

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ГНІЙНОГО ХОЛАНГІТУ

(21) 2001010616

(22) 26.01.2001

(24) 15.06.2001

(46) 15.06.2001, Бюл. № 5, 2001 р.

(72) Мішалов Володимир Григорович, Брюзгіна Те-  
тяна Семенівна, Теслюк Ігор Хванович(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ ІНМУ(57) Спосіб діагностики гнійного холангіту шляхом  
дослідження біологічного субстрату, який  
відрізняється тим, що методом газової хромато-графії визначають склад жирних кислот ліпідів  
сироватки крові та індекс їх співвідношення за  
формулою:

$$\frac{C_{20:3} + C_{20:4}}{C_{18:2}}$$

де  $C_{20:3}$  - ейкозотрієнова кислота, %; $C_{20:4}$  - арахідонова кислота, %; $C_{18:2}$  - лінолева кислота, %;і при підвищенні показника до 1 і більше діагносту-  
ють гнійний холангіт.

Спосіб, що заявляється, відноситься до ме-  
дицини, а точніше до хірургії і такого її розділу, як  
хірургія черевної порожнини, власне хірургії печін-  
ки і призначений для покращення результатів  
операцій на печінкових протоках.

Відомо, що діагностика гнійного холангіту  
(ГХ) при жовчнокам'яній хворобі (ЖКХ) залишаєть-  
ся важливою проблемою біліарної хірургії через  
незадовільні результати лікування хворих, високу  
післяопераційну летальність (4,7 - 21%), значне  
зростання кількості стертих та безжовтушних  
форм, діагностика яких з використанням існуючих  
методів викликає великі труднощі. Існують різні  
способи діагностики гнійного холангіту: клінічні, ла-  
бораторні, інструментальні. Найбільш інформатив-  
ні з них - інтраопераційні інструментальні методи -  
прицільна контактна ендоскопічна електротермо-  
метрія жовчних протоків та фіброхолангіоскопія  
[1,2]. Обмеження при використанні викликані їх  
виключним інтраопераційним застосуванням, що  
не дає можливості спостерігати за перебігом хво-  
роби в післяопераційному періоді.

Найближчим аналогом-прототипом способу,  
що заявляється, є спосіб визначення у внутріпро-  
токовій жовчі кількості фармазанпозитивних нейт-  
рофільних гранулоцитів. Для цього інтраоперацій-  
но отримують жовч і виділяють з неї нейтрофіли,  
проводять реакцію їх записі з нітросинім тетра-  
золієм, визначають кількість фармазанпозитивних  
клітин і при наявності їх 2% і більше, діагностують  
гнійний холангіт [3].

Спосіб-прототип має наступні недоліки: він  
не забезпечує високу ефективність виявлення

гнійного холангіту; відноситься до інтраоперацій-  
них методів, що не дозволяє контролювати процес  
одужання після операції.

Задача, що вирішується, полягає у забезпе-  
ченні діагностики гнійного холангіту до оператив-  
ного втручання, більш повний та якісний контроль  
за перебігом захворювання в післяопераційному  
періоді.

Технічним результатом нового способу буде  
зменшення частоти інтраопераційних ускладнень  
при хірургічному лікуванні хворих гнійним холангі-  
том шляхом вибору оптимального об'єму опера-  
тивного втручання та зменшення післяопераційних  
ускладнень шляхом корекції проводимого лікуван-  
ня з урахуванням клінічних та лабораторних да-  
них.

Поставлена задача, згідно винаходу, до-  
сягається тим, що методом газової хроматографії  
визначають склад жирних кислот ліпідів сироватки  
крові та індекс їх співвідношення за формулою:

$$\frac{C_{20:3} + C_{20:4}}{C_{18:2}}$$

де  $C_{20:3}$  - ейкозотрієнова к-та (в %), $C_{20:4}$  - арахідонова к-та (в %); $C_{18:2}$  - лінолева к-та (в %),і при підвищенні показника до 1 і більше, діагнос-  
тують гнійний холангіт.

