



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **70924**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 33/48 (2006.01)

A61P 13/12 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2011 15428	(72) Винахідник(и): Колесник Микола Олексійович (UA), Король Леся Вікторівна (UA), Мигаль Людмила Якимівна (UA), Степанова Наталя Михайлівна (UA), Романенко Оксана Антонівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 27.12.2011	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.06.2012	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.06.2012, Бюл.№ 12	(73) Власник(и): ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ НЕФРОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ", вул. Дегтярівська, 17-в, м. Київ, 04050 (UA)

(54) СПОСІБ ДИФЕРЕНЦІЙНОЇ ДІАГНОСТИКИ ІНФЕКЦІЙ СЕЧОВОЇ СИСТЕМИ З РЕЦИДИВУЮЧИМ ПЕРЕБІГОМ У ЖІНОК

(57) Реферат:

Спосіб диференційної діагностики інфекцій сечової системи з рецидивуючим перебігом у жінок включає визначення активності каналцевого ферменту у сечі. У сечі жінок після фізіологічного сечовипускання визначають активність мітохондріального ферменту трансамідази та, якщо його активність у сечі хворих реєструють, діагностують піелонефрит, а якщо не реєструють - цистит.

UA 70924 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до нефрології та урології, і може бути використана для диференційної діагностики пієлонефриту та циститу у жінок з рецидивуючим перебігом інфекцій сечової системи та оптимізації на цій підставі їх адекватного лікування.

Інфекції сечової системи належать до найпоширеніших захворювань людини. Під цим терміном розуміють наявність клінічних проявів запалення сечової системи внаслідок бактеріальної колонізації без визначення топіки ураження. Діагноз "інфекція сечової системи" може бути використаний при першому зверненні хворої до лікаря, але протягом наступних декількох днів має бути визначений топічно: пієлонефрит чи цистит. Необхідність розмежування інфекцій сечової системи обумовлена, перш за все, об'ємом та шляхом введення антибактеріальних засобів. Розвиток та прогресування пієлонефриту характеризується неспецифічним мікробно-запальним ураженням чашечково-мискової системи з поширенням запалення на каналцевий епітелій та інтерстиціальну тканину нирок, що супроводжується розвитком ішемії паренхіми нирок. Наслідком названих процесів є активація ферментних систем тубулярного відділу нефрону. Тобто, поява у сечі ферментів, що взагалі не визначаються у здорових осіб, свідчить про наявність дисфункції каналцевого відділу нефрону, розвиток вторинної тубулопатії та відповідно про "зацікавленість" ниркової тканини в запальному процесі. Щодо розвитку циститу - запального процесу у слизовій оболонці сечового міхура, то відсутність у сечі тих ферментів, які не виявляються у осіб без патології нирок, може вірогідно характеризувати екстрауренальну лейкоцитурію та "інтактність" паренхіми нирок. Отже, для вибору оптимальних шляхів лікування як пієлонефриту, так і циститу та зниження відповідно частоти їх рецидивів, являється важливим мати об'єктивні критерії диференційної діагностики цих захворювань у жінок з інфекцією сечової системи.

Відомий спосіб диференційної діагностики циститу та пієлонефриту у дітей [1], який ґрунтується на аналізі рівнів активності у сечі таких ферментів, як глутамілтранспептидаза та загальна лактатдегідрогеназа. У разі підвищення їх рівнів у сечі хворих дітей у 1,5-3 рази у порівнянні з віковою нормою діагностують цистит, у 5 та більше разів - пієлонефрит.

Недоліком способу є той факт, що вміст досліджуваних ферментів, крім нирок, у великих кількостях є і в інших органах та тканинах організму, ураження яких може сприяти підсиленому виходу їх спочатку в кров, а потім і підвищенню їх екскреції з сечею; тобто відсутня органоспецифічність цих ферментних тестів щодо паренхіми нирок та як наслідок - недостатня їх діагностична чутливість та інформативність у хворих дітей з інфекцією сечової системи. До недоліків цього способу належить також необхідність обов'язкового діалізу порції сечі для дослідження, що певною мірою утруднює його застосування.

