



Республика Таджикистан

(19) **TJ** (11) **91**

(51) **МПК (2006.01) А 61 В 5/00**

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО

(12) **Описание изобретения**

К МАЛОМУ ПАТЕНТУ

(21) 0700120

(22) 26.07.2007

(46) Бюл.48 (4), 2007

(71) Ахророва З.К. (TJ); Мансурова Ф.Х. (TJ); Назаров З.А. (TJ).

(72) Ахророва З.К. (TJ); Мансурова Ф.Х. (TJ); Назаров З.А. (TJ).

(73) Ахророва З.К. (TJ); Мансурова Ф.Х. (TJ); Назаров З.А. (TJ).

(56) «Оптимизация» этиопатогенетической терапии хронического гепатита С», В.Г. Радченко, В.В. Стельмах, В.К. Козлов Санкт-Петербург 2004 г.

2. Научно-производительная фирма Литех. «Методика проведения исследования клинического материала на наличие ДНК и РНК вирусов методом ПЦР». Москва 2006 г.

(54) **СПОСОБ ВЫЯВЛЕНИЯ ВИРУСНЫХ
МАРКЕРОВ ГЕПАТИТА**

(57) Изобретение относится к области медицины, а именно к гастроэнтерологии и стоматологии.

Способ выявления вирусных маркеров гепатита, заключается в том, что после многократно повторяющихся циклов синтеза ДНК мишени в присутствии термостабильной ДНК – полимеразы, дезоксинуклеозид- трифосфатов (ДНТФ), соответствующего солевого буфера и олигонуклеотидных затравок – праймеров, определяющих границы амплифицируемого участка ДНК – мишени, отбирают слюну 1,5 миллилитра, центрифугируют 15 минут при обороте 12 тысяч в минуту. Удаляют пипеткой надосадочную жидкость и добавляют к 50 миллилитрам осадка 200 миллилитров ДНК – экстраксса.

Изобретение относится к области медицины, а именно к гастроэнтерологии и стоматологии.

Заявленное изобретение не имеет аналогов.

Цель изобретения является внедрение нового, простого и легкого способа выявления вирусных маркеров в слюне у больных с хроническим диффузным поражением печени.

Поставленная цель заключается в том, что заявляемое изобретение предусматривает собой многократно повторяющиеся циклы синтеза ДНК-мишени в присутствии термостабильной ДНК-полимеразы, дезоксинуклеозид-трифосфатов (ДНТФ), соответствующего солевого буфера и олигонуклеотидных затравок – праймеров, определяющих границы амплифицируемого участка ДНК-мишени. [1; 2]

Каждый цикл состоит из трёх стадий с различными температурными режимами. На первой стадии при 94 °С происходит разделение цепей ДНК, затем при 57 °С – 60 °С присоединение (отжиг) праймеров к гомологичным последовательностям на ДНК-мишени, и при температуре 72 °С протекает синтез новых цепей ДНК путем удлинения праймера в направлении 5'-3' °С.

В каждом цикле происходит удвоение числа копий амплифицируемого участка, что позволяет за 35 циклов наработать фрагмент ДНК, ограниченный парой выбранных праймеров, в количестве, достаточном для его детекции с помощью электрофореза.

Проведение ПЦР (полимеразная цепная реакция) анализа включает три лабораторных этапа:

- 1) обработка клинических проб (выделения ДНК);
- 2) постановка реакции ПЦР (амплификация);
- 3) детекции продуктов амплификации (в данной методике-электрофоретическое разделение продуктов в агорожном геле).

Для реализации заявляемого технического решения осуществляют исследование объекта в течение 21 дня.

Объектом исследования в течение 21 дня стали больные с хроническим диффузным поражением печени. Каждый день у одних и тех же больных брали слюну на исследование.

Для исследования использовали только свежий материал (не замороженный). В полипропиленовую пробирку 1,5 миллилитра отбирали исходного материала, центрифугировали в течение 15 минут при обороте 12 тысяч в минуту. Тщательно удаляли пипеткой надосадочную жидкость, оставив на дне около 50 миллилитров жидкости с осадком. К осад-

ку добавляли всю плотность (pt) 200мл ДНК экспресса, тщательно перемешивали пепитированием и полученную суспензию переносили обратно в пробирку. Затем выделяли ДНК по известной методике: проведения исследования клинического материала на наличие РНК и ДНК вирусных гепатитов способом ПЦР.

Положительный эффект заявленного технического решения подтверждается примерами конкретного выполнения способа, проведенного в клинике и описанного для конкретных больных.

Пример 1

Больная С. 52 года, жалобы на боли в правом подреберье, носовые кровотечения, умеренная желтуха. Диагноз: хронический вирусный гепатит С.

У больной каждый день в течение 21 дня брали слюну на исследование. В полипропиленовую пробирку 1,5 миллилитра отбирали исходного материала, центрифугировали в течение 15 минут при обороте 12 тысяч в минуту. Тщательно удаляли пипеткой надосадочную жидкость, оставив на дне около 50 миллилитров жидкости с осадком. К осадку добавляли всю pt 200мл ДНК экспресса тщательно перемешивали пепитированием и полученную суспензию переносили обратно в пробирку.

Затем выделяли РНК по методике: проведения исследования клинического материала на наличие РНК вирусных гепатитов методом ПЦР.

У больного с хроническим вирусным гепатитом С, проба слюны дала положительные результаты.

Пример 2

Больной У. 29 лет, жалобы на слабость, утомляемость, нервозность, боли в правом подреберье, диспепсические расстройства. Диагноз: хронический вирусный гепатит В.

У больного в течение 21 дня брали слюну на исследование.

В полипропиленовую пробирку 1,5 миллилитра отбирали исходного материала, центрифугировали в течение 15 минут при обороте 12 тысяч в минуту. Тщательно удаляли пипеткой надосадочную жидкость, оставив на дне около 50 миллилитров жидкости с осадком. К осадку добавляли всю pt 200мл ДНК экспресса тщательно перемешивали пепитированием и полученную суспензию переносили обратно в пробирку.

Затем выделяли ДНК по методике проведения исследования клинического материала на наличие ДНК возбудителей инфекции методом ПЦР. У больного с хроническим вирусным гепатитом В, проба слюны дала положительные результаты.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Способ выявления вирусных маркеров гепатита, заключающийся в том, что после многократно повторяющихся циклов синтеза ДНК мишени, в присутствии термостабильной ДНК – полимеразы, дезоксинуклеозид- трифосфатов (ДНТФ), соответствующего солевого буфера и олигонуклеотидных

затравок – праймеров, определяющих границы амплифицируемого участка ДНК – мишени, отбирают слюну 1,5 миллилитра, центрифугируют 15 минут при обороте 12 тысяч в минуту, удаляют пипеткой надосадочную жидкость и добавляют к 50

миллилитрам осадка 200 миллилитров ДНК – экс- пресса.

Компьютерный набор: Абидова П.А.

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