



УКРАЇНА

(19) UA (11) 42284 (13) U
(51) МПК (2009)
G01N 33/48

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ДИФЕРЕНЦІЙНОЇ ДІАГНОСТИКИ ПІЄЛОНЕФРИТУ ТА ЦИСТИТУ У ДІТЕЙ З ІНФЕКЦІЄЮ СЕЧОВОЇ СИСТЕМИ

1

(21) u200901366

(22) 18.02.2009

(24) 25.06.2009

(46) 25.06.2009, Бюл.№ 12, 2009 р.

(72) БАГДАСАРОВА ІНГРЕТА ВАРТАНІВНА, МИГАЛЬ ЛЮДМИЛА ЯКИМІВНА, НІКУЛІНА ГАЛИНА ГРИГОРІВНА, ЛАВРЕНЧУК ОЛЬГА ВАСИЛІВНА, ФОМІНА СВІТЛАНА ПЕТРІВНА, ПЕТЕРБУРГСЬКИЙ ВОЛОДИМИР ФЕДОРОВИЧ, КОРОЛЬ ЛЕСЯ ВІКТОРІВНА, ДАЩЕНКО ОКСАНА ОЛЕКСАНДРІВНА

(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ НЕФРОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ", ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ УРОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ"

2

(57) Спосіб диференційної діагностики пієлонефриту та циститу у дітей з інфекцією сечової системи, що включає визначення рівня активності лізосомного ферменту N-ацетил-β-D-глюкозамінідази у сечі, який **відрізняється** тим, що рівень активності ферменту визначають у сечі дітей після фізіологічного сечовипускання та, при його збільшенні за контрольні значення (6,2-17,1 мкмоль/год/ммоль креатиніну), діагностують пієлонефрит, а, якщо рівень активності ферменту залишається у межах його контрольних значень, діагностують цистит.

Корисна модель відноситься до медицини, а саме до дитячої нефрології та дитячої урології і може бути використана для диференційної діагностики пієлонефриту та циститу у дітей з інфекцією сечової системи.

На сьогодні відсутні надійні методи топічної діагностики інфекцій сечової системи у дітей, особливо в ранньому віці. При малосимптомному або атиповому перебігу пієлонефриту клінічний стан хворого залишається задовільним, іноді відмічають неспецифічні симптоми хронічної інтоксикації, що утруднює діагностику. Так само і симптоми ураження нижніх відділів сечового тракту можуть маскувати прояви латентного перебігу пієлонефриту, особливо у дітей із зкомпрометованим імунним статусом. А дизуричні прояви не завжди можуть бути ознакою циститу, а проявом, наприклад, глістної інвазії, вульвіту, фімозу тощо.

Розвиток та прогресування пієлонефриту характеризують неспецифічним мікробно-запальним ураженням чашково-мискової системи з поширенням запалення на каналцевий епітелій та інтерстиціальну тканину нирок, що підтверджують результати морфологічних досліджень, відповідно до яких прогресування пієлонефриту супроводжується розширенням каналців та заповненням їх білковими циліндрами, гіалінозом клубочків та перигломерулярним фіброзом. Подальший розвиток

патологічного процесу характеризують, насамперед, ішемічні ураження нирок, особливо ушкодження міжчасточкової артерії та аферентної артеріоли. Наслідком названих процесів є активація лізосом тубулярного відділу нефрону. Отже, підвищення рівнів активності гідролітичних ферментів лізосомного походження у сечі можуть свідчити про наявність дисфункції каналцевого відділу нефрону, про розвиток вторинної тубулопатії та відповідно про "зацікавленість" ниркової тканини в патологічному процесі запального характеру. Щодо розвитку циститу, то відсутність збільшення рівнів активності умовно реноспецифічних ферментів лізосомного походження у сечі хворих дітей відносно контрольних (нормальних) значень може вірогідно характеризувати екстрауренальну лейкоцитурію та "інтактність" паренхіми нирок.