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спосіб диференційної діагностики пієлонефриту та циститу у дітей з інфекцією сечової системи [2], який включає визначення у сечі після фізіологічного сечовипускання рівня активності умовно реноспецифічного каналцевого ферменту лізосомного походження N-ацетил- β -D-глюкозамінідази (прототип).

Недоліком способу є те, що активність цього ферменту визначають у сечі не тільки хворих з патологією нирок, а також і у сечі практично здорових осіб, а результати, що отримані у пацієнтів дитячого віку, не завжди можна використовувати у дорослих хворих.

В основу корисної моделі поставлена задача підвищити точність та удосконалити спосіб диференційної діагностики інфекцій сечової системи з рецидивуючим перебігом у жінок шляхом визначення у сечі після фізіологічного сечовипускання активності умовно органоспецифічного щодо паренхіми нирок ферменту трансамідази (L-аргінін: гліцинамідинотрансферази, КФ 2.1.4.1), яку у сечі практично здорових осіб взагалі не реєструють, що надає можливість своєчасно діагностувати топіку ураження: цистит, пієлонефрит та відповідно вжити необхідних терапевтичних заходів.

Важливим є те, що визначення у сечі жінок з інфекцією сечової системи активності саме трансамідази - ферменту, який у сечі осіб без патології нирок взагалі не виявляється та на органному рівні має переважну локалізацію в нирках, на клітинному - в епітелії проксимальних каналців нефрону, на субклітинному - у мітохондріях. На цій підставі певні органоспецифічні щодо нирок властивості трансамідази забезпечують більш точну, більш надійну та більш об'єктивну, а отже і більш інформативну діагностику стану паренхіми нирок, зокрема нефротелію тубулярного відділу нефрону. Важливим є також те, що своєрідна морфологічна будова проксимальних каналців паренхіми нирки сприяє виходу за межі клітини мітохондріальних ферментів навіть за умов мінімального ушкодження каналцевого епітелію. Цей фермент також не знайдено у формених елементах крові, тому в умовах лейкоцитурії або гематурії позаниркової етіології його активність у сечі не підвищується; флора сечі також не сприяє підвищенню активності цього ферменту.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб диференційної діагностики інфекцій сечової системи з рецидивуючим перебігом у жінок, що включає визначення активності каналцевого ферменту у сечі, згідно з корисною моделлю, у сечі жінок після фізіологічного сечовипускання визначають активність мітохондріального ферменту трансамідази, та, якщо його активність у сечі хворих реєструють, діагностують пієлонефрит, а якщо не реєструють - цистит.

Спосіб диференційної діагностики інфекцій сечової системи з рецидивуючим перебігом у жінок виконують наступним чином: сечу для аналізу збирають після фізіологічного сечовипускання вранці, бажано у пластикові пробірки (для запобігання абсорбції ферменту на склі).

