

Винахід відноситься до області медицини, а саме до урології, патологічної анатомії і хірургії, і може бути використаний для виявлення тканинних форм мікроміцетів в м'яких тканинах організму.

Відомий спосіб гістологічної діагностики поверхневих і глибоких мікозів шляхом підготовки біоптата: фіксація 10% розчином формаліну і збезводнювання у спиртах від 70 градусного до абсолютного на протязі доби, просочування у хлороформі на протязі 1 години 20 хвилин, заливка у парафін, приготування зрізів за допомогою мікротома, після чого депарафіновані у ксилолі і збезводнені у спирту гістологічні зрізи фарбують PAS-методом, та за методами Грама і Циль-Нільсона, після чого їх замикають у бальзам і мікроскопують. Процес підготовки займає 1,5 доби (1, 2, 3).

Основним недоліком вказаного способу є те, що немає жодного фарбування, що допомогло б уникнути можливості поплутати тканинні елементи з клітинами чи частками клітин гриба. Усі тканинні структури, що можуть бути прийняті за клітини гриба, врахувати не можливо. Нижче перелічуються структури, які найбільш часто зустрічаються і можуть імітувати патогенні структури в зрізах тканин.

1. Імітатори грибів нитчатоподібної форми: нитки фібрину і полісахаридних речовин стінок капілярів, базальні мембрани і щетиниста облямівка в структурах епітелію при фарбуванні на мукополісахариди, колагенові і еластичні волокна при імпрегнації сріблом, ретикулярні волокна інкрустовані залізом, кальциновані, розрізані уздовж нервові волокна, витягнуті і сплюснені фібриноцити, змінені сполученотканні волокна після травми і термокоагуляції.

2. Імітатори грибів у виді округлих сферичних утворень, що виявляються поза і усередині кліток: амілоїдні тельця, знебарвлені, спучені і видозмінені еритроцити, жирові краплі, зерна гемосидерина, внутрішньоклітинні і позаклітинні скупчення муцинозних речовин, сферичні утворення в гранульомах і гігантських клітинах, рослинні клітини, найпростіші (лейшманії, токсоплазми).

3. Імітатори грибів, що нагадують сферули чи спорангії з внутрішньоклітинними включеннями: вакуолі в цитоплазмі макрофагів і гігантських клітин, вапняні утворення в казеозних вогнищах, яйця метазойних паразитів (особливо шистозом). Крім того, на приготування біоптата витрачається 1,5 доби і потрібні фахівці з гістології.

Найбільш близьким до запропонованого технічного рішення є діагностичні дослідження, які полягають у наступному: щільний патологічний матеріал (шкірні, нігтьові лусочки) поміщають у краплю 30% розчину КОН, прикривають покривним склом, залишають на 1-2 години, після чого мікроскопують. Для прискорення процесу можна приготовлений препарат підігріти над полум'ям пальника до появи кристаликів лугу по периферії краплі. Препарати мікроскопуються, спочатку при малому, а потім, при великому збільшенні мікроскопа.

Але, не зважаючи на позитивний ефект, застосування його для диференційної діагностики тканинних форм мікроміцетів м'яких тканин організму не відоме, а також не відоме фарбування приготовлених препаратів, що може привести до появи такого артефакту, як "мозаїчний гриб" внаслідок кристалізації КОН (3, 4).

В основу винаходу поставлена задача вдосконалення способу виявлення тканинних форм мікроміцетів м'яких тканин шляхом використання розчинів, які викликають мацерацію тканин, що дозволить забезпечити високу експресивність визначення мікроміцетів, при досягненні високої чутливості.

Поставлена задача вирішується тим, що, згідно винаходу, нативний і пофарбований біоптат і аутоптат м'яких тканин організму мікроскопують на мікоз після обробки його 30%-м розчином КОН і при виявленні нитчастої (міцеліа або псевдоміцеліа) чи спороподібної форми збудників судять про тканинну форму мікозів м'яких тканин.

Спосіб здійснюється наступним чином: на предметне скло накладається біоптат або аутоптат, розміром 1-2 мм., м'якої тканини організму, на який очною піпеткою опускається крапля 30% розчину КОН, прикривається покривним склом, залишається на 1-2 години, до появи кристаликів лугу по периферії краплі, після чого мікроскопують нативно, а потім фарбують: PAS-методом, за методом Грама, за методом Циль-Нільсона.

Фарбування PAS-методом: препарат заливають 4% хромовою кислотою на 1 годину, промивають проточною водою - 5 хвилин, кладуть у реактив Шиффа на 15-20 хвилин, промивають в 3-х порціях сірчистої води, промивають проточною водою - 15 хвилин, препарати кладуть у розчин альдегід фуксину на 15-30 хвилин, змивають зайву фарбу 96% етиловим спиртом, промивають у воді, дофарбовують розчином метанілового жовтого - 1 хвилину, промивають у воді, збезводнюють 96% спиртом.

Результат: Гриби - рожеві до пурпурних. Мацеровані тканинні структури - жовті (5).

Фарбування методом Грама: на фіксований мазок наливають розчин еозина 2-3 хвилини, зливають фарбу і, не споліскуючи у воді, підсушують фільтрованим папером, фарбують карболовим генціанвіолетом (через фільтрований папір) - 5 хвилин, полощуть препарат у водопровідній воді 15-30 секунд, обробляють розчином Люголя 2-3 хвилин, висушують фільтрувальним папером, диференціюють 96% спиртом, наливаючи і зливаючи його, поки відходить синя фарба і не знебарвлюється мазок (~ 20-60"), добре промивають у проточній воді і висушують фільтрувальним папером.

Результат: Грам + мікроорганізми офарблюються в темно-синій колір. Особливо чітко виявляються актиноміцети і нокардії. Дріжджеподібні гриби (Грам+) фарбуються непостійно.

Фарбування методом Циль-Нільсона: на фіксований мазок наливають через фільтрований папір карболовий фуксині підігривають над полум'ям спиртівки до появи пару, зливають фарбу, видаляють фільтрований папір і промивають у водопровідній воді, диференціюють 1% водяним р-ром H_2SO_4 до знебарвлення (30-60"), дофарбовують 2,5% розчином метиленового синього на 96% спирту (30"), споласкують у воді і висушують фільтрувальним папером.

Результат: спороутворюючі дріжджі фарбуються в червоний колір на блакитному фоні(6).

В порівнянні з прототипом заявляється спосіб може бути застосований для діагностики тканинних форм мікозів всіх м'яких тканин організму, а застосування пофарбованого препарату робить його більш чутливим.

Література:

1. Меркулов Г. А. Курс патологической техники. Издательство «Медицина». Ленинградское отделение 1969 г. стр.10-134.

2. Хмельницкий О.К. Гистологическая диагностика поверхностных и глубоких микозов.-Л.:Медицина, 1973г. Стр.237.

3. Хмельницкий О.К., Быков В.Л., Хмельницкая Н.М. Патоморфологическая диагностика микозов,

вызываемых условно-патогенными грибами (пособие для врачей).-СПб, 2000.

4. Плотичер С.М. Лабораторные диагностические исследования. Киев.«Здоров'я» 1965. на стр.452.

5. Gndley M.F. Am.J.Clin.Path., 23, 303-307,1953.

6. Brown J.H. and Brenn L. Bulletem of the Hopkins Hospital, 48, 69, 1931.