



(19) KG (11) 158 (13) C1

ГОСУДАРСТВЕННОЕ АГЕНСТВО
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
ПРИ ПРАВИТЕЛЬСТВЕ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ (КЫРГЫЗПАТЕНТ)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ к предварительному патенту Кыргызской Республики

(21) 960316.1

(22) 01.03.1996

(46) 01.04.1997, Бюл. №4, 1997

(71)(73) Кыргызский медицинский институт (KG)

(72) Касыев Н.Б., Баширов Р.М., Белеков Ж.О. (KG)

(56) А.с. СССР №1205894, кл. A61B 10/00, 1986

(54) Способ диагностики эхинококкоза

(57) Изобретение относится к области медицины, а именно диагностике эхинококкоза. Для повышения информативности и специфичности способа смешивают цельную кровь пациента с эхинококковой жидкостью, затем смесь активируют, например, люминолом, измеряют интенсивность хемилюминесценции активированной смесью и при стационарном показателе медленной вспышки $60.9 \cdot 10^5$ квант/с · 4π и выше диагностируют эхинококкоз. 1 ил.

Изобретение относится к области медицины, в частности к диагностике эхинококкоза.

Известен способ диагностики эхинококкоза путем смешивания сыворотки крови пациента с эхинококковой жидкостью, инкубации полученной смеси, измерения интенсивности хемилюминесценции (ХЛ) до и после инкубации и диагностики эхинококкоза при увеличении интенсивности ХЛ до 30-160 имп/10 с по сравнению с исходной.

Однако данный способ диагностики эхинококкоза обладает недостаточной информативностью, так как измерения проводятся в импульсивном (дискретном) режиме, дающем "одиночное" значение. Спонтанная ХЛ в данном случае зависит от иммунных реакций, происходящих только во внеклеточной жидкости при взаимодействии антител сыворотки крови пациента с антигеном эхинококковой жидкости, что также снижает специфичность способа.

Задача изобретения - повышение информативности и специфичности способа диагностики эхинококкоза.

Поставленная задача достигается путем смешивания цельной крови пациента с эхинококковой жидкостью, активации этой смеси, например люминолом, измерения интенсивности хемилюминесценции в кинетике и диагностики эхинококкоза при

показателе стационарной медленной вспышки ХЛ $60.9 \cdot 10^5$ квант/с·4π и выше.

Преимущества данного способа в том, что измерения проводятся не в импульсивном (дискретном) режиме, дающем "одиночное" значение (имп/с), а в абсолютных показателях (квант/с·4π), что повышает информативность способа. Кроме того, в предлагаемом способе благодаря использованию для исследования смеси эхинококковой жидкости с цельной кровью, а не с сывороткой, иммунологические реакции антител крови и эхинококковой жидкости происходят как внутри, так и на клеточном уровне, что в совокупности усиливает свечение хемилюминесценции и повышает информативность и специфичность способа.

На фиг. 1 показана кинетика ХЛ цельной крови с эхинококковой жидкостью, активированной люминолом, где:

Н - стационарный показатель медленной вспышки хемилюминесценции;

τ - время достижения стационара медленной вспышки, квант/с·4π - интенсивность ХЛ в абсолютных единицах;

1 - типичная кинетика ХЛ больных эхинококкозом;

2 - типичная кинетика ХЛ больных не эхинококкозом.

В таблицах 1 и 2 даны в сравнении показатели интенсивности ХЛ смеси цельной крови с эхинококковой жидкостью, активированной люминолом, и время достижения стационарной медленной вспышки у больных эхинококкозом (табл. 1) и больных не эхинококкозом - контрольная группа (табл. 2).

Способ осуществляется следующим образом. В кювету хемилюминометра, содержащую 20 мкл цельной крови, добавляют 20 мкл эхинококковой жидкости (заранее отобранная жидкость из кист во время операции у больных эхинококкозом в качестве антигена) и 10 мкл $1.4 \cdot 10^{-4}$ М раствора люминола. Возникает вспышка ХЛ, кинетика которой представлена на фиг.1. Измерение проводят без перемешивания при температуре +37°C.

Цельную кровь человека берут из пальца или из вены в количестве 0.02-5.0 мл с 5 % цитратом натрия в соотношении 4:1, 1 % раствор гепарина в соотношении 9:1 в качестве антикоагулянта. Люминол (5-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазион) применяют для активации и усиления хемилюминесценции за счет миграции энергии на активатор без участия его в химических превращениях люминесцентных реагентов, а также при необходимости снизить количество экспериментального материала (кровь, др. жидкости). Люминол растворяют в диметилсульфоксиде в концентрации 2 мг/мл ($1.1 \cdot 10^{-2}$ М). Раствор хранят в темном месте при температуре -4°C и используют как маточный. Перед проведением анализа маточный раствор люминола растворяют дистиллированной водой в соотношении 1:80 для получения концентрации $1.4 \cdot 10^{-4}$ М.

Способ подтвержден клиническими примерами.

