



УКРАЇНА

(19) UA (11) 40079 (13) U
(51) МПК (2009)
G01N 21/21
A61B 10/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ БІОЦЕНОЗУ ШКІРИ У ХВОРИХ НА РОЖЕВІ ВУГРИ

1

(21) u200812128
(22) 13.10.2008
(24) 25.03.2009
(46) 25.03.2009, Бюл.№ 6, 2009 р.
(72) КОВАЛЬЧУК МАР'ЯНА ТАРАСІВНА, UA
(73) ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО, UA
(57) Спосіб визначення біоценозу шкіри у хворих
на рожеві вугри, що включає попередню обробку
шкірної поверхні хімічним реагентом з наступним

2

мікроскопічним аналізом відбитка нашкірного вмісту на адгезивній оптично-прозорій плівці, який відрізняється тим, що шкірну поверхню попередньо обробляють водним розчином перексиду водню, на яку після підсихання здійснюють аплікацію адгезивної плівки, наступного дня знімають з шкірної поверхні, реалізують клейкою поверхнею на предметне скло, а отриманий мікропрепарат досліджують у полі зору поляризаційного мікроскопа.

Корисна модель стосується медицини, зокрема паразитології, і може бути використана як у широкий клініко-лабораторній практиці для здійснення паразитологічного аналізу, так і при вирішенні актуальних питань епідеміології паразитарних захворювань.

Відомий спосіб визначення біоценозу шкіри у хворих на рожеві вугри, що включає попередню обробку шкірної поверхні хімічним реагентом з наступним мікроскопічним аналізом відбитку нашкірного вмісту на адгезивній оптично-прозорій плівці [1]. За відомим способом на шкірну поверхню, наприклад, обличчя, попередньо протерту розчином натрію бікарбонату, аплікують адгезивну плівку, наприклад, клаптик скотчу, а в мікропрепараті визначають наявність паразитів, зокрема, кліщів *Demodex folliculorum* родини *Demodicidae* - збудників демодекозу, ідентифікацію яких здійснюють за морфологічними ознаками та розмірами в полі зору світлооптичного мікроскопу.

Недоліком відомого способу є недостатня точність та інформативність, що впливає з обмеження мікроскопічного аналізу можливістю здійснити ідентифікацію лише кліщів, а саме *Demodex folliculorum longus* і *Demodex folliculorum brevis*. З урахуванням того, що на шкірній поверхні часто знаходяться й інші збудники, які в процесі паразитозу характеризуються складними відносинами з кліщами, і ці відносини можуть відігравати провідну роль у розвитку епідеміології паразитозу. Вказаний вище недолік призводить до формування неточної характеристики біоценозу шкіри в кожному конкретному випадку, знижує інформативність

діагностики паразитозу, а відтак - до низької ефективності лікування.

В основу корисної моделі поставлено завдання вдосконалити відомий спосіб, у якому шляхом зміни методики виготовлення мікропрепарату та способу його візуалізації у ході мікроскопічного аналізу, спрямованих на відтворення біофізичних властивостей об'єктів дослідження - паразитів, досягають підвищення точності аналізу та інформативності отриманих результатів.

При вирішенні технічного завдання було взято до уваги наступне. Оскільки кліщі *Demodex folliculorum* - збудники демодекозу для забезпечення свого життєвого циклу потребують кисню, то за умов припинення доступу газу з повітря у шкіру в результаті аплікації адгезивної оптично-прозорої плівки, збудники для забезпечення функції дихання активно просуються до шкірної поверхні, де й знерухомлюють адгезивною поверхнею скотчу. За цих умов обробка шкірної поверхні агентом, що містить кисень, буде сприяти активнішим, ніж за відомим способом, рухам кліщів у напрямку шкірної поверхні. Таким агентом доцільно використати 3 % водний розчин водню перексиду, оскільки при контакті з органічними субстанціями шкірної поверхні перексид водню розкладатиметься з утворенням атомарного кисню, який за активністю, як добре відомо, значно переважає молекулярний кисень. З іншого боку, окиснення ліпідних молекул клітин паразитів супроводжується посиленням рідкокристалічних властивостей їх цитомембранних структур [2], що позитивним чином позначиться при дослідженні мікропрепарату методом поля-

(13) U

(11) 40079

(19) UA

ризаційної флуоресценції як специфічного прийому для виявлення структур з рідкокристалічними властивостями. З огляду на притаманність останніх структурам одноклітинних паразитів, зокрема лямблій (*L. intestinalis*), що склало принципову сутність способу їх прижиттєвого виявлення [3-5], а також значну сферу паразитування на тілі людини, зокрема у шкірі, стає цілком очевидною методична і методологічна перевага одночасного виявлення кліщів та інших паразитів у структурних елементах шкіри людини.