Відомо, що несвоєчасна та неадекватна терапія пієлонефриту призводить до хронізації та рецидивування запального процесу з подальшим розвитком зморщування нирок та прогресування хронічної ниркової недостатності у дитячому віці. Для вибору оптимальних шляхів лікування як пієлонефриту, так і циститу та зниження частоти їх рецидивів необхідно мати об'єктивні критерії диференційної діагностики цих захворювань у дітей з інфекцією сечової системи.

UA (19) 42284 (13) U

Відомий спосіб диференційної діагностики пієлонефриту та циститу у дітей (1), що базується на аналізі клінічних особливостей перебігу цих захворювань.

Недоліком способу є відсутність або невиразність клінічних особливостей, таких як лихоманка, інтоксикація, лейкоцитоз, дизурія, часті та болючі сечовипускання тощо, у разі нетипового перебігу хвороби.

Відомий також спосіб диференційної діагностики циститу та пієлонефриту у дітей (2), що ґрунтується на аналізі рівнів активності у сечі наступних ферментів - глутамілтранспептидази та загальної лактатдегідрогенази. У разі підвищення рівнів їх активності у сечі хворих дітей у 1,5-3 рази у порівнянні з віковою нормою діагностують цистит, у 5 та більш разів - пієлонефрит.

Недоліком способу є той факт, що вміст досліджуваних ферментів, крім нирок, у великій кількості є і в інших органах та тканинах організму, ураження яких може сприяти посиленому виходу їх спочатку в кров, а потім і підвищенню їх екскреції з сечею, тобто відсутня органоспецифічність цих ферментних тестів щодо паренхіми нирок та як слідство - недостатня їх діагностична чутливість та інформативність у хворих дітей з інфекцією сечової системи, а також їх залежність від віку дитини та необхідність обов'язкового діалізу порції сечі для дослідження, що певною мірою утруднює його застосування. Крім того, застосування двох різних у метаболічному плані ферментів потребує застосування різних наборів реактивів для їх визначення, що суттєво подовжує, утруднює та підвищує вартість обстеження.

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спосіб діагностики ступеня порушення функціонального стану паренхіми нирки у хворих на сечокам'яну хворобу (3), шляхом визначення у сечі рівня активності умовно реноспецифічного канальцевого ферменту лізосомного походження N-ацетил-β-D-глюкозамінідази.

Недоліком способу є те, що активність ферменту визначають у сечі з ниркової миски або сечоводу під час оперативного втручання у хворих урологічного профілю, що виключає можливість використання цього способу у дітей з інфекцією сечової системи, тобто у дітей, що лікуються у нефролога або педіатра.

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалити спосіб диференційної діагностики пієлонефриту та циститу у дітей з інфекцією сечової системи шляхом визначення у сечі хворих після фізіологічного сечовипускання рівнів активності лізосомного ферменту N-ацетил-β-D-глюкозамінідази, що дасть можливість залежно від кількісних величин показників ферментурії своєчасно встановити діагноз пієлонефриту або циститу та використовувати одержані дані для подальшої оптимальної лікувальної тактики ведення хворих та зниження частоти рецидивів захворювань.

Важливим є те, що визначення у сечі хворих дітей з інфекцією сечової системи активності саме лізосомного ферменту N-ацетил-β-D-глюкозамінідази, що на органному рівні має переважну локалізацію в нирках, на клітинному - у звивистих канальцях проксимального відділу нефро-

ну, на субклітинному - в лізосомах та має на цій підставі певні органоспецифічні щодо нирок властивості, забезпечує більш точну, більш надійну та більш об'єктивну, тобто більш інформативну, діагностику змін функціонального стану паренхіми нирки, зокрема нефротелію тубулярного відділу нефрону, під впливом запального процесу в нирках. Важливим також є те, що рівні активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази у сечі хворих не залежать від віку досліджуваних, що цей фермент не знайдено у формених елементах крові, тому в умовах лейкоцитурії або гематурії позаниркової етіології його активність у сечі не підвищується, а також те, що флора сечі не сприяє підвищенню активності цього ферменту навіть в умовах вираженої бактеріурії (4).

