірюють за допомогою спектрофотометру. Поріг чутливості становить 0,01 МЕО/мл. Діапазон вимірюваних концентрацій від 0,01 до 10 МЕО/мл.

Спільними суттєвими ознаками прототипу і корисної моделі, що заявляється, є такі:

- дослідження сироватки еякуляту;

- проведення ІФА.

Цей спосіб є недостатньо ефективним тому, що:

- є трудомістким методом (потребує багаторазового додавання розчинів);

- можлива систематична помилка (при додаванні розчинів лаборантом);

- реагент для зупинки реакції може викликати випадіння осаду;

- потребує досить великих витрат (дорогі реактиви);

- результат стабільний протягом лише 30 хв.;

- визначає тільки наявність грамнегативних бактерій.

Все це робить вказаний метод малопридатним для лабораторної практики.

В основу запропонованої корисної моделі поставлено задачу розробити такий лабораторний метод діагностики, який дає можливість більш ефективно діагностувати прояви бактеріоспермії, що забезпечує підвищення якості подальшого лікування чоловіків з порушенням фертильності.

Поставлена задача вирішується за рахунок того, що у способі діагностики бактеріоспермії виконується дослідження сироватки еякуляту з використанням тест-систем для визначення концентрації інтерлейкінів ІЛ-10, ІЛ-12.

Спосіб здійснюють таким чином:

Визначення концентрації інтерлейкінів проводили за допомогою ІФА. В лунки мікропланшету для виконання твердофазного імуноферментного аналізу послідовно додають по 10 мкл калібрувальних проб, 10 мкл досліджуваної сироватки та інкубують 2 години при 37 °С. Вміст лунок видаляють, та в кожну лунку після промивки додають 10 мкл розчину антитіл. Через 1 годину додають розчин кон'югату на 30 хв. Після цього здійснюють пофарбування за допомогою внесення субстратної суміші в темному місці протягом 15-20 хв. Вимірювання оптичної щільності здійснюють при довжині хвилі 405 нм. Пошукова концентрація інтерлейкінів визначається за калібрувальним графіком. Поріг чутливості становить 0,01 МЕО/мл. Діапазон вимірюваних концентрацій від 0,01 до 10 МЕО/мл.

Збільшення індексу співвідношення вмісту ІЛ-10/ІЛ-12 є показником пригнічення механізмів локального імунного захисту, тобто наявності бактеріоспермії. При значенні індексу більше 3,5 діагностують наявність бактеріоспермії.

Приклад. Досліджувався еякулят хворого П. 35 р. з діагнозом безпліддя на наявність бактеріоспермії. В баклабораторію був направлений еякулят на бактеріологічне дослідження. Після проведення посіву через 24 години виявлено наявність грампозитивної бактеріоспермії. Для проведення дослідження за допомогою хромогенного ЛАЛ-тесту по кінцевій точці, сироватка еякуляту була заморожена і на наступний день відправлена в лабораторію іншого міста. Результати дослідження підтвердили наявність бактеріоспермії лише через 4 доби. В той же час проводилось імунологічне дослідження сироватки еякуляту, яке дозволило виявити бактеріоспермію вже через 4 години.

Індекс співвідношення вмісту ІЛ-10/ІЛ-12 в нормі складає 2,9.

У хворого П. цей показник складає 3,8. Таким чином, у хворого має місце перевищення індексу співвідношення вмісту ІЛ-10/ІЛ-12 по відношенню до норми, що дозволяє діагностувати бактеріоспермію.

Заявлений спосіб є більш ефективним, бо дозволяє скоротити час і матеріальні витрати (зокрема на скринінговому етапі обстеження пацієнтів на наявність бактеріоспермії), мінімізувати помилки діагностики шляхом визначення об'єктивного показника, що сприятиме підвищенню якості подальшого лікування.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб діагностики бактеріоспермії у чоловіків з порушенням фертильності, що включає дослідження сироватки еякуляту на ІФА-аналізаторі, який **відрізняється** тим, що визначають концентрацію ІЛ-10, ІЛ-12 та розраховують їх співвідношення і при співвідношенні більше, ніж 3,5 діагностують бактеріоспермію.

Комп'ютерна верстка В. Мацело

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601