



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 110383

(13) U

(51) МПК

G01N 33/48 (2006.01)

A61K 31/198 (2006.01)

A61P 13/12 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ****(21)** Номер заявки: **u 2016 02955****(22)** Дата подання заявки: **23.03.2016****(24)** Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **10.10.2016****(46)** Публікація відомостей
про видачу патенту: **10.10.2016, Бюл.№ 19****(72)** Винахідник(и):**Нікуліна Галина Григорівна (UA),
Мигаль Людмила Якимівна (UA),
Сербіна Ірина Євгенівна (UA),
Багдасарова Інгретта Вартанівна (UA),
Король Леся Вікторівна (UA),
Петербургський Володимир Федорович
(UA),
Лавренчук Ольга Василівна (UA),
Фоміна Світлана Петрівна (UA)****(73)** Власник(и):**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ
НЕФРОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ",
вул. Дегтярівська, 17-в, м. Київ, 04050 (UA),
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ
УРОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ",
вул. В. Винниченка, 9-а, м. Київ, 04053 (UA)****(54) СПОСІБ ТОПІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ІНФЕКЦІЙ СЕЧОВОЇ СИСТЕМИ У ДІТЕЙ****(57)** Реферат:

Спосіб топічної діагностики інфекцій сечової системи у дітей, який включає визначення рівня активності канальцевого ферменту у сечі дітей після фізіологічного сечовипускання, причому у сечі дітей визначають активність ферменту γ -глутамілтранспептидази та при його збільшенні за контрольні значення діагностують пієлонефрит, а якщо рівень активності цього ферменту залишається у межах його контрольних значень, діагностують цистит.

UA 110383 U

Спосіб належить до медицини, а саме до дитячої нефрології та дитячої урології, і може бути використаний для топічної діагностики інфекцій сечової системи у дітей та оптимізації на цій підставі їх адекватного лікування.

На сьогодні відсутні абсолютно надійні методи топічної діагностики інфекцій сечової системи у дітей, особливо в ранньому віці. Під цим терміном мають на увазі наявність клінічних проявів запалення сечової системи внаслідок бактеріальної колонізації без визначення топіки ураження. Як відомо, інфекції сечової системи у структурі інфекційної патології дитячого віку займають друге місце після гострих респіраторних захворювань. У той же час термін "інфекції сечової системи" не є достатньо коректним, бо він лише вказує на наявність запального процесу у сечовій системі без уточнення рівня її ураження. Найчастіше вже стан дитини дає можливість диференційного діагнозу: за умов запально-мікробного ураження нирок, тобто пієлонефриту, з'являються ознаки інтоксикації, лихоманка, лейкоцитоз, які, як правило, не супроводжують цистит. Але 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 з компрометованим імунним статусом. А дизуричні прояви не завжди можуть бути ознакою циститу, а проявом, наприклад, глистної інвазії, вульвіту, фімозу тощо.

Пієлонефрит - неспецифічне мікробно-запальне захворювання нирок, при якому в патологічний процес включені ниркова миска та чашечки з поширенням запалення на канальцевий епітелій та інтерстиціальну тканину нирок, а також клубочки та ниркові судини, що підтверджують результати морфологічних досліджень, відповідно до яких прогресування пієлонефриту супроводжується розширенням канальців та заповненням їх білковими циліндрами, гіалінозом клубочків та перигломерулярним фіброзом. Подальший розвиток патологічного процесу характеризується, насамперед, ішемічним ураженням нирок, особливо ушкоджуються міжчасточкові артерії та аферентні артеріоли. Наслідком названих процесів є активація ферментів тубулярного відділу нефрону. Отже, підвищення рівнів активності ферментів у сечі, особливо з реноспецифічними властивостями, можуть свідчити про наявність дисфункції канальцевого 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 у сечі хворих дітей відносно контрольних (нормальних) значень може вірогідно характеризувати екстрауренальну лейкоцитурію та "інтактність" паренхіми нирок. Несвоєчасна та неадекватна терапія пієлонефриту, як відомо, призводить до хронізації та рецидивування запального процесу в нирках з подальшим розвитком їх зморщування та прогресування хронічної ниркової недостатності у дитячому віці. У той же час цистит, тобто мікробно-запальне захворювання сечового міхура, також не є "легкою" та безпечною для дитячого організму хворобою. Для вибору оптимальних шляхів лікування як пієлонефриту, так і циститу та зниження відповідно частоти їх рецидивів уявляється важливим мати об'єктивні критерії топічної діагностики цих захворювань у дітей з інфекцією сечових шляхів, тобто від правильно встановленого топічного діагнозу залежать особливості лікувальної тактики і, відповідно, ефективність терапевтичних заходів.