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб диференційної діагностики пієлонефриту та циститу у дітей з інфекцією сечової системи, що включає визначення рівня активності лізосомного ферменту N-ацетил-β-D-глюкозамінідази у сечі, згідно з корисною моделлю, рівень активності ферменту визначають у сечі дітей після фізіологічного сечовипускання, та при його збільшенні за контрольні значення (6,2-17,1 мкмоль/год/ммоль креатиніну) діагностують пієлонефрит, а, якщо рівень активності ферменту залишається у межах його контрольних значень, діагностують цистит.

Спосіб диференційної діагностики пієлонефриту та циститу у дітей з інфекцією сечової системи виконують наступним чином: для аналізу сечу збирають зранку після фізіологічного сечовипускання у пластикові пробірки для запобігання абсорбції ферменту на склі. Для визначення активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази в пробірці беруть 0,2 мл профільтрованої сечі, додають до них 0,3 мл 0,1 М цитратного буферу pH 4,15 та 0,2 мл субстрату, який включає 10 мМ розчин 4-нітрофеніл-2-ацетамідо-2-дезоксі-β-D-глюкопіранозиду у 0,1 М цитратному буфері pH 4,15. Проби інкубують 30 хвилин при 37°C, ферментативну реакцію зупиняють додаванням 0,8 мл 0,1 М розчину вуглекислого натрію. Оптичну щільність пара-нітрофенолу, що утворився, вимірюють на фотоелектроколориметрі при 400 нм проти контрольної проби, у яку розчин субстрату вносять після припинення ферментативної реакції. Активність N-ацетил-β-D-глюкозамінідази сечі розраховують у мкмольях пара-нітрофенолу, що утворився протягом 1 години, із розрахунку на 1 ммоль креатиніну сечі, вміст якого визначають за кольоровою реакцією Яффе з пікриновою кислотою.

Апробація способу, що заявляється, проведена у відділах дитячої нефрології ДУ "Інститут нефрології АМН України" та дитячої урології ДУ "Інститут урології АМН України" у стаціонарі та амбулаторно під час консультаційних прийомів у 117 дітей з інфекцією сечової системи віком від 2 до 13 років з верифікованим діагнозом - пієлонефрит (107 хворих) та цистит (10 хворих) та у 25 практично здорових дітей того ж віку з нормальними аналізами сечі та без захворювань нирок в анамнезі (група контролю). У всіх обстежених пацієнтів не було діагностовано порушень функції нирок.

Отримані результати показали, що у сечі здорових дітей активність N-ацетил-β-D-глюкозамінідази з урахуванням середньої арифметичної величини та її похибки ($M \pm m$) дорівнювала $11,64 \pm 0,72$ мкмоль/год/ммоль креатиніну, $\sigma = 3,61$. Межі фізіологічних, або контрольних, коливань для рівнів активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази з урахуванням середнього квадратичного відхилення ($M \pm 1,5 \sigma$) - величини, що характеризує ступінь варіювання будь-якого показника, становили від 6,2 до 17,1 мкмоль/год/ммоль креатиніну (5). Тобто, якщо активність N-ацетил-β-D-глюкозамінідази сечі реєструється у інтервалі від 6,2 до 17,1 мкмоль/год/ммоль креатиніну, то чисельні рівні її активності відповідають фізіологічним, або контрольним, значенням.

Індивідуальний аналіз результатів дослідження активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази у сечі дітей з інфекцією сечової системи показав, що у всіх дітей (100 %), хворих на пієлонефрит в активній стадії, величини активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази реєструвалися у величинах, що перебільшують межі її фізіологічних, або контрольних, величин (6,2-17,1 мкмоль/год/ммоль креатиніну), що підтверджує діагноз пієлонефриту в активній стадії у цих пацієнтів. І, навпаки, у всіх дітей (100 %), хворих на цистит, величини активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази реєструвалися у межах її фізіологічних, або контрольних, величин (6,2-17,1 мкмоль/год/ммоль креатиніну), що підтверджує діагноз циститу у цих дітей.

Точність способу: похибка у двох паралельних визначеннях активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази не перебільшує $\pm 4,1$ %.

Наводимо приклади практичного застосування запропонованого способу.

