



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **71160** (13) **U**
(51) МПК
G01N 33/48 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2011 13361	(72) Винахідник(и): Колісник Надія Василівна (UA), Харчевська Лілія Володимирівна (UA), Мороз Валентина Павлівна (UA), Фурманець Наталія Володимирівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 14.11.2011	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.07.2012	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.07.2012, Бюл.№ 13	(73) Власник(и): ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД "ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ" МІНІСТЕРСТВА ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ, вул. Жуковського, 66, м. Запоріжжя, МСП - 41, 69600 (UA)

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ТУБЕРКУЛЬОЗУ ЛЕГЕНЬ У ДОРОСЛИХ

(57) Реферат:

Спосіб прогнозування туберкульозу легень у дорослих, що включає забір крові, визначення діагностичного показника, прогнозування за його значенням вірогідності туберкульозу легень. Виконують забір капілярної крові, готують мазок, висушують його, фіксують етанолом, фарбують за Романовським-Гімза, мікроскопують, підраховують лейкоцитарну формулу, визначають діагностичний показник за формулою:

$D_p = 0,05C_{\text{я}} - 0,1П_{\text{я}} - 0,3E_{\text{оз}}$, (1)

де:

D_p - діагностичний показник, %;

$C_{\text{я}}$ - вміст сегментоядерних нейтрофілів, %;

$E_{\text{оз}}$ - вміст еозинофілів, %;

$П_{\text{я}}$ - вміст паличкоядерних нейтрофілів, %;

0,05; 0,1; 0,3 - коефіцієнти рівняння регресії, безрозмірна величина; за значеннями цього показника прогнозують вірогідність захворювання на туберкульоз легенів.

UA 71160 U

Спосіб діагностики туберкульозу належить до галузі медицини, а саме до пульмонології, фтизіатрії та лабораторної діагностики. Може бути використаний у диференціальній діагностиці туберкульозу.

Відомий спосіб діагностики туберкульозу з використанням проби Манту [Наказ від 05.04.2006 № 198 «Про затвердження Інструкції про проведення туберкулінодіагностики у ВІЛ-інфікованих та хворих на СНІД»], який включає підшкірне введення у середній третині передпліччя однієї дози розчину туберкуліну, діагностику туберкульозу за розміром папули, який визначають через 72 години після постановки реакції. Реакція позитивна, якщо діаметр папули перевищує 5 мм.

Недоліками цього способу є:

- можливість неточного вимірювання діаметра папули, що може призвести до помилкової інтерпретації результатів тесту;
- можливість розвитку хибнопозитивної реакції у хворих на алергію;
- неможливість відрізнити інфікування мікобактеріями туберкульозу від захворювання на туберкульоз.

Ознаками, спільними з рішенням, що заявляється, є:

- визначення діагностичного показника;
- прогнозування захворювання на туберкульоз за значенням цього показника.

Відомий спосіб діагностування туберкульозу [Корначев А.С., Тюлькова Т.Е., Чугаев Ю.П., Кашуба Э.А., Козлов Л.Б. Способ диагностики туберкулезной инфекции. Патент RU 23990557. 10.09.2010, Бюл. № 25], який включає забір двох зразків венозної крові, один із яких стабілізований гепарином, виділення із стабілізованого гепарином зразка моноцитів і нейтрофілів на градієнті густини фікол-верографін; визначення кількості моноцитів із рецептором CD14 (кластер диференціювання 14 на поверхні моноцитів у хворих із туберкульозом) з використанням кон'югатів моноклональних антитіл із флуоресцеїнізотіоціанатом (ФІТЦ) та проточного цитометра; визначення функціональної активності нейтрофілів у нестимульованому тесті відновлення тетразолію нітросинього (НСТ-тесті); у сироватці другого зразка крові визначення вмісту циркулюючих імунних комплексів (ЦІК), шляхом осадження їх 7, % розчином поліетиленгліколю з фотометрією ступеня мутності, та ІgЕ й кортизолу з використанням тест-систем для імуноферментного аналізу; порівняння отриманих значень досліджуваних показників з нормою у популяції; діагностування туберкульозу при відхиленні кожного з показників від норми в межах двох помилок.

