



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 92862

(13) C2

(51) МПК (2009)

A61B 5/00

G01N 33/52

G01J 3/28

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

(54) СПОСІБ МІКРОСКОПІЧНОГО АНАЛІЗУ ПАТОГНОМОНІЧНОГО УТВОРУ ХВОРОБИ МОРГЕЛОНІВ

1

2

(21) а200909115

(22) 04.09.2009

(24) 10.12.2010

(46) 10.12.2010, Бюл. № 23, 2010 р.

(72) АНДРЕЙЧИН МИХАЙЛО АНТОНОВИЧ, БІГУ-
НЯК ВОЛОДИМИР ВАСИЛЬОВИЧ, ДЕМ'ЯНЕНКО
ВАСИЛЬ ВАСИЛЬОВИЧ(73) ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

(56) US 2009/0202442 A1 13.08.2009

SU 845052 17.07.1981

(57) Спосіб мікроскопічного аналізу патогномоніч-
ного утвору хвороби Моргелонів, що включає мік-

роскопію виділеного з підшкірної клітковини біома-
теріалу від хворої людини, який **відрізняється**
тим, що отриманий біоматеріал ополіскують в ізо-
тонічному розчині хлориду натрію, після чого на-
носять на предметне скло, відсепаровують від
біотканинного конгломерату, витримують при 18-
22°C протягом принаймні 30 хвилин і накривають
оптично-прозорим скотчем, і досліджують на наяв-
ність патогномонічного утвору та його морфологіч-
ні і фізико-біологічні особливості у полі зору люмі-
несцентного мікроскопа за методом поляризацій-
поляризаційної флуоресценції.

Винахід стосується медицини, зокрема, меди-
чної мікробіології, і може бути використаний в ла-
бораторно-діагностичній практиці для діагностики
маловивченої патології, відомої під назвою хворо-
би Моргелонів (morbus Morgelloni- лат., Morgellons
desease -англ.).

Відомий спосіб мікроскопічного аналізу пато-
гномонічного утвору хвороби Моргелонів, що вклю-
чає мікроскопію виділеного з підшкірної клітковини
біоматеріалу від хворої людини [1]. За відомим
способом, отриманий із підшкірно-жирової клітко-
вини біоматеріал досліджують у полі зору світло-
оптичного мікроскопу в нативному вигляді, тобто
без застосування відповідних фарбників.

Недоліком відомого способу є недостатня тех-
нологічність і точність, що впливає з невисокої
контрастності зображення патогномонічного утво-
ру при традиційній світловій мікроскопії, внаслідок
чого обмежений рівень інформативності діагнос-
тичного дослідження. Недостатній рівень методи-
чного забезпечення виникає також внаслідок дос-
лідження біоматеріалу без попереднього
виділення з нього тіла збудника.

В основу винаходу поставлено завдання вдос-
коналити відомий спосіб, в якому шляхом застосу-
вання адекватнішого, порівняно із способом – про-
тотипом, методу мікроскопічного аналізу,
спрямованого на виявлення специфічних фізико-

біологічних особливостей макромолекул патогно-
монічного утвору, досягають підвищення рівня
технологічності, точності та інформативності.

При вирішенні технічного завдання були вра-
ховані виражені анізотропні властивості біомакро-
молекул структуральних компонентів патогномоні-
чних утворів унаслідок належності їх до сполук із
рідкокристалічними властивостями. До таких, як
відомо, належать білково-ліпідні і полісахаридні
комплекси, з яких побудована зовнішня оболонка
утвору, нуклеїнові кислоти та інші органіди. З
огляду на наведені міркування, значно ефективні-
шим щодо підвищення контрастності зображення
структуральних елементів утвору - вірогідного
збудника хвороби Моргелонів є застосування ме-
тоду поляризаційної флуоресценції [2].

Виходячи з цього, спосіб мікроскопічного ана-
лізу патогномонічного утвору хвороби Моргелонів,
що включає мікроскопію виділеного з підшкірної
клітковини біоматеріалу від хворої людини, відпо-
відно до винаходу отриманий біоматеріал ополіс-
кують в ізотонічному розчині хлориду натрію, після
чого наносять на предметне скло, відсепаровують
від біотканинного конгломерату, витримують при
18-22°C упродовж, принаймні 30 хвилин і накри-
вають оптично-прозорим скотчем, і досліджують на
наявність патогномонічного утвору та його морфо-
логічні і фізико-біологічні особливості у полі зору

(13) C2

(11) 92862

(19) UA

люмінесцентного мікроскопа за методом поляризаційної флуоресценції.

