



УКРАЇНА

(19) UA (11) 18831 (13) U
(51) МПК (2006)
G01N 33/50
A61B 5/145

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ КЛІНІЧНОЇ ФОРМИ ВПЕРШЕ ВІЯВЛЕНОГО ТУБЕРКУЛЬОЗУ ЛЕГЕНЬ

1

(21) u200606437
(22) 09.06.2006
(24) 15.11.2006
(46) 15.11.2006, Бюл. № 11, 2006 р.
(72) Петренко Василь Іванович, Пікас Ольга Богданівна
(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О.БОГОМОЛЬЦЯ
(57) Спосіб діагностики клінічної форми вперше виявленого туберкульозу легень, що включає аналіз периферичної крові хворого, який **відрізняється** тим, що у плазмі периферичної крові визнача-

2

ють рівень нітратів і при його зниженні до $5431,2 \pm 418,2$ пмоль/мл діагностують вогнищеву форму, при зниженні до $4589,5 \pm 423,4$ пмоль/мл - інфільтративну форму в межах двох сегментів легень, при зниженні до $4005,1 \pm 160,9$ пмоль/мл - дисеміновану форму туберкульозу легень, при зниженні до $3190,2 \pm 653,9$ пмоль/мл - інфільтративну форму з ураженнями більше ніж в двох сегментах легень, а при зниженні до $1292,5 \pm 172,7$ пмоль/мл - фіброзно-кавернозну форму.

Корисна модель, що заявляється, стосується галузі медицини, а саме фтизіатрії й пульмонології, та призначена для діагностики клінічної форми вперше виявленого туберкульозу легень.

На початку 90-х років відбувся переломний момент в епідеміологічній ситуації з туберкульозом, почалося її погіршення, і зараз туберкульоз займає перше місце серед смертності людей від інфекції. Щороку в світі реєструють від 7 до 10 млн. вперше виявлених випадків захворювання на туберкульоз.

Однією з особливостей сучасного туберкульозу є значна кількість занедбаних форм - вже серед вперше виявлених хворих зустрічаються розповсюджені полікавернозні процеси та масивне бактеровиділення.

Збільшується смертність від туберкульозу. Неабияке значення у зростанні захворюваності на туберкульоз в Україні має екологічне забруднення та становище, яке склалося на радіаційно забруднених територіях. Тому складна епідеміологічна ситуація з туберкульозу ставить перед медициною низку питань, які потрібно вирішити, а саме - розробити нові методи діагностики, лікування і профілактики цієї недуги, розкриваючи нові механізми і закономірності перебігу цієї хвороби. Проте існуючі способи діагностики клінічної форми вперше виявленого туберкульозу легень не цілком задовольняють таким вимогам, як простота у застосуванні та мала ресурсоемність, достатня точність і

мале навантаження на організм хворого.

Так, широко використовувана рентгенологічна діагностика не завжди дозволяє диференціювати клінічні форми туберкульозу без додаткових лабораторних досліджень. До того ж, вона дає додаткове променеве навантаження на організм хворого, що є небажаним з огляду на екологічну ситуацію в країні.

Відомий також спосіб діагностики клінічних форм туберкульозу, що базується на визначенні змін електрокінетичних властивостей клітинних ядер букального епітелію [1]. Визначення змін електрокінетичних властивостей клітинних ядер проводять під впливом внутрішньошкірного введення пацієнту 2ТО (ТО=туберкулінова одиниця) розчину туберкуліну в стандартному розведенні (проба Манту). Згідно даного способу електрокінетичні властивості ядер букального епітелію визначають методом внутрішньоклітинного мікроелектрофорезу за методикою академіка В.Г. Шахбазова (1986). Спосіб апробовано на 414 хворих із вперше виявленим туберкульозом різної локалізації. Встановлено, що початковий показник електронегативності ядер (ЕНЯ) букального епітелію у здорових осіб дорівнює $(82,1 \pm 2,4)\%$. Постановка проби Манту здоровим особам призводить до пригнічення рухливості клітинних ядер в електричному полі у порівнянні з початковими показниками в середньому на 30%, що свідчить про хороший стан їх здоров'я на момент обстеження.