Пример 1. Больной Алыкулов Т., 54 лет, история болезни №31, поступил в клинику 4.11.1995 г. с жалобами на боли в левой половине грудной клетки, сухой кашель, слабость. Объективно: определяется притупление в области верхнего отдела грудной клетки слева. Анализ крови в пределах нормы. На рентгенограмме определяется кистозное образование с четкими контурами в области верхнего отдела легкого ближе к корню. Реакция Кацони отрицательная. До операции проведено обследование больного по данной методике. Показатель интенсивности ХЛ составил $74.9 \cdot 10^5$ квант/с · 4π и был достигнут в течение 10 мин, что указывало на эхинококкоз. При оперативном лечении обнаружили эхинококкоз верхней доли левого легкого.

Пример 2. Больная Усупбекова А., 19 лет, история болезни № 3884, поступила 17.11.1994 г. с жалобами на чувство тяжести и боли в правом подреберье, слабость, горечь во рту. Объективно: печень выступает из подреберной дуги на 2 - 3 см, пальпаторно болезненна. В анализе крови умеренное увеличение СОЭ, эозинофilia. На УЗИ определяются множественные кисты различных размеров с четкими контурами, тонкой стенкой. Заключение: Множественный эхинококкоз печени. Реакция Кацони

сомнительна. Больную обследовали по вышеуказанной методике. Показатель интенсивности ХЛ составил $25.3 \cdot 10^5$ квант/с· 4π который был достигнут в течение 19 мин, что исключало эхинококкоз. При оперативном лечении выявлено врожденное кистозное расширение желчных путей.

Расчет диагностической величины проводят следующим образом.

Определяют коэффициент достоверности t ,

$$t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}} = \frac{52.65}{5.2} = 10.12.$$

где $M_1 - M_2$ - разность средних арифметических величин для опытной и контрольной группы;

$m^2_1 + m^2_2$ - средняя ошибка разности сравниваемых выборочных величин опытной и контрольной группы.

На основе степеней свободы определяется: (Z)

$$Z = (n_1 - 1) + (n_2 - 1) = n_1 + n_2 - 2$$

где n_1 - число измерений для опытной группы;

n_2 - число измерений для контрольной группы

$$Z = (12 - 1) + (10 - 1) = 20$$

по таблице Стьюдента находят значение достоверности различия ($P < 0.001$), что соответственно доверительному интервалу $X_{99.9\%} = 81.05 \pm 4.9 \cdot 10^5$ квант/с· 4π .

Диагностическая величина ХЛ найдена на основании коэффициента достоверности по таблице Стьюдента, соответствующего 95 %-ному доверительному интервалу средних: $t_{95\%}$ составил 2.0. Искомая диагностическая величина интенсивности ХЛ:

$$X_{95\%} = \frac{t_{95\%} \cdot t_{99.9\%}}{t} = \frac{2.0 \cdot 81.05}{10.1} = 16.2$$

Таким образом, диагностическая величина ($\Delta X_{95\%}$) составила $16.2 \cdot 10^5$ квант/с · 4π .

Как видно, показатель интенсивности медленной вспышки ХЛ находится в пределах $81.05 \pm 4.9 \cdot 10^5$ квант/с · 4π , для достижения которого требуется 10.0 ± 1.2 мин (табл. 1), а у контрольной группы (табл. 2) показатель медленной вспышки находится в пределах $28.4 \pm 1.9 \cdot 10^5$ квант/с · 4π , который достигается в течение 19.0 ± 1.5 мин, что является нормой для контроля.

Способ диагностики эхинококкоза у 12 больных был подтвержден при хирургическом лечении в 100 % случаев.

Таблица 1

Показатели интенсивности медленной вспышки ХЛ у больных эхинококкозом

Ф.И.О	Показатели макс. медл. вспышки 10^5 квант/с · 4π	Время дост. макс, показ, (мин)	Диагноз
1. Матмусаева	99.4	9	Эхинококкоз печени
2. Жакаев	84.6	12	Эхинококкоз печени
3. Мамбетов	66.6	8	Эхинококкоз печени
4. Жумакадыров	94.32	11	Эхинококкоз печени
5. Жекшенбиев	108.3	12	Эхинококкоз печени
6. Саралиева	87.4	9	Эхинококкоз печени
7. Алыкулов	79.4	10	Эхинококкоз легких
8. Ноорузбаев	91.46	9	Эхинококкоз печени
9. Кутманова	61.62	8	Эхинококкоз печени
10. Турсунбекова	80.64	12	Эхинококкоз печени
11. Токтобаев	60.9	11	Эхинококкоз печени
12. Абрахманов	90.65	12	Эхинококкоз печени
Средняя величина ХЛ и стандартное отклонение от нее $M_1 + m_1$	81.05 ± 4.9	10.2 ± 1.2	(см.фиг. 1)

