



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) SU (10) 1673971 A1

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГКНТ СССР

(51) G 01 N 33/49

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

1

- (21) 4170307/14
(22) 29.12.86
(46) 30.08.91, Бюл. № 32
(71) Гродненский государственный медицинский институт
(72) В.С.Васильев, В.М.Цыркунов и Г.К.Новицкий
(53) 612.015(088.8)
(56) Авторское свидетельство СССР № 1050670, кл. А 61 В 10/00, 1983.
(54) СПОСОБ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА
(57) Изобретение относится к медицине, а именно к диагностике инфекционных болез-

2

ней, и может быть использовано в клинике для определения степени тяжести вирусного гепатита. Цель изобретения – ускорение способа при одновременном повышении его точности. Определяют антиокислительную активность мембранных эритроцитов в модели железоиндуцируемого окисления олеиновой кислоты по изменению быстрой вспышки хемилюминесценции. При величине антиокислительной активности более 27% степень тяжести вирусного гепатита оценивают как легкую, от 17 до 26% – как среднюю, менее 16% – как тяжелую. Способ позволяет повысить точность оценки на 14–24% и ускорить способ в 1,5–2 раза.

Изобретение относится к медицине, в частности к диагностике инфекционных болезней, и может быть использовано в клинике для определения степени тяжести вирусного гепатита.

Цель изобретения – ускорение способа при одновременном повышении его точности.

Способ осуществляют следующим образом.

Берут 5 мл венозной крови и выделяют из нее эритроциты центрифугированием при 300 г в течение 5 мин, при этом в качестве антикоагуланта используют гепарин (200 ед/мл). Плазму и верхний слой эритроцитов, содержащий лейкоциты, удаляют. Полученные эритроциты отмывают, добавляя четырехкратный объем охлажденного физиологического раствора и осаждая клетки центрифугированием при 300 г в течение 15 мин. Надосадочную жидкость вместе с верхним слоем эритроцитов удаляют.

Мембранные эритроциты выделяют путем гипоосмотического гемолиза, используя в качестве гемолизирующей среды 5 мМ NaH_2PO_4 , содержащей 1 мМ ЭДТА. 1 мл осажденных эритроцитов быстро и энергично перемешивают с 20 мл охлажденной до 4°C гемолизирующей среды и выдерживают при этой температуре, постоянно помешивая, в течение 5 мин. Гемолизат центрифугируют при 20000 г в течение 10 мин. Надосадочную жидкость удаляют, а осадок мембранных эритроцитов отмывают 20 объемами 10 мМ трис-НCl-буфера (рН 7,4), осаждая мембранные центрифугированием при 20000 г в течение 10 мин. Осадок отмытых мембранных эритроцитов переносят в мерные центрифужные пробирки и доводят трис-НCl-буфером (10 мМ, рН 7,4) объем до 1 мл. Полученную суспензию мембранных эритроцитов обрабатывают ультразвуком в течение 20 с при частоте 44 кГц с выходной электрической мощностью ген-

нератора в рабочем диапазоне частоты на активной нагрузке 360 Вт. Обработка ультразвуком повышает доступность мембран эритроцитов для действия реагентов при определении антискислительной активности (АОА).

0.1 мл озвученной суспензии мембран эритроцитов добавляют к 1.9 мл 0.14%-ного спиртового раствора окисленной олеиновой кислоты и после добавления 1.0 мл раствора сульфата двухвалентного железа (конечная концентрация в кювете $5 \cdot 10^{-4}$ М) на хемилюминометре ХЛМ1Ц-01 регистрируют высоту быстрой вспышки хемилюминесценции. В качестве контроля берут 2,015 мл 0.14%-ного спиртового раствора окисленной олеиновой кислоты. Отношение разницы высот быстрой вспышки в контроле и опыте к высоте быстрой вспышки в контроле (умноженное на 100%) и является показателем АОА мембран эритроцитов.

Изучение АОА мембран эритроцитов у 18 практических здоровых доноров показало, что она равна $54,42 \pm 2,07\%$.

У больных вирусным гепатитом обнаружено снижение АОА мембран эритроцитов, причем величина ее снижения зависит от степени тяжести вирусного гепатита. При АОА более 27% степень тяжести гепатита оценивают как легкую, от 17 до 26% – как среднюю, менее 16% – как тяжелую.

Пример 1. Больная Г., поступила в инфекционную больницу на 8-й день болезни с жалобами на боли в эпигастральной области, рвоту, снижение аппетита, темный цвет мочи, желтушную окраску склер.

При поступлении общее состояние удовлетворительное. Кожные покровы и склеры глаз с желтушным оттенком. В легких и сердце – без патологических изменений. Пульс 76 уд./мин, АД 110/60 мм рт.ст. Язык влажный, чистый. Живот мягкий, безболезненный при пальпации. Печень выступает из-под правой реберной дуги на 1 см. Моча темная.