(13) U
(11) 18831
(19) UA

На відміну від здорових осіб, у хворих на туберкульоз в цілому відмічалась тенденція до зниження початкового показника ЕНЯ у порівнянні з віковою нормою ($42,5 \pm 7,9\%$ проти $49,4 \pm 2,0\%$). Постановка проби Манту призводить через 72 години в цілому до збільшення у них кількості ЕНЯ букального епітелію ($56,2 \pm 4,5\%$; $P < 0,05$), що говорить про сприятливий перебіг туберкульозу, обмежений і без розпаду. Негативний результат можливий у хворих на тяжкі клінічні форми туберкульозу легень (дисемінований з розпадом, казеозна пневмонія) - поширені і з розпадом, а також при супутніх захворюваннях (наркоманії та в осіб, що перенесли вірусний гепатит).

Даний спосіб у 91% хворих може діагностувати туберкульоз, причому тільки на ранніх етапах до появи розпаду та бактеріовиділення, але він має обмеження щодо діагностики поширених форм туберкульозу.

Найближчим аналогом (прототипом) способу діагностики клінічної форми вперше виявленого туберкульозу легень є спосіб, що базується на застосуванні імунологічного дослідження периферичної крові із визначенням в ній антигенів системи HLA та їх поєднань, при наявності яких діагностують відповідну клінічну форму туберкульозу легень. Згідно даного способу проводять забір крові, в якій імунологічним методом [2, 3] визначають антигени генетичних маркерів гістосумісності системи HLA за антигенами локусу A, B, C не менше як 2-3 сироватками і при виявленні антигенів HLA та їх поєднань діагностують відповідну форму туберкульозу. Час отримання результатів складає 4 години. При підвищеній кількості антигенів A_3 , A_{11} , A_{24} та поєднань HLA A_3B_7 , A_3C_4 , A_{24} , B_{35} діагностують первинний туберкульозний комплекс, а ризик розвитку даної клінічної форми туберкульозу у них $R=3,5$ (вірогідний). При збільшенні кількості антигенів HLA B_7 та поєднань HLA A_2A_{11} , A_2B_7 , A_3B_9 , B_7C_4 діагностують туберкульозну інтоксикацію, а ризик ураження $R=3,6$. При вторинних формах туберкульозу має місце збільшення частоти антигену HLA A_3 та поєднань HLA A_2B_{12} , A_3B_7 , A_3B_{15} , а ризик ураження $R=3,5$.

Незважаючи на те, що цей спосіб є досить точним, він надто громіздкий у виконанні та надто дорогий, що ускладнює його впровадження. До того ж, даний спосіб не враховує глибоких патогенетичних чинників, пов'язаних із метаболічними перетвореннями оксиду азоту (II) NO, його дією на організм та із його змінами, які виникають при кожній клінічній формі туберкульозу у легенях, що й знижує захисні властивості організму та сприяє прогресуванню патологічного процесу. Отже, даний спосіб не враховує стан NO в організмі, його вплив на захисні властивості організму та мікроциркуляторне русло.

Корисна модель, що заявляється, вирішує задачу вдосконалення способу діагностики клінічної форми вперше виявленого туберкульозу легень шляхом використання такого об'єктивного (кількісного) показника перебігу і поширення туберкульозу легень, як рівень нітратів у плазмі крові хворого.

Технічний результат від впровадження корисної моделі буде полягати у значному спрощенні діагностики клінічної форми вперше виявленого

туберкульозу легень без втрати точності.