Приклад 1. Хвора Я, 6,5 років, і.х. №170. Клінічний діагноз: гострий необструктивний пієлонефрит, активна стадія (III ст.), без порушень функції нирки. Поступила зі скаргами на підвищення температури тіла до $37,7^{\circ}\text{C}$, біль у спині та масивну лейкоцитурію (все поле зору). Симптом Пастернацького - позитивний з обох боків. В анамнезі: анормалій сечових шляхів не виявлено; об'єктивно: стан дитини середньої важкості, АТ - $95/60$ мм рт. ст., живіт при пальпації неболючий, легені та серце - вікова норма. Загальний аналіз крові: Hb - $124,6$ г/л, Ер - $3,5 \times 10^{12}/\text{л}$, L - $5,6 \times 10^9/\text{л}$ (N - до $8,2 \times 10^9/\text{л}$): паличкоядерні - 11 %, сегментоядерні - 57 %, базофіли - 2 %, лімфоцити - 28 %, моноцити - 2 %; ШЗЕ - 20 мм/год (N - до 15 мм/год). Біохімічні показники крові: сечовина та креатинін - N. Загальний аналіз сечі: непрозора, білок - $0,66$ г/л, L - густо все п/з (N - 1-4 в п/з), бактерії - багато. Аналіз сечі за Нечипоренком: L - $20,5 \times 10^6/\text{л}$ (N - до $4 \times 10^6/\text{л}$). Бактеріологічне дослідження сечі: E. coli 10^6 КУО/мл. Мікційна цистографія та УЗД нирок - без особливостей, сечоводи не розширені.

При застосуванні способу, що заявляється, виявлено, що активність N-ацетил-β-D-глюкозамінідази сечі становила $60,15$ мкмоль/год/ммоль креатиніну, тобто набагато перевищував відповідні значення контролю ($11,64 \pm 0,72$ мкмоль/год/ммоль креатиніну), а також набагато перевищував верхню межу фізіологічних,

або контрольних, коливань ферменту ($17,1$ мкмоль/год/ммоль креатиніну), що свідчить про наявність активного запального процесу в нирках. Після застосування відповідної антибактеріальної терапії клініко-лабораторні показники нормалізувалися. Хвора клінічно одужала. Рекомендовано диспансерне спостереження у нефролога або педіатра.

Приклад 2. Хвора О., 9 років, і.х. № 502. Клінічний діагноз: гострий необструктивний пієлонефрит, активна стадія (I ст.), без порушень функції нирки. Поступила зі скаргами на одноразове підвищення температури тіла до 38°C , незначний та непостійний біль у животі та попереку. Із анамнезу - аномалій сечовивідної системи не виявлено; об'єктивно: стан дитини середньої важкості, АТ - $90/60$ мм рт. ст., пальпація живота - н/б, легені та серце - вікова норма. Загальний аналіз крові: Hb - $133,8$ г/л, Ер - $4,32 \times 10^{12}/\text{л}$, L - $12,0 \times 10^9/\text{л}$ (N - до $8,2 \times 10^9/\text{л}$): паличкоядерні - 14 %, сегментоядерні - 57 %, еозинофіли - 2 %, лімфоцити - 26 %, моноцити - 1 %; ШЗЕ - 25 мм/год (N - до 15 мм/год). Біохімічні показники крові: сечовина та креатинін - N. Загальний аналіз сечі: непрозора, білок - $0,033$ г/л, L - $60-70$ у п/з (N - 1-4 в п/з). Аналіз сечі за Зимницьким: питома вага $1010-1016$, аналіз сечі за Нечипоренком: L - $10,5 \times 10^6/\text{л}$ (N - до $4 \times 10^6/\text{л}$). На мікційній цистограмі - без особливостей. УЗД сечової системи: права нирка - 88×33 мм, ліва нирка - 83×36 мм. Паренхіматозно-лоханковий індекс: справа=22:11, зліва=24:12, сечоводи не розширені.

