



УКРАЇНА

(19) UA (11) 14671 (13) U

(51) МПК (2006)

G01N 33/535

G01N 33/74

G01N 33/68

G01N 33/563

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ АЛЕРГОЗІВ У ДІТЕЙ

1

(21) u200511963

(22) 13.12.2005

(24) 15.05.2006

(46) 15.05.2006, Бюл. № 5, 2006 р.

(72) Трунова Ольга Арнольдівна, Куляс Валентина Михайлівна, Андрухей Світлана Василівна, Бухти-  
яров Едуард Вальтерович, Колеснікова Олена  
Вячеславівна(73) Трунова Ольга Арнольдівна, Куляс Валентина  
Михайлівна(57) 1. Спосіб діагностики алергозів у дітей, що  
включає клінічне обстеження та визначення в кро-  
ві пацієнта рівня загального сироваткового IgE,  
який **відрізняється** тим, що додатково визнача-  
ють величини концентрацій серотоніну та гістаміну

2

в крові, діагностичного індексу реакції гальмування міграції лейкоцитів із харчовими, побутовими, епі-дермальними та грибковими алергенами, і в разі, коли рівень загального сироваткового IgE та значення хоча б одного з додатково визначених трьох показників не відповідають фізіологічній нормі дитини, у неї діагностують алергоз.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що, коли не відповідають нормі рівень загального сироваткового IgE та значення одного з додатково визначених показників, у дитини діагностують алергоз з точністю до 50%, IgE та значення двох додатково визначених показників - з точністю до 75%, IgE та значення трьох додатково визначених показників - із точністю до 100%.

Корисна модель належить до медицини, точніше до алергології, і може бути використана для діагностики алергозів у дітей.

В останній час серйозну проблему для сучасної медицини представляє зростаючий негативний вплив шкідливих факторів зовнішнього середовища антропогенної природи на здоров'я дорослого і, особливо, дитячого населення України, що характеризується зміною імунологічних і генетичних показників, збільшенням числа хворих на алергози дітей, на такі як atopічний дерматит (АД) чи бронхіальна астма. У 65% хворих АД розвивається впродовж першого року життя і у 90% - до п'ятирічного віку. Уже в перші місяці життя у 5% дітей спостерігають прояви "раннього" варіанту АД, спричиненого спадковою передумовленістю та внутрішньоутробною сенсibiliзацією. Починаючи з дворічного віку, все частіше проявляється сполучення АД з респіраторним синдромом. Частота трансформації АД в бронхіальну астму складає від 10 до 20%, а їхнє сполучення - 24% [Ласиця О.І., Охотнікова О.М., Курашова О.М. Сучасні аспекти бронхіальної астми дитячого віку // Астма та алергія. - 2002. - №1. - С.44-49]. Поширеність АД серед

дітей в Україні складає від 0,8% до 8%. Також відзначають прогресування поширення АД. За даними російських авторів, в останні 10 років число дітей, що страждають на алергодерматози, збільшилось в 2,8 рази. Появу захворювання пов'язують з уродженою сенсibiliзацією та здатністю до утворення імуноглобулінів класу Е (IgE), однак негайний (реакіновий) тип алергійної реакції не єдиний в патогенезі АД. Найбільший інтерес в останні роки викликають порушення в клітинно-опосередкованій ланці імунітету (уповільнений тип алергійної реакції).

Відомий обраний за прототип спосіб діагностики алергозів у дітей шляхом клінічного обстеження та визначення в крові пацієнта рівня загального сироваткового IgE [И.Б. Резник и др. Диагностическое значение определения общего IgE при atopии у детей.-Лабораторное дело. - 1989. - №3. - С.20-24]. Хворих дітей обстежують в умовах стаціонару. Кров для визначення IgE беруть натще в об'ємі 1,0-1,5мл. Тестування здійснюють за допомогою імуноферментної тест-системи на основі полікліональних анти-IgE-антитіл фірми "Dynatech" (Швейцарія). Паралель-

(13) U

(11) 14671

(19) UA

но для визначення алергозу у хворих дітей їм проводять шкірне тестування алергенами *in vivo*, визначають наявність еозинофілії, випадки алергійних захворювань в сімейному анамнезі. В разі наявності сукупності найхарактерніших ознак алергозів рівень загального сироваткового IgE достовірно зростає. Тому за відомим способом визначення рівня загального сироваткового IgE у комплексі з клінічними дослідженнями та шкірним тестуванням рекомендують для діагностики алергозів у дітей.

