



МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **123783** (13) **U**  
(51) МПК  
**G01N 33/48** (2006.01)

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<p>(21) Номер заявки: <b>u 2017 08872</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>05.09.2017</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>12.03.2018</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>12.03.2018, Бюл.№ 5</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Незгода Ірина Іванівна (UA), Дизик Галина Михайлівна (UA), Авер'янов Євгеній Валентинович (UA), Бобрук Світлана Володимирівна (UA)</b></p> <p>(73) Власник(и): <b>ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА, вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018 (UA)</b></p>
---	---

**(54) СПОСІБ НЕІНВАЗИВНОГО ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ СИРОВАТКОВИХ ІМУНОГЛОБУЛІНІВ А, М, G**

**(57) Реферат:**

Спосіб неінвазивного визначення концентрації сироваткових імуноглобулінів А, М та G передбачає визначення концентрації сироваткових імуноглобулінів А, М, G. Використовують ротову рідину, яка містить 56,59 % - IgA, 58,88 % - IgM та 39,93 % - IgG від сироватки крові.

**UA 123783 U**



Корисна модель належить до медицини, зокрема до імунології, а саме до методів діагностики імунологічних порушень у дітей та дорослих, шляхом неінвазивного визначення сироваткових імуноглобулінів А, М та G. Може бути використана як метод діагностики та прогнозування ефективності базисної терапії у пацієнтів з інфекційним мононуклеозом та гемофілією.

Сироваткові імуноглобуліни А, М та G є інтегральними показниками стану гуморального імунітету. Відомо, що для отримання матеріалу для дослідження необхідно провести внутрішньовенне втручання, щоб набрати кров. На жаль, не всім це показано. Є категорія хворих, наприклад на гемофілію, у яких порушено згортання крові, і, навіть, невеликий прокол вени призводить до масивної крововтрати. У дітей дошкільного віку, у осіб з інтоксикаційним синдромом в наслідок інфекційного процесу, коли спалі судини унеможливають проведення венепункції, - альтернативою виступає запропонований метод.

Найближчим аналогом до запропонованої корисної моделі є спосіб визначення імуноглобулінів А, М, G в сироватці крові [Thomas L. Labor und Diagnose. Frankfurt: THBooks Verlagsgesellschaft, 5 Auflage 1998].

В основу запропонованої корисної моделі "Спосіб неінвазивного визначення концентрації сироваткових імуноглобулінів А, М, G" поставлено задачу довести можливість визначення сироваткових імуноглобулінів А, М, та G у ротовій рідині для отримання інформації про їх вміст в крові при неможливості набрати кров з вени.

Поставлена задача вирішується способом, який передбачає визначення концентрації сироваткових імуноглобулінів А, М, G, згідно з корисною моделлю, що використовують ротову рідину, яка містить 56,59 % - IgA, 58,88 % - IgM та 39,93 % - IgG від сироватки крові.

Для визначення концентрації сироваткових імуноглобулінів використовують ротову рідину (слина, орофарингеальний секрет), у якій, шляхом радіальної імунопреципітації в гелі за методикою Манчіні (1965 р.) визначають концентрацію IgA, IgM та IgG. Паралельно у цих же осіб проводять аналогічні дослідження шляхом отримання крові внутрішньовенним доступом. Кров без стабілізатора відстоюють до формування згустку, сироватку відділяють центрифугуванням до прозорості, і в ній визначають концентрацію IgA, IgM та IgG. Після цього співставляють цифрові показники концентрації і статистично розраховують відсоток кожного імуноглобуліну, що дифундував із сироватки крові в ротову рідину.

Спосіб виконують наступним чином:

1. Забір орофарингеального секрету здійснюють вранці натще (з вечора попередньо слід очистити ротову порожнину від залишків їжі ополіскуванням 0,3 % розчином калію перманганату) без ополіскування ротової порожнини та чистки зубів в один і той же час. Швидкість утворення секрету залежить від положення тіла, тому воно має бути вертикальним, а орофарингеальний секрет забирався вільним самопливом, оскільки жування стимулює секрецію імуноглобулінів.

2. Підготовка матеріалу до постановки реакції радіальної імунодифузії в гелі. В отриманих пробах осад відділяють центрифугуванням при 1500 об/хв. протягом 20 хвилин. Супернатант одразу ж заморожують в епіндорфах і зберігають при температурі -20 °С до проведення імунологічних досліджень.

