



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA

(11) 102026

(13) U

(51) МПК

G01N 33/48 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2015 03930**

(22) Дата подання заявки: **24.04.2015**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **12.10.2015**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **12.10.2015, Бюл.№ 19**

(72) Винахідник(и):

**Кондратюк Вадим Костянтинович (UA),
Полукчи Олександр Костянтинович (UA),
Бодня Катерина Ігорівна (UA)**

(73) Власник(и):

**ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ
ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ,
вул. Корчагінців, 58, м. Харків, 61176 (UA)**

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ МОЖЛИВОЇ ТЯЖКОСТІ ПЕРЕБІГУ ТРОПІЧНОЇ МАЛЯРІЇ (ТМ) У ОСІБ З НЕМАЛЯРІЙНОЇ ЗОНИ

(57) Реферат:

Спосіб визначення можливої тяжкості перебігу тропічної малярії у осіб з немалярійної зони включає визначення загальноклінічних показників, які були отримані в результаті первинного обстеження під час надходження до стаціонару та дослідження показників крові. При цьому додатково в сироватці крові визначають концентрацію прозапального цитокіну IL-1 β на 1-й, 4-й та 7-й день перебування в стаціонарі і при швидкому підвищенні IL-1 β (в 3 і більше разів) на 3-4 добу хвороби визначають середньотяжкий період захворювання, при тяжких формах захворювання визначають повільне зростанні рівня IL-1 β в сироватці крові.

UA 102026 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до паразитології, і може бути використана для визначення можливої тяжкості перебігу тропічної малярії для підвищення ефективності лікування у осіб з немалярійної зони та запобігання ускладнень.

Відомі експрес-тести, які технічно прості та дозволяють отримати результат досить швидко.

Ефективним методом діагностики тропічної малярії вже на початку захворювання є експрес-тест виробництва DAC-SpectroMed s. r. l. (Молдова) на наявність антигену до *P. falciparum*. Однак слід враховувати рівень паразитемії - при наявності менш 50 паразитів у 1 мкл крові можливі хибно-негативні результати. Але помилки можна запобігти при динамічному спостереженні за хворим з виконанням повторних аналізів. Експрес-тест на наявність сумарних антитіл до *P. falciparum*+*P. vivax*, незважаючи на високу специфічність, має дуже низьку чутливість, тому не може бути рекомендованим для використання для ранньої діагностики тропічної малярії. Цей метод є перспективним для епідеміологічних досліджень для виявлення осіб, що перенесли малярію після перебування в епідемічно небезпечних регіонах. Але він не дає змоги визначити тяжкість перебігу захворювання.

Діагностика тропічної малярії за клінічними даними, незважаючи на наявність кількох характерних ознак, що зустрічаються майже у всіх випадках, дуже складна у зв'язку з низькою специфічністю цих симптомів.

Головним діагностичним тестом для виявлення тропічної малярії є мікроскопічне дослідження з виявлення паразитів в товстій краплі крові та/або у мазках крові. Згідно з існуючими настановами та наказами таке дослідження проводиться всім пацієнтам з раптовим підвищенням температури, що знаходяться в епідемічно небезпечних регіонах Західної Африки. За рекомендаціями ВООЗ "золотим стандартом" діагностики малярії є мікроскопічний метод (Белова Е.Г. В Москве снова малярия / Е.Г. Белова, Н.В.Астафьева, С.А. Потекаева // Лечащий врач. - 2002. - №4. - С. 70-73).

Результати первинної діагностики цілком залежать від якості проведення мікроскопічного дослідження, яке, у свою чергу, залежить від майстерності лаборанта-дослідника. Тобто потрібно мати кваліфікованого фахівця, що має досвід роботи з дослідженням "товстої краплі", постійно підтримує свій фаховий рівень з мікроскопії та має відповідне лабораторне забезпечення. Спосіб не дозволяє виявити тяжкість перебігу ТМ.

При ТМ, як і при будь-якому інфекційному захворюванні, перебіг патологічного процесу залежить не тільки від патогенної дії *P.falciparum*, але й від імунної відповіді організму людини. Збудник малярії здатний викликати низку імунологічних реакцій, у тому числі й імунопатологічних, які спроможні розбалансувати імунну відповідь.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалення способу визначення можливої тяжкості перебігу тропічної малярії (ТМ) у осіб з немалярійної зони, в якому за рахунок дослідження додаткових показників досягається визначення порушень низки регуляторних механізмів із різним ступенем виразності та спрямованості.