Недоліками відомого способу діагностики алергозів у дітей є низька точність діагностики та небезпечність тестування для здоров'я дитини, оскільки:

- у дітей діагностують лише алергійну реакцію негайного типу і не діагностують алергійну реакцію уповільненого типу;

- метод не передбачає кількісні діагностичні дослідження;

- можливі провокації активності процесу та розвитку загальних алергійних реакцій на алерген, щодо якого здійснюють шкірне тестування *in vivo*.

Причиною низької точності діагностики за відомим способом є односторонність досліджень імунологічного стану організму пацієнта, а саме: враховують лише рівень IgE (реакцію негайного типу), комплексне ж дослідження імунного статусу хворої дитини, в тому числі реакції уповільненого типу, відсутнє. А шкірне тестування *in vivo* є небезпечним для здоров'я дитини.

В основу корисної моделі поставлено задачу в способі діагностики алергозів у дітей шляхом застосування комплексних методів визначення негайного та уповільненого типів алергійної реакції організму хворого на алерген *in vitro* забезпечити високу точність діагнозу та безпечність тестування. Спосіб, що заявляється, є високоточним (до 100% співпадіння результатів з клінічними спостереженнями) та безпечним, доступним, економічним, безболісним, зручним для хворого і лікаря.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі діагностики алергозів у дітей шляхом клінічного обстеження та визначення в крові пацієнта рівня загального сироваткового IgE новим є те, що додатково визначають величини концентрацій серотоніну та гістаміну в крові, діагностичного індексу реакції гальмування міграції лейкоцитів (РГМЛ) з харчовими, побутовими, епідермальними та грибковими алергенами, і в разі, коли рівень загального сироваткового IgE та значення хоча б одного з додатково визначених трьох показників не відповідають фізіологічній нормі дитини, у неї діагностують алергоз.

Новим в способі, що заявляється, є і те, що, коли не відповідають нормі рівень загального сироваткового IgE та значення одного з додатково визначених показників, у дитини діагностують алергоз з точністю до 50%, IgE та значення двох додатково визначених показників - з точністю до 75%, IgE та значення трьох додатково визначених показників - з точністю до 100%.

Між сукупністю ознак корисної моделі і технічним результатом, якого можна досягти при її реалізації, існує причинно-наслідковий зв'язок.

Традиційна алергодіагностика, до якої відноситься і прототип, базується на оцінці даних алергологічного анамнезу та результатах шкірних проб, а при необхідності - провокаційних тестів. Лабораторна діагностика (*in vitro*) має перевагу перед шкірним тестуванням (*in vivo*), оскільки з'являється можливість одночасного тестування великої кількості алергенів, котрому не заважає навіть маніфестація шкірного процесу, виключається можливість провокації активності процесу та розвитку загальних алергійних реакцій на алерген, щодо якого здійснюють тестування. Причиною недостатньої точності відомого способу діагностики є неврахування в ньому складності механізмів розвитку та різноманіття проявів алергозу. Відомим способом передбачене виявлення алергійної реакції тільки негайного типу. За характером імунологічної реакції на алерген, що є антигеном, алергійні реакції поділяють на реакції негайного типу, обумовлені переважно IgE, цитотоксичні, імунокомплексні реакції, та реакції уповільненого типу - клітиноопосередковані Т-залежні реакції з участю сенсibilізованих Т-лімфоцитів. Деякі алергени можуть викликати в організмі одночасно більше однієї реакції. У способі, що заявляється, використовують комплексне дослідження імунного статусу організму пацієнта: передбачено діагностування алергозу, що перебігає за реакцією негайного типу (визначення загального сироваткового IgE), за реакцією уповільненого типу (проведення РГМЛ), за реакцією медіаторів алергії (визначення гістаміну, серотоніну). Така комплексна діагностика дозволяє визначати алергоз з високою точністю (до 100%).

Для клінічної перевірки точності способу діагностики, що заявляється, були відібрані 200 дітей у віці від новонароджених до 14 років - пацієнтів Донецького дитячого алергоцентру. Діти страждали на алергоз або цей діагноз був попереднім (встановлений лише за клінічними ознаками). Основну групу (I) склали 160 піддослідних пацієнтів, яких діагностували за способом, що заявляється. Алергійний характер захворювання був уже встановлений до даних іспитів та підтверджений ефективністю антиалергійної терапії у 100 з них. Щодо інших 60 дітей з I групи лікарі мали підозру на алергоз. Групу (II) порівняння склали 40 дітей, алергійний характер захворювання у яких підозрювався. Пацієнтів групи II діагностували за відомим способом-прототипом. Алергоз діагностували в усіх 40 пацієнтів групи II за підвищеним рівнем IgE, за даними шкірного тестування, наявністю еозинофілії та випадків алергійних захворювань в сімейному анамнезі (див. таблицю 1). В усіх 160 пацієнтів I групи спочатку перевірили рівень загального сироваткового IgE. Він не відповідав нормі у 155 пацієнтів зі 160. У 5 дітей з групи I (підгрупа а) рівень IgE був у межах фізіологічної норми. Результати перевірки концентрації серотоніну відповідали нормі у 5 дітей групи Ia з нормальним рівнем IgE та ще у 16 групи Id зі 155 пацієнтів з рівнем IgE поза фізіологічною нормою.