Недоліками цього способу є:

- необхідність взяття венозної крові;
- використання дорогих імпортованих тест-систем та устаткування, доступних тільки в деяких науково-дослідних лабораторіях;
- висока вартість обстеження хворого;
- тривалий час обстеження.

Ознаками, спільними з рішенням, що заявляється, є:

- дослідження крові хворого;
- дослідження складових імунного захисту;
- визначення діагностичного показника;
- прогнозування захворювання на туберкульоз за значенням цього показника.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб прогнозування туберкульозу легень у дорослих, який шляхом визначення показників лейкограми периферичної крові, знаходження діагностичного показника дозволяє здійснити експрес-прогнозування наявності туберкульозу в лікарнях будь-якої категорії, знизити вартість дослідження, підвищити його точність і коректність, своєчасно виявляти початок захворювання.

Суттєвими ознаками способу є:

- забір капілярної крові;
- приготування мазка крові;
- висушування його на повітрі;
- фіксація етиловим спиртом 20-30 хв;
- фарбування мазка за Романовським-Гімза;
- підрахунок лейкоцитарної формули за допомогою світлового мікроскопа;
- розрахунок діагностичного показника за формулою:

$$Дп = 0,05Ся - 0,1Пя - 0,3Еоз, (1)$$

де:

Дп - діагностичний показник, %;

Ся - вміст сегментоядерних нейтрофілів, %;

Еоз - вміст еозинофілів, %;

Пя - вміст паличкоядерних нейтрофілів, %;

0,05; 0,1, 0,3; - коефіцієнти рівняння регресії, безрозмірна величина; визначення вірогідності туберкульозу за значенням Дп.

5 Відмінними від прототипу ознаками є:

- забір капілярної крові;
- приготування мазка крові;
- висушування його на повітрі;
- фіксація етиловим спиртом 20-30 хв;
- 10 - фарбування за Романовським-Гімза;

- підрахунок лейкоцитарної формули за допомогою світлового мікроскопа; розрахунок діагностичного показника за формулою 1.

Дослідження Дп в осіб при підозрі на туберкульоз легень в умовах поліклініки будь-якого рівня акредитації дозволяє з високим ступенем вірогідності прогнозувати наявність туберкульозу легень та цілеспрямовано проводити додаткові дослідження.

15 Теоретичну основу способу склали сучасні дані про те, що під час туберкульозу легень у дорослих:

1) бурхливо активується місцевий імунітет у тканині легень, що проявляється посиленням мікобактеріями туберкульозу антиген-специфічної відповіді Тх1 (Т хелпери 1) [Herrera MT, Torres M, Nevels D et al. Compartmentalized bronchoalveolar IFN-gamma and IL-12 response in human pulmonary tuberculosis. Tuberculosis (Edinb). - 2009. -Vol. 89. - P. 38-47];

2) мікобактерії туберкульозу фагоцитуються макрофагами і дендритними клітинами після розпізнавання цими клітинами комплементарних хімічних структур. Рецепція мікобактерій туберкульозу (МБТ) визначає активацію синтезу і секреції макрофагами багатьох прозапальних цитокінів, включаючи цитокіни TNF- α , ІЛ-1, ІЛ -12, ІЛ-18 і хемокинів, які привертають нейтрофіли, природні кілери (ПК) клітини, моноцити, Т-клітини і незрілі дендритні клітини у вогнище локалізації МБТ [Trinchieri G, Sher A. Cooperation of Toll-like receptor signals in innate immune defence // Nat. Rev. Immunol.- 2007. -Vol. 7.-P. 179-190];

3) в альвеолах збільшується число нейтрофілів [Schwander SK, Torres M, Carranza CC et al. Pulmonary mononuclear cell responses to antigens of Mycobacterium tuberculosis in healthy household contacts of patients with active tuberculosis and healthy controls from the community. J. Immunol. 2000; 165: 1479-85];

