

УКРАЇНА



ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 93273

**СПОСІБ ТЕСТУВАННЯ ГЕЛІКОБАКТЕРНОЇ ІНФЕКЦІЇ У
ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕЛІКОБАКТЕРІОЗ**

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі **25.09.2014.**

Голова Державної служби
інтелектуальної власності України

M. V. Koviya
М.В. Ковія





ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **93273**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 33/48 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2014 03956**
(22) Дата подання заявки: **14.04.2014**
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **25.09.2014**
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **25.09.2014, Бюл.№ 18**

(72) Винахідник(и):
Авраменко Анатолій Олександрович (UA)
(73) Власник(и):
Авраменко Анатолій Олександрович, вул. Чкалова, 118, кв. 4, м. Миколаїв, 54003 (UA)

(54) СПОСІБ ТЕСТУВАННЯ ГЕЛІКОБАКТЕРНОЇ ІНФЕКЦІЇ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕЛІКОБАКТЕРІОЗ

(57) Реферат:

Спосіб тестування гелікобактерної інфекції у хворих на хронічний гелікобактеріоз включає проведення калового тесту згідно з інструкцією фірми-виробника. Перед проведенням самого тесту калову масу хворого збирають у стерильну ємність для аналізу сечі, наповнюючи не менше як 1/3 об'єму ємності з 5 різних зон калової "ковбаски" чи "купки" стерильним шпателем. Після цього фекалії ретельно перемішують, забір зразка фекалій для проведення тесту проводиться з 5 різних точок калової маси, яка знаходиться у ємності.

UA 93273 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до гастроентерології, і може бути використана як спосіб тестування гелікобактерної інфекції у хворих на хронічний гелікобактеріоз.

За останніми даними етіологічним чинником хронічного гастриту (ХГ) типу В є специфічна бактеріальна флора - *Helicobacter pylori* (НР). НР первинно оселяється у антральному відділі шлунку, а потім ретроградно заселяє і тіло шлунку, що призводить до виникнення пангастриту. Цей процес супроводжується падінням рівня кислотності шлункового соку. Велика маса бактерій за рахунок свого продукту життєдіяльності – аміаку – активно нейтралізує соляну кислоту, що призводить до підвищення рН середовища; при зниженні рівня обсіменіння слизової НР - інфекцією рН середовища також знижується. Цей процес розтягнутий у часі, тобто є стадійним. При певних обставинах хронічний гастрит типу В може трансформуватися у виразкову хворобу (ВХ), незалежно від стадії розвитку ХГ (окрім стадії, коли настає повна атрофія слизової), а також у рак шлунку (РШ) ((Авраменко А.А., Гоженко А.И. Хеликобактериоз. - Николаев, 2007 г. - 336 с.). Крім того, при певних обставинах НР-інфекція може потрапляти у парієтальні клітини і повністю блокувати синтез соляної кислоти, що призводить до стійкої гіпохлоргідрії і спочатку негативно впливає на функцію шлунково-кишкового тракту, а потім і інших органів та систем організму (Авраменко А.А., Гоженко А.И. Хеликобактериоз. - Николаев, 2007 г. - 336 с.; Авраменко А.А., Гоженко А.И., Гойдык В.С. Язвенная болезнь (очерки клинической патофизиологии). - Одесса, 2008 г. - 304 с.). Враховуючи широке розповсюдження ХГ типу В та ВХ, асоційованої з НР-інфекцією, а також роль НР у формуванні РШ, пошуки нових підходів до діагностики даної патології є важливішою проблемою сучасної медицини.

Відомий спосіб тестування гелікобактерної інфекції у хворих на хронічний гелікобактеріоз, який заснований на властивості даної інфекції продукувати фермент уреазу, що розщеплює сечовину до аміаку, вуглекислого газу та води (дихальний тест) (Авраменко А.А., Гоженко А.И. Хеликобактериоз. - Николаев, 2007 г. - 336 с.). Спосіб полягає у порівняльному аналізі повітря, яке видихує пацієнт до і після прийняття розчину сечовини, яка містить ізотоп C^{13} , у спеціальний пристрій - мас-спектрометр (Кишкун А.А. Современные методы диагностики и оценки эффективности лечения инфекции, вызванной *Helicobacter pylori* (обзор литературы) // Клиническая лабораторная диагностика - 2002 г. - № 8 - С. 41-46.)

Однак відомий спосіб має свої недоліки:

- дороге обладнання;
- достовірно позитивний результат одержується тільки при наявності на слизовій активних форм НР-інфекції;
- хибно негативний результат - при неактивних (коковидних) формах НР та при внутрішньоклітинному знаходженні інфекції;
- хибно позитивний - при наявності на слизовій ротової порожнини та глотки уреазопродукуючих стрептококів і стафілококів.