Результати перевірки концентрації гістаміну відповідали нормі у 5 дітей групи Ia з нормальним рівнем IgE та ще у 24 дітей групи Ig з рівнем IgE та концентрацією серотоніну поза фізіологічними

нормами. З кров'ю всіх 160 дітей I групи провели РГМЛ з харчовими, побутовими, епідермальними та грибковими алергенами. За результатами РГМЛ підраховували та проаналізували діагностичні індекси. Їхня величина перебувала в межах норми у 5 дітей групи Ia з нормальним рівнем IgE, у 24 дітей групи Ig з рівнем IgE та концентрацією серотоніну поза фізіологічними нормами та ще у 80 пацієнтів групи Ib, у яких не відповідали нормі ні IgE, ні серотонін, ні гістамін. Отже (див. таблиці 1), у 5 пацієнтів групи Ia діагностували відсутність алергозу. У інших 155 пацієнтів групи I з різною точністю був встановлений алергоз за способом, що заявляється: у 51 - алергоз з очікуваною точністю до 100% (16), у 80 - з очікуваною точністю до 75% (Ib), у 24 - з очікуваною точністю до 50% (Ig).

Точність встановленого діагнозу за способом, що заявляється (група I) та відомим способом (група II) перевірили, співставляючи з відомим діагнозом алергозу у 100 дітей - пацієнтів Донецького дитячого алергоцентру. Інші 100 дітей, яких залучили до досліджень з невизначеним діагнозом, були піддані додатковим тестуванням. Їхній діагноз підтверджували або спростовували за ре-

зультатами десенсибілізуючої терапії та елімінаційної дієти (вживання харчових продуктів, що не містять алергенів), гігієнічних заходів з виключенням побутових алергенів і т.ін.

Перевірка точності діагнозу встановила (див. таблицю 1), що за відомим способом-прототипом вона складає 25%: діагноз підтверджено у 10 пацієнтів з 40 (група II). Правильність діагностики за способом, що заявляється, підтверджена в 100% випадків у пацієнтів групи Ia: скарги 5 маленьких пацієнтів з цієї підгрупи мають неалергічну природу (всі показники в нормі). Їм призначено додаткові тестування та встановлені інші причини захворювання, не пов'язані з алергією. У 100% випадків підтверджено діагноз у 51 пацієнта в групі Ib: всі показники не відповідають фізіологічній нормі тестованих дітей. В групі Ib підтверджено діагноз в 75% (у 60 дітей з 80) випадків: 3 з 4-х показників не відповідають нормі. В групі Ig підтверджено діагноз в 50% (у 12 дітей з 24) випадків: 2 з 4-х показників не відповідають нормі.

Порівняльна ефективність способу діагностики алергозу, що заявляється як корисна модель, та відомого способу-прототипу (n - число пацієнтів)

Таблиця 1

№ групи, n	Спосіб діагностики	Відповідність показника нормі (+), невідповідність нормі (-) у чол.	Діагностовано алергозу числа пацієнтів з очікуваною точністю діагнозу (до%)	Діагноз підтверджено у числа пацієнтів (%)
I n=160,	корисна модель	(а) 5 + + + + (б) 51 - - - - (в) 80 - - - + (г) 24 - - + +	(а) 5 - алергоз відсутній (б) 51 (до 100) (в) 80 (до 75) (г) 24 (до 50)	(а) 5 - алергоз відсутній (100) (б) 51 (100) (в) 60 (75) (г) 12 (50)
II n=40	прототип	40	40(100)	10(25)

Спосіб діагностики алергозів у дітей, що заявляється, реалізують наступним чином.

