



УКРАЇНА

(19) UA (11) 60197 (13) A

(51) 7 G01N33/48

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕБІГУ ВІЛ-ІНФЕКЦІЇ У ДІТЕЙ

1

(21) 2003021783

(22) 28 02 2003

(24) 15 09 2003

(46) 15 09 2003, Бюл. № 9, 2003 р.

(72) Хожило Ірина Іванівна, Шостакович-Корецька
Людмила Романівна(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА
АКАДЕМІЯ(57) Спосіб прогнозування перебігу ВІЛ-інфекції у
дітей, що містить визначення рівня оптичної щіль-
ності в сироватці крові, коефіцієнта розвитку ризи-
ку вірусного імунodefіциту людини, обчислення
коефіцієнта розвитку ризику та остаточне прогно-
зування, який відрізняється тим, що після обчис-

2

лення коефіцієнта розвитку ризику прогнозують
незначний ризик виникнення захворювання на
інфекцію вірусного імунodefіциту людини, якщо
він більший за 30%, та високий ризик, якщо він
менший або дорівнює 30%, а коефіцієнт розвитку
ризiku обчислюють за формулою

$$K = [(O_{\text{Щ}_2} \cdot 100) : O_{\text{Щ}_1}] - 100\%$$

де K - коефіцієнт розвитку ризику вірусного імун-
odefіциту людини,O_{Щ₁} - значення оптичної щільності сироватки пу-
повинної крові, ум од ,O_{Щ₂} - значення оптичної щільності сироватки кро-
ві, ум од

Винахід відноситься до медицини, а саме, до досліджень або аналізу матеріалів особливими способами, переважно біологічних, здебільшого периферійної крові, та може бути використаним у клініці інфекційних хвороб, для оцінки ризику виникнення захворювання у дітей на вірусний імунodefіцит людини

Відомий спосіб прогнозування перебігу ранніх відхилень в імунному статусі новонароджених, що містить відбір та аналіз прогностичних показників з остаточним прогнозуванням перебігу, відповідно до якого за показник перебігу імунodefіцитного стану взято міграційний індекс лейкоцитів та рівень імунoglobulinів класу М. Значення міграційного індексу лейкоцитів та рівень імунoglobulinів класу М у пуповинній крові показують раннє відхилення в імунному статусі доношеної новонародженої дитини [1]

До причин, що стримують досягнення означеного вище технічного результату, належить те, що показник, який використаний авторами, може бути застосований лише при оцінці імунного статусу доношених новонароджених, і не є інформативним у випадках передчасного народження. З іншого боку, показники пуповинної крові не в повній мірі відображують імунний гомеостаз новонародженої дитини, а здебільшого відображають імунний статус вагітної. У відомому способі прогнозування параметри відхилень в імунному статусі

оцінюються одноразово в момент народження, і не досліджуються у подальшому розвитку дитини. Крім того, запропонований маркер не є таким, що використовується в рутинній клінічній практиці, він потребує складного обладнання та реактивів (забруднених виробників, найчастіше із Росії)

Рівень техніки, що досліджений заявником, інформує про відсутність у джерелах патентної та науково-технічної інформації відомостей про використання інших "об'єктів того ж призначення", що дозволяє вважати відоме рішення найбільш близьким

В основу винаходу поставлена задача розробити спосіб прогнозування перебігу вірусного імунodefіциту людини у дітей, в якому шляхом аналізу неспецифічних показників сироватки крові, а саме динаміки рівня оптичної щільності, підвищується ефективність прогнозування перебігу захворювання при використанні

Означений вище технічний результат при здійсненні винаходу досягається тим, що в способі прогнозування перебігу вірусного імунodefіциту людини інфекції у дітей, що містить визначення рівня оптичної щільності в сироватці крові, коефіцієнту розвитку ризику вірусного імунodefіциту людини, обчислення коефіцієнту розвитку ризику та остаточне прогнозування, у відповідності з винаходом, після обчислення коефіцієнту розвитку ризику прогнозують незначний ризик виникнення

(13) A

(11) 60197

(19) UA

захворювання на інфекцію вірусного імунodefіциту людини, якщо він більше 30% та високий ризик, якщо він менше чи дорівнює 30%, а коефіцієнт розвитку ризику обчислюють за формулою

$$K = [(ОЩ_2 \times 100) : ОЩ_1] - 100\%$$

де К - коефіцієнт розвитку ризику вірусного імунodefіциту людини.

ОЩ₁ - значення оптичної щільності сироватки пуповинної крові, ум од.

