



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 88914

(13) C2

(51) МПК (2009)

G01N 21/00

A61B 10/00

G01N 1/28

G01N 1/40

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ВИГОТОВЛЕННЯ МІКРОПРЕПАРАТУ ЖОВЧІ

1

(21) a200701715

(22) 19.02.2007

(24) 10.12.2009

(46) 10.12.2009, Бюл.№ 23, 2009 р.

(72) КОВАЛЬЧУК ОЛЕКСАНДР ЛЕОНІДОВИЧ

(73) ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я.ГОРБАЧЕВСЬКОГО

(56) RU 2172138 C2; 20.08.2001

RU 2123699 C1; 20.12.1998

RU 2024871 C1; 15.12.1994

Луппа Х. Основы гистохимии./ Под редакц. проф.
Н.Т. Райхлина. - М. : Мир, 1980. - С.30-39, 258-259.

2

RU 2147122 C1; 27.03.2000

(57) Спосіб виготовлення мікропрепарату жовчі, що включає нанесення краплини нативної жовчі на предметне скло, який **відрізняється** тим, що нанесену жовч висушують упродовж 2-4 год. при 20-30 °С, фіксують у формаліновій парі протягом 2-3 год., після чого висушений мікропрепарат герметизують канадським або пітковим бальзамом і скельцем, причому бальзам наносять на предметне скло довкола краплини жовчі по периметру скельця, і проводять остаточне висушування мікропрепарату та його маркування.

Винахід стосується медицини, зокрема методів лабораторного дослідження, і може бути використаний в клініко-лабораторній практиці, а також у навчальному процесі і експериментальній науці.

Відомий спосіб виготовлення мікропрепарату жовчі, що включає нанесення краплини нативної жовчі на предметне скло [1]. Виготовлений за відомим способом мікропрепарат нативної жовчі досліджують у полі зору світлооптичного мікроскопу, у тому числі за методом поляризаційної флуоресценції.

Недоліком відомого способу є недостатня ефективність від використання виготовленого мікропрепарату, оскільки останній не підлягає довготривалому зберіганню, а отже не може бути використаний як інформативний біооб'єкт у навчальному процесі, а також в експериментальній медицині, фізиці і біофізиці, наприклад, при вивченні рідкокристалічних властивостей компонентів біологічного походження що входять до складу нативної жовчі.

У основу винаходу поставлено завдання вдосконалити відомий спосіб, в якому шляхом внесення додаткового технологічного етапу виготовлення мікропрепарату, спрямованого на забезпечення довготривалого збереження біофізичних і фізико-хімічних властивостей нативної жовчі, досягають

підвищення ефективності мікропрепарату, а також його інформативності.

При вирішенні технічного завдання було взято до уваги те, що молекулам складових компонентів жовчі, зокрема ліпідам клітинних мембран, нуклеїнових кислот, наприклад, ядрових ДНК і РНК лейкоцитів, притаманні властивості рідких кристалів, що в силу їх анізотропії розкриває можливість застосування методу високоточної поляризаційної флуоресценції. Сформовані в жовчі внаслідок патологічних змін складні багатокомпонентні кристали відображають фазність і інтенсивність патологічного процесу, що й становить, власне, інформативну сутність діагностичного методу.

Виходячи з наведеного, у відомому способі виготовлення мікропрепарату жовчі, що включає нанесення краплини нативної жовчі на предметне скло, відповідно до винаходу нанесену жовч висушують упродовж 2-4 год при 20-30 °С, фіксують у формаліновій парі протягом 2-3 год, після чого висушений мікропрепарат герметизують канадським або пітковим бальзамом і скельцем, причому бальзам наносять на предметне скло довкола краплини жовчі по периметру скельця, і проводять остаточне висушування мікропрепарату та його маркування.

Перелік фігур.