Дитині з підозрою на алергоз (шкірні висипи, кашель з астматичним компонентом і т.ін.) проводять клінічне обстеження. Потім натще шприцом з ліктьової вени беруть пробу крові в 8мл. Цю пробу розподіляють на 3 пробірки для 3-х подальших досліджень: 5мл, 2мл, 1мл. Пробу крові в 5мл з антикоагулянтом (цитратом натрію) перевіряють на РГМЛ з харчовими, побутовими, епідермальними (ТОВ "Алерген", Вінниця) та грибковими (НДІ епідеміології та мікробіології, Казань) алергенами за відомою методикою і за результатами РГМЛ розраховують діагностичний індекс, значення якого в нормі повинне бути вищим за 0,86 [Фрадкін В.А. Алергодіагностика in vitro.- М., Медицина. - 1975. - С.27-36]. Значення індексу нижче 0,86 свідчить про дію алергічної реакції уповільненого типу в організмі пацієнта. Паралельно в пробу крові пацієнта в 2мл додають препарат ЕДТА та центрифугують для відділення плазми. Одержану плазму тестують для визначення рівня загального сироваткового IgE за відомим імуноферментним методом, користуючись діагностичною тест-системою ЗАТ "АлкорБіо" (Санкт-Петербург, РФ) та прикладеною інструкцією виробника. Коли рівень загального сироваткового IgE перевищує значення фізіологічної норми, у дитини діагносту-

ють розвиток алергічної реакції негайного типу [Мельник А.А. Референтные значения лабораторных показателей у детей и взрослых / Справочник врача-лаборанта. - К.: "Книга Плюс", 2000-118с.].

Пробу крові пацієнта в 1мл з додаванням гепарину тестують на вміст медіаторів алергії - гістаміну та серотоніну за відомою методикою [Прошина Л.Я. Исследование гистамина и серотонина в одной пробе крови // Лаб.дело. - 1981. - №2. - С.90-93]. Авторами доведено, що розвиток помірної та сильної сенсibiliзації уповільненого типу тісно пов'язаний з підвищенням концентрацій серотоніну та гістаміну в крові пацієнта [Трунова О.А., Андрухей С.В., Куляс В.М. и др. Возможности лабораторной аллергологической диагностики при атопическом дерматите у детей. - Иммунология та алергология. - 2005. - №3. - С.39-43].

Одержані результати тестувань аналізують. Якщо рівень загального сироваткового IgE та хоча б один з трьох визначених показників (індекс РГМЛ, концентрація гістаміну чи серотоніну) не відповідають фізіологічній нормі дитини, у неї діагностують алергоз. Причому, коли не відповідає нормі рівень загального сироваткового IgE та ще один з додатково визначених показників, у дитини діагностують алергоз з точністю до 50%, IgE та два з додатково визначених показників - з точністю

до 75%, IgE та три з додатково визначених показників - з точністю до 100%.

Конкретні приклади реалізації способу, що заявляється.

Приклад 1. Хвору дівчинку Юлю Л., 3 років, мати привела на консультацію до дитячого алерголога Донецького дитячого алергоцентру. Юля скаржиться на висипання та свербіння в зоні обличчя, ліктьових та колінних згинів. Мати пов'язує загострення хвороби з прийомом в їжу малини, апельсинів, курячих яєць.

Дитячий алерголог для встановлення діагнозу призначив дослідження за способом-прототипом. Випадків алергії у родичів Юлі не встановлено. Шкірне тестування *in vivo* дівчинці не проводили через загострення хвороби, боячись можливої провокації активності процесу та розвитку загальних алергічних реакцій на алерген, щодо якого здійснюють шкірне тестування *in vivo*. Аналіз крові на визначення концентрації еозинофілів показав граничне значення норми: 1% [Козинец Г.И. Интерпретация анализов крови и мочи и их клиническое значение. - М.: "Мир", 2000. - С.36].

Дослідження рівня загального сироваткового IgE дало результат, який дещо перевищує фізіологічну норму для трирічної дитини: 61МО/мл (норма - менше 60МО/мл, [див. Мельник А.А. Референтные значения лабораторных показателей у детей и взрослых / Справочник врача-лаборанта. - К.: "Книга Плюс", 2000 - С.89].

Отже, для підтвердження попереднього діагнозу (алергоз) за способом-прототипом даних недостатньо: з чотирьох критеріїв не відповідає нормі лише один (IgE).

Тоді дівчинці Юлі провели діагностичне дослідження за способом, що заявляється. У неї натще шприцом з ліктьової вени взяли пробу крові в 8мл. Цю пробу розділили на 3 пробірки для 3-х подальших досліджень: 5мл, 2мл, 1мл. Пробу крові в

5мл з цитратом натрію перевірили на РГМЛ з алергенами малини, курячого яйця, апельсина. За одержаними результатами РГМЛ розраховували діагностичні індекси, які дорівнювали 0,60, 0,50, 0,43 відповідно. Значення індексу нижче 0,86 свідчить про дію алергічної реакції уповільненого типу в організмі Юлі. Паралельно в пробу крові в 2мл додали препарат ЕДТА та відділили плазму. Одержану плазму тестували для визначення рівня загального сироваткового IgE. Рівень загального сироваткового IgE у Юлі перевищував значення фізіологічної норми - 61МО/мл (норма - менше 60МО/мл), що свідчило про розвиток у дитини алергічної реакції негайного типу.

