



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **83452** (13) **U**
(51) МПК
G01N 33/50 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2013 03878	(72) Винахідник(и): Воронцова Лоліта Леонідівна (UA), Діденко Світлана Миколаївна (UA), Безрук Вікторія Анатоліївна (UA)
(22) Дата подання заявки: 29.03.2013	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.09.2013	(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) Діденко Світлана Миколаївна, вул. Малиновського, 9, кв. 62, м. Запоріжжя, 69104 (UA) Безрук Вікторія Анатоліївна, вул. Вуглегірська, 31, м. Запоріжжя, 69083 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.09.2013, Бюл.№ 17	

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ЗАПАЛЬНОЇ РЕАКЦІЇ, ЩО ВИНΙΚАЄ ПРИ ХІРУРГІЧНОМУ ЛІКУВАННІ У ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ

(57) Реферат:

Спосіб діагностики запальної реакції, що виникає при хірургічному лікуванні у хворих на ІХС, включає приготування мазка з цільної крові, фарбування та підрахування кількості нейтрофілів без гранул і з різним ступенем забарвлення цитоплазми. Потім здійснюють визначення цитохімічного коефіцієнта показників бактерицидних складових крові у нейтрофілах. Як барвник використовують розчин бромфенолового синього, дофарбовують ядра розчином азура і визначають цитохімічний коефіцієнт виявлення катіонних білків.

UA 83452 U

Корисна модель належить до галузі медицини.

Існує багато способів діагностики запальної реакції при хірургічному лікуванні ішемічної хвороби серця, шляхом лабораторного моніторингу, але основними їх недоліками є те, що вони потребують тривалого часу для виконання, велику кількість біологічного матеріалу та не пов'язані з конкретною патологією.

Відомий спосіб діагностики стану пацієнтів при хірургічному лікуванні ІХС - визначення концентрації креатинкінази - MB (Klauke. R. et al. / Eur. J. clin. chem. clin. biochem.-1993. - Vol. 15. - P. 901-909).

Спосіб включає дослідження сироватки крові: забирають 5-6 мл венозної крові, яку інкубують 2 години при $t=37^{\circ}\text{C}$. До 0,05 мл отриманої після цього сироватки додають 1,0 мл буферу (імідазольного) перемішують та інкубують 3 хв, заміряють оптичну щільність та одночасно вмикають секундомір. Заміряють поглинання на 1-й, 2-й, 3-й хвилини. Розраховують активність креатинкінази - MB по формулі з участю калібратора та факторів перерахування.

Спільною суттєвою ознакою аналога і корисної моделі, що заявляється, є те, що об'єктом дослідження є кров.

Цей спосіб недостатньо ефективний тому, що:

- є інформативним тільки в період між 6 та 24 годинами після інфаркту міокарда;
- короткий строк дії реагентів;
- для виконання аналізу необхідний калібратор, що складає основну частину вартості аналізу.

Найбільш близьким за технічною суттю та результатами, що досягаються, є спосіб діагностики запальної реакції - визначення функціонально-метаболічного стану нейтрофілів по активності мієлопероксидази за методом Грехема-Кнолля (Лабораторные методы исследования в клинике (справочник) под ред. проф. В.В. Меньшикова.-1988.-130 с.).

Спосіб включає дослідження цільної крові: з 0,2 мл крові готують мазки. Висушені мазки крові фіксують спиртовим розчином формаліну впродовж 10-15 с, промивають проточною водою та висушують. Потім на них наносять інкубаційну суміш (в 6 мл 96 % розчину етанолу розчиняють 20 мг бензидину, перемішують 5 хв, додають 4 мл дистильованої води, перемішують та додають 20 мл 3 % розчину H_2O_2) на 2-3 хв, промивають проточною водою, висушують, дофарбовують 0,1 % розчином нейтрального червоного 10-15 с. Нейтрофіли підраховують під мікроскопом та обчислюють середній цитохімічний коефіцієнт за формулою:

$$\text{ЦСК} = \frac{0a + 1b + 2e + 3d}{100},$$

де a - кількість нейтрофілів без гранул; b , e , d - кількість нейтрофілів з різним ступенем забарвлення цитоплазми. Цифри указують на інтенсивність забарвлення цитоплазми: 0 - відсутність забарвлення; 1 - наявність в цитоплазмі одиничних синіх гранул; 2 - сині гранули займають до 1/3 площі цитоплазми; 3 - сині гранули займають більше 1/2 площі цитоплазми.

Відповідь дають в умовних одиницях.