Перелік фігур.

Фіг. 1. Біотканинний конгломерат у полі зору люмінесцентного мікроскопа. Поляризаційна флуоресценція. Збільшення об. х4.

Фіг. 2. Вихід ниткоподібних утворів з-під товщі біотканинного конгломерату. Поляризаційна флуоресценція. Збільш, об. х4.

Фіг. 3. Значне скупчення ниткоподібних утворів у вигляді жмута. Поляризаційна флуоресценція. Збільш, об. х4.

Фіг. 4. Патогномонічний утвір на початковій стадії розвитку. Поляризаційна флуоресценція. Збільш, об. х10.

Фіг. 5. Головний кінець ниткоподібного утвору з брунькою у середній частині тіла. Поляризаційна флуоресценція. Збільш, об. х20.

Фіг. 6. Бокова брунька на тілі утвору на початковому етапі розвитку. Поляризаційна флуоресценція. Збільш, об. х40.

Фіг. 7. Розвинений паросток протягом 1 доби з бокової бруньки утвору. Поляризаційна флуоресценція. Збільш, об. х40.

Фіг. 8. Поліхромне світіння (метахромазія) ниткоподібного утвору на етапі його кристалізації на 20-у добу перебування поза організмом на предметному склі. Поляризаційна флуоресценція. Збільш, об. х40.

Спосіб здійснюють наступним чином. Видалений із підшкірної клітковини хворої людини біоматеріал ополіскують в ізотонічному розчині хлориду натрію, після чого вносять на предметне скло, розправляють препарувальними голками і звільняють від залишків тканинного біосубстрату, витримують при 18-22°C протягом 30 хвилин і досліджують у полі зору люмінесцентного мікроскопу за методом поляризаційної флуоресценції.

Приклад 1. Хвора С, 34 років, хворіє упродовж 3 років. Скарги на нестерпний біль під шкірою і зуд. Відчуває активне переміщення паразитів під шкірою. Самостійно робить надрізи шкіри над місцем проекції скупчення вірогідних збудників, яких шпилькою дістає з рани у вигляді окремих ниткоподібних утворів або у складі біотканинного червоного кольору конгломерату. З метою ідентифікації патогномонічного утвору виділений у присутності медперсоналу через розріз шкіри з підшкірної клітковини біоматеріал ополоскали в ізотонічному розчині хлориду натрію і нанесли на предметне скло. За допомогою препарувальних голок відокремили окремі ниткоподібні утвори від клаптя неструктурованого біотканинного конгломерату. З фіг. 1 видно, що ззовні останній нагадує п'явку, розмірами від 15 мм до 60 мм довжиною і 2-3 мм - шириною. Мікропрепарат витримали при 20°C протягом 30 хвилин у умовах лабораторії і

покрили його скочем. Виділені окремі нитковидні утворення на предметному досліджували в полі зору люмінесцентного мікроскопа за допомогою методу поляризаційної флуоресценції. На фіг. 2-5 представлені структурні особливості ниткоподібних утворів, для яких характерною є часточковість, наявність принаймні однієї бокової вегетативної бруньки, стовщений головний і витончений хвостовий кінець, поліхромність світіння окремих частин нитчастого тіла та ін.

Приклад 2. На предметному склі декілька ниткоподібних утворів досліджували періодично впродовж трьох тижнів. Як показали результати, нативні утвори продовжували розвиватися і збільшуватися у розмірах за умов перебування поза організмом. Так, із розташованої в середній частині утвору бруньки (їх може бути декілька) поступово, протягом, принаймні, доби, сформувався паросток (фіг. 6, 7), який за зовнішніми властивостями практично не відрізнявся від часточкової структури тіла основної "нитки" (фіг. 8). Такі відгалуження є типовими для утвору, що, очевидно, є свідченням притаманної здатності його до вегетативного розмноження. Останнє, очевидно, слід враховувати при розробці ефективних методів лікування. Характерною особливістю патогномонічного утвору, як видно з фіг. 9, є наростання явищ вираженої метахромазії нитчастого тіла по мірі його кристалізації на предметному склі. З одного боку, це є свідченням значного вмісту в структурі утвору сполук рідкокристалічної природи, що само по собі важливо для діагностики хвороби, а з іншого - вказує на перспективність пошуку шляхів створення ефективних лікувальних засобів на основі фізичних чинників. На цьому етапі наочно представлені бокові вирости - вегетативні бруньки, що свідчить про спроможність вірогідного збудника до виживання в несприятливих умовах довкілля.

