



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 75697

(13) C2

(51) МПК (2006)

G01N 33/68

G01N 33/535

C12Q 1/28

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ГНІЙНОГО ХОЛАНГІТУ

1

2

(21) 2004031775

(22) 11.03.2004

(24) 15.05.2006

(46) 15.05.2006, Бюл. № 5, 2006 р.

(72) Стасенко Аліна Анатоліївна, Скумс Анатолій
Васильович, Машковський Геннадій Юрієвич(73) ІНСТИТУТ ХІРУРГІЇ ТА ТРАНСПЛАНТОЛОГІЇ
АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ

(56) RU C1 2008675 28.02.94

UA A 39741 15.06.01

Dig. Dis. Sci., 1997.- Jun.- 42 (6).- P. 1290 - 1294

(57) Спосіб діагностики гнійного холангіту, який
включає визначення в жовчі рівнів прозапального
фактора некрозу пухлин- α і інтерлейкіну, який
відрізняється тим, що визначають рівень проти-
запального інтерлейкіну-4 і, при співвідношенні
рівня прозапального фактора некрозу пухлин- α і
рівня протизапального інтерлейкіну-4 1,75 і вище,
діагностують гнійний холангіт.

Винахід відноситься до медицини, а саме до діагностики, і може бути використаний для лікування хворих на гнійний холангіт. Відомі способи діагностики гнійного холангіту, які включають цитологічне, бактеріологічне і імунологічне дослідження жовчі [1, 2, 3]. Недоліками цих способів є велика тривалість дослідження у випадку бактеріологічного і низька точність діагностики при інших методах дослідження. Найближчим аналогом є спосіб діагностики гнійного холангіту, який включає дослідження жовчі на наявність формазан-позитивних нейтрофілів [3].

Недоліком цього способу є низька точність діагностики внаслідок того, що в деяких випадках нейтрофіли в жовчі не виявляють із-за короткого життєвого циклу цих клітин. Задачею винаходу є розробка такого способу діагностики гнійного холангіту, який за рахунок імуноферментного аналізу жовчі забезпечував би підвищення точності діагностики.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі діагностики гнійного холангіту, який включає дослідження жовчі, згідно винаходу, при дослідженні жовчі визначають рівні прозапального фактора некрозу пухлин- α (ФНП- α) і протизапального інтерлейкіну-4 (ІЛ-4) і при співвідношенні першого до другого 1.75 і вище діагностують гнійний холангіт.

Визначення співвідношення прозапального ФНП- α до протизапального ІЛ-4 в жовчі забезпечує більш високу точність діагностики гнійного холангіту, так як в основі більшості запальних захворювань лежить порушення балансу між синтезом прозапальних і протизапальних цитокінів.

Крім того, прозапальні цитокіни, в тому числі ФНП- α , виробляються локально епітелієм жовчних проток і клітинами печінки, а при запаленні їх локальна продукція зростає. Вказані у формулі винаходу співвідношення прозапального ФНП- α до протизапального ІЛ-4 - 1,75 і вище визначені при клінічних дослідженнях 14 хворих. Дані зведені в таблицю.

Спосіб виконують наступним чином. Жовч хворого забирають шприцем безпосередньо з протока або через дренажну трубку під час операції в пробірці, центрифугують протягом 15 хв при 1000 об/хв. Надосад знімають і визначають у ньому рівні цитокінів: ФНО- α , ІЛ-4 імуноферментним методом, в якому використовують пероксидазу хрину як індикаторний фермент (набори реагентів фірми "Immunotech", Франція).

Вносять в лунки мікропланшета по 100 мкл стандартів цитокінів і досліджуваних проб. Добавляють по 50 мкл моноклональних антитіл біотинілізованих, потім вносять по 100 мкл розчину кон'югату стрептавідіна 3 пероксидазою хрину. Інкують протягом 2 год при 18-25°C при безпе-

(13) C2

(11) 75697

(19) UA

першому струшуванні. Тричі промивають буфером (по 300 мкл на одну лунку), висушують. Вносять у всі лунки по 200 мкл розчину субстрату з барвником. Інкують 30 хв. при температурі 18-25°C при безперервному струшуванні в захищеному від прямих сонячних променів місці. Зупиняють реакцію додаванням 50 мкл розчину, що містить такрін, в кожен лунку.