Поставлена задача вирішується в способі визначення можливої тяжкості перебігу тропічної малярії у осіб з немалярійної зони, що включає визначення загальноклінічних показників, які були отримані в результаті первинного обстеження під час надходження до стаціонару та дослідження показників крові, в якому, згідно з корисною моделлю, додатково в сироватці крові визначають концентрацію прозапального цитокіну IL-1 β на 1-й, 4-й та 7-й день перебування в стаціонарі і при швидкому підвищенні IL-1 β (в 3 і більше рази) на 3-4 добу хвороби визначають середньотяжкий період захворювання, при тяжких формах захворювання визначають повільне зростання рівня IL-1 β в сироватці крові.

До ключових прозапальних цитокінів належить TL-1 β , який ініціює та регулює запальні процеси, активує нейтрофіли, Т- і В-лімфоцити, синтез білків гострої фази, інших цитокінів, має пірогенний ефект.

Цитокіни здатні брати участь в контролі розвитку і розмноження збудника хвороби. У захисних механізмах разом із специфічними антитілами передбачається участь стимулювання підвищеної продукції прозапальних цитокінів, яким надається певне значення в реалізації імунної відповіді на антигени збудника ТМ.

Можна припустити, що особливу роль у патогенезі формування тяжкості при ТМ відіграє IL-1 β . Його швидке підвищення (в 3 і більше разів) в перші дні хвороби знижує тяжкість перебігу хвороби, в той час як у пацієнтів із тяжкими формами, зростання рівня IL-1 β в сироватці крові відбувається значно повільніше.

Спосіб, що заявляється, здійснюють таким чином. При надходженні до лікарні здійснюють аналіз скарг хворих. У всіх випадках спостерігалися озноб, головний біль та загальна слабкість, майже у всіх випадках зменшення апетиту та порушення сну, рідше - біль у попереку, нудота та блювота. Серед об'єктивних ознак найбільш частими були запальні явища з боку верхніх

дихальних шляхів, гепатомегалія та спленомегалія. У всіх випадках спостерігалася підвищення температури тіла. В окремих випадках під час лабораторного дослідження виявлено кетонурію та гемоглобінурію, за іншими показниками суттєвих змін не виявлялося.

Тяжкість ТМ оцінено на підставі класифікації за клініко-лабораторними критеріями [Возианова Ж.І. Інфекційні і паразитарні хвороби: В 3 т. - К.: Здоров'я, 2001. - Т. 2. - С. 355-416]:

- легка - хворі з температурою тіла не вище 38,5 °С, озноби і поти виражені слабо, загальний стан відносно задовільний, озноби й поти помірні, паразитемія - до 1000 паразитів в 1 мкл (1-10 паразитів у 10 полях зору, паразитів не багато, але потрапляють у перших полях зору - «+», «++2), гемоглобін не нижче 130 г/л, еритроцити не менше $3,9 \times 10^{12}/л$;

- середньої тяжкості - хворі, у яких температура тіла становила 39 °С-40 °С, чітко виражені ознаки інтоксикації: загальна слабкість, виражені озноби, поти, головний біль, нудота, можлива блювота, в періоді аперексії зберігалася слабкість, головний біль. Паразитемія - до 10000 паразитів в 1 мкл (1-10 чи більше 10 у полі зору, паразити є в кожному полі зору, часто по декілька штук, багато - «+++», «++++») гемоглобін не нижче 70-115 г/л еритроцити $2,5-3,9 \times 10^{12}/л$;

- тяжка - хворі, у яких температура тіла становила 40 °С-41 °С, гарячкові пароксизми тривалі, періоди аперексії не виражені, сильний головний біль, нудота, блювання, порушення свідомості. Паразитемія - до 15000-20000 паразитів в 1 мкл (більше 100 паразитів у полі зору, усе поле зору засіяне паразитами, їх навіть важко перерахувати - «++++») гемоглобін не нижче 50 г/л, еритроцити до $1,5 \times 10^{12}/л$, можливі ускладнення - церебральна малярія, ендотоксичний шок (алгід), малярійний нефрит, гемоглобінурійна лихоманка.

Дослідження системи прозапальних цитокінів виконано у 38 пацієнтів ТМ, діагноз у яких підтверджено наявністю у мазках крові *P.falciparum*.