3. Матеріал досліджують наступним чином: на рівну поверхню рівномірним шаром наносять гель, приготовлений із агару- Diffco, що містить антитіла до імуноглобулінів, які визначалися, в гелі вирізають лунки і заповнюють їх ротовою рідиною (орофарингеальним секретом), який досліджується (розчином антигену). Молекули антигену радіально дифундують з лунки і, коли вони зустрічаються з антитілами, утворюється кільце преципітації. До тих пір, поки в лунці зберігається надлишок антигенів, діаметр кільця преципітації поступово збільшується. Та площа, яку зайняв преципітат прямо пропорційна концентрації імуноглобулінів в досліджуваному секреті. Отримані цифрові дані з калібрувальної кривої відповідають концентрації імуноглобулінів А, М, G в ротовій рідині та виражаються в г/л. Для побудови калібрувальної кривої беруть квадрат діаметра преципітату як функцію концентрації речовини і отримують пряму, що виражає наступну залежність:

$$S = K \cdot Q_{ag} + S_0,$$

де S - площа преципітату включно S<sub>0</sub> ;

S<sub>0</sub> - площа стартової лунки;

Q<sub>ag</sub> - кількість досліджуваної речовини (антигену);

$$K = n \cdot \frac{1}{Q_{ag}} + m,$$

де m - величина відрізка осі ординат, відсікається прямою;

n - коефіцієнт перерахунку.

Для перерахунку концентрації імуноглобулінів ротової рідини в концентрацію вмісту в зразках крові при використанні внутрішньовенного доступу проведено співставлення з наступним обчисленням проценту дифузії (табл. 1).

5 Розраховуючи за методом Спірмена співвідношення концентрації імуноглобулінів в ротовій рідині відносно сироватки крові, отримуємо наступні дані:

IgA-0,39 мг/мл, що складає 56,59 %,

IgM-0,61 мг/мл, що складає 58,88 %,

IgG-3,56 мг/мл, що складає 39,93 %.

10 Наведені результати отримано у контингента здорових донорів крові, і щоб упевнитися в тому, що дана закономірність проявляється при патологічних процесах в організмі, провели додатково аналогічні дослідження у хворих на гемофілію та інфекційний мононуклеоз. Проводячи до розрахунку відповідності, зазначимо, що дифузія сироваткових імуноглобулінів в ротову рідину у хворих піддається тій же закономірності: IgA складає 56,59 %, а IgM-58,89 %, 15 IgG-39,91 %.

Таблиця 1

Концентрація імуноглобулінів А, М та G мг/мл в ротовій рідині і в сироватці крові обстежених осіб

Діагноз	n	Ротова рідина			Сироватка крові		
		IgA	IgM	IgG	IgA	IgM	IgG
Гемофілія	8	0,44±0,02	0,56±0,07	3,84±0,06	0,78±0,015	0,95±0,09	9,62±0,03
Інфекційний мононуклеоз	8	0,49±0,03	0,55±0,04	3,68±0,03	0,86±0,04	0,93±0,041	9,21±0,07
Контрольна група (здорові донори)	19	0,86±0,042	0,75±0,031	4,98±0,027	1,52±0,02	1,27±0,36	12,55±0,41

Таблиця 2

Рівні імуноглобулінів в ротовій рідині та в сироватці крові до та після лікування (мг/мл)

Показники	В ротовій рідині		В сироватці	
	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування
IgA	0,39	0,47	0,83	1,11
IgM	0,61	0,74	0,83	1,27
IgG	3,56	3,81	8,92	9,74

20 Таким чином, спосіб, що пропонується дає можливість визначити вміст сироваткових імуноглобулінів в крові за ротовою рідиною, оскільки дифузія їх із сироватки крові в ротову рідину в процентному відношенні стала як у здорових, так і хворих людей.

Спосіб демонструється наступним прикладом.

25 Приклад 1. Хворий С., 11 років, з діагнозом гемофілія проходив імунологічне дослідження у зв'язку з частими явищами тонзиліту. Для моніторингу лікувального процесу при застосуванні антибактеріальної терапії визначали рівень імуноглобулінів в ротовій рідині та паралельно в сироватці крові на початку лікування та через 4 дні. За результатами досліджень показники сироваткових імуноглобулінів у однаковому процентному співвідношенні підвищувалися після отриманого лікування, що свідчить про кращу імунну відповідь (табл. 2).

30 В усіх випадках вміст імуноглобулінів в слині і в сироватці у процентному співвідношенні залишається сталим.

35 Приклад 2. Хвора М., 6 років, проходила лікування з приводу інфекційного мононуклеозу. Досліджено було у дитини додатково рівні імуноглобулінів А, М та G в ротовому секреті та паралельно в сироватці крові при поступленні та через 7 днів відповідного лікування. Результати показали, що в ротовій рідині вміст імуноглобулінів підвищився, а після перерахунку на їх вміст в сироватці крові також підвищився та становив в процентному відношенні IgA-56,58 %, а IgM-58,87 %, IgG-39,93 %.

40 Таким чином дифузія імуноглобулінів основних класів із сироватки крові в ротову рідину становить постійну величину, що дає змогу неінвазивним шляхом визначати концентрацію IgA, IgM та IgG в сироватці крові, використовуючи для дослідження ротову рідину.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

5 Спосіб неінвазивного визначення концентрації сироваткових імуноглобулінів А, М та G, що передбачає визначення концентрації сироваткових імуноглобулінів А, М, G, який **відрізняється** тим, що для цього використовують ротову рідину, яка містить 56,59 % - IgA, 58,88 % - IgM та 39,93 % - IgG від сироватки крові.

---

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

---

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

---

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