ОЩ₂ - значення оптичної щільності сироватки крові, ум од

Причинно-наслідковий зв'язок сукупності істотних відмінних ознак, що заявляються, з вищезгаданим технічним результатом полягає в наступному

Установлено, що багаточисельні етіопатогенетичні фактори розвитку ВІЛ-інфекції ведуть до порушення в системі імункомпетентних клітин, що спричиняє неадекватну відповідь на антиген у вигляді піпер-, чи гіпопродукції антитіл ВІЛ-специфічні антитіла зв'язуються з антигенами, утворюючи комплекси антиген-антитіло [1,2]. Концентрація ВІЛ-специфічних антитіл в сироватці крові прямопропорційна оптичній щільності контрольних негативних та позитивних зразків (при довжині хвилі 492нм). Якщо хвороба прогресує, в організмі утворюється більша кількість ВІЛ-антитіл у відповідь на реплікацію вірусу імунodefіциту людини [5]. Тож, порушення динаміки співвідношення оптичної щільності сироваток крові, яке виникає при прогресуванні хвороби, відбиває характерні ознаки вірусного імунodefіциту, що складає основу патогенезу ВІЛ-інфекції [3,4]. Новизна запропонованого способу прогнозування перебігу вірусного імунodefіциту людини полягає у тому, що вперше пропонується спосіб, який дозволяє по визначенню динаміки кількісних параметрів сироватки крові прогнозувати перебіг захворювання як у доношених, так і у передчасно народжених дітей. Суттєвою відмінністю запропонованого способу прогнозування є те, що встановлені конкретні параметри ризику виникнення захворювання на вірусний імунodefіцит у дітей вже на першому році життя (коефіцієнт ризику більше 30% або менше чи дорівнює 30%). Перевагами заявленого способу прогнозування є наступні дослідження проводять в динаміці розвитку дитини, а не лише при народженні, мала інвазивність досліджень (для дослідження використовується пуповинна кров, а в динаміці 3-5мл крові), висока точність - 95%, чутливість - 97%, результати досліджень після взяття крові можуть бути отримані через 24-48 годин.

Результати проведених нами досліджень дозволили встановити залежність між рівнем динаміки оптичної щільності сироватки крові та прогнозом захворювання. Відсутність ризику щодо розвитку захворювання можна прогнозувати при коефіцієнті більше 30%, а наявність такого ризику при коефіцієнті нижче 30%.

Отже, сукупність відокремлюючих ознак виходу є істотною, бо має причинно-наслідковий зв'язок з очікуваним технічним результатом, а саме, дозволяє підвищити ефективність прогнозування перебігу вірусного імунodefіциту у дітей за рахунок використання чітких кількісних критеріїв, а

саме рівня оптичної щільності ВІЛ-антитіл у сироватці крові хворих уже на ранніх стадіях захворювання.

Відомості, що підтверджують можливість здійснення способу прогнозування перебігу вірусного імунodefіциту людини у дітей, що заявляється, полягають у наступному

Для досягнення означеного технічного результату заявником були застосовані співвідношення рівнів оптичної щільності ВІЛ-антитіл сироватки крові, взятої у новонародженої дитини із пуповинної крові та у тієї ж дитини у декретовані терміни (3,6, 9,12 місяців)

Для здійснення способу необхідне таке обладнання і матеріали, стандартні тест-системи (ІФА) для визначення рівня антитіл до вірусу імунodefіциту людини першого та другого типів, лабораторна центрифуга та стандартний спектрофотометр із довжиною хвилі 492нм. Для визначення концентрацій, шуканих агентів у біологічних середовищах було проведено 65 досліджень. Для дослідження оптичної щільності ВІЛ-антитіл у сироватці крові використовували кров з кубової вени в обсязі 3-5мл, яку розміщували у стерильну пробірку. Надалі, її центрифугували зі швидкістю 1500об/хв протягом 10хв для відділення плазми від формених елементів. Дослідження виконувались на біохімічному аналізаторі «Санофі діагностик Пастер» (Франція). Для визначення оптичної щільності сироватки крові використовувались реагенти фірми «ДіаПрофМед» (Україна). Граничні значення оптичної щільності сироватки крові негативного контролю не перевищували 0,1 оптичної одиниці (ОО), а позитивного контролю - не були нижче 0,6 ОО. Рівень ВІЛ-антитіл визначали в сироватці крові методом твердофазного імунферментного аналізу (ELISA) із використанням стандартних тест-систем.

Висока технологічність виконання, мінімальний обсяг вивчаємого матеріалу, відсутність спеціальної апаратури підвищують оперативність та простоту методу та роблять його доступним для використання у лікувальних закладах.