(13) C2

(11) 88914

(19) UA

Фіг.1. Нанесення бальзаму на предметне скло довкола висушеної краплини нативної жовчі:

- 1 - предметне скло
- 2 - краплина нативної жовчі
- 3 - шар бальзаму у вигляді кільця
- 4 - границі скельця по периметру

Фіг.2. Загальний вигляд мікропрепарату жовчі.

- 1 - предметне скло
- 2 - краплина нативної жовчі
- 5 - скельце, з-під якого проглядає шар бальзаму (по периферії) і жовчі (в центрі)
- 6 - маркувальна етикетка.

Фіг.3. Недостатньо виражена поляризаційна флуоресценція жовчі в мікропрепараті, виготовленому за відомим способом.

Фіг.4. Полярофлуорограма жовчі в мікропрепараті, виготовленому за запропонованим способом.

Спосіб здійснюють наступним чином. На чисте знежирене предметне скло наносять краплину нативної жовчі і висушують упродовж 2-4 год при 20-30°C та фіксують у формаліновій парі ще впродовж 2-3 год для знезараження. Далі мікропрепарат герметизують за допомогою канадського або піхтового бальзаму і покривного скельця, для чого по периферії висушеної жовчі на предметному склі наносять тонкий шар бальзаму таким чином, щоб межі його на склі співпадали з периметром скельця. Останнє обережно накладають на нанесений шар бальзаму так, щоб висušена жовч містилася всередині утвореної герметичної камери, після чого проводять остаточне висушування мікропрепарату. Останній ідентифікують при дослідженні за методом поляризаційної флуоресценції та маркують відповідно до критеріїв діагностичного процесу або інших завдань дослідження.

Приклад 1. Отриману з жовчного міхура хворої людини безпосередньо під час оперативного втручання за технологією мініінвазивної хірургії порцію жовчі в об'ємі 50мкл нанесли на чисте знежирене предметне скло 1 і висушували впродовж 2 год при 20°C. та фіксували у формаліновій парі в ексікаторі впродовж 2 год для знезараження. Мікропрепарат герметизували за допомогою канадського бальзаму і скельця (Фіг.1). Для цього на предметне скло 1 навколо висушеної краплини жовчі 2 нанесли тонкий шар бальзаму 3 у вигляді кільця таким чином, щоб воно не виходило за границі 4 скельця по периметру перед його накладанням. Після цього краплину жовчі 2 і шар бальзаму 3 у вигляді кільця обережно накрили скельцем 5

(Фіг.2) таким чином, що жовч виявилася розташованою всередині герметичної камери (на Фіг. не позначено) мікропрепарату. Останній остаточно висушили при кімнатній температурі впродовж 1 доби, після чого ідентифікували в ході дослідження за методом поляризаційної флуоресценції та промаркували відповідно до критеріїв діагностичного процесу і завдань навчального процесу, наприклад, за програмою курсу мініінвазивної хірургії шляхом наклеювання відповідної маркувальної етикетки 6.

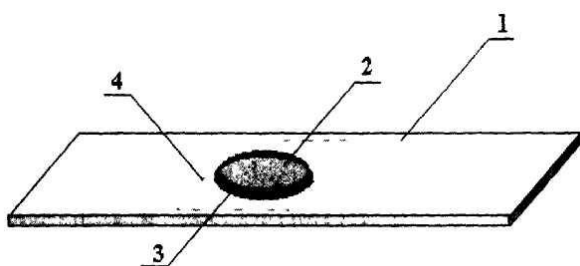
Приклад 2. Переваги запропонованого способу виготовлення мікропрепарату жовчі з очевидністю проявляються при порівнянні картини його поляризаційної флуоресценції з аналогічним мікропрепаратом, виготовленим за допомогою відомого способу. Так, при вмонтуванні препарату жовчі під суцільний шар бальзаму з наступним накриттям його скельцем відповідно до відомого способу вже через добу кристалічні конгломерації в жовчі не висвічують, очевидно, внаслідок розчинення ліпоїдних рідкокристалічних структур у кислоті - розчиннику бальзаму (Фіг.3). Натомість, завдяки відсутності безпосереднього контакту бальзаму з жовчю, як це має місце у герметичній камері мікропрепарату, виготовленому за запропонованим способом, поляризаційна флуоресценція рідкокристалічних структур жовчі характеризується яскравістю, чіткістю, структурованістю і стабільністю (Фіг.4).