Відомий також спосіб тестування гелікобактерної інфекції у хворих на хронічний гелікобактеріоз, який заснований на властивості даної інфекції продукувати фермент уреазу, що розщеплює сечовину до аміаку, вуглекислого газу та води (уреазний тест) (Патент України № 17723 "Спосіб діагностики хронічного гастриту типу В, а також виразкової хвороби та раку шлунка, асоційованих з гелікобактерною інфекцією" опубл. в бюл. № 10, 16.10.2006 р.). Спосіб потребує біоптати слизової, які легко можна здобути під час проведення езофагогастродуоденоскопії з будь-якої ділянки верхнього відділу шлунково-кишкового тракту, середовище Заксу, яке використовується для тесту і містить сечовину, індикатор (частіше - феноловий червоний) та дистильовану воду. Діагностику можна легко зробити, враховуючи низькі ціни на інгредієнти, наявність пробірок та термостату для підтримування температури +37 °С, що дозволяє проводити цей тест навіть в умовах поліклініки.

Однак вказаний спосіб має свої недоліки:

- достовірно позитивний результат одержується тільки при наявності на слизовій активних форм НР-інфекції;
- хибно негативний - при неактивних (коковидних) формах НР та при внутрішньоклітинному знаходженні інфекції;
- спосіб є інвазивним.

Відомий спосіб тестування гелікобактерної інфекції у хворих на хронічний гелікобактеріоз, який заснований на властивості даної інфекції забарвлюватися особливими барвниками (мікроскопування забарвлених за Гимзою мазків-відбитків) (Патент України № 17723 "Спосіб діагностики хронічного гастриту типу В, а також виразкової хвороби та раку шлунка, асоційованих з гелікобактерною інфекцією" опубл. в бюл. № 10, 16.10.2006 р.). Спосіб також потребує біоптати слизової, які легко можна здобути під час проведення

езофагогастродуоденоскопії з будь-якої ділянки верхнього відділу шлунково-кишкового тракту. Таке дослідження виконується протягом 15-60 хв., при цьому є можливість не тільки підрахувати кількість мікробних тіл, але й визначити наявність як активних, так і неактивних форм.

Однак відомий спосіб має свої недоліки:

- 5 - неможливість визначити функціональність активних форм НР;
- неможливість визначити місцезнаходження інфекції - поза клітиною чи внутрішньоклітинно;
- спосіб є інвазивним.

Як найближчий аналог (прототип) прийнято неінвазивний спосіб тестування гелікобактерної інфекції у хворих на хронічний гелікобактеріоз по його антигенам у фекаліях - каловий тест (Бичков М. А. Надійність антигенного калового тесту в діагностиці гелікобактеріозу // Сучасна гастроентерологія. - 2011. - № 6 (62). - С. 48-50). Спосіб потребує фекалій хворого і CITO Test H. pylori Ag) (Pharmasco - лабораторія в кишені (каталог продукції). - Київ, 2012 р. - С. 24.). Тест на виявлення антигенів H. pylori у зразках фекалій є однокроковим імунохроматографічним аналізом. Зразок фекалій занурюють у пробірку з розчинником та збовтують до отримання однорідної суспензії зразка. Після цього 5 крапель (150 мкл) отриманого зразка наносять на означену ділянку тесту. Під час тестування зразок вступає в реакцію із забарвленим кон'югатом (моноклональні антитіла до антигенів H. pylori - червоні мікросфери), який заздалегідь наносять та висушують на мембрані тест-пластинки. Потім суміш мігрує вздовж мембрани під дією капілярної сили, і у разі позитивного результату специфічні антитіла, наявні на тестовій ділянці пластинки, захоплюватимуть забарвлений (червоний) кон'югат. Суміш продовжує просуватися вздовж мембрани до іммобілізованих антитіл, розміщених на контрольній ділянці пластинки, (де, коли, від чого) і з'являється лінія зеленого кольору. Наявність цієї лінії є підтвердженням достатньої кількості використаного матеріалу, заповнення капілярів мембрани, а також внутрішнім контролем якості реагентів. Тест вважається негативним за наявності лише смужки зеленого кольору, позитивним - за наявності червоної та зеленої смужок. Для того, щоб не отримати хибно позитивних результатів, у пацієнтів протягом 4 тижнів до обстеження треба виключати прийом антибактеріальних препаратів, інгібіторів протонної помпи, препаратів вісмуту і сукральфату, які пригнічують уреазну активність H. pylori та утруднюють її виявлення біохімічними методами.

Недоліками способу є:

- при заборі фекалій використовують стерильні ємності саме для фекалій, які мають маленький діаметр, що утруднює процес отримання повноцінного зразка фекалій, який треба брати з 5 різних точок;
- не визначено - як і в якій кількості треба брати фекалії, що може знизити достовірність даного способу.

Задачею способу тестування гелікобактерної інфекції у хворих на хронічний гелікобактеріоз є удосконалення проведення діагностики та підвищення достовірності результатів.

Поставлена задача вирішується тим, що при заборі фекалій використовують стерильні ємності для аналізу сечі, які мають більший діаметр і тому більш зручні для забору зразка калу; об'єм фекалій повинний бути не менше як 1/3 об'єму стерильної ємності; зразки фекалій при наповненні ємності повинні братися з 5 різних зон калової "ковбаски" чи "купки" стерильним шпателем; після заповнення ємності достатньою кількістю фекалій їх треба ретельно перемішати шпателем, що дозволить отримати більш повноцінний зразок калу для проведення калового тесту.