Для визначення активності трансамідази в центрифужну пробірку вносять 0,35 мл 0,007 М розчину L-канаваніну- H_2SO_4 (готують на 0,14 М фосфатному буфері, pH 7,5), 0,35 мл 0,007 М розчину L-орнітину-HCl (готують на 0,14 М фосфатному буфері, pH 7,5) та здійснюють преінкубацію протягом 15 хв. при 37 °C у водяній бані, потім у дослідну пробу вносять 0,2 мл профільтрованої сечі, суміш інкубують протягом 60 хв. при 37 °C. У контрольну пробу джерело ферменту (сечу) додають після інкубації. Реакцію зупиняють додаванням 0,1 мл 50 % розчину трихлороцтової кислоти. Для осадження білків проби центрифугують при 3000 об./хв. 20 хв. Потім 0,5 мл надосадової рідини із дослідної та контрольної проб відбирають у окремі пробірки, доводять водою до 1,0 мл та здійснюють колориметричне визначення L-аргініну, що утворився в результаті ферментативної реакції, за модифікованою реакцією Сакагучи. Для цього до 1,0 мл розчину, що вміщує L-аргінін у дослідній та контрольній пробах, додають 2,0 мл розчину 2N NaOH, енергійно струшують та приливають 1,0 мл 0,02 % розчину 8-оксихіноліну (готують перед застосуванням із 0,2 % спиртового розчину розведенням його водою у 10 разів), ретельно перемішують і вносять по 1,0 мл гіпоброміту натрію (готують додаванням 0,05 мл бром до 100 мл 0,5N NaOH), негайно струшують та відразу добавляють по 1,0 мл 40 % розчину сечовини (реактиви для здійснення реакції Сакагучи обов'язково тримають у холодильній камері). Колориметрують через 6-10 с на фотоелектроколориметрі при 490 нм (кювети - 10 мм) проти води. Колір розчину, що утворився в результаті ферментативної реакції, при кімнатній температурі не є стійким, але є стійким на протязі декількох годин, якщо проби помістити у льодяну баню. Активність трансамідази є пропорційною різниці екстинцій між дослідним та контрольним визначеннями. Вміст L-аргініну, що утворився під час ферментативної реакції, визначають за калібрувальним графіком. Активність ферменту виражають у ммольх L-аргініну, що утворився за 1 годину інкубації при 37 °C від сечі.

Апробація способу, що заявляється, проведена у відділі нефрології та діалізу і у лабораторії біохімії ДУ "Інститут нефрології НАМН України" у 67 жінок з інфекцією сечової системи віком від 17 до 63 років з верифікованим діагнозом - хронічний пієлонефрит з рецидивуючим перебігом (52 хворих) та хронічний цистит з рецидивуючим перебігом (15 хворих) та у 20 практично здорових жінок того ж віку з нормальними аналізами сечі, без захворювань нирок в анамнезі (група контролю). Середній вік хворих становить $32,5 \pm 4,2$ років. Тривалість захворювання від 2 до 18 років і в середньому складає $6,5 \pm 1,7$ років. Верифікацію діагнозу здійснюють на підставі оцінки скарг, даних анамнезу, клініко-лабораторного та інструментального досліджень нирок. Визначають також рівні добової протеїнурії, лейкоцитурії та бактеріурії. Критеріями включення до дослідження були наявність бактеріурії більш 10^3 КУО/мл та часте рецидування (більше 3 разів на рік). Критеріями виключення пацієнток із дослідження були: вагітність та лактація, наявність ознак обструкції сечових шляхів, зниження швидкості клубочкової фільтрації. Ферментативні дослідження проводять до призначення хворим антибактеріальної терапії.

Отримані результати показали, що у сечі здорових жінок активність трансамідази не реєструють.

Індивідуальний аналіз результатів дослідження активності трансамідази у сечі жінок з інфекцією сечової системи показав, що у хворих на хронічний пієлонефрит реєструють активність трансамідази, яка становить у середньому $0,041 \pm 0,003$ ммоль/(год.л), що підтверджує діагноз хронічного пієлонефриту, і, навпаки, у жінок із хронічним циститом активність трансамідази, як і у практично здорових осіб (група контролю), не реєструють, що підтверджує діагноз хронічного циститу у цих хворих. Точність способу: похибка у двох паралельних визначеннях активності трансамідази не перебільшує $\pm 5,3$ %.

Наводимо приклади практичного застосування запропонованого способу.

