



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **27721** (13) **U**
(51) МПК (2006)
G01N 1/00
G01N 21/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ПРИСКОРЕНОГО ВИЯВЛЕННЯ HELICOBACTER PYLORI В СЛИЗОВІЙ ОБОЛОНЦІ ШЛУНКА У ПАТОЛОГО-АНАТОМІЧНОМУ МАТЕРІАЛІ

1

(21) u200707709

(22) 09.07.2007

(24) 12.11.2007

(72) ТУМАНСЬКИЙ ВАЛЕРІЙ ОЛЕКСІЙОВИЧ, UA,
ТИМОШЕНКО СВІТЛАНА ГЕННАДІЇВНА, UA

(73) ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ, UA, ТУМАНСЬКИЙ ВАЛЕРІЙ
ОЛЕКСІЙОВИЧ, UA, ТИМОШЕНКО СВІТЛАНА
ГЕННАДІЇВНА, UA

(56)

2

(57) Спосіб прискореного виявлення *Helicobacter Pylori* в слизовій оболонці шлунка у патолого-анатомічному матеріалі, що полягає у приготуванні гістологічного мікропрепарату тканини слизової оболонки шлунка із забарвленням його за Романовським і мікроскопічному визначенні *Helicobacter Pylori* в гістологічному мікропрепараті, який **відрізняється** тим, що до забарвлення тканину заморожують в кріостаті з використанням гелю, а забарвлення проводять в термостаті при 37 °С.

Корисна модель стосується медицини, а саме, патологічної анатомії, і може бути використаною при проведенні секційного дослідження з метою виявлення *Helicobacter Pylori* в слизовій оболонці шлунку померлих.

Ми не знайшли літературних даних про виявлення *Helicobacter Pylori* в слизовій оболонці шлунку померлих, оскільки вважається, що в резектованих шлунках та в секційному матеріалі збудник не виявляється, хоча хронічні гастрити і виразки шлунку виявляються при патологоанатомічних розтинках у значної частини померлих хворих. Окрім цього, іноді у померлого хворого при розтині виявляється не діагностована при житті хронічна виразка шлунку або дванадцятипалої кишки, обтяжена розвинутою кровотечею, перфорацією і яка вимагає етіологічного обґрунтування в остаточному патологоанатомічному діагнозі. Тому посмертне визначення *Helicobacter Pylori* у померлих хворих на гастродуоденальну патологію необхідне як для уточнення етіології хронічного гастриту або виразкової хвороби, так і для визначення ступеня інфікованості збудником слизової оболонки шлунку і, отже, - для висновку про ефективність лікування, що проводиться в стаціонарі. Цим обґрунтовано необхідність розробки способів виявлення *Helicobacter Pylori* у померлих хворих.

Найбільш близьким за технічною сутністю та результатом, що досягається, є спосіб прижиттєвого виявлення *Helicobacter Pylori*, який

полягає у виготовленні гістологічних мікропрепаратів біоптату тканини слизової оболонки шлунку (фіксація, проводка і заливання в парафін матеріалу), їх забарвлення гематоксилином та еозином і забарвленням за Романовським-Гимзою, мікроскопічній ідентифікації бактерій та подальшій верифікації за допомогою уреазного тесту [Железняков Н.М. Шляхи верифікації *Helicobacter Pylori* і оцінка їх інформативності при виразковій хворобі і хронічному гастриті // Сучасна гастроентерологія. - 2004. - №4. - с.46-48].

Спільними суттєвими ознаками прототипу і корисної моделі, що заявляється, є такі:

- виготовлення гістологічного мікропрепарату тканини слизової оболонки шлунку із забарвленням тканини за Романовським;

- мікроскопічне визначення *Helicobacter Pylori* в гістологічному мікропрепараті.

Цей спосіб є недостатньо ефективним, тому що під час фіксації, проводки і заливання в парафін матеріалу для виготовлення гістологічних мікропрепаратів, *Helicobacter Pylori* разом із слизом вимивається з поверхні слизової оболонки шлунку, що знижує кількість бактерій, яка визначається при мікроскопії, а також знижує коефіцієнт обсіменіння або повністю його нівелює;

- технологічний процес виготовлення гістологічного мікропрепарату із шматочка тканини слизової оболонки шлунку триває не менше 3 діб,

(13) **U**

(11) **27721**

(19) **UA**

що призводить до зниження ефективності виявлення *Helicobacter Pylori*.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалення способу прискореного визначення *Helicobacter Pylori* в слизовій оболонці шлунку у патологоанатомічному матеріалі шляхом заморожування тканини шлунку з використанням гелю і проведення забарвлення зрізів у термостаті, що прискорює отримання результатів дослідження та забезпечує підвищення його достовірності.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі, який полягає у приготуванні гістологічного мікропрепарату тканини слизової оболонки шлунку із забарвленням його за Романовським і мікроскопічному визначенні *Helicobacter Pylori* в гістологічному мікропрепараті, новим є те, що до забарвлення тканину заморожують в кріостаті з використанням гелю, а забарвлення проводять в термостаті при 37°C.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак, що заявляються, та технічним результатом полягає у такому.

Використання замороженого нативного матеріалу для виготовлення гістологічного мікропрепарату виключає етапи попередніх фіксації, зневоднення і заливання в парафін, а використання гелю при заморожуванні запобігає елімінації слизу і присутнього в ній *Helicobacter Pylori* з люмінальної поверхні фовеолярного епітелію.

Процес від забору шматочка тканини до виготовлення мікропрепарату і його забарвлення скорочується до 40 хвилин, що значно прискорює отримання результатів у порівнянні з відомим способом.

Скорочення часу на виготовлення гістологічних мікропрепаратів, забарвлених за Романовським, також прискорює мікроскопічну ідентифікацію *Helicobacter Pylori*.

Більш повне збереження *Helicobacter Pylori* в заморожених мікропрепаратах обумовлює більшу достовірність розрахунку коефіцієнту обсіменіння бактеріями шлунку при мікроскопії.

Таким чином, сукупність вищезазначених позитивних ознак дозволить прискорити та підвищити ефективність посмертного визначення *Helicobacter Pylori* в слизовій оболонці шлунку.

Спосіб здійснюють таким чином:

Вирізаний шматочок тканини слизистої оболонки антрального відділу шлунку розміром 1x1x0,3см без попереднього промивання на 1-2 хвилини занурюють в ємність з петролейним ефіром, потім переносять в камеру кріостату на утримувач тканин і покривають шматочок шаром гелю cryoembedding compound, що заморожує. Після повного заморожування шматочка тканини в камері кріостату при температурі -25°C з нього виготовляють зрізи завтовшки 3мкм. Зрізи зразу ж переносять на предметні скельця, витягують з кріостату, занурюють в лабораторну склянку з фарбувальним розчином Романовського кімнатної температури і на 30 хвилин ємність ставлять в термостат при 37°C. Забарвлені зрізи на предметних скельцях одноразово промивають проточною водою, просушують і диференціюють

2-3 секунди в 96° спирті, потім диференціюють 5 хвилин в ксилолі, укладають в канадський бальзам і проводять мікроскопічне визначення *Helicobacter Pylori* в слизовій оболонці шлунку.

Приклад.

У померлого хворого на геморагічний інсульт С., 48 років, при розтині були узяті два шматочки слизової оболонки антрального відділу шлунку, які зразу ж заморозили в кріостаті з використанням гелю, виготовили в кріостаті зрізи, зафарбували їх за Романовським в термостаті при 37°C і при світловій мікроскопії визначили обсіменіння слизу фовеолярного епітелію шлунку *Helicobacter Pylori*, відповідне 3+.