Поставлене завдання вирішується тим, що у відомому способі діагностики клінічної форми вперше виявленого туберкульозу легень, який включає аналіз периферичної крові хворого, згідно корисної моделі, у плазмі периферичної крові визначають рівень нітратів і при його зниженні до $5431,2 \pm 418,2$ пмоль/мл діагностують вогнищеву форму, при зниженні до $4589,5 \pm 423,4$ пмоль/мл - інфільтративну форму в межах двох сегментів легень, при зниженні до $4005,1 \pm 160,9$ пмоль/мл - дисеміновану форму туберкульозу легень, при зниженні до $3190,2 \pm 653,9$ пмоль/мл - інфільтративну форму з ураженнями більше ніж в двох сегментах легень, а при зниженні до $1292,5 \pm 172,7$ пмоль/мл - фіброзно-кавернозну форму.

Головною відмінною особливістю способу, що заявляється, є використання для визначення клінічної форми вперше виявленого туберкульозу легень такого патогенетичного чинника порушення мікроциркуляції крові і зниження неспецифічного захисту організму людини, як рівень метаболітів NO, а саме - нітратів, що дозволяє спростити діагностику без втрати точності і, відповідно, підвищити ефективність застосованого лікування. За відомими літературними даними такий спосіб діагностики клінічної форми вперше виявленого туберкульозу легень не відомий.

Спосіб, що заявляється, здійснюють наступним чином.

Визначення нітратів у плазмі периферичної крові проводять наступним чином. Плазму крові хворого депротеїнізують, додаючи до 2 мл проби 2 мл 1N хлорної кислоти. Вміст пробірки перемішують 30сек, ставлять на добу в холодильник і на наступний день центрифугують впродовж 15 хвилин при 2000об./хв. У контрольну пробу замість 1мл безбілкової надосадової фракції додають 1мл дистильованої води.

Кількість NO_3^- у плазмі визначають з використанням колориметричної реакції за допомогою бруцинового реактиву. Бруциновий реактив готують, змішуючи 60мг бруцину із 100мл розведеної 1:2 сірчаної кислоти безпосередньо перед визначенням. На 1мл проби додають 1мл бруцинового реактиву. За допомогою спектрофотометру визначають оптичну густину проби при довжині хвилі 405нм проти контрольної проби, що не містить плазми. Паралельно визначають оптичну густину стандартного розчину ($NaNO_3$). На основі отриманих даних будують калібрувальну криву. Кількість NO_3^- визначали за калібрувальною кривою, побудованою для стандартного розчину $NaNO_3$ в діапазоні 5-50мкМ.

Сьогодні важко назвати функцію організму, в регуляції якої не брав би участь оксид азоту (II) NO, який є також важливим медіатором дихальної системи. На синтез NO в органах дихання впливають цитокіни, ендотоксини, NO залежить від кліренсу в альвеолах. Він добре дифундує крізь клітинні оболонки в біологічних системах, а при участі кисню дуже швидко розпадається (5-30сек.) на нітрати (NO_3^-) та нітрити (NO_2^-). Враховуючи це, рівень NO ми вивчали за вмістом його стабільних метаболітів нітратів, рівень яких у плазмі більш

показово змінюється в залежності від наявності патологічного процесу, його особливостей та поширеності.