Беручи до уваги наведені міркування, поставлене завдання вирішують тим, що у відомому способі визначення біоценозу шкіри у хворих на рожеві вугрі, що включає попередню обробку шкірної поверхні хімічним реагентом з наступним мікроскопічним аналізом відбитку нашкірного вмісту на адгезивній оптично-прозорій плівці, відповідно до корисної моделі шкірну поверхню попередньо обробляють водним розчином перексиду водню, на яку після підсихання здійснюють аплікацію адгезивної плівки, наступного дня знімають з шкірної поверхні, реплікують клейкою поверхнею на предметне скло, а отриманий мікропрепарат досліджують у полі зору поляризаційного мікроскопу.

Перелік фігур.

Фіг. 1. Мікрофото. Поляризаційна флуоресценція кліща *Demodex* в мікропрепараті. ЛЮАМ-8 МЗ: обх10; окх20.

Фіг. 2. Мікрофото. Поляризаційна флуоресценція кліща *Demodex* заповненого зсередини і адсорбованого ззовні лямбліями. ЛЮАМ-8 МЗ: обх8; окх15.

Фіг. 3. Мікрофото. Заповнені тілами лямблій кліщі у периферійній частині адгезивної плівки в мікропрепараті. ЛЮАМ-8 МЗ: обх8; окх15.

Фіг. 4. Кліщ в оточенні цистоподібних форм лямблій. ЛЮАМ-8 МЗ: обх8; окх15.

Спосіб здійснюють наступним чином. Вибрану для дослідження поверхню шкіри попередньо обробляють 3 % водним розчином водню перексиду, а після підсихання на оброблену шкірну поверхню наклеюють клаптик оптично-прозорої плівки, наприклад скотчу. Наступного дня плівку обережно знімають із шкіри і накладають клейкою поверхнею на предметне скло. Виготовлений мікропрепарат досліджують за методикою поляризаційно флуоресцентної мікроскопії, звертаючи увагу на наявні в мікропрепараті паразити, зокрема, лямблії і/або кліщі. При цьому тіла лямблій (вегетативні і цистоподібні форми) світяться яскравим золотисто-жовтим світлом, іноді з червоною каймою. Тіла кліщів відповідно до типу вирізняються продовгуватою або овальною формою з потовщенням головного кінця і звуженням хвостової частини з характерним зернистим від жовтуватого-зеленого до золотистого кольору світінням (фіг. 1). За наявності в мікропрепаратах одночасно кліщів *Demodex folliculorum* і лямблій звертають увагу на характер взаємного розташування паразитів, форму тіл і характер флуоресцентного світіння.

Приклад 1. Хвора С, 42 років, з метою підтвердження діагнозу демодекозу, згідно з отриманою від лікаря інструкцією, в домашніх умовах само-

стійно обробила поверхню шкіри в ділянці лоба 3 % водним розчином водню перексиду. Після підсихання на оброблену шкірну поверхню наклеїла клаптик плівки скотчу. Наступного дня плівку обережно зняла із шкіри і наклеїла клейкою поверхнею на предметне скло. Виготовлений у наведений спосіб мікропрепарат досліджували в лабораторії за методикою поляризаційно флуоресцентної мікроскопії. При цьому в мікропрепараті при освітленні його поляризованим світлом виявили овальної та округлої форми кліщі, світіння тіл яких вирізнялося дрібнозернистою структурою, компоненти якої висвічували від зелено-жовтого до золотисто-червоного кольору, походження яких вимагає подальшого вивчення, але за попередніми даними їх слід віднести до залишків перетравлених усередині кліща тіл лямблій. На поверхні кліщів (фіг. 2) рельєфно проступають адсорбовані тіла лямблій, які яскраво висвічують типовим золотисто-жовтим світлом. За наявності в мікропрепаратах одночасно кліщів *Demodex folliculorum* і лямблій звертали увагу на характер взаємного розташування паразитів, форму тіл і характер флуоресцентного світіння. Мікропрепарати фотодокументували, а при погребі здійснення довготривалого вивчення біоценозу шкіри шляхом аналізу матеріалу від хворих на основі поляризаційно флуоресцентної мікроскопії формували відповідну комп'ютерну базу даних.

Приклад 2. При вивченні особливостей біоценозу шкіри за запропонованим способом звертали увагу на частоту виявлення у шкірі хворих людей кліщів обох типів, а саме *Demodex folliculorum longus* і *Demodex folliculorum brevis*, а також лямблій. Так, наприклад, одночасна присутність у матеріалі отриманому від хворих вказаних типів кліщів (фіг. 3) свідчить про не випадковий характер такого збігу, ставлячи на порядок денний вивчення особливостей та імовірну закономірність встановленого явища. Не менш важливою є практично постійна присутність одночасно лямблій (цист і вегетативних форм) і кліщів у матеріалі, отриманого від хворої людини з дерматологічними проявами демодекозу, виводячи до розряду першочергових, питання вивчення сутності встановленого феномену із загальнобіологічних позицій (фіг. 4).