При застосуванні способу, що заявляється, виявлено, що активність лізосомного ферменту N-ацетил-β-D-глюкозамінідази сечі становила $25,84$ мкмоль/год/ммоль креатиніну, тобто більше, ніж в 2 рази перевищувала середнє значення контролю ($11,64 \pm 0,72$ мкмоль/год/ммоль креатиніну), та була значно вищою за верхню межу фізіологічних коливань ($17,1$ мкмоль/год/ммоль креатиніну), що, згідно запропонованому способу, свідчить про наявність запального, тобто пієлонефритичного процесу, та підтверджує діагноз гострого пієлонефриту. Після застосування відповідної антибактеріальної терапії клініко-лабораторні показники нормалізувалися, хвора клінічно одужала. Рекомендовано диспансерне спостереження у нефролога (педіатра).

Приклад 3. Хвора Л., 3 років та 5 місяців, амбулаторна карта № 53. Клінічний діагноз: інфекція сечових шляхів; гострий цистит. Звернулась зі скаргами на одноразове підвищення температури тіла до $37,0^{\circ}\text{C}$, періодичні болі у животі та часті сечовипускання. Об'єктивно: стан хворої задовільний, температура тіла $36,9^{\circ}\text{C}$, шкіра бліда, набряків немає, Ps - 98 ударів за хв, тони серця ритмічні, АТ - $90/65$ мм рт. ст., симптом Пастернацького з обох боків негативний, сечовипускання часті (до 9 разів на добу), сеча мутна. Загальний аналіз крові: Hb - 105 г/л, Ер - $3,5 \times 10^{12}/\text{л}$, L - $5,9 \times 10^9/\text{л}$ (N до $8,2 \times 10^9/\text{л}$): паличкоядерні - 1 %, сегментоядерні - 55 %, еозинофіли - 1 %, лімфоцити - 42 %, моноцити - 1 %, ШЗЕ - 7 мм/год (N до 15 мм/год). Загальний аналіз сечі: питома вага - 1008 , сеча мутна, реакція кисла, білок - (сліди), L - $30-40$ у полі зору

(N - 1-4 в п/з), Ер. - 0-1-2 у п/з, бактерії - (+). УЗД нирок та сечовивідних шляхів - N за віком.

При застосуванні способу, що заявляється, виявлено, що активність N-ацетил-β-D-глюкозамінідази сечі становить 7,05 мкмоль/год/ммоль креатиніну, тобто показник, що досліджувався, знаходився у межах відповідних фізіологічних, або контрольних, значень (від 6,2 до 17,1 мкмоль/год/ммоль креатиніну), що, згідно запропонованому способу, свідчить про відсутність запального процесу у паренхімі нирок та наявність у даної пацієнтки лейкоцитурії позаниркової етіології, тобто підтверджує діагноз гострого циститу. Після застосування відповідного адекватного лікування клініко-лабораторні показники нормалізувалися, хвора клінічно одужала.

Приклад 4. Хвора І., 5,5 років, амбулаторна карта № 77. Клінічний діагноз: інфекція сечових шляхів; гострий цистит. Звернулася зі скаргами на підвищення температури тіла до 37,1-37,2°C, болі у животі, часті та болючі сечовипускання. В анамнезі: аномалій сечовидільної системи не виявлено. Об'єктивно: стан задовільний, температура тіла 37,2°C, шкіряні покрови бліді, набряків немає, пульс - 92 ударів за хв., тони серця ясні, ритмічні, АТ - 95/60 мм рт. ст., симптом Пастернацького з обох боків негативний, сечовипускання часті (до 8-10 разів на добу), болючі, сеча мутна. Загальний аналіз крові: Н - 118 г/л, Ер. - $4,1 \times 10^{12}$ /л, L - $5,5 \times 10^9$ /л (N - до $8,2 \times 10^9$ /л): паличкоядерні - 2 %, сегментоядерні - 46 %, еозинофіли - 21 %, лімфоцити - 29 %, моноцити - 2 %, ШЗЕ -15 мм/год (N - до 15 мм/год). Загальний аналіз сечі: питома вага - 1005, сеча мутна, реакція кисла, білок - 0,033 г/л, L - негусто все п/з (N - 1-4 в п/з), Ер. - 0-1 у п/з, бактерії - (++) , слиз - (+). УЗД нирок та сечових шляхів - вікова N.