4) поряд із секрецією прозапальних цитокінів інфіковані макрофаги і дендритні клітини презентують антигени кільком Т-клітинним популяціям, в тому числі Тх1, Тх2, Тх17 і Трег (Т регуляторні), які вступають у проліферацію, диференціювання, синтез і секрецію спектра цитокінів [K. Dheda, SK Schwander, B. Zhu [et al.] The immunology of tuberculosis: From bench to bedside // Respirology. - 2010. - Vol. 15, № 3. - P. 433-450];

5) клітинами-мішенями комплексу цитокінів Т-лімфоцитів є окремі популяції лейкоцитів циркулюючої крові, які вибірково мобілізуються до місця локалізації МБТ і формують специфічне за клітинним складом вогнище запалення; лейкоцитарна формула є дзеркальним відображенням як цитокінового спектра, так і клітинного складу вогнища запалення [А.А. Ярилин. Основи иммунологии. - М.: Медицина, 1999. - С. 156-168].

Спосіб обґрунтовано дослідженням вмісту лейкоцитів та лейкограми у 22 хворих зі вперше діагностованим туберкульозом легень (ВДТЛ); в 11 хворих із загостренням та рецидивом хвороби (РТЛ); у 26 хворих, що отримали курс хіміотерапії протитуберкульозними препаратами; у 20 хворих на негоспітальну пневмонію (НГП), та у 20 практично здорових осіб (контроль).

Статистичний аналіз даних здійснювали за допомогою ППП SPSS, v.13, OS Windows XP. Достовірність відмінності показників між групами визначали з використанням тестів Мана-Уїтні та Колмогорова-Смірнова - непараметрична статистика для незв'язаних вибірок. Чутливість та специфічність значень показників знаходили за допомогою бінарної логістичної регресії з визначенням відношення правдоподібності (likelihood ratio): ймовірність того, що даний результат діагностичного тесту буде очікуватися в пацієнта із туберкульозом у порівнянні з ймовірністю, що той же самий результат буде очікуватися в пацієнта без захворювання. Відношення правдоподібності показує у скільки разів вище (нижче) ймовірність одержати даний результат тесту у хворих, ніж у здорових. Якщо відношення правдоподібності позитивного результату тесту дорівнює 1, то це означає, що ймовірність позитивного результату тесту у хворого така ж, як ймовірність позитивного результату тесту в здорового. Якщо відношення правдоподібності позитивного результату тесту дорівнює 5, то це означає, що ймовірність позитивного результату тесту у хворого в 5 разів вище, ніж вірогідність позитивного результату тесту в здорового. Достовірними вважали відмінності при $P < 0,01$. Установлено, що у хворих з ВДТЛ Дп

лежить у межах 1,0-1,7; у хворих з РТЛ - 0,3-1,8; у хворих, що отримали курс хіміотерапії протитуберкульозними препаратами та вважаються на дату обстеження здоровими, - 1,9-2,4; у хворих на НГП - 2,0-2,6; у практично здорових осіб 2,0-2,4.

Таким чином, при значенні Дп менш ніж 1,9 прогнозують вірогідність туберкульозу.
5 Чутливість тесту складала 91 %, специфічність - 82,4 %, негативне відношення правдоподібності - 30.

Спосіб здійснюють таким чином: виконують забір краплі капілярної або венозної крові; на предметному склі готують мазок крові; висушують його на повітрі при кімнатній температурі; фіксують 95° етиловим спиртом протягом 20-30 хв; фарбують мазок готовим фарбником Романовського-Гімза; підраховують лейкограму за допомогою світлового мікроскопа (рахують 100 лейкоцитів); визначають діагностичний показник за формулою 1.

Якщо значення Дп менш ніж 1,9, прогнозують вірогідність туберкульозу легень у дорослих, пацієнтів цілеспрямовано направляють на додаткове дослідження.

Приклади конкретного виконання.

15 Приклад 1.

Пацієнтка З., 36 р.

