



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **77416**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 33/48 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2012 09999**

(22) Дата подання заявки: **20.08.2012**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **11.02.2013**

(46) Публікація відомостей **11.02.2013, Бюл.№ 3**
про видачу патенту:

(72) Винахідник(и):

**Гоженко Анатолій Іванович (UA),
Лиходід Олександр Миколайович (UA)**

(73) Власник(и):

**Гоженко Анатолій Іванович,
вул. Канатна, 92, м. Одеса, 65039 (UA),
Лиходід Олександр Миколайович,
вул. Гайдара, 24, кв. 104, м. Одеса, 65078
(UA)**

(74) Представник:

Єфременко Наталія Іванівна

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ЛАТЕНТНОГО ПІЄЛОНЕФРИТУ

(57) Реферат:

Спосіб діагностики латентного пієлонефриту включає проведення імпресійно-цитологічного дослідження сечі. В сечі додатково визначають співвідношення субпопуляції імунокомпетентних клітин CD38 і CD45 і при збільшенні кількості CD38, у порівнянні з нормою, судять про наявність латентного пієлонефриту.

UA 77416 U

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме урології та нефрології і призначена для діагностики латентного пієлонефриту.

Відомий спосіб диференційної діагностики гострого пієлонефриту згідно з патентом України № 29341 А. Даний спосіб включає біохімічне дослідження сечі хворого, в якій визначається кількість малонового діальдегіду і при його показникові $4,82 \pm 0,62$ ммоль/д діагностують серозну стадію гострого пієлонефриту, а при $6,79 \pm 0,82$ ммоль/д - гнійну. До недоліків даного способу можна віднести обмеженість його застосування, оскільки за допомогою даного способу неможливо діагностувати латентний перебіг пієлонефриту.

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спосіб діагностики ступеня активності пієлонефритичного процесу у дітей згідно з патентом України № 82170. Даний спосіб передбачає визначення активності ферментів у сечі хворого на пієлонефрит, який відрізняється тим, що визначають рівень активності термостабільного канальцевого ферменту N-ацетил-D-глюкозамінідази В лізосомного походження в сечі дітей, та при його збільшенні вище за контрольні значення у 1,5-3,4 разу діагностують перший або мінімальний ступінь, у 3,5-5,4 - другий або помірний та при збільшенні у 5,5 та більше разів - третій або максимальний ступінь активності пієлонефритичного процесу. Даний спосіб вибраний нами як найближчий аналог. Спосіб, що заявляється і спосіб - найближчий аналог збігаються за ознакою дослідження сечі.

В основу корисної моделі поставлена задача створити спосіб діагностики латентного пієлонефриту за рахунок аналізу показників, які не використовувалися раніше.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі діагностики латентного пієлонефриту, що включає проведення імпресіонно-цитологічного дослідження сечі, причому в сечі додатково визначають співвідношення субпопуляції лімфоцитів CD38 і CD45 за допомогою моноклональних антитіл і при збільшенні кількості лімфоцитів CD38 в межах 12-16 %, а CD45 - в межах 10-24 % у порівнянні з нормою судять про наявність латентного пієлонефриту.

Новим у способу, що заявляється, є використання інформативного показника (визначення субпопуляції лімфоцитів CD38 і CD45), що не застосовувалося раніше при діагностиці латентного пієлонефриту.

Спосіб здійснюється таким чином:

Після відповідного туалету зовнішніх статевих органів роблять забір сечі у стерильний епіндорф одноразовим катетером Нелатона в обсязі 20 мл, потім визначають субпопуляції лімфоцитів сечі за допомогою імунного комплексу пероксидаза - антипероксидаза. Для приготування забуферного фізіологічного розчину до 100 мл стандартного фізіологічного розчину і NaCl (0, 9 %) додають 6 мл 0,5 м фосфатного буфера (використовується буфер виробництва фірми Simko Ltd (України) з рН 7,2-7,4. Для приготування розчину фікол 9,9 г сухої речовини фікол розчиняють в 100 мл дистильованої води, після чого додають 20 мл 40 % розчину верографіну (верографін в ампулах, виробництва фірми KRKA, Словаччина), щільність розчину перевіряють ареометром, вона складає 1,077. Вимірювання виконуються в наступному порядку: 1 мл. сечі розбавляють фізіологічним розчином у співвідношенні 1: 2 і нашаровують на середовище для виділення лімфоцитів (фікол-верографін, щільність 1,077) з розрахунку 2 частини сечі на 2 частини фікол. Суміш центрифугують 40 хв. при 2000 об/хв., при кімнатній температурі. Обережно збирають шар клітин з поверхні розділу сеча - фікол, суспендується в 5 обсягах фізіологічного розчину і центрифугують 15 хв. при 1800 об/хв. при кімнатній температурі. Зливають надосадову рідину, додають фізіологічний розчин, ресуспендують і центрифугують при 1000 об/хв., при кімнатній температурі. Відмиті лімфоцити ресуспендують і розводять фізіологічним розчином, доводячи їх до концентрації 2-4 10 кл/мкл.

Отримують цитологічний препарат, на який наносять в зону реакції 100 мкл комплексу пероксидаза хрому - моноклональні антитіла до пероксидази хрому і інкубують протягом однієї години при кімнатній температурі. Препарати відмивають послідовним зануренням скла в 2 склянки з забуферним фізіологічним розчином. Надлишок розчину видаляють обережним прикладанням фільтрованого паперу, препарат дофарбовували метиленовим зеленим.