Запропонований спосіб здійснюється наступ-  
ним чином: сироватку крові в об'ємі 1-1,5 мл вмі-  
щують у пробірку з притертою пробкою ємністю 10-  
15 мл, додають 5-7 мл хлороформно-метанольної  
суміші (у відношенні 2:1) і тримають 30 хвилин в  
холодильнику при 4°C, потім відбирають піпеткою

Пастера нижній хлороформний шар. Для повноти реакції етап екстракції хлороформно-метанольною сумішшю повторюють двічі. Об'єднані хлороформні екстракти концентрують випарюванням до висихання в потоці азоту при температурі 45°C на водяній бані. До сухого осаду ліпідів сироватки крові або жовчі додають 5 мл 1 %  $H_2SO_4$  в метанолі та переносять розчин у скляну ампулу ємністю 10 мл, після запаювання проводять гідроліз і метилування в термостаті при температурі 85°C протягом 20 хвилин. Екстракцію метилованих жирних кислот (ЖК) ліпідів сироватки крові здійснюють двічі гексан-ефірною сумішшю (у співвідношенні 1:1) в об'ємі 5 мл (для розмежування фаз додають 1 мл дистильованої води), відбирають піпеткою Пастера верхній шар. Об'єднані екстракти випарюють до висихання в потоці азоту при температурі 45°C на водяній бані. Сухий осад розчиняють в 40-50 мкл чистого гексану та вводять у випарювач хроматографа в об'ємі 5 мкл.

Газохроматографічний аналіз спектру жирних кислот ліпідів сироватки крові здійснюється на газовому хроматографі серії "Цвет-500" з полум'яно-іонізаційним детектором в ізотермічному режимі за таких умов: використовують скляну колонку (розміром 2 м x 0,3 см), заповнену фазою 5% ПЕГС (поліетиленгліколю сукцинату) на хроматоні N-AW-HMDS (зернистість 0,125 - 0,160 мм), температура колонки +187°C, температура випарювача +250°C, витрати азоту та водню - 35 мл/хв, повітря - 200 мл/хв, швидкість діаграмної стрічки - 240 мм/год, чутливість шкали  $10A^{-7}$ , об'єм проби, яка вводиться, - 5 мкл, тривалість аналізу - 20 хв. Кількісна оцінка спектру жирних кислот ліпідів сироват-

ки крові проводиться методом нормування площі з визначенням частки кислот у відсотках. Похибка визначення  $\pm 10\%$ .

Кров для аналізу спектру жирних кислот ліпідів сироватки крові набирали перед оперативним втручанням з кубітальної вени. Контрольну групу склали 6 хворих з калькульозним холециститом без ускладнень, прооперованих в плановому порядку. В якості показника норми використали дані, отримані у 10 практично здорових осіб тієї ж вікової групи. Результати газохроматографічного аналізу спектру жирних кислот ліпідів сироватки крові приведені в таблиці.

В період з серпня 1999 до грудня 2000р. у хірургічному відділенні Центральної міської клінічної лікарні за запропонованим способом гнійний холангіт перед операцією діагностовано у 7 хворих (2 - чоловічої статі, 5 - жіночої), у всіх діагноз був верифікований під час операції.

Таким чином, запропонований спосіб забезпечує більш повну та якісну діагностику гнійного холангіту, є точним та швидким.

#### Література.

1. Иншаков Л.Н., Зиневич В.П., Кузьмин - Крутецкий М.И. Наш опыт диагностической и лечебной холедохоскопии // Вестн. хирургии им. И.И. Грекова. - 1991. - № 7-8 - С. 88-91.
2. Мамчик В.И., Примов Э.А. Способ интраоперационной диагностики холангита // Клін. хірургія. - 1993. - № 4. - С. 60-61.
3. Патент РФ № 2008675, МКИ G 01 N 33/53. Способ диагностики гнойного холангита / А.А. Шапимов, В.П. Чернышов, А.А. Стасенко и др. - Заявлено 08.10.90, опубл. 28.02.94. - Бюл. № 4.

Склад (в %) жирних кислот ліпідів сироватки крові

Жирні кислоти	Норма (n = 10)	Контроль (n = 8)	Гнійний холангіт (n = 7)
C <sub>18:2</sub> (лінолева)	16,0 ± 1,8	23,3 ± 1,1	17,7 ± 1,5
C <sub>20:3</sub> (ейкозотрієнова)	0,3 ± 0,01	0,3 ± 0,08	7,7 ± 0,6
C <sub>20:4</sub> (арахідонова)	2,8 ± 0,3	13,1 ± 0,8	37,9 ± 2,7

Тираж 50 екз.

Відкрите акціонерне товариство «Патент»  
Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101  
(03122) 3 - 72 - 89 (03122) 2 - 57 - 03