Определяют в мембранных эритроцитах АОА. У больной она равна 33,3% (определение заняло 53 мин). Данный уровень АОА позволяет диагностировать вирусный гепатит легкой степени тяжести. Кроме этого, концентрация общего билирубина крови равна 66,8 мкМ/л (норма 20,5), тимоловая проба 7 ед. (норма 4), АлАТ 6,7 мМ/л·ч (норма 0,68).

В соответствии с установленной степенью тяжести вирусного гепатита больной проводят лечение.

Пример 2. Больная Ж., поступила на 3-й день заболевания с жалобами на голо-

вную боль, недомогание, слабость, снижение аппетита, темную мочу, желтушность кожи и склер.

При поступлении состояние средней тяжести. Кожные покровы и склеры глаз желтушны. В легких везикулярное дыхание. Тоны сердца чистые, ритмичные. Пульс 80 уд./мин, АД 100/70 мм рт.ст. Язык обложен белым налетом. Живот при пальпации мягкий, болезненный в эпигастральной области. Печень выступает из-под края правой реберной дуги на 2 см. Кал ахоличный, моча темная.

АОА мембран эритроцитов больной равна 21,0%, что позволяет диагностировать среднюю степень тяжести вирусного гепатита (определение заняло 47 мин). Уровень общего билирубина крови равен 100,0 мкМ/л (норма 20,5), тимоловая проба 18 ед. (норма 4), АлАТ 7,0 мМ/л·ч (норма 0,68).

В соответствии с установленной степенью тяжести вирусного гепатита больной назначают адекватное лечение.

Пример 3. Больной А., поступил на 5-й день болезни с жалобами на желтушность кожи, слизистых, темный цвет мочи.

При поступлении общее состояние средней тяжести. Кожные покровы и склеры глаз интенсивно желтые. В легких везикулярное дыхание. Сердечные тоны ясные, чистые. Пульс 68 уд./мин, АД 120/70 мм рт.ст. Язык обложен белым налетом. Живот мягки, безболезненный. Печень выступает из-под края правой реберной дуги на 4 см. Моча темная.

Определяют АОА мембран эритроцитов, которая равна 16,6%, что указывает на тяжелую степень тяжести вирусного гепатита у больного (определение АОА заняло 51 мин). Концентрация общего билирубина крови равна 196,6 мкМ/л (норма 20,5), тимоловая проба 17 ед. (норма 4), АлАТ 6,6 мМ/л·ч (норма 0,68).

С учетом выставленного диагноза больному проводят интенсивную дезинтоксикационную терапию.

Пример 4. Больная В., поступила в инфекционную больницу с жалобами на слабость, тошноту, желтую окраску кожи и склер глаз.

При поступлении общее состояние удовлетворительное. Кожные покровы и видимые слизистые умеренно желтушны. В легких везикулярное дыхание. Пульс 68 уд./мин АД 100/70 мм рт.ст. Тоны сердца приглушенны. Живот мягкий, болезненный в эпигастрии. Печень выступает из-под края правой реберной дуги на 1 см. Моча темная.

Определяют в мембранах эритроциты АОА. У больной она равна 27.1% (определение заняло 48 мин). Данный уровень АОА позволяет диагностировать вирусный гепатит легкой степени тяжести. Концентрация общего билирубина крови равна 51,3 мкМ/л (норма 20,5), тимоловая проба 8 ед. (норма 4), АлАТ 5,6 мМ/л·ч (норма 0,68).

В соответствии с установленной степенью тяжести вирусного гепатита больной проводят лечение.

Пример 5. Больная Х., поступила в стационар на 5-й день болезни с жалобами на снижение аппетита и иктеричность склер.

При поступлении состояние удовлетворительное. Кожные покровы обычной окраски, склеры субиктеричны. В легких и сердце – без патологических изменений. Пульс 86 уд./мин, ад 100/60 мм рт.ст. Живот мягкий, безболезненный. Печень пропальпировать не удалось. Моча со слов большой темного цвета.

Определяют АОА мембран эритроцитов у больной, которая равна 37,0%, что указывает на легкую степень тяжести вирусного гепатита (определение АОА заняло 51 мин). Концентрация общего билирубина крови равна 22,2 мкМ/л (норма 20,5), тимоловая проба 7 ед. (норма 4), АлАТ 6,44 мкМ/л·ч (норма 0,68).

Больной проводят адекватную терапию.

Примеры, доказывающие возможность осуществления изобретения в граничных значениях АОА у больных вирусным гепатитом средней степени тяжести.

Пример 6. Больная Р., поступила в инфекционную больницу с жалобами на снижение аппетита, желтушную окраску кожи и склер глаз, слабость.

Общее состояние средней тяжести. Кожа и склеры глаз желтушны. В легких и сердце – без патологии. Живот мягкий, безболезненный. Печень выступает из-под правой реберной дуги на 2 см. Моча темная, кал светлый.

АОА мембран эритроцитов данной больной равна 17,90%, определение заняло 50 мин. Выставляется диагноз: вирусный гепатит средней степени тяжести. Общий билирубин крови равен 115,4 мкМ/л, тимоловая проба 2,5 ед., АлАТ 6,7, мМ/л·ч.