Таким чином, запропонований спосіб забезпечує точніше та інформативніше, ніж за способом-прототипом, дослідження біоценозу шкіри у хворих на рожеві вугрі, що сприятиме підвищенню точності та інформативності діагностичного дослідження паразитозів з переважним ураженням шкірного покриву людини, а отже – досягненню надійніших результатів лікування.

Джерела інформації, які слід взяти до уваги:

1. Жаксылыкова Р.Д., Кененбаева М.К. К вопросу о диагностике демодекоза // Вестник АКАЗССР, 1990. - №4. - С.69-71.

2. Антонов В.Ф., Смирнова Е.Ю., Шевченко Е.В. Липидные мембраны при фазовых превращениях. М.: Наука, 1992.

3. Шкільна М.І., Дем'яненко В.В. Біофізичні засади клініко-лабораторної інформативності поляризаційно флуоресценції лямблій/Розвиток наукових досліджень 2007//Мат. Третьої міжнародної

науково-практичної конференції. 28-28 листопада 2007 р. Г.5, -Полтава: ІнтерГрафіка, 2007.- С. 77-78.

4. Дем'яненко В.В. Шкільна М.І. Лямбліоз: особливості діагностики лямбліозної інвазії. Екологія мікроорганізмів. Матеріали конференції. Тернопіль, «Укрмедкнига», 2007. - С. 54.

5. Пат.29303 У. Спосіб діагностичного визначення лямблій. Андрейчин М.А., Шкільна М.І, №U200709882; 03.09.2007; опубл. 10.01.2008; Бюл. № 1.

7. Карнаухов В.Н. Люминесцентный спектральный анализ клетки. - М: Наука, 1978.-209 с.

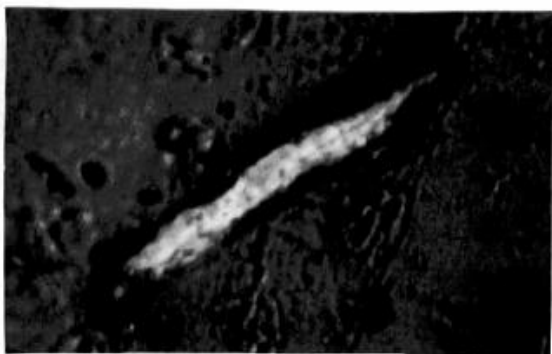


Fig. 1

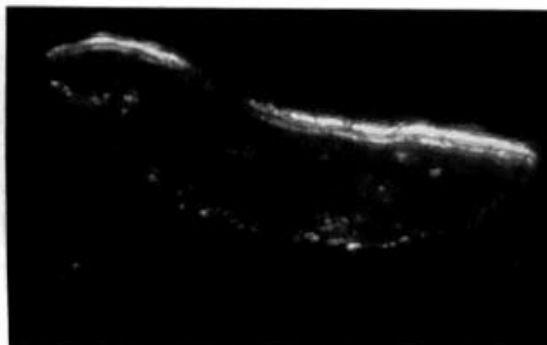


Fig. 2

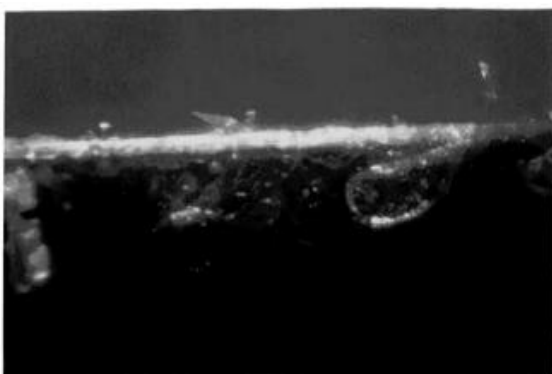


Fig. 3

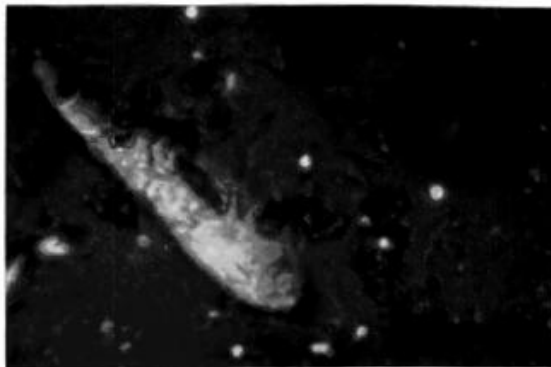


Fig. 4