Здійснювали забір краплі капілярної крові; готували мазок; висушували його на повітрі при кімнатній температурі; фіксували етиловим спиртом протягом 25 хв, фарбували розчином фарбника Романовського-Гімза; підраховували лейкоцитарну формулу крові за допомогою світлового мікроскопа (рахували 100 лейкоцитів); визначали діагностичний показник за формулою 1.

Результати дослідження крові:

Ся - 53 %; Еоз - 2 %; Пя - 14 %;

Лф - 28 %; Мон - 3 %.

25 Дп = $0,05 \times 53 \% - 0,1 \times 14 \% - 0,3 \times 2 \%$.

Дп обстежуваної З. дорівнювало 0,65 %.

Висновок: значення Дп пацієнтки нижче за 1,8, що свідчить про вірогідність наявності туберкульозу легень.

30 Пацієнтка госпіталізована, при додатковому обстеженні виявлено палички МТБ у мокротинні.

Приклад 2.

Пацієнт Х., 28 р.

Дослідження крові пацієнта проводили, як описано в прикладі 1.

Результати дослідження крові:

35 Ся - 69 %; Еоз - 3 %, Пя - 3 %;

Лф - 19 %, Мон - 6 %.

Дп пацієнта дорівнювало - 2,25 %.

Висновок: відповідно до значення Дп обстежуваного Х відсутній туберкульоз.

40 Пацієнт госпіталізований у відділення пульмонології, додаткові дослідження та чутливість хвороби до антибіотиків виключили туберкульоз і підтвердили наявність негоспітальної пневмонії.

Приклад 3.

Пацієнт К. 66 років; 10 років тому хворів на туберкульоз, лікувався у стаціонарі і санаторії, заключний діагноз «здоровий».

45 Результати дослідження крові пацієнта К.:

Ся - 46 %; Еоз - 1 %;

Пя - 21 %; Лф - 21 %; Мон - 11 %.

Дп пацієнта дорівнювало - 0,1 %.

Висновок: значення Дп у пацієнта нижче за 1,9, що свідчить про високу вірогідність РТЛ.

50 Пацієнта госпіталізовано, діагностований рецидив туберкульозу підтверджено додатковими дослідженнями.

Приклад 4.

Пацієнтка М.

Результати дослідження крові:

55 Ся - 74 %, Еоз - 0 %; Пя - 5 %;

Лф - 19 %; Мон - 2 %.

Дп пацієнтки М. дорівнювало 3,2 %.

Висновок: відповідно до значення Дп пацієнтки вірогідна відсутність туберкульозу. Успішне лікування антибіотиками в умовах стаціонару підтвердило правильність діагнозу - відсутність туберкульозу, наявність негоспітальної пневмонії.

60

Таким чином, запропонований спосіб дозволяє здійснювати експрес-прогноз вірогідності туберкульозу легень, своєчасно формувати групи підвищеного ризику.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

5

Спосіб прогнозування туберкульозу легень у дорослих, що включає забір крові, визначення діагностичного показника, прогнозування за його значенням вірогідності туберкульозу легень, який **відрізняється** тим, що виконують забір капілярної крові, готують мазок, висушують його, фіксують етанолом, фарбують за Романовським-Гімза, мікроскопують, підраховують лейкоцитарну формулу, визначають діагностичний показник за формулою:

10

$D_p = 0,05C_{\text{я}} - 0,1\P_{\text{я}} - 0,3E_{\text{оз}}$, (1)

де:

D_p - діагностичний показник, %;

$C_{\text{я}}$ - вміст сегментоядерних нейтрофілів, %;

15

$E_{\text{оз}}$ - вміст еозинофілів, %;

$\Pi_{\text{я}}$ - вміст паличкоядерних нейтрофілів, %;

0,05; 0,1; 0,3 - коефіцієнти рівняння регресії, безрозмірна величина; за значеннями цього показника прогнозують вірогідність захворювання на туберкульоз легень.

Комп'ютерна верстка В. Мацело

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