



Республика Таджикистан

(19) **TJ** (11) **170**

(51) **МПК(2006) G 01 N**
33/49; 33/50

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО

(12) **Описание изобретения**

К МАЛОМУ ПАТЕНТУ

1

(21) 0800236
(22) 18.07.2008
(46) Бюл.51 (3), 2008
(71) Каримова Р. (ТJ); Каримов Р.Р. (ТJ).
(72) Каримова Р. (ТJ); Каримов Р.Р. (ТJ).
(73) Каримова Р. (ТJ); Каримов Р.Р. (ТJ).
(56) 1. Гамалей Н.Б. Иммунологическая характеристика и иммунодиагностика опийной наркомании: Дисс. д.м.н. - М., 1992.
3. Вырупаев К.В. Особенности иммунитета и гемостаза у больных опийной наркоманией: Дисс.к.м.н. -Чита,2000.

2

(54) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НАРКОТИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ (ОПИАТОВ) В КРОВИ С ПОМОЩЬЮ РЕАКЦИИ ФАГОЦИТОЗА
(57) Область техники, к которой относится изобретение - гематология и наркология.
Способ заключается в том, что готовят инкубационную смесь из 0,1 мл крови и 0,05 мл морфинизированного объекта фагоцитоза (E.Coli), центрифугируют, готовят мазки крови, фиксируют в этаноле, окрашивают по Гимза-Романовскому. Смесь инкубируют 1 раз и проводят подсчет нейтрофилов под иммерсией при увеличении 15X90.

Область техники, к которой относится изобретение - гематология и наркология.

Согласно официальной статистике уровень потребления наркотиков в Республике Таджикистан ежегодно увеличивается. Поэтому разработка методов быстрого распознавания лиц злоупотребляющих наркотическими препаратами является актуальной задачей сегодняшнего дня.

В настоящее время существуют ряд иммунологических методов по определению наркотических веществ в периферической крови людей. Однако из-за дороговизны, малой доступности соответствующих приборов и реагентов они не находят широкого применения в лабораторных исследованиях.

Уровень техники.

Существующие способы:

1. Определение уровня антител к антигенам морфина [1].

Метод проводится с применением твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА), состоящего из 3 этапов. Первый этап заключается в сенсибилизации твердой фазы путем адсорбции антигена (адсорбция реакционноспособных производных наркотических препаратов в лунках 96-луночных планшет). Этот этап длится 18 часов при 4°C. По истечению времени, планшеты отмывают для удаления несвязанного антигена.

Второй этап заключается во внесении в лунки планшетов соответствующих разведений сывороток, содержащих антитела к антигену. Процесс соединения антител с антигеном проводят в течение 1 часа в условиях термостата при 37°C. Третий этап состоит из 2 частей. В первой части в лунки вносят вторичные антитела, специфичные к молекулам иммуноглобулинов, фиксированных на антигене и твердой фазе. Эти антитела должны иметь ферментную метку. Меченные ферментом вторичные антитела вступают при дальнейшей инкубации в соединение с антителами к наркотическому препарату, фиксированными на планшете. К смеси добавляют глютаровый альдегид и оставляют при 4°C в течение 18 час. Затем инкубацию с ферментными конъюгатами проводят в течение 1 часа в условиях термостата. Во второй части в лунки добавляют специфичную для данного фермента субстратную смесь. После инкубации в течение 15-20 мин ферментативную реакцию останавливают добавлением 50 мкл 10% серной кислоты. Под действием фермента субстратная смесь начинает изменять окраску. Результаты реакции оценивают по светопоглощению при длине волны 490 нм с использованием микроплетфотометра (Миниридер II «Dynatech»)

Получение технического результата возможно

через 2-е суток для проведения метода необходимо применение дефицитных реагентов (ферментативных меток и индикаторов), а также дорогостоящего прибора микроплетфотометра.

2. Чувствительность лимфоцитов к морфину [2,3].

Метод является наиболее близким к заявляемому и основан на способности Т- и В-лимфоцитов при воздействии морфина образовывать розетки с эритроцитами барана.

Лимфоциты выделяют из 3-5 мл крови с использованием фиколл-верографикового градиента. Клетки отмывают дважды в среде 199 и готовят суспензию клеток, содержащих $5 \cdot 10^9$ лимфоцитов в 1 мл. Добавляют морфин в дозе 10^7 M in vitro. Инкубируют дважды: 1 - в течение 1 часа при 37°C и 2 - в течение 24 час при 4°C. Затем после центрифугирования готовят мазки крови на предметных стеклах, фиксируют в метаноле в течение 20 мин и окрашивают по Гимза-Романовскому. В мазках подсчитывают содержание розеткообразующих лимфоцитов среди 200 лимфоцитов. Подсчет проводят под иммерсией при увеличении 15 x 90.

Получение окончательных результатов возможно через 1,5-2 суток. Для проведения метода необходимы труднодоступные реактивы: фиколл верографик, среда 199, свежие эритроциты барана и 2-3 мл венозной крови исследуемого человека.

Цель изобретения - разработать более быстрый и экономичный способ определения наркотических веществ (опиатов) в крови с помощью реакции фагоцитоза сегментоядерных нейтрофилов.

Описание способа.

В центрифужные пробирки приливали: 0,05 мл гепарина (20 ЕД), 0,1 мл исследуемой крови и 0,05 мл морфинизированного объекта фагоцитоза (E.Coli). После перемешивания смесь инкубировали в термостате в течение 30 мин., затем смесь центрифугировали 3-5 мин и из осадка готовили мазки крови. Препараты фиксировали в этаноле 20 мин и окрашивали по Гимза-Романовскому. Подсчет нейтрофилов проводили под иммерсией при увеличении 15x90.

Преимущество - данный способ более экономичен - проводить его возможно в любых стандартно оборудованных лабораториях (при наличии термостата, центрифуги и холодильника). Основным реактивом является доступный, широко распространенный в гематологических лабораториях краситель - Гимза-Романовского. Длительность проведения анализа для получения конечного результата - 1,5-2 часа (вместо 1,5-2 суток), количество используемой крови меньше в 30-50 раз (0,1 - 0,2 мл).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ определения наркотических веществ (опиатов) в крови с помощью реакции фагоцитоза, заключающийся в том, что готовят инкубационную смесь из крови и морфина, центрифугируют, готовят мазки крови, фиксируют в спирте, окрашивают по Гимза-Романовскому,

подсчет проводят под иммерсией при увеличении 15X90, **отличающийся тем, что** используют 0,1 мл крови и 0,05 мл морфинизированного объекта фагоцитоза (E.Coli), инкубируют 1 раз.

2. Способ по п.1, **отличающийся тем, что** проводят подсчет нейтрофилов.

Компьютерный набор: Назарова Дж.

Заказ

Тираж

Подписное

Национальный патентно-информационный центр РТ
734042, г. Душанбе, ул. Айни, 14а.