

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



(19) **RU** <sup>(11)</sup> **2 738 722** <sup>(13)</sup> **C1**

(51) МПК  
[G01N 33/48 \(2006.01\)](#)  
(52) СПК  
[G01N 33/48 \(2020.08\)](#)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

Статус: действует (последнее изменение статуса: 28.12.2020)

(21)(22) Заявка: [2020107208](#), 17.02.2020

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
17.02.2020

Дата регистрации:  
15.12.2020

Приоритет(ы):  
(22) Дата подачи заявки: 17.02.2020

(45) Опубликовано: [15.12.2020](#) Бюл. № [35](#)

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2350960 C1, 27.03.2009. RU 2613301 C1, 15.03.2017. RU 2694223 C1, 10.07.2019. МАМЕДОВА С.М. Иммуные нарушения при атопическом дерматите. Вятский медицинский вестник, N2, 2015, с.75-78. ВОРОБЬЕВА Н.В., ПИНЕГИН Б.В. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, роль в норме и при патологии (Обзор). Биохимия, 2014, т.79, вып.12,

c.1580-1591. BORIS PINEGIN et al. Neutrophil extracellular traps and their role in the development of chronic inflammation and autoimmunity. Autoimmunity Reviews, Volume 14, Issue 7, July 2015, Pages 633-640. STEPHEN CHU-SUNG HU et al. Neutrophil extracellular trap formation is increased in psoriasis and induces human  $\beta$ -defensin-2 production in epidermal keratinocytes. Scientific Reports, 2016, volume 6, Article number: 31119.

Адрес для переписки:  
672000, г. Чита, ул. Горького, 39а,  
Читинская медицинская академия,  
патентный отдел

(72) Автор(ы):

**Кибалина Ирина Владимировна (RU),  
Цыбиков Намжил Нанзатович (RU),  
Фефелова Елена Викторовна (RU)**

(73) Патентообладатель(и):

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Читинская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)**

(54) СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РИСКА РАЗВИТИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ АТОПИЧЕСКОМ ДЕРМАТИТЕ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, в частности к дерматовенерологии, и может быть использовано для прогнозирования риска развития инфекционных осложнений при атопическом дерматите. Для прогнозирования риска развития инфекционных осложнений при атопическом дерматите берут мазок-отпечаток с эрозивного дефекта кожи и определяют количество внеклеточных нейтрофильных ловушек. При содержании внеклеточных нейтрофильных ловушек в мазке-отпечатке 4 и более в поле зрения прогнозируют высокий риск развития инфекционных осложнений, при их содержании менее 4 прогнозируют низкий риск развития инфекционных осложнений у пациентов с атопическим дерматитом. Изобретение обеспечивает простой и точный способ достоверного прогнозирования риска развития инфекционных осложнений при атопическом дерматите, что способствует своевременному выявлению инфекционных осложнений и улучшению качества жизни пациентов. 3 пр.

Изобретение относится к медицине, в частности к дерматовенерологии, и может быть использовано для прогнозирования риска развития инфекционных осложнений при атопическом дерматите.

Атопический дерматит - хронический аллергический генетически детерминированный дерматоз, имеющий сложную патогенетическую основу. Показатели заболеваемости атопическим дерматитом за последнее десятилетие имеют тенденцию к увеличению. В развитых странах атопией страдает до 38% населения. Известно, что у людей, имеющих в анамнезе атопический дерматит, персистенция микроорганизмов на поверхности кожи выше, чем у здоровых людей, кроме этого снижено количество Т-хелперов, что приводит к изменениям в работе клеточного звена иммунной системы. Именно по этим причинам к клиническим проявлениям заболевания за короткий период времени присоединяются бактериальные, грибковые и вирусные инфекционные осложнения [1]. Вторичное инфицирование кожи осложняет течение атопического дерматита, пролонгируя длительность заболевания, усугубляя остроту кожного процесса, что приводит к временной утрате трудоспособности или инвалидизации пациента. Своевременное прогнозирование риска развития инфекционных осложнений при атопическом дерматите может обеспечить эффективность лечения заболевания, уменьшение длительности обострения, пролонгирование периода ремиссии и улучшение качества жизни пациента.

Известен способ прогнозирования течения атопического дерматита, при котором выделяют эпителиоциты в браш-биоптатах слизистой ротоглотки, исследуют электрокинетическую активность ядер буккальных эпителиоцитов (ЭЛА), индекс инфицирования (ИИ), индекс адгезии (ИА), берут смывы с воспалительных участков кожи площадью 2 см<sup>2</sup>, в которых определяют количество КОЕ/см<sup>2</sup> *S. aureus* и при значении ИИ>70%, ИА>100-150 микробных клеток на эпителиоцит, КОЕ>200/см<sup>2</sup> и ЭЛА<20% - прогнозируют осложнение в виде вторичного инфицирования при атопическом дерматите, а при ИИ<30%, ИА<50 микробных клеток на эпителиоцит, КОЕ<50/см<sup>2</sup> и ЭЛА>30% прогнозируют не осложненное течение атопического дерматита [2].