Перш за все проаналізовано концентрацію прозапального цитокіну IL-1 β . Концентрація IL-1 β в сироватці хворих на ТМ на початку захворювання при тяжкому захворюванні складала $3,39 \pm 0,63$ пк/мл, при середньо тяжкому - $5,55 \pm 0,43$ пк/мл; на 3-4-у добу - $4,52 \pm 0,71$ пк/мл та $16,94 \pm 1,23$ пк/мл; на 6-8 добу - $18,81 \pm 1,42$ пк/мл та $15,73 \pm 1,79$ пк/мл, відповідно. Тобто в усі терміни спостереження вона була статистично значимо більшою контрольних показників ($0,44 \pm 0,44$ пк/мл) ($P < 0,05$ за критерієм Ст'юдента для незалежних вибірок).

При порівнянні концентрації IL-1 β у хворих з тяжкою та середньотяжкою ТМ встановлено, що на початку захворювання (при надходженні до стаціонару) відмічалася статистично значиме підвищення цього показника при середньотяжкому захворюванні у порівнянні з тяжкими захворюванням ($P < 0,001$ за критерієм Ст'юдента для незалежних вибірок). На 3-4-у добу госпіталізації (4-5-у добу захворювання) у хворих ТМ відбувалося стрімке, майже в три рази, зростання концентрації IL-1 β в сироватці крові, в той час, як при тяжкій ТМ підвищення відбувалося повільніше - в 1,3 разу. Тому різниця показників між ними також була достовірною ($P < 0,001$ за критерієм Ст'юдента для незалежних вибірок). Отримані результати наведені у таблиці.

Таблиця

Концентрація цитокінів в сироватці крові хворих на ТМ (в пг/мл)

Термін дослідження	Тяжка форма (n=11)	Середньотяжка форма (n=27)	Контрольні значення (n=23)
	IL-1 β		
На початку захворювання	$3,39 \pm 0,63^{1,2}$	$5,55 \pm 0,43^1$	$0,44 \pm 0,14$
3-4 доба	$4,52 \pm 0,7^{1,2}$	$16,94 \pm 1,23^1$	
6-8 доба	$18,81 \pm 1,42^{1,2}$	$15,73 \pm 1,79^1$	

Примітки: 1. Статистично значима різниця ($P < 0,05$) у порівнянні з контрольними значеннями за критерієм Ст'юдента для незалежних вибірок.

2. Статистично значима різниця ($P < 0,05$) у порівнянні зі значеннями при тяжкій та середньотяжкій ТМ за критерієм Ст'юдента для незалежних вибірок.

В період ранньої реконвалесценції на 6-8-й день госпіталізації (7-8-й захворювання) у хворих з тяжкою ТМ також відбувалося стрімке збільшення концентрації IL-1 β (більш ніж в 4 рази у порівнянні з попереднім терміном дослідження), у той час при середньотяжкій ТМ, навпаки, спостерігалася хоча й не відчутне, але зниження концентрації IL-1 β . В цей термін

дослідження також спостерігалася статистично значима різниця між показниками при тяжкій та середньотяжкій ТМ ($P < 0,05$ за критерієм Стюдента для незалежних вибірок).

Узагальнюючи вищевикладене, можна констатувати, що перебіг ТМ залежить не тільки від властивостей паразита та процесів, пов'язаних з його життєвим циклом в організмі людини, насамперед цитоадгезії, секвестрації еритроцитів та розеткоутворення з подальшим порушенням локального кровотоку в життєво важливих органах, але і від виразності імунної захисної відповіді та процесів системної запальної відповіді в результаті активації цитокінового каскаду.

Таким чином, проведене дослідження підтверджує, що малярія є імунопатологічним захворюванням, що характеризується порушенням низки імунорегуляторних механізмів із різним ступенем вираженості та направленості. Швидке підвищення рівня ІЛ-1b в сироватці крові перші дні хвороби зменшує тяжкість хвороби, сприяє формуванню доброякісного перебігу.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб визначення можливої тяжкості перебігу тропічної малярії у осіб з немалярійної зони, що включає визначення загальноклінічних показників, які були отримані в результаті первинного обстеження під час надходження до стаціонару та дослідження показників крові, який **відрізняється** тим, що додатково в сироватці крові визначають концентрацію прозапального цитокіну ІЛ-1 β на 1-й, 4-й та 7-й день перебування в стаціонарі і при швидкому підвищенні ІЛ-1 β (в 3 і більше разів) на 3-4 добу хвороби визначають середньотяжкий період захворювання, при тяжких формах захворювання визначають повільне зростання рівня ІЛ-1b в сироватці крові.

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601