Приклад 1

Дитина Л., народилась від ІІІ вагітності ІІ полові передчасно (термін гестації плоду 36 тижнів). Перебіг вагітності мав патологічні ознаки (токсикоз, загроза викидня, анемія). Пологи відбулись стрімко. Стан здоров'я дитини за шкалою Апгар при народженні оцінено як важкий - 5 балів, через 5 хвилин - середньоважкий - 7 балів. Маса тіла при народженні 2000г, зріст 42см. За період перебування у пологовому будинку стан дитини був середньоважким, що обумовлено неврологічними, дихальними та гемодинамічними розладами. На 5 день дитина із пологового будинку була переведена до відділення патології новонароджених. Протягом першого року життя у дитини відмічались багаточисельні вірусно-бактеріальні захворювання, більше 8 раз вона лікувалась у стаціонарах з приводу пневмонії, септичного ендокардиту, алергодерматиту, анемії, нефриту. При народженні рівень оптичної щільності ВІЛ-антитіл склав більше 4ум од., а в динаміці у віці 6 і 9 місяців дорівнював 1,83ум од. Обчислений за формулою

винаходу коефіцієнт ризику розвитку вірусного імунodefіциту склав 21%. Таким чином, по заявленому способу прогнозування дитина Л мала високий ризик виконання захворювання на вірусний імунodefіцит, що і підтвердилося у віці 18 місяців як лабораторне (наявність ВІЛ-антитіл, ВІЛ-антигену р24), так і клінічними ознаками (гіпотрофія ІІІ ступеню, кандидоз ротової порожнини, прояви нейроСНІДу у вигляді бульбарних порушень та повної атрофії клітин головного мозку, підтверджених методом комп'ютерної томографії).

Висновок ризик розвитку вірусного імунodefіциту (21%) дуже високий

Приклад 2

Дитина П, народилась від І вагітності І пологов у термін 40 тижнів (доношена). Маса при народженні 1900г, зріст 45см. Під час вагітності жінка хворіла на сифіліс, отримувала антибактеріальне лікування. Крім того, під час вагітності жінка споживала наркотичні речовини ін'єкційним шляхом. Стан дитини при народженні за шкалою Апгар оцінено як середньоважкий - 6 балів, через 5 хвилин - 7 балів. Пологи відбувалися з патологічними ознаками — коротка пуповина, сидничне прилягання плоду. У періоді новонародженості дитина страждала на гнійне запалення очей та пуповинного кільця, перинатальне ураження ЦНС. Протягом перших двох місяців життя перебувала на стаціонарному лікуванні у відділенні патології новонароджених. При дослідженні оптичної щільності ВІЛ-антитіл у пуповинній крові її рівень склав 2,83ум од. Протягом першого року життя дитина страждала на анемію, ОРВІ, бронхіт, контактний дерматит, вірусний гепатит В. При дослідженні сироватки крові на ВІЛ-антитіла у декретований термін 6 місяців рівень оптичної щільності склав 0,8ум од. При обчисленні за заявленою формулою коефіцієнт ризику розвитку вірусного імунodefіциту у дитини П склав 72%, і був розцінений як незначний. Даний висновок було підтверджено у віці 18 місяців лабораторними (повна відсутність ВІЛ-антитіл) і клінічними даними (відсутність клінічних симптомів ВІЛ-асоційованих хвороб).

Висновок ризик розвитку вірусного імунodefіциту (72%) незначний. Таким чином, після проведеного клінічного випробування запропонованого способу прогнозування перебігу ВІЛ-інфекції, заявником встановлено, що заявлений спосіб може бути широко використаний в клініці інфекційних хвороб, для заявляемого об'єкту у тому вигляді, як він схарактеризований у незалежному пункті формули, підтверджена можливість його здійснення за допомогою вказаних у заявці або відомих до дати пріоритету діагностичних приладів, способ, що втілює заявляемый винахід при здійсненні, забезпечує досягнення позитивного результату, а саме підвищення ефективності прогнозування перебігу вірусного імунodefіциту людини по відношенню до прототипу з можливістю його здійснення на ранніх стадіях захворювання, а у разі необхідності провести лікувально-профілактичні заходи по реабілітації порушень імунного статусу у дітей.

Отже, розроблений винахід відповідає умовам "промислової придатності", "новизни", "винахідницький рівень" і може бути кваліфікований винаходом України.

Джерела інформації

1 Денисенко В.Б., Сизякина Л.П. Симованьян Э.Н. Иммунопатогенетические основы диагностики стадий ВИЧ-инфекции у детей // Иммунология - 1999 - №2 - С 16-20

2 Клінічна імунологія проблеми і значення для практичної медицини // Одеський медичний журнал - 1999 - №3 - С 74-77

3 Патент Російської Федерації, RU2101707 G01N33/53, Мартенова А.А., Сотникова Н.Ю., Копилова Е.Б., Кудряшова А.В. Способ диагностики ранних отклонений в иммунном статусе новорожденных детей, опубл. 10.01.1998 Бюл. №1

4 Abrams E. J., Matheson P. B., Thomas P. A. et al / Neonatal predictors of infections status and early death among 332 infants at risk of HIV-1 infections monitored prospectively from birth // Pediatrics - 1995 - N3 - P 451-457

5 Schlumpberger J. M., Wolde-Tsadik G., Yao J. F. et al / CD8+ lymphocyte counts and the risk of death in advanced HIV infection // J Fam Pract - 1994 - N1 - P 33-38