Приклад 1. Хвора П-ко, 24 роки, тематична карта № 294. Звернулася зі скаргами на дизурію та періодичний біль у надлобковій ділянці. Хворіє з 16 років, впродовж останніх двох років рецидиви кожні 2-3 тижні. Загальний аналіз крові: $L-6,5 \times 10^9$ /л; ШОЕ - 12 мм/год.; С-реактивний протеїн - 10,9. Загальний аналіз сечі: непрозора, білок - 0,09 г/л; L-15-20 у п/з; бактерії - багато. Бактеріологічне дослідження сечі: $E. coli \times 10^6$ КУО/мл. Попередній діагноз: хронічна хвороба

нирок I стадії: пієлонефрит, рецидивуючий перебіг. При застосуванні способу, що заявляється, виявлено, що активність трансамідази до лікування становила 0,04 ммоль/(год·л), що свідчить про наявність активного запального процесу у паренхімі нирок. Додаткове обстеження підтвердило ураження нирок, що дозволило підтвердити діагноз: хронічна хвороба нирок I ст., неускладнений пієлонефрит, рецидивуючий перебіг. Після призначення протягом 14 діб курсу антибактеріального лікування (цефіксим) згідно з результатами встановленої чутливості скарги у хворої зникли; у загальних аналізах крові та сечі патології не виявлено. Культуральне дослідження сечі росту мікрофлори не виявило. Хворій призначена профілактична терапія: нітрофурантоїн 50 мг/добу впродовж 5 днів на тиждень протягом 6 місяців з наступним контрольним обстеженням. При плановому (контрольному) обстеженні через півроку рецидивів пієлонефриту не констатовано.

Приклад 2. Хвора К-ва, 41 рік, тематична карта № 269. Звернулася зі скаргами на відчуття болю, печії та дискомфорту під час сечовипускання протягом останніх 4 діб, біль у попереку зліва. Хворіє впродовж півроку, за цей період відбулося 3 рецидиви захворювання. Загальний аналіз крові: L- $10,3 \times 10^9$ /л; ШОЕ - 2 мм/год.; Загальний аналіз сечі: мутна, білок - 0,03 г/л; L-10-15 у п/з, у скупченні до 20; бактерії - багато. Бактеріологічне дослідження сечі: E. coli $\times 10^3$ КУО/мл. Попередній діагноз: хронічна хвороба нирок I стадії, пієлонефрит, рецидивуючий перебіг. При застосуванні способу, що заявляється, виявлено, що активність трансамідази до лікування не реєструється, що свідчить про відсутність активного запального процесу у паренхімі нирок, тобто ймовірно вказує на наявність запального процесу у сечовому міхурі. З метою уточнення топічного діагнозу хворій було проведено динамічну реносцинтиграфію з ДМСО та виключено ураження нирок. Отже, запропонований спосіб дозволив виключити діагноз "хронічний пієлонефрит" та встановити "хронічний рецидивуючий цистит". Хворій призначена відповідна терапія, скарги зникли. При плановому обстеженні через півроку рецидивів не констатовано.

Приклад 3. Хвора Ф-Ку 31 рік, тематична карта № 272. Звернулася зі скаргами на дизурію та часте сечовипускання. Хворіє впродовж 3 років, рецидиви у середньому 1 раз на 2 місяці, які хвора пов'язує зі зміною статевого партнера та активним статевим життям. Неодноразово проходила короткострокове (5-7 діб) антибактеріальне лікування. Загальний аналіз крові: L- $6,8 \times 10^9$ /л; ШОЕ - 8 мм/год.; Загальний аналіз сечі: мутна, білок - 0,1 г/л; L - все п/з, еритроцити - 20-30 у п/з; бактерії - багато. Бактеріологічне дослідження сечі: E. Faecalis $\times 10^5$ КУО/мл. Попередній діагноз: хронічний неускладнений цистит, рецидивуючий перебіг. При застосуванні способу, що заявляється, виявлено, що активність трансамідази до лікування становила 0,045 ммоль/(год·л), що свідчить про наявність активного запального процесу у паренхімі нирок. Додаткове обстеження підтвердило ураження нирок, що дозволило встановити діагноз: хронічна хвороба нирок I ст., неускладнений пієлонефрит, рецидивуючий перебіг. Після призначення протягом 14 діб курсу антибактеріального лікування (цефіксим) згідно з результатами встановленої чутливості, скарги у хворої зникли; у загальних аналізах крові та сечі патології не виявлено. Культуральне дослідження сечі росту мікрофлори не виявило. Хворій призначена профілактична терапія з використанням журавлини (500 мл морсу) впродовж 5 днів на тиждень протягом 6 місяців з наступним контрольним обстеженням. При плановому (контрольному) обстеженні через півроку рецидивів пієлонефриту не констатовано.