Відомий спосіб диференційної діагностики інфекцій сечової системи з рецидивуючим перебігом у жінок (1), що базується на аналізі активності у сечі умовно органоспецифічного щодо нирок ферменту трансамідази, яку у сечі практично здорових дорослих осіб взагалі не реєструють.

Недоліком способу є те, що результати, що отримані у дорослих пацієнтів, не завжди можна використовувати у пацієнтів дитячого віку. Так, активність цього ферменту, яку практично не реєструють у сечі дорослих осіб, може виявлятися у сечі дітей, особливо дітей молодшого віку.

Відомий також спосіб диференційної діагностики пієлонефриту та циститу у дітей з інфекцією сечової системи (2), що взятий за прототип, який базується на аналізі рівнів активності лізосомного ферменту N-ацетил- β -D-глюкозамінідази, що має умовно реноспецифічні властивості, у сечі дітей після фізіологічного сечовипускання та залежно від їх кількісних величин діагностують пієлонефрит або цистит.

Недоліком способу є те, що як субстрат ферментативної реакції використовують 4-нітрофеніл-2-ацетамідо-2-дезоксид- β -D-глюкопіранозид, який обмежений у використанні в клінічній практиці.

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалити спосіб топічної діагностики інфекцій сечової системи у дітей шляхом визначення у сечі хворих після фізіологічного сечовипускання рівнів активності канальцевого ферменту γ -глутамілтранспептидази, що дасть

можливість залежно від їх кількісних величин своєчасно встановити діагноз пієлонефриту або циститу та використовувати одержані дані для оптимізації подальшого адекватного лікування та зниження частоти рецидивів цих захворювань.

Важливим є те, що визначення у сечі хворих дітей з інфекцією сечової системи активності саме канальцевого ферменту γ -глутамілтранспептидази, що на органному рівні має переважну локалізацію в нирках, на клітинному - у звивистих канальцях проксимального відділу нефрону (активність ферменту в епітелії проксимальних ниркових канальців є найвищою в організмі людини, перевищує таку у клітинах печінки у 25 разів, а в сироватці крові - у декілька тисяч разів), на субклітинному - виявляють в основному в мембранах щіткової облямівки клітин, що мають високу секреторну або поглинальну здатність, та мають 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.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб топичної діагностики інфекцій сечової системи у дітей, який включає визначення рівня активності канальцевого ферменту у сечі дітей після фізіологічного сечовипускання, згідно з корисної моделлю, у сечі дітей визначають активність ферменту γ -глутамілтранспептидази та при його збільшенні за контрольні значення діагностують пієлонефрит, а якщо рівень активності залишається у межах його контрольних значень, діагностують цистит.

Спосіб топичної діагностики інфекцій сечової системи у дітей виконують наступним чином: сечу збирають у вранішні години, з 6.00 до 9.00 годин ранку, у пластикові пробірки (для запобігання абсорбції ферменту на склі) після фізіологічного сечовипускання, центрифугують 10 хвилин при 1500 об/хв. Для визначення активності ферменту γ -глутамілтранспептидази використовують стандартні набори вітчизняного виробництва, для чого в пробірку беруть 0,5 мл стандартного субстратно-буферного розчину, приведенного до температури 37 °C, і додають 0,1 мл сечі, вміст пробірки перемішують і інкубують при 37 °C 30 хвилин, ферментативну реакцію припиняють додаванням 3,0 мл 10 % розчину оцтової кислоти, контрольну пробу ставлять так само, як і дослідну, але сечу додають після інкубації, оптичну щільність дослідної проби вимірюють на фотоелектроколометрі проти контрольної проби при 400-430 нм в кюветі з довжиною оптичного шляху 1,0 см, розрахунок активності γ -глутамілтранспептидази проводять за калібрувальним графіком, для побудови якого готують розведення із стандартного розчину паранітроаніліну і виражають у мкмоль паранітроаніліну, що утворився протягом 1 години із розрахунку на 1 ммоль креатиніну сечі, вміст якого визначають за кольоровою реакцією Яффе з пікриною кислотою.