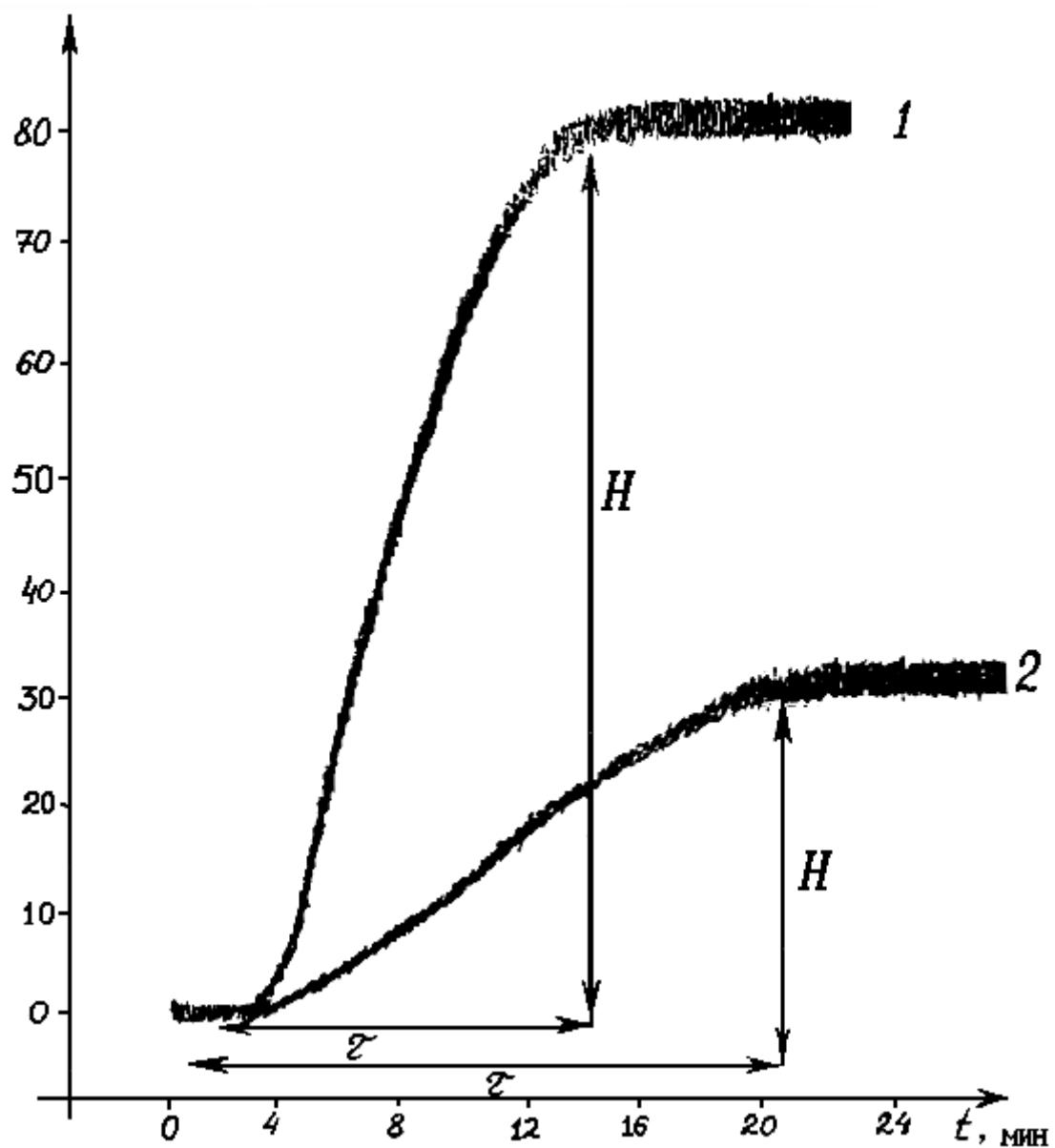
Таблица 2

Показатели интенсивности ХЛ медленной вспышки
у больных не эхинококкозом (контрольная группа)

Ф.И.О	Показатели макс, медлен, вспышки 10^5 квант/с · 4π	Время дост. макс, показ, (мин)	Диагноз
1. Немчинова	27.6	21	Механ. желтухи
2. Жанузакова	30.45	19	Рак желудка III ст.
3. Сартова	33.6	17	Рак фатер. соска.
4. Бекиева	18.2	20	Остр. холецистит
5. Булгакова	22.4	22	Хрон. холецистит
6. Лукянов	30.1	18	Рак поджел. железы
7. Шакирова	23.1	20	Грыжа живота
8. Жапаралиев	21.4	21	Болезнь Кароли
9. Усупбекова	25.3	19	Болезнь Кароли
10. Битюнбиева	21.7	21	Цирроз печени
Средняя величина и стандартное отклонение от нее $M_1 + m_1$	28.4 ± 1.9	19.8 ± 1.5	(см.фиг.1)

Формула изобретения

Способ диагностики эхинококкоза путем смешивания сыворотки крови пациента с эхинококковой жидкостью, измерения интенсивности хемилюминесценции смеси, отличающейся тем, что эхинококковую жидкость смешивают с цельной кровью пациента, после чего смесь активируют, например, люминолом, измеряют интенсивность хемилюминесценции и при стационарном показателе медленной вспышки хемилюминесценции 60.9×10^5 квант/с · 4π и выше диагностируют эхинококкоз.



Составитель описания
Ответственный за выпуск

Кожомкулова Г.А.
Ногай С.А.