Пробу крові Юлі в 1мл з додаванням гепарину тестували на вміст медіаторів алергії - гістаміну та серотоніну. Встановлене значення концентрації гістаміну в крові Юлі перевищувало фізіологічну норму для трирічних дітей: гістамін - 0,15мкг/мл (в нормі 0,02-0,10мкг/мл, [див. Большая медицинская энциклопедия. - М.: «Советская энциклопедия», 1977. - Т.6. - С.50], а серотонін - 0,19мкг/мл - відповідав нормі (в нормі 0,05-0,20мкг/мл, див. там же: 1984. - Т.23. - С.205].

Одержані результати тестувань занесені до таблиці 2. Аналіз показав, що рівень загального сироваткового IgE і значення двох визначених показників (індекс РГМЛ, концентрація гістаміну) не відповідають фізіологічним нормам для трирічної дівчинки Юлі. Тому за способом, що заявляється, у неї діагностували алергоз з точністю до 75%. Дівчинці Юлі призначили антиалергічну терапію та дотримання елімінаційної дієти з виключенням харчових продуктів, що містять алергени малини, курячого яйця, апельсина. Після лікування шкірні висипання та свербіння зникли. Через місяць після закінчення антиалергічної терапії Юлі повторили діагностичні тестування за способом, що заявляється. Всі показники відповідали нормі (таблиці 2).

Таблиця 2

Результати діагностики алергозу у дівчинки Юлі Л., 3 роки.

Спосіб діагностики	№ п/п	Діагностичні показники	Значення діагностичних показників		
			до лікування	норма	після лікування
відомий	1	наявність алергії у близьких родичів	відсутня	відсутня	-
	2	еозинофіли, %	1	<1	-
	3	шкірне тестування	-	-	-
	4	IgE, МО/мл	61	<60	-
заявлений	1	IgE, МО/мл	61	<60	56
	2	індекси РГМЛ з алергенами малини, курячого яйця, апельсина	0,60; 0,50; 0,43	>0,86	0,88
	3	гістамін, мкг/мл	0,15	0,02-0,10	0,09
	4	серотонін, мкг/мл	0,19	0,05-0,20	0,17

Приклад 2. Хворий хлопчик Юрко С., 10 років, звернувся до дитячого алерголога Донецького дитячого алергоцентру. Юрко скаржився на утруднене дихання, ядуху при фізичному навантаженні, коли утруднювався видих.

Об'єктивно: в легенях пуерильне дихання (відповідає нормі). Проживає в несприятливих побутових умовах - стіни в помешканні вкриті пліснявим грибок. Дитячий алерголог для встановлення діагнозу призначив хлопчику дослідження за способом, що заявляється. Діагнос-

тичне тестування виконане аналогічно прикладу 1, окрім того, що РГМЛ проводили з алергенами пліснявого грибка, пір'я подушок, домашнього пилу.

Одержані результати тестувань занесені до таблиці 3. Аналіз показав, що рівень загального

сироваткового IgE і значення трьох визначених показників (індекс РГМЛ, концентрації гістаміну та серотоніну) не відповідали фізіологічним нормам для десятилітнього хлопчика Юрка. Тому за способом, що заявляється, у нього діагностували алергоз з точністю до 100%.

Таблиця 3

Результати діагностики алергозу у хлопчика Юрка С., 10 років.

Спосіб діагностики	№ п/п	Діагностичні показники	Значення діагностичних показників		
			до лікування	норма	після лікування
заявлений	1	IgE, МО/мл	67	<60	52
	2	індекси РГМЛ з алергенами пліснявого грибка, пера подушок, домашнього пилу	0,33; 0,65; 0,41	>0,86	0,90
	3	гістамін, мкг/мл	0,15	0,02-0,10	0,07
	4	серотонін, мкг/мл	0,23	0,05-0,20	0,19

Хлопчику Юрку призначили антиалергійну терапію та рекомендували поліпшення побутових умов з виключенням джерел алергенів. Після лікування проблем з диханням у пацієнта не ви-

никало. Через місяць після закінчення антиалергійної терапії Юрку повторили діагностичні тестування за способом, що заявляється. Всі показники відповідали нормі (таблиці 3).