Апробація способу, що заявляється, проведена у відділах дитячої нефрології ДУ "Інститут нефрології НАМН України" та дитячої урології ДУ "Інститут урології НАМН України" (у стаціонарі та амбулаторно під час консультаційних прийомів) та у лабораторії біохімії у 149 дітей (переважно дівчатки) з інфекцією сечової системи віком від 2 до 13 років з верифікованим діагнозом - пієлонефрит (132 хворих) та цистит (17 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 γ -глутамілтранспептидази з урахуванням середньої арифметичної величини та її похибки ($M \pm m$) дорівнює $22,9 \pm 2,0$ мкмоль/год./ммоль креатиніну, $\sigma = 10,0$. Межі фізіологічних, або контрольних, коливань для рівнів активності γ -глутамілтранспептидази з урахуванням середнього квадратичного відхилення - $M \pm 1,5 \sigma$ (3) - величини, що характеризує ступінь варіювання будь-якого показника, становлять від 7,9 до 37,9 мкмоль/год./ммоль креатиніну. Тобто, якщо активність γ -глутамілтранспептидази сечі реєструють у інтервалі від 7,9 до 37,9 мкмоль/год./ммоль креатиніну, то чисельні рівні її активності відповідають фізіологічним, або контрольним (референтним), значенням.

Індивідуальний аналіз результатів дослідження активності γ -глутамілтранспептидази у сечі дітей з інфекцією сечових шляхів, показав, що у всіх дітей (100 %), хворих на пієлонефрит в активній стадії, рівні активності γ -глутамілтранспептидази реєструються у величинах, що перебільшують межі її фізіологічних, або контрольних, величин, що підтверджує діагноз пієлонефриту в активній стадії у цих пацієнтів, і, навпаки, у всіх дітей (100 %), хворих на цистит, рівні активності γ -глутамілтранспептидази реєструють у межах її фізіологічних, або контрольних, величин, що підтверджує у них діагноз циститу.

Точність способу: похибка у двох паралельних визначеннях активності γ -глутамілтранспептидази не перебільшує $\pm 6,7$ %.

Наводимо приклади практичного застосування запропонованого способу.

Приклад 1.

Хвора О., 9 років, і.х. № 502. Клінічний діагноз: гострий необструктивний пієлонефрит, активна стадія (І ст.), без порушень функції нирки. Госпіталізована зі скаргами на одноразове підвищення температури тіла до 38 °С, незначний та непостійний біль у животі та попереку. Із анамнезу: аномалій сечовивідної системи не виявлено. Об'єктивно: стан дитини середньої тяжкості, АТ-90/60 мм рт. ст. Пальпація живота - н/б, легені та серце - вікова норма. Загальний аналіз крові: Hb-133,8 г/л, Ер - $4,32 \times 10^{12}/л$, L- $12,0 \times 10^9/л$ (N - до $8,2 \times 10^9/л$): 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- $10,5 \times 10^6/л$ (N - до $4 \times 10^6/л$), на мікційній цистограмі - без особливостей, УЗД сечової системи: права нирка - 88×33 мм, ліва - 83×36 мм, паренхіматозно-лоханковий індекс: справа = 22:11, зліва = 24:12, сечоводи не розширені. При застосуванні способу, що заявляється, виявлено, що активність каналцевого ферменту γ-глутамілтранспептидази сечі становить 47,98 мкмоль/год./ммоль креатиніну, тобто майже в 2 рази перевищує середнє значення контролю ($22,9 \pm 2,0$ мкмоль/год./ммоль креатиніну), та є значно вищою за верхню межу фізіологічних коливань ($37,9$ мкмоль/год./ммоль креатиніну), що, згідно з запропонованим способом, свідчить про наявність запального, тобто пієлонефритичного процесу.

Після застосування відповідної адекватної антибактеріальної терапії клініко-лабораторні показники нормалізувалися, хвора клінічно одужала. Рекомендовано диспансерне спостереження у нефролога (педіатра).

Приклад 2.