Конкретні цифри, що характеризують клінічні форми туберкульозу легень були встановлені на основі порівняльної оцінки рівня нітратів у плазмі крові в п'ятьох групах хворих на вперше виявлений туберкульоз легень. Першу групу склали 23 хворих на вогнищевий туберкульоз, другу групу - 65 хворих на інфільтративний туберкульоз з ураженням двох сегментів легень, третю групу - 27 хворих на дисемінований туберкульоз, четверту групу - 46 хворих на інфільтративний туберкульоз з ураженням більше двох сегментів легень і п'яту групу - 56 хворих на фіброзно-кавернозний туберкульоз. Діагноз цим хворим було виставлено на основі скарг і лабораторних досліджень та підтверджено рентгенологічним дослідженням. У хворих з вогнищевою формою туберкульозу, яка характеризувалась наявністю ураження розміром до 1 см в межах 1-2 сегментів легень, рівень нітратів у плазмі становив $5431,2 \pm 418,2$ пмоль/мл. У хворих з інфільтративною формою туберкульозу, яка характеризувалась наявністю ураження розміром більше за 1 см в межах двох сегментів легень, рівень нітратів у плазмі становив $4589,5 \pm 423,4$ пмоль/мл. Суттєве зниження кількості нітратів корелювало із клінічними проявами інфільтративного туберкульозу легень, якому властивий ексудативний характер тканинної реакції, більша поширеність процесу, більші симптоми інтоксикації та схильність до деструктивних змін і бактеріовиділення, що супроводжується більш вираженими мікроциркуляторними змінами з підвищеною проникливістю стінок судин і виходом у тканини формених елементів крові. У хворих з дисемінованою формою, яка характеризувалась наявністю багатьох уражень розміром до 1 см більше ніж у двох сегментах легень, рівень нітратів у плазмі становив $4005,1 \pm 160,9$ пмоль/мл. Значне зниження кількості нітратів при дисемінованому туберкульозі корелювало з характерною ознакою для цієї форми - поширенням ураження на легеневої судини. Як результат, має місце переважно продуктивна запальна реакція з ураженням судин, а з іншого боку - можливі гіперергічні реакції зі швидким розвитком деструктивних змін. У хворих з інфільтративною формою туберкульозу, яка характеризувалась наявністю уражень більше ніж у двох сегментах легень, рівень нітратів у плазмі становив $3190,2 \pm 653,9$ пмоль/мл. У хворих з фіброзно-кавернозною формою, яка характеризувалась наявністю каверни та незворотними фіброзними змінами в легенях, рівень нітратів у плазмі становив $1292,5 \pm 172,7$ пмоль/мл. Це - найнижчий рівень нітратів у плазмі, який корелює з незворотними змінами в легеневій тканині та хронізацією патологічного процесу.

Як видно з наведених цифр, рівень нітратів у крові знижується у міру збільшення тяжкості клінічної форми туберкульозу і може слугувати об'єктивним критерієм для діагностики клінічної форми туберкульозу легень. Статистична обробка отриманих даних, разом із даними клінічного обстеження, показала, що чим суттєвіше зниження нітратів у плазмі крові, тим тяжче перебігає туберкульозний процес, тим більше знижується

неспецифічний захист організму проти мікобактерій туберкульозу, тобто NO та його метаболіти нітрати беруть активну участь у розвитку туберкульозу.

Перевагами запропонованого технічного рішення в порівнянні з прототипом є те, що воно не передбачає великих матеріальних затрат, є простим і доступним, можливо одночасно обстежити велику кількість людей і не потребує стерильних умов. Це досить точний метод, який дає можливість об'єктивно встановити клінічну форму туберкульозного процесу.

Приклад 1.

Згідно медичної карти стаціонарного хворого №25 від 03.02.05р. пацієнт А. знаходився на лікуванні у Київському протитуберкульозному диспансері №1 зі скаргами на слабкість, втомленість, знижений апетит, покашлювання. При визначенні рівня нітратів у плазмі крові хворого встановлено, що він сягає $5430,2$ пмоль/мл, що відповідає вогнищевій формі туберкульозу легень. Клініко-лабораторне та рентгенологічне дослідження підтвердили діагноз вогнищевий туберкульоз, виставлений за допомогою запропонованого біохімічного методу.

Приклад 2.

Згідно медичної карти стаціонарного хворого №45 від 11.05.05р. пацієнт В. поступив на лікування в Київський протитуберкульозний диспансер №1 зі скаргами на слабкість, втомленість, знижений апетит, підвищену температуру тіла до $37,5^{\circ}\text{C}$, кашель з виділенням невеликої кількості харкотиння. При визначенні рівня нітратів у плазмі крові хворого встановлено, що він сягає $4500,5$ пмоль/мл, що відповідає інфільтративній формі туберкульозу легень з ураженням більше 1 см в межах двох сегментів. Клініко-лабораторне та рентгенологічне дослідження підтвердили діагноз, виставлений за допомогою запропонованого біохімічного методу - інфільтративний туберкульоз з ураженнями розміром 2,5 см у двох сегментах лівої легені.