Таким чином, запропонований спосіб забезпечує вищий, ніж за способом-прототипом, рівень ефективності мікропрепарату жовчі від його використання при дослідженні за методом поляризаційної флуоресценції. Запропонований спосіб знайде застосування в клініко-лабораторній практиці, а також у навчальному процесі як складова частина сучасних лікувально-профілактичних технологій, наприклад, в мініінвазивній хірургії.

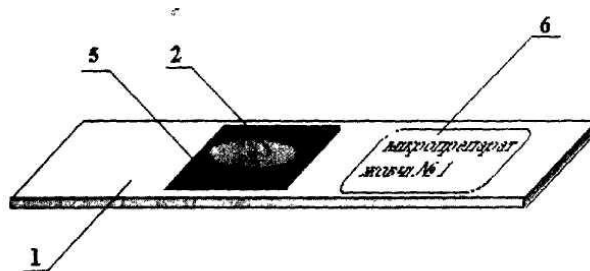
Джерела інформації, які слід взяти до уваги:

1. Л.В.Козловская, А.Ю.Николаев. Учебное пособие по клиническим лабораторным методам исследования. Под ред. акад. Е.М.Тареева. М: Медицина. 1984. - С.227-231.

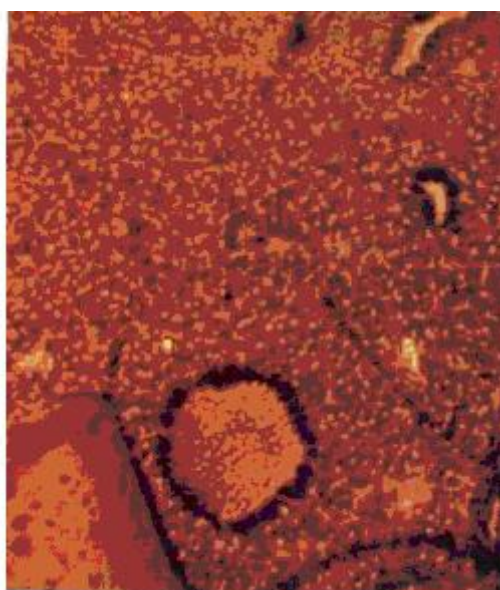
2. Основы гистологии и гистологической техники / Ю.И.Афанасьев, В.К.Баланчук, Л.Л.Банников и др.// Под общей ред. заслуж. деятеля науки РСФСР проф. В.Г.Елисеєва, проф. М.Л.Субботина, проф. Ю.И.Афанасьєва, доц. Г.Ф.Котовского. Второе изд. исправл. и доп. - М: Медицина, 1967. - 268с.



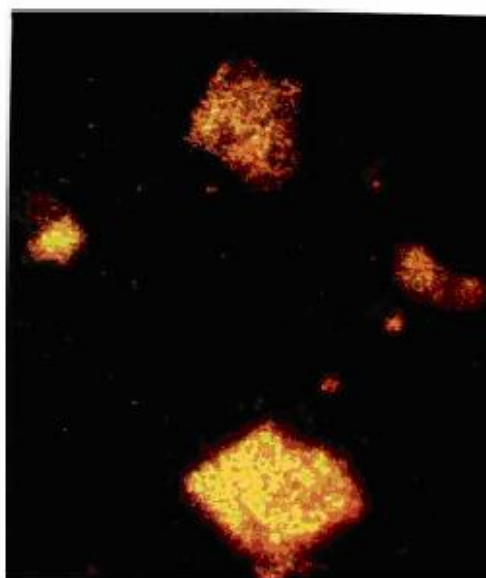
Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4