Недостатком данного аналога является сложность способа за счет необходимости проведения большого числа диагностических исследований.

Известен способ прогнозирования развития осложненных форм атопического дерматита, при котором определяют факторы риска, включающие наличие семейной отягощенности по аллергическим заболеваниям и очагов хронической инфекции, неонатальные, антенатальные, алиментарные, экологические. По полученным данным проводят расчет значений дискриминантных функций (fb f2, fs) на основе экспериментально определенных коэффициентов. При наибольшем ее значении прогнозируют вероятность развития осложненных вторичной инфекцией форм атопического дерматита [3].

Недостатком данного аналога является недостаточная точность, так как некоторые исследуемые факторы риска, в том числе полученные из анамнеза, изменяемы с течением времени и не всегда приводят к развитию инфекционных осложнений [4].

Наиболее близким аналогом - прототипом - является способ прогнозирования развития инфекционных осложнений атопического дерматита, согласно которому проводят иммунологическое исследование периферической крови больных атопическим дерматитом и методом микроскопии определяют содержание субпопуляций лимфоцитов CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD72<sup>+</sup>,  $\gamma\delta$ T и CD8 $\alpha\alpha$  и при повышении числа CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD72<sup>+</sup> лимфоцитов на фоне уменьшения содержания CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>,  $\gamma\delta$ T и CD8 $\alpha\alpha$ -лимфоцитов прогнозируют формирование инфекционных осложнений атопического дерматита [5].

Недостатком данного способа является сложность из-за многоэтапности проведения исследования.

Для упрощения способа прогнозирования риска развития инфекционных осложнений при атопическом дерматите в мазке-отпечатке с эрозивных поверхностей кожи определяют количество внеклеточных нейтрофильных ловушек и при их содержании 4 и более в поле зрения прогнозируют высокий риск, при содержании внеклеточных нейтрофильных ловушек менее 4 прогнозируют низкий риск развития инфекционных осложнений у пациентов с атопическим дерматитом.

Способ осуществляют следующим образом.

Мазок-отпечаток для исследования берут в период обострения атопического дерматита на стадии эрозирования морфологических элементов, прикладывая предметное стекло к эрозивному дефекту. Окрашивают полученный материал с помощью реакции Фельгена с реактивом Шиффа на ДНК [6]. В качестве реактива Шиффа используют фуксинсернистую кислоту, способную взаимодействовать с альдегидными группами на ДНК. Реакцию Фельгена осуществляют следующим образом. Погружают препарат в 1 нормальную соляную кислоту на несколько секунд, затем его переносят в заранее нагретую до 60°C 1 нормальную соляную кислоту и помещают в термостат при температуре 60°C на 8 минут. Промывают препарат холодной 1 нормальной соляной кислотой и помещают в реактив Шиффа на 1 час. Отмывают избыток реактива Шиффа сернистой водой (3 смены по 4 минуты) и промывают в проточной воде в течение 5 минут. Обрабатывают препарат, используя 96% спирт, и наблюдают появление малиновой окраски. Визуализацию проводят методом световой микроскопии с последующим подсчетом количества внеклеточных нейтрофильных ловушек и при их содержании 4 и более в поле зрения прогнозируют высокий риск, при содержании внеклеточных нейтрофильных ловушек менее 4 прогнозируют низкий риск развития инфекционных осложнений у пациентов с атопическим дерматитом.

В качестве показателя для прогнозирования риска развития инфекционных осложнений при атопическом дерматите взяты внеклеточные нейтрофильные ловушки. Известно, что кожа является барьером между внутренней средой и окружающим пространством, выполняя защитную функцию. Это первый барьер нашего организма, сталкивающийся с инфекционными агентами, где возникает воспалительный процесс, реализующийся через активацию нейтрофильных гранулоцитов с экспрессией внеклеточных нейтрофильных ловушек. Первым защитным барьером и индикатором инфицирования кожи являются внеклеточные нейтрофильные ловушки, уничтожающие инфекционные антигены, проникшие в кожу. Чем больше обсемененность кожи микроорганизмами, тем больше синтезируется внеклеточных нейтрофильных ловушек [7]. От площади кожного покрова, вовлеченного в патологический процесс, зависит распределение и активность данного показателя. Основными триггерными факторами на коже при атопическом дерматите являются *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, которые по современным данным, активно персистируют на коже пациентов с атопическим дерматитом [8]. Следовательно, учитывая уровень экспрессии внеклеточных нейтрофильных ловушек, можно использовать данный показатель в качестве прогностического критерия для прогнозирования риска развития инфекционных осложнений при атопическом дерматите.