Враховують результат, вимірюючи рівні цитокінів з використанням імуноферментного аналізатора "STAT FAX 303" фірми "AWARENESS TECHNOLOGY INC", США. Перераховують співвідношення прозапального ФНО- α до протизапального ІЛ-4.

При значенні співвідношення прозапального ФНО- α до протизапального ІЛ-4 1.75 та більше діагностують гнійний холангіт.

Приклад 1. Хвора Р., 58 років, (№ іст. хв. 1336/99) поступила в ІХТ АМН України з проявами механічної жовтяниці після больового приступу. При дослідженні встановлено діагноз: кіста загальної жовчної протоки. 17.05.99 р. операція - резекція кісти загальної жовчної протоки, гепатикоеюностомія. В жовчі, отриманій під час операції, визначались наступні рівні інтерлейкінів: ФНП- α - 80 пг/мл; ІЛ-4 - 45.6 пг/мл. Співвідношення прозапального ФНО- α до протизапального ІЛ-4 - ФНП- α /ІЛ-4 - 1.75. Макроскопічне жовч була мутною, тобто з ознаками холангіту. Діагностовано гнійний холангіт. Приклад 2. Хвора П., 78 років, (№ іст. хв. 2077/99) поступила в клініку зі скаргами на приступоподібну біль в правій підреберній ділянці живота, яка супроводжувалась лихоманкою, пожовтінням склер.

За даними ультразвукової діагностики виявлені конкременти в жовчному міхурі, а також в загальній жовчній протоці. 7.06.99 р. операція - холецистектомія, холедохолітотомія, зовнішнє дренивання загальної жовчної протоки. В жовчі, отриманій під час операції, визначались наступні рівні інтерлейкінів: ФНП- α - 24.4 пг/мл; ІЛ-4 - 542.7 пг/мл. Співвідношення прозапального ФНО- α до протизапального ІЛ-4 - ФНП- α /ІЛ-4 - 0.05. Макроскопічне жовч із жовчної протоки була прозорою, оливкового кольору. Діагностовано відсутність гнійного холангіту. По запропонованому способу проведено діагностику гнійного холангіту у 14 хворих. При цьому в 10 випадках діагностовано гнійний холангіт, а у 4 хворих - його відсутність, що підтвердилось в подальшому результатами бактеріологічних досліджень. В той же час, при обстеженні 14 хворих за способом-аналогом у 2-х випадках гнійного холангіту, діагноз був неточний. Таким чином, використання запропонованого способу дозволяє підвищити точність діагностики гнійного холангіту.

Джерела інформації:

1. Кормак Д. Гистология: Пер. с англ. - М.: Мир, 1983. - Т. 4. - 245 с.

2. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М.О. Биргера. - М.: Медицина, 1982. - 464 с.

3. Патент RU № 2008675 С1 Шалимов А.А., Чернышев В.П., Стасенко А.А., Ничитайло М.Ю., Беличенко И.С., Скумс А.В. Способ диагностики гнойного холангита. Від 28.02.1994 р. - найближчий аналог. МПК G 01N33/48, Бюл. №4,1994.

Таблица

Співвідношення прозапального ФНП- α до протизапального ІЛ-4 в жовчі

№ п/п	№ іст.хв.	Співвідношення ФНП- α /ІЛ-4	Наявність чи відсутність гнійного холангіту
1.	3835/00	26	+
2.	1336/99	1.75	+
3.	1727/99	3.9	+
4.	509/99	3.4	+
5.	1827/99	27.9	+
6.	4456/00	2.2	+
7.	3084/00	2.4	+
8.	2077/99	0.05	-
9.	496/99	2.3	+
10.	1742/99	4.5	+
11.	1857/99	11	+
12.	432/99	0.63	-
13.	1177/99	0.003	-
14.	2128/99	0	-