



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA

(11) 97893

(13) U

(51) МПК

G01N 33/50 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2014 11304**
(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),
Діденко Світлана 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, 99, кв. 19, м. Запоріжжя,
69050 (UA),
Діденко Світлана Миколаївна,
вул. Малиновського, 9, кв. 62, м. Запоріжжя,
69104 (UA)

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ НАЯВНОСТІ ЕНДОТОКСИНУ В СИРОВАТЦІ СПЕРМИ У ЧОЛОВІКІВ З ПОРУШЕННЯМ ФЕРТИЛЬНОСТІ

(57) Реферат:

Спосіб визначення наявності ендотоксину у чоловіків з порушенням фертильності, що включає дослідження сироватки еякуляту на ІФА-аналізаторі, причому визначають концентрацію інтерлейкіну ФНО- α і при концентрації більше, ніж 16,0 констатують наявність ендотоксину.

UA 97893 U

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

Існуючі способи діагностики наявності ендотоксину в сироватці сперми при порушенні фертильності - це запатентовані авторські розробки. Вони потребують багато часу для виконання, тому що необхідно доправляти матеріал для дослідження саме авторам патенту, що і вважається їх основним недоліком.

Відомий спосіб визначення наявності ендотоксину в сироватці сперми при порушенні фертильності - це виявлення ендотоксинів у сироватці сперми за допомогою гель-тромб тесту [Ситников А.Г. и др. ЛАЛ-тест. Современные подходы к определению пирогенности. - 1997. - С. 41-43].

Спосіб включає дослідження сироватки сперми. В круглодонні пробірки діаметром 10 мм вносять рівні об'єми сироватки сперми і ЛАЛ-реактиву (по 0,1 мл). Реакційні суміші акуратно перемішують і інкубують при температурі 37 °С протягом 60 хв. та візуально реєструють результати як позитивні чи негативні. Позитивна реакція (+) характеризується утворенням щільного гелю, який не руйнується при акуратному одноразовому перевертанні пробірки на 180°. Негативна реакція (-) характеризується відсутністю такого гелю.

Спільною суттєвою ознакою аналога і корисної моделі, що заявляється, є те, що досліджується сироватка сперми.

Цей спосіб є недостатньо ефективним тому, що:

- цей спосіб є якісним, а не кількісним;
- під час інкубування слід уникати вібрації і ударів;
- використовуються тільки апірогенні розчини та обладнання;
- результат дослідження розраховується візуально, тобто має місце систематична помилка -

т. з. "людський фактор".

Найбільш близьким за технічною суттю та результатами, що досягаються, є спосіб виявлення наявності ендотоксину в сироватці сперми - визначення концентрації ендотоксину за хромогенним ЛАЛ-тестом по кінцевій точці з діапазоном вимірюваних концентрацій від 0,01 до 10 МЕО/мл і порогом чутливості 0,01 МЕО/мл на ІФА - аналізаторі [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 сперми: в лунки мікропланшету додають 10 мкл сироватки сперми 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 %-ної оцтової кислоти та зупиняють реакцію. Результат визначають при довжині хвилі 405 нм та вимірюють за допомогою спектрофотометру.

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

- дослідження сироватки сперми;
- використання ІФА-аналізатора.

Цей спосіб є недостатньо ефективним тому, що:

- є трудомістким методом (потребує багаторазового додавання розчинів);
- потребує багато часу для виконання, тому що необхідно доправляти матеріал для дослідження саме авторам патенту, зокрема в іншу країну;
- можлива систематична помилка (при додаванні розчинів лаборантом);
- реагент для зупинки реакції може викликати випадіння осаду;
- потребує досить великих витрат (дорогі реактиви);
- визначає тільки наявність грамнегативних бактерій.

Все це робить вказаний метод малоприматним для лабораторної практики.

В основу запропонованої корисної моделі поставлено задачу розробити такий лабораторний метод діагностики, який дає можливість більш ефективно визначати ендотоксин в сироватці сперми, що забезпечує підвищення якості подальшого лікування чоловіків з порушенням фертильності.

Поставлена задача вирішується за рахунок того, що у способі діагностики виконується дослідження сироватки сперми з використанням тест-систем для визначення концентрації інтерлейкіну ФНО- α .

Спосіб здійснюють таким чином:

Визначення концентрації інтерлейкіну проводять за допомогою ІФА-аналізатора. В лунки мікропланшету для виконання твердофазного імуноферментного аналізу послідовно додають по 10 мкл калібрувальних проб, 10 мкл досліджуваної сироватки сперми та інкубують 2 години

при 37 °С. Вміст лунок видаляють, та в кожен 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 450 нм. Пошукова концентрація інтерлейкіну визначається за калібрувальним графіком.

Власне ендотоксин відповідає за посилене виробництво первинного медіатора запалення - інтерлейкіну ФНО- α . Збільшення концентрації інтерлейкіну ФНО- α у сироватці сперми є найпростішим діагностичним маркером наявності ендотоксину в сироватці сперми. При концентрації більше 16,0 пг/мл констатують наявність ендотоксину в сироватці сперми.

Приклад.

Хворому С., 27 р., з діагнозом безпліддя було рекомендоване дослідження сироватки сперми для визначення наявності ендотоксину. При проведенні дослідження за допомогою хромогенного ЛАЛ-тесту по кінцевій точці, сироватка сперми була заморожена і на наступний день відправлена в лабораторію іншого міста. Результати дослідження підтвердили наявність ендотоксину лише через 4 доби.

В той же час нами проводилось імунологічне дослідження, яке дозволило виявити наявність ендотоксину в сироватці сперми вже через 4 години. Концентрація інтерлейкіну ФНО- α у сироватці сперми в нормі складає 11,2 пг/мл. У хворого С. цей показник склав 16,3 пг/мл.

Таким чином, у хворого має місце перевищення концентрації інтерлейкіну ФНО- α по відношенню до норми, що дозволяє констатувати наявність ендотоксину в сироватці сперми.

Заявлений спосіб є більш ефективним, бо дозволяє скоротити час і матеріальні витрати (зокрема на скринінговому етапі обстеження пацієнтів на наявність ендотоксину в сироватці сперми), визначити об'єктивний показник, що сприятиме підвищенню якості подальшого лікування.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб визначення наявності ендотоксину у чоловіків з порушенням фертильності, що включає дослідження сироватки еякуляту на ІФА-аналізаторі, який **відрізняється** тим, що визначають концентрацію інтерлейкіну ФНО- α і при концентрації більше, ніж 16,0 констатують наявність ендотоксину.

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

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