Визначають активність пероксидази хрому для ідентифікації різних субпопуляцій лімфоцитів.

Клітини, що виявляються антигеном, зв'язавшись з пероксидазою хрому, мають по краю цитоплазми темний обідок коричневого кольору. Проводиться облік реакції за допомогою мікроскопування при збільшенні у 420 разів.

Наводимо приклад конкретного виконання способу.

Приклад 1.

Хвора М., 26 років, історія хвороби N 3222. Була прийнята у відділення урології 07.06.2011 р. із скаргами на помірну болючість в попереково-крижовій області. Пацієнтка пов'язувала біль з фізичним навантаженням, після якої неодноразово відзначає больовий симптом. З анамнезу з'ясувалося, що раніше (близько 2-х років назад) лікувалася з приводу гострого пієлонефриту. В

умовах стаціонарного обстеження і лікування хворій виконані наступні загальноклінічні дослідження:

Загальний аналіз сечі: колір солом'яно-жовтий, прозора, реакція слабокисла, білка немає, глюкози не виявлено, білірубін немає, кетонів тіл немає, плоского епітелію небагато, перехідного і ниркового немає, лейкоцити 6-7, еритроцитів немає, циліндрів (гіалінових, зернистих, воскоподібних, лейкоцитарних, еритроцитарних і епітеліальних) немає, солей та інших елементів немає, бактерії є, грибки (дріжджові і найпростіші) не виявлені.

Загальний аналіз крові: гемоглобін - 95, ШОЕ - 13, еритроцитів - 3.24, кольоровий показник - 0,85, лейкоцитів - 5,1, мієлоцити не виявлені, метамієлоцити не виявлені, нейтрофіли паличкоядерні - 1, нейтрофіли - не виявлені, сегментоядерні - 56, лімфоцити - 33, моноцити - 7, еозинофіли - 2, базофіли - 1, плазмоцити - не виявлено.

Біохімічне дослідження крові: загальний білок 74, тимолова проба 3,8, сечовина 4,7, креатинін 82, АЛТ 43, АСТ 35, лужна фосфатаза 67, α - амілаза 46, глюкоза 5,6, білірубін прямий / непрямий 4/12,

Аналіз сечі за Нечипоренко: кількість лейкоцитів 500, еритроцитів 0.

Бактеріологічний посів сечі на флору: E. Coli - ступінь обсіменіння 10^5 мікробних тіл в 1 мл. Додатково були виконані такі дослідження:

УЗД нирок - права нирка - розмір $12.2 \times 6.3 \times 5.3$, контур чіткий, паренхіма однорідна на полюсах 17 мм, середній сегмент 15-17 мм, ЧЛС розширена до 4,5 см, положення звичайне, об'ємних утворень не виявлено. Ліва нирка - розмір $11.2 \times 5.8 \times 4.1$, контур чіткий, паренхіма однорідна на полюсах 19 мм, середній сегмент 19 мм, ЧЛС не розширена, положення звичайне, об'ємних утворень не виявлено.

Радіоренографія + діуретична проба. РФП - I 131-гіпурат. активність 0,24 МБК. Права нирка - "обструктивний" тип RRT протягом 15 хв., функція паренхіми знижена, діуретична проба слабопозитивна протягом ще 10 хв. дослідження. Ліва нирка - секреція активна, екскреція дещо сповільнена, нерівномірна, діуретична проба позитивна.

РКТ нирок - аномалія розвитку сечовидільної системи (СВС), додаткові нижньополярні ниркові артерії з обох сторін, правобічний гідронефроз II ст.

Враховуючи анамнез і тривалість захворювання припустили наявність у хворої пієлонефриту поза загостренням на тлі аномалії розвитку СВС, що ускладнилася гідронефрозом, проте дані клініко-лабораторних показників (загальноклінічні дослідження сечі і крові) не підтверджують однозначно наявність пієлонефриту. З метою виявлення латентного перебігу пієлонефриту хворій провели дослідження субпопуляції імункомпетентних клітин сечі за допомогою маркерів CD38 і CD45 згідно з методикою, що надана вище, враховуючи значення CD38 як показника активації і проліферації клітин та CD45 як показника загальної лейкоцитарної активності.

В результаті дослідження за наведеною вище методикою була виявлена кількість лімфоцитів сечі CD38 - 15 %, CD45 - 21 %.

На основі отриманих даних хворій було призначено патогенетично обґрунтоване лікування. При обстеженні та лікуванні пацієнтки М. медичним персоналом були вжиті заходи, спрямовані на забезпечення її безпеки. При обстеженні персонал дотримувався морально-етичної норми, відповідно до принципів Гельсінської Декларації прав людини, конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину, відповідних законів України.

Спосіб, що заявляється, був застосований у 20 хворих різного віку з латентним перебігом пієлонефриту, який був діагностований шляхом визначення кількості імункомпетентних клітин CD38 і CD45.

Чутливість даного способу склала 90 %, специфічність 85 %, що свідчить про його ефективність.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб діагностики латентного пієлонефриту, що включає проведення імпресійно-цитологічного дослідження сечі, який **відрізняється** тим, що в сечі додатково визначають співвідношення субпопуляції імункомпетентних клітин CD38 і CD45 і при збільшенні кількості CD38 в межах 12-16 %, а CD45 - в межах 10-24 %, у порівнянні з нормою, судять про наявність латентного пієлонефриту.

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

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

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