Больной назначено соответствующее лечение.

Пример 7. Больной Ж., поступил в стационар с жалобами на тошноту, рвоту, снижение аппетита, потемнение мочи.

При поступлении общее состояние средней тяжести. Кожа и видимые слизистые желтушны. Живот мягкий, безболезненный. Печень выступает из-под правой реберной дуги на 2 см. Моча темная.

Определяют АОА мембран эритроцитов, которая у больного равна 26,0 (определение заняло 47 мин), что позволяет выставить диагноз вирусного гепатита средней степени тяжести. Концентрация общего билирубина крови равна 96,6 мкМ/л, тимоловая проба 12 ед., АлАТ 6,8 мМ/л·ч.

В соответствии с выставленным диагнозом проводят необходимое лечение.

Примеры, доказывающие возможность осуществления изобретения в граничных значениях АОА у больных вирусным гепатитом тяжелой степени тяжести.

Пример 8. Больной М., поступил в стационар с жалобами на отсутствие аппетита, тошноту, ноющие боли в правом подреберье, темную мочу, желтушность кожи и склер.

Общее состояние тяжелое. Кожные покровы и видимые слизистые интенсивно желтушны. В легких везикулярное дыхание. Пульс 72 уд./мин, АД 115/60 мм рт.ст. Сердечные тоны приглушены. Живот мягкий, болезненный в эпигастрии, печень выступает из-под правой реберной дуги на 5 см. Моча темная.

АОА мембран эритроцитов у больного составила 9,5% (определение заняло 49 мин), что указывает на вирусный гепатит тяжелой степени тяжести. Концентрация общего билирубина крови равна 342,0 мкМ/л, тимоловая проба 5,0 ед. АлАТ 7,26 мМ/л·ч

Больному назначается соответствующая терапия.

Пример 9. Больной Г., поступил с жалобами на тошноту, рвоту, общую слабость, головную боль, желтушность кожи и склер глаз, снижение аппетита.

При поступлении общее состояние тяжелое. Кожа и склеры глаз желтушны. В легких и сердце – без патологических изменений. Живот мягкий, безболезненный при пальпации. Печень выступает из-под правого края реберной дуги на 4 см. Моча темная.

Определяют АОА мембран эритроцитов у больного, которая равна 16,6% (определение заняло 50 мин), что позволило выставить диагноз: вирусный гепатит тяжелой степени тяжести. Концентрация общего билирубина крови равна 188,1 мкМ/л, тимоловая проба 27 ед., АлАТ 6,72 мМ/л·ч.

В соответствии с выставленным диагнозом проводят адекватную терапию.

Предлагаемым способом произведено определение степени тяжести вирусного гепатита у 52 больных. Контролем служили показатели у 18 практически здоровых лиц. Полученные результаты сравнивали с результатами при использовании известного способа. Результаты представлены в таблице.

Повышение точности предлагаемого способа обусловлено тем, что соотношение показателей между легкой и средней степенями тяжести вирусного гепатита в предлагаемом способе на 14,4% превышает аналогичное соотношение в известном способе, а между средней и тяжелой степенями заболевания – на 23,6%.

Достигается также сокращение времени определения степени тяжести вирусного гепатита: при использовании известного требуется не менее 1,5–2 ч, в то время как по предлагаемому способу определяют степень тяжести вирусного гепатита в пределах 40–50 мин, т.е. в 1,5–2 раза скорее.

Таким образом, преимущества предлагаемого способа заключаются в том, что существенно ускоряется диагностика и повышается ее точность.

Благодаря быстрому и точному установлению степени тяжести вирусного гепатита по АОА мембранным эритроцитам больным своевременно назначают необходимое лечение.

Формула изобретения

Способ оценки степени тяжести вирусного гепатита, включающий исследование крови больных гепатитом, отличающийся тем, что, с целью ускорения способа при одновременном повышении его точности, получают мембранные эритроциты, определяют их антиокислительную активность в модели железоиндуцируемого окисления олеиновой кислоты по изменению быстрой вспышки хемилюминесценции и при величине антиокислительной активности более 27% степень тяжести вирусного гепатита оценивают как легкую, от 17 до 26% – как среднюю, менее 16% – как тяжелую.

25

Показатель	Степень тяжести вирусного гепатита				
	Легкая	Средняя	Тяжелая	Легкая/средняя	Средняя/тяжелая
Мочевина, мг%	34,15±2,80	45,00±1,22	55,62±2,77	1,31	1,23
АОА, % n = 15	32,19±1,27	21,40±1,60 n = 29	14,00±3,82 n = 8	1,50	1,53

Составитель Н. Гуляева

Техред М.Моргентал

Корректор О. Ципле

Редактор А. Огар

Заказ 2915

Тираж 389

Подписано

ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., 4/5

Производственно-издательский комбинат "Патент", г. Ужгород, ул.Гагарина, 101