Хвора Л., 3 років та 5 місяців, амбулаторна карта № 53. Клінічний діагноз: інфекція сечових шляхів; гострий цистит. Звернулася зі скаргами на одноразове підвищення температури тіла до 37,0 °С, періодичні болі у животі та часті сечовипускання. Об'єктивно: стан хворої задовільний, температура тіла 36,9 °С, шкіра бліда, набряків немає, Рс-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 каламутна. Загальний аналіз крові: Hb-105 г/л, Ер. - $3,5 \times 10^{12}/л$, L- $5,9 \times 10^9/л$ (N до $8,2 \times 10^9/л$): паличкоядерні - 1 %, сегментоядерні - 55 %, еозинофіли - 1 %, лімфоцити - 42 %, моноцити - 1 %, ШОЕ - 7 мм/год. (N до 15 мм/год.). Загальний аналіз сечі: питома вага - 1005, сеча каламутна, 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 γ-глутамілтранспептидази сечі становить 27,5 мкмоль/год./ммоль креатиніну, тобто знаходиться у межах відповідних фізіологічних, або контрольних, значень (від 7,9 до 37,9 мкмоль/год./ммоль креатиніну), що, згідно з запропонованим способом, свідчить про відсутність запального процесу у паренхімі нирок та наявність у даної пацієнтки діагнозу гострого циститу. Після застосування відповідного адекватного лікування клініко-лабораторні показники нормалізувалися, хвора клінічно одужала. Рекомендовано диспансерне спостереження у педіатра за місцем проживання.

З наведених прикладів видно, що у обох 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 (УЗД, мікційна цистограма), провести чітку та об'єктивну межу між запальним процесом у паренхімі нирок, тобто пієлонефритом, та запальним процесом у слизовій оболонці сечового міхура, тобто циститом, не уявляється можливим. Застосування ж способу, що заявляється, дозволяє вірогідно діагностувати у кожної хворої дитини з інфекцією сечової системи пієлонефрит або цистит, тобто дозволяє встановити топіку інфекційно-запального ураження сечової системи та провести диференційну діагностику цих захворювань, що необхідно враховувати, поряд з іншими клініко-лабораторними показниками, для оптимізації застосування подальших схем терапевтичних заходів. Наведені вище приклади свідчать про те, що рівень активності γ-глутамілтранспептидази у сечі дітей, хворих на пієлонефрит, вже у хворих з I ступенем активності запального процесу є суттєво вищим за верхню межу його фізіологічних, або контрольних, коливань, 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 топічної діагностики пієлонефриту чи циститу у дітей з інфекцією сечової системи.

Вагомою перевагою способу, що заявляється, є його економічність (використовуються реактиви вітчизняного виробництва) та доступність на цій підставі для використання у будь-якій

клініко-діагностичній лабораторії, що дозволяє лікарю своєчасно провести топічну діагностику інфекції сечової системи у дітей, своєчасно встановити діагноз пієлонефриту або циститу та відповідно своєчасно призначати адекватну протизапальну терапію. Безпечність (неінвазивність) та доступність цього способу дозволяє за необхідності використовувати його неодноразово. Важливим також є використання середнього квадратичного відхилення ($M \pm 1,5 \sigma$) для встановлення меж референтних (контрольних) коливань для показника, що досліджується.

Таким чином, спосіб топічної діагностики інфекцій сечової системи у дітей є точним, економічним, безпечним для хворого, нескладним у виконанні, доступним для будь-якої клініко-діагностичної лабораторії, добре відтворюваним та діагностично інформативним: діагностична ефективність способу дорівнює 85,7 %.

Джерела інформації:

1. Пат. № 70924, UA, МПК G01N 33/48, A61P 13/12 (2006.01). Спосіб диференційної діагностики інфекцій сечової системи з рецидивуючим перебігом у жінок /М.О. Колесник, Л.В. Король, Л.Я. Мигаль, Н.М. Степанова, О.А. Романенко; ДУ "ІН НАМН України".- № u201115428, 27.12.2011. Оpub. 25.06.2012, Бюл. № 12. -4 с.

2. Пат. № 42284, UA, МПК (2009), G01N 33/48. Спосіб диференційної діагностики пієлонефриту та циститу у дітей з інфекцією сечової системи /І.В. Багдасарова, Л.Я. Мигаль, Г.Г. Нікуліна, О.В. Лавренчук, С.П. Фоміна, В.Ф. Петербургський, Л.В. Король, О.О. Дашенко; ДУ "ІНАМН України", ДУ "ІНУАМН України". -№ u200901366, 18.02.2009. Оpub. 25.06.2009, Бюл. № 12. -4 с. (прототип).

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб топічної діагностики інфекцій сечової системи у дітей, який включає визначення рівня активності канальцевого ферменту у сечі дітей після фізіологічного сечовипускання, який **відрізняється** тим, що у сечі дітей визначають активність ферменту γ -глутамілтранспептидази та при його збільшенні за контрольні значення діагностують пієлонефрит, а якщо рівень активності цього ферменту залишається у межах його контрольних значень, діагностують цистит.

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

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