Таким чином, наведені результати мікроскопічного аналізу вірогідного збудника хвороби Моргелонів методом поляризаційної флуоресценції вказують на значні методичні переваги дослідження нативного - живого паразита на різних етапах його розвитку, у тому числі за умов переживання нативного утвору поза організмом.

Отже, запропонований спосіб забезпечує вищий, ніж за відомим способом-прототипом, рівень технологічності, точності та інформативності діагностичного дослідження, і знайде широке використання в практиці мікроскопічного аналізу маловивченої на даний час патології - хвороби Моргелонів.

Джерела інформації, які слід взяти до уваги:

1. Harvey W.T. Morgellons Disease/Journal of the American Academy of Dermatology (JAAD).Volume 56, Issue 4, Pages 705-706 (April 2007)

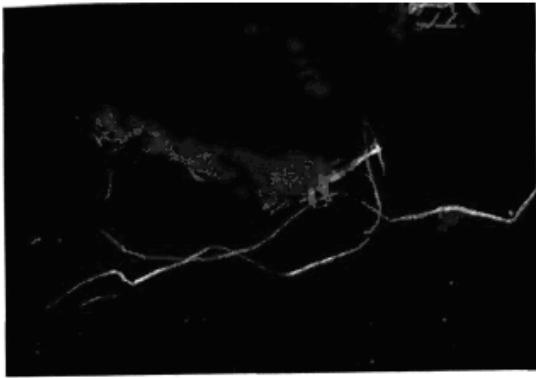


Fig. 1



Fig. 2

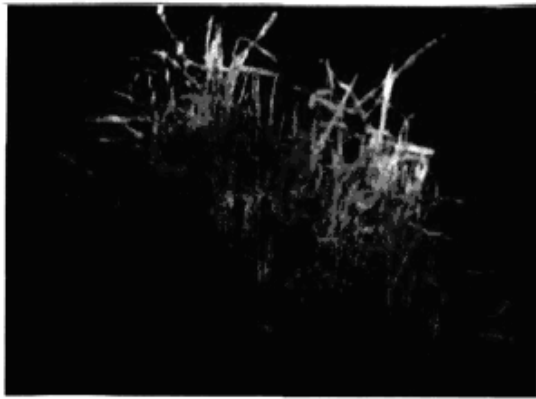


Fig. 3



Fig. 4

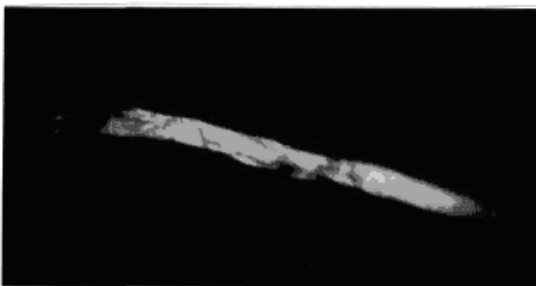


Fig. 5



Fig. 6



Fig. 7

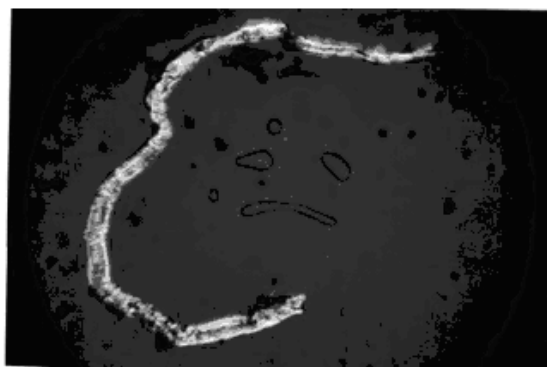


Fig. 8