З наведених прикладів видно, що у всіх трьох жінок з рецидивуючим перебігом інфекції сечової системи за допомогою загальних клініко-лабораторних показників (скарги, підвищення температури тіла, лейкоцитоз, підвищення ШОЕ, лейкоцитурії тощо), які характеризують загальну відповідь організму на патологічний чинник, провести чітку та об'єктивну межу між запальним процесом у паренхімі нирок та запальним процесом у слизовій оболонці сечового міхура не уявляється можливим. Застосування ж запропонованого способу диференційної діагностики у жінок з рецидивуючим перебігом інфекцій сечової системи дозволяє у кожному конкретному випадку вірогідно диференціювати пієлонефрит та цистит, тобто дозволяє провести топічну діагностику цих захворювань, що, в свою чергу, забезпечує адекватну лікувальну тактику.

Отже, застосування способу, що заявляється, свідчить про те, що у сечі жінок, хворих на хронічний-пієлонефрит з рецидивуючим перебігом, активність трансамідази має місце бути, тобто реєструється, у той же час у сечі жінок, хворих на хронічний цистит з рецидивуючим перебігом, активність цього ферменту взагалі не реєструється. Установлена закономірність може бути диференційно-діагностичним критерієм у разі необхідності проведення топічної діагностики хронічного пієлонефриту та хронічного циститу у жінок з рецидивуючою інфекцією сечової системи.

Перевагою способу, що заявляється, є той факт, що активність трансамідази у сечі осіб без патології нирок відсутня, тобто не реєструється, що дозволяє лікарю своєчасно проводити

диференційний діагноз хронічного пієлонефриту та хронічного циститу у жінок з інфекцією сечової системи та на цій підставі призначати адекватну антибактеріальну терапію. Безпечність (неінвазивність) та доступність цього способу (використовується сеча після фізіологічного сечовипускання) дозволяє за необхідності використовувати його неодноразово.

5 Таким чином, спосіб диференційної діагностики інфекцій сечової системи з рецидивуючим перебігом у жінок є точним, чутливим, безпечним для хворого та діагностично інформативним: діагностична ефективність способу дорівнює 85,7 %.

Джерела інформації:

10 1. Пат. № 2241223 С1, RU, МПК⁷ G01N33/48. Способ дифференциальной диагностики цистита и пиелонефрита / Коломеец Н.Ю., Аверьянова Н.И., Косарева П.В. (RU); ГОУВПО Перм ГМА (RU); № 2003120009/15; 01.07.2003; опубл. 27.11.2004, бюл. № 33.-5 с.

15 2. Пат. №№ 42284 U, UA, МПК (2009) G01N33/48. 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. Дащенко; ІН АМНУ; ІУ АМНУ; № u 2009 01366, 18.02.2009. Опубл. 25.06.2009. Бюл. № 12.-4 с. (прототип).

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

20 Спосіб диференційної діагностики інфекцій сечової системи з рецидивуючим перебігом у жінок, що включає визначення активності канальцевого ферменту у сечі, який **відрізняється** тим, що у сечі жінок після фізіологічного сечовипускання визначають активність мітохондріального ферменту трансамідази, та, якщо його активність у сечі хворих реєструють, діагностують пієлонефрит, а якщо не реєструють - цистит.

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

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