Примеры конкретного применения способа

#### ПРИМЕР №1

Пациент Н., 20 лет. Обратился с жалобами на высыпания и выраженный кожный зуд. Болеет более 10 лет. Наследственность неотягощена. Объективно: Дыхание в

легких везикулярное, хрипов нет, ЧДД 21 в минуту. Тоны сердца ясные ритмичные, пульс 70 в минуту, АД 120/80 мм рт.ст. Локальный статус: Кожный процесс носит распространенный характер, локализуется на коже шеи, груди, спины, сгибательной поверхности верхних и нижних конечностей. Представлен множественными везикулярными элементами с серозным экссудатом на фоне эритемы, эскориациями, серозно-геморрагическими корочками, эрозиями, выраженной лихенификацией. Выставлен диагноз: атопический дерматит, взрослый период, распространенная форма, стадия обострения. При поступлении взяли мазок-отпечаток с эрозивного дефекта, окрасили с помощью реакции Фельгена с реактивом Шиффа на ДНК, определили количество внеклеточных нейтрофильных ловушек в мазке-отпечатке, абсолютный показатель составил 12, что соответствует высокому риску развития инфекционных осложнений. Пациенту рекомендовано применение антибактериального препарата, от приема которого пациент отказался, мотивируя боязнью побочных эффектов. Через 2 суток у пациента появились клинические симптомы бактериальной инфекции в виде гнойников и гнойных корок. Пациенту назначена системная антибактериальная терапия. Пациент выписан с достижением ремиссии заболевания на 14 сутки.

#### ПРИМЕР №2

Пациент О., 10 лет. Обратился с жалобами на высыпания и выраженный кожный зуд. Болеет атопическим дерматитом 6 лет. Наследственность не отягощена. Объективно: Дыхание в легких везикулярное, хрипов нет, ЧДД 20 в минуту. Тоны сердца ясные ритмичные, пульс 65 в минуту. АД 110/60 мм рт.ст. Локальный статус: Кожный процесс носит распространенный характер, локализуется на коже лица, шеи, верхних и нижних конечностей. Представлен множественными везикулами с серозным экссудатом, папулезными элементами, эскориациями, эрозиями и мокнутием. Выставлен диагноз: атопический дерматит, детский период, распространенная форма, стадия обострения. При поступлении взяли мазок-отпечаток с эрозивного дефекта, окрасили с помощью реакции Фельгена с реактивом Шиффа на ДНК, определили количество внеклеточных нейтрофильных ловушек в мазке-отпечатке, абсолютный показатель составил 8, что соответствует высокому риску развития инфекционных осложнений. К базовому лечению добавили топическую антибактериальную терапию, через 10 дней пациент выписан в стадию ремиссии заболевания.

#### ПРИМЕР №3

Пациент В., 25 лет. Обратился с жалобами на высыпания и кожный зуд. Болеет с 6 лет. Наследственность не отягощена. Объективно: Дыхание в легких везикулярное, хрипов нет, ЧДД 18 в минуту. Тоны сердца ясные ритмичные, пульс 68 в минуту, АД 120/80 мм рт.ст. Локальный статус: Кожный процесс носит распространенный характер, локализуется на коже лица, груди, разгибательной поверхности верхних конечностей в виде везикулярных высыпаний с серозным экссудатом, папулезных элементов, эрозий, серозно-геморрагических корочек. Выставлен диагноз: атопический дерматит, взрослый период, распространенная форма, стадия обострения. При поступлении определили количество внеклеточных нейтрофильных ловушек в мазке-отпечатке, абсолютный показатель составил 2, что соответствует низкому риску развития инфекционных осложнений. Пациент получил стандартную базовую терапию, через 7 суток выписан в стадию ремиссии заболевания.

Данный способ ранней диагностики инфекционных осложнений использовали у 48 пациентов с атопическим дерматитом. Точность диагностики - 89,6%.

#### Литература

1. Кудрявцева, А.В. Атопический дерматит: патогенетические механизмы, функционирование кожного барьера, бактерии-комменсалы и золотистый стафилококк / Кудрявцева А.В., Гележе К.А., Фарбер И.М. // Вопросы практической педиатрии. - 2019. - Т. 14. №4. - С. 51-57.
2. RU 2310195, G01N 33/48 – аналог.
3. RU 2297797, A61B 10/00 – аналог.
4. Баранов А.А. / Атопический дерматит и инфекции кожи у детей: диагностика, лечение и профилактика / Баранов А.А. и соавт.// Пособие для врачей. - М., - 2004.
5. RU 2350960, G01N 33/53 – прототип.

6. Долгушин, И.И. / Методы обнаружения нейтрофильных ловушек / И.И. Долгушин, Ю.С. Шишкова, А.Ю. Савочкина // Аллергология и иммунология. - 2009. - Том 10, №3. - С. 458-462.

7. Гусакова, Н.В. Нейтрофильные экстрацеллюлярные сети: биологическая роль, методы определения / Гусакова Н.В., Новикова И.А. // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. - 2014. - №1 (9). - С.96-104.

8. Кожа как орган иммунной системы. / Т.Э. Боровик [и др.] // Педиатрия. - 2010. - №2. - С. 10-18.

#### Формула изобретения

Способ прогнозирования риска развития инфекционных осложнений при атопическом дерматите, включающий иммунологическое исследование биологического материала, отличающийся тем, что берут мазок-отпечаток с эрозивного дефекта кожи, определяют количество внеклеточных нейтрофильных ловушек и при их содержании 4 и более в поле зрения прогнозируют высокий риск развития инфекционных осложнений.