При застосуванні способу, що заявляється, виявлено, що активність N-ацетил-β-D-глюкозамінідази сечі становила 12,87 мкмоль/год/ммоль креатиніну, тобто показник, що досліджувався, знаходився у межах відповідних фізіологічних, або контрольних, значень (від 6,2 до 17,1 мкмоль/год/ммоль креатиніну), що, згідно запропонованому способу, свідчить про відсутність запального процесу у паренхімі нирок та наявність у даної пацієнтки інфекції сечової системи позаниркового походження, що підтверджує діагноз гострого циститу. Після застосування адекватного лікування клініко-лабораторні показники нормалізувалися, хвора клінічно одужала.

З наведених прикладів видно, що у всіх чотирьох хворих дітей з інфекцією сечової системи за допомогою тільки клініко-лабораторних показників (скарги, температура тіла, показники лейкоцитозу, лейкоцитарної формули, ШЗЕ, лейкоцитурії тощо), які характеризують загальну відповідь організму на патологічний чинник, та візуалізаційних методів обстеження (наприклад, УЗД) провести чітку та об'єктивну межу між запальним процесом у паренхімі нирок, тобто піелонефритом, та запальним

процесом у слизовій оболонці сечового міхура, тобто циститом, не уявляється можливим. Застосування ж способу, що заявляється, свідчать про те, що рівень активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази у сечі дітей, хворих на піелонефрит, як з I-м, так і з III-м ступенем активності запального процесу є суттєво вищим за верхню межу його фізіологічних, або контрольних, коливань (6,2-17,1 мкмоль/год/ммоль креатиніну), у той же час у сечі дітей, хворих на цистит, рівні активності цього ферменту визначається у межах його контрольних значень. Установлена закономірність може слугувати диференційно-діагностичним критерієм у разі необхідності проведення диференційної діагностики піелонефриту та циститу у дітей з інфекцією сечової системи, що необхідно враховувати поряд з іншими клініко-лабораторними показниками для оптимізації застосування подальших схем терапевтичних заходів.

Вагомою перевагою способу, що заявляється, перед способом, що взятий нами за прототип, є його абсолютна доступність та безпечність для хворого (біологічним матеріалом для ферментативного аналізу слугує сеча із сечового міхура після фізіологічного сечовипускання), що дозволяє лікарю за необхідності використовувати його неодноразово.

Таким чином, спосіб диференційної діагностики піелонефриту та циститу у дітей з інфекцією сечової системи є точним, абсолютно безпечним для хворого, нескладним у виконанні, добре відтворюваним та діагностично інформативним: діагностична ефективність способу дорівнює 89,5 %.

Джерела інформації, прийняті до уваги при експертизі:

1. Паунова С.С. Инфекция мочевой системы у детей (этиология, патогенез, клиника). Учебно-методическое пособие. - М., 2002. - 16 с.

2. Коломеец Н.Ю., Аверьянова Н.И., Косарева П.В. Способ дифференциальной диагностики цистита и пиелонефрита // Патент на изобретение № 2241223 С1, RU. МПК 7 G01N33/48. № 2003120009/15, 2003. 07.01. Оpubл. 2004.11.27. - 5 с.

3. Деклараційний патент на корисну модель №37485, Україна. Спосіб діагностики ступеня порушення функціонального стану паренхіми нирки у хворих на сечокам'яну хворобу / В.В. Черненко, Л.Я. Мигаль, Г.Г. Нікуліна, Д.А. Щербак, Н.І. Желтовська, В.Й. Савчук // МПК (2006), G01N33/48. № u200809027, 10.07.2008. Оpubл. 25.11.2008. Бюл. - 2008. - № 22. - 5 с. (прототип).

4. Диагностическое значение исследования активности N-ацетил-β-D-глюкозаминидазы в моче (обзор литературы) / Н.И. Бабаева, И.Я. Липицкая, Н.Д. Творогова, В.Н. Титов // Лабор. дело. - 1991. - с. 9-16.

5. Власов В.В. Эффективность диагностических исследований. - М: Медицина, 1988. - с. 180.