Приклад 3.

Згідно медичної карти стаціонарного хворого №54 від 09.06.05р. пацієнт С. поступив на лікування в Київський протитуберкульозний диспансер №1 зі скаргами на слабкість, втомленість, знижений апетит, підвищену температуру тіла до $38,2^{\circ}\text{C}$, кашель з виділенням помірної кількості харкотиння, задишку. При визначенні рівня нітратів у плазмі крові хворого встановлено, що він сягає $4005,1$ пмоль/мл, що відповідає дисемінованій формі туберкульозу легень з ураженнями розміром до 1 см більше ніж в двох сегментах легень. Клініко-лабораторне та рентгенологічне дослідження підтвердили діагноз, виставлений за допомогою запропонованого біохімічного методу - дисемінований туберкульоз правої легені з ураженнями розміром від 0,5 до 1 см у п'яти сегментах.

Приклад 4

Згідно медичної карти стаціонарного хворого №65 від 23.08.05р. пацієнт К. поступив на лікування в Київський протитуберкульозний диспансер №1 зі скаргами на слабкість, втомленість, знижений апетит, підвищену температуру тіла до $38,5^{\circ}\text{C}$, кашель з виділенням великої кількості харкотиння,

задишку. При визначенні рівня нітратів у плазмі крові хворого встановлено, що він сягає 3120,2 μ моль/мл, що відповідає інфільтративній формі туберкульозу легень з ураженням в межах більше ніж двох сегментів. Клініко-лабораторне та рентгенологічне дослідження підтвердили діагноз, виставлений за допомогою запропонованого біохімічного методу - інфільтративний туберкульоз з ураженнями трьох сегментів правої легені розміром до 4см.

Приклад 5.

Згідно медичної карти стаціонарного хворого №69 від 20.09.05р. пацієнт Д. поступив на лікування в Київський протитуберкульозний диспансер №1 зі скаргами на слабкість, втомленість, знижений апетит, підвищену температуру тіла до 39°C, надсадний кашель з виділенням великої кількості харкотиння, задишку в стані спокою. При визначенні рівня нітратів у плазмі крові хворого встановлено, що він сягає 1290,2 μ моль/мл, що відповідає фіброзно-кавернозній формі туберкульозу. Клініко-лабораторне та рентгенологічне дослідження підтвердили діагноз, виставлений за допомогою запропонованого біохімічного методу - фіброзно-кавернозний туберкульоз з каверною у верхній частці правої легені розміром до 5см, пневмофіброзними змінами та вогнищами дисемінації.

За період з 2000 року по 2006 рік в міському протитуберкульозному диспансері №1 м. Києва

запропонованим способом було обстежено 397 осіб. Серед них вогнищева форма була встановлена у 45 хворих, інфільтративна до 2 сегментів - у 88 осіб, дисемінована - у 57 осіб, інфільтративна з ураженням більше 2 сегментів - у 119 осіб і фіброзно-кавернозна форма - у 88 осіб. Цю ж групу було обстежено також за способом - прототипом. Результати обстежень в основному співпали. При цьому запропонований спосіб діагностики клінічної форми вперше виявленого туберкульозу легень є більш простим у виконанні, доступним, економічним та придатним для обстеження великої кількості людей.

Джерела інформації:

1. Зайцева С.І., Ющенко Л.П., Герасимова Т.Г., Матвієва С.Л. Новий спосіб діагностики туберкульозу // Український пульмонологічний журнал. - 2003. - №2 (40). - С.180-181.

1. Методические рекомендации по проведению иммунологических исследований при туберкулезе легких / Авербах М.М., Чернушенко Е.Ф., Литвинов В.И. и др. - Москва, 1984. - 84с.

2. Кноринг Б.Е., Берсок А. С., Сахарова И.Я. Распределение антигенов гистовместимости у больных туберкулезом легких в зависимости от характера течения заболевания и особенностей иммунного ответа / Проблемы туберкулеза. - 1995. - № 2. - С.16-19.