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

- об'єктом дослідження є цільна кров;
- приготування мазків крові;
- фарбування;
- підрахування в мазку під мікроскопом 100 нейтрофілів;
- розрахунок цитохімічного коефіцієнта за формулою.

Цей спосіб є недостатньо ефективним тому, що:

- довгим є приготування реакційної суміші, складовими якої є не менш як 3-4 реагенти;
- один із реагентів - солянокислий бензидин надто дорогий.

Все це робить спосіб малодоступним в лабораторній практиці.

В основу запропонованої корисної моделі поставлено задачу розробити такий лабораторний спосіб діагностики запальної реакції хворих на ІХС при хірургічному лікуванні, який дає можливість оцінити ранні прояви розвитку запальної реакції після проведення хірургічного втручання, а також дозволяє проводити лабораторний моніторинг, що забезпечить підвищення ефективності подальшого лікування хворих на ІХС.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб діагностики запальної реакції, що виникає при хірургічному лікуванні у хворих на ІХС, включає приготування мазка з цільної крові та підрахування кількості нейтрофілів без гранул і з різним ступенем забарвлення цитоплазми, визначення цитохімічного коефіцієнта показників бактерицидних складових крові у нейтрофілах, згідно з корисною моделлю, як барвник використовують 0,1 % розчин бромфеноловий синій,

дофарбовують ядра розчином азура і визначають цитохімічний коефіцієнт виявлення катіонних білків, причому при коефіцієнті, меншому ніж 1,72, діагностують запальну реакцію.

Спосіб здійснюють таким чином:

- 5 Готують тонкі мазки крові, висушують, фіксують, занурюючи на 60 с в ємність з 5 % розчином сульфосаліцилової кислоти, промивають водою і знову висушують. На мазки наносять 0,1 % розчин бромфенолового синього на 10 хв. Потім фарбу змивають, мазки промивають водопровідною водою, висушують і дофарбовують ядра розчином азура протягом 10 хв. Мазки промивають водою, висушують і підраховують кількість нейтрофілів без гранул і з різним ступенем забарвлення під мікроскопом в імерсійній системі, розраховують за формулою середній цитохімічний коефіцієнт і, при його значенні меншому ніж 1,72, діагностують розвиток запальної реакції.

10 Приклад 1. Хвора 45 р. Діагноз: ІХС. Стан після проведення аортокоронарного шунтування з післяопераційними ускладненнями.

Проведено визначення цитохімічного коефіцієнта катіонних білків в нейтрофілах (СЦК):

15	норма	1,72
	на день госпіталізації	0,98
	на 5-й день	0,93.

Для порівняння проводили визначення цитохімічного коефіцієнта мієлопероксидази в нейтрофілах (СЦК):

	норма	1,83
	на день госпіталізації	1,72
20	на 5-й день	1,70.

Таким чином, у хворої має місце статистично достовірне зниження цитохімічного коефіцієнта катіонних білків в нейтрофілах, що дає можливість діагностувати виникнення запальної реакції у пацієнтів кардіохірургічного профілю.

- 25 Приклад 2. Хворий 50 р. Діагноз: ІХС. Стан після проведення аортокоронарного шунтування з післяопераційними ускладненнями запального ґенезу.

Проведено визначення цитохімічного коефіцієнта катіонних білків в нейтрофілах (СЦК):

	норма	1,72
	на день госпіталізації	0,98
	на 5-й день	0,57.

Проведено визначення цитохімічного коефіцієнта мієлопероксидази в нейтрофілах (СЦК):

30	норма	1,83
	на день госпіталізації	1,72
	на 5-й день	1,64.

Таким чином, у хворого спостерігається зниження цитохімічного коефіцієнта катіонних білків у нейтрофілах, що дає можливість діагностувати виникнення запальної реакції у пацієнтів кардіохірургічного профілю.

- 35 Спосіб дозволяє визначити об'єктивний показник при виборі способів діагностики запальної реакції, що призводить до зниження кількості ускладнень.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 40 Спосіб діагностики запальної реакції, що виникає при хірургічному лікуванні у хворих на ІХС, що включає приготування мазка з цільної крові, фарбування та підрахування кількості нейтрофілів без гранул і з різним ступенем забарвлення цитоплазми, визначення цитохімічного коефіцієнта показників бактерицидних складових крові у нейтрофілах, який **відрізняється** тим, що як барвник використовують 0,1 % розчин бромфенолового синього, дофарбовують ядра розчином азура і визначають цитохімічний коефіцієнт виявлення катіонних білків, причому при коефіцієнті, меншому ніж 1,72, діагностують запальну реакцію.
- 45

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

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