Заявлений спосіб тестування гелікобактерної інфекції у хворих на хронічний гелікобактеріоз дозволяє більш точно визначати наявність даної інфекції на слизовій шлунку не тільки при первинному тестуванні, але й при проведенні через 4 тижні після закінчення лікування контрольних досліджень.

Заявлений спосіб тестування гелікобактерної інфекції у хворих на хронічний гелікобактеріоз здійснюється наступним чином. Стерильну ємність для аналізу сечі наповнюють фекаліями хворого не менше як на 1/3 об'єму ємності з 5 різних зон калової "ковбаски" чи "купки" стерильним шпателем, після чого ретельно перемішують шпателем. Забір зразка фекалій для проведення тесту проводиться з 5 різних точок калової маси, яка знаходиться у ємності, що дозволяє отримати більш повноцінний, рівномірно насичений антигенами гелікобактерної інфекції зразок калу для проведення калового тесту. Потім проводять сам тест за інструкцією фірми-виробника "Pharmasco": зразок фекалій занурюють у пробірку з розчинником та збовтують до отримання однорідної суспензії зразка. Після цього 5 крапель чи 150 мкл отриманого зразка наносять на означену ділянку тесту. Під час тестування зразок вступає в реакцію із забарвленим кон'югатом (моноклональні антитіла до антигенів H. pylori - червоні мікросфери), який заздалегідь наносять та висушують на мембрані тест-пластинки. Потім суміш

мігрує вздовж мембрани під дією капілярної сили, і у разі позитивного результату специфічні антитіла, наявні на тестовій ділянці пластинки, захоплюватимуть забарвлений (червоний) кон'югат. Суміш продовжує просуватися вздовж мембрани до іммобілізованих антитіл, розміщених на контрольній ділянці пластинки, де з'являється лінія зеленого кольору. Наявність цієї лінії є підтвердженням достатньої кількості використаного матеріалу, заповнення капілярів мембрани, а також внутрішнім контролем якості реагентів. Тест вважається негативним за наявності лише смужки зеленого кольору, позитивним - за наявності червоної та зеленої смужок.

Приклади конкретного застосування.

10 Хворий П., 27 років, хворіє на хронічний гастрит протягом 3-х років з рецидивуючим перебігом, частота загострень - 2 рази на рік (весною і восени). При зверненні скаржився на тупий біль в епігастрії через 0,5-1 годину після їжі, нудоту, жагу. Після проведення комплексного обстеження 07.10.2012 р., до якого входило тестування на НР-інфекцію уреазним тестом, мікроскопуванням забарвлених мазків - відбитків та проведенням калового тесту за інструкцією

15 фірми-виробника, були отримані наступні результати: у хворого було визначено тип гастриту - тип В - при високій концентрації активних форм НР - інфекції на слизовій і антрального відділу, і тіла шлунку -(+ + +) двома методами - уреазним тестом і мікроскопуванням забарвлених мазків - відбитків; каловий тест не зафіксував наявності гелікобактерної інфекції. Хворому було запропоновано повторити каловий тест, але з використанням нової методики. Повторний

20 каловий тест зафіксував наявність у хворого гелікобактерної інфекції.

Хворий Г., 41 рік, хворіє на ХГ протягом 16-ти років з рецидивуючим перебігом, частота загострень - 1 раз на рік (весною). При зверненні скаржився на тупий біль через 1-1,5 години після їжі, жагу. Було з'ясовано, що за 1 місяць до звернення хворий пройшов курс лікування згідно з схемою, яка була запропонована останнім Маастрихтським консенсусом: 2 тижні хворий

25 приймав інгібітор протонної помпи ("Нольпаза") та два антибіотики (кларитроміцин та ампіцилін). Полегшення після лікування тривало тільки 2 тижні, а потім знов наступило погіршення стану. Після проведення комплексного обстеження 05.04.2013 р., до якого входило тестування на НР-інфекцію уреазним тестом, мікроскопуванням забарвлених мазків - відбитків та проведенням калового тесту за інструкцією фірми-виробника, були отримані наступні

30 результати: у хворого було визначено тип гастриту - тип В - при високій концентрації активних форм НР - інфекції на слизовій і антрального відділу - (+ +), і тіла шлунку - (+ + +) двома методами - уреазним тестом і мікроскопуванням забарвлених мазків - відбитків; каловий тест не зафіксував наявності гелікобактерної інфекції. Хворому було запропоновано повторити каловий

35 тест, але з використанням нової методики. Повторний каловий тест зафіксував наявність у хворого гелікобактерної інфекції.

Таким чином, заявлений спосіб тестування гелікобактерної інфекції у хворих на хронічний гелікобактеріоз дозволяє більш точно визначити наявність даної інфекції на слизовій шлунку не тільки при первинному тестуванні, але й при проведенні через 4 тижні після закінчення лікування контрольних досліджень.

40 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб тестування гелікобактерної інфекції у хворих на хронічний гелікобактеріоз, що включає проведення калового тесту згідно з інструкцією фірми-виробника, який **відрізняється** тим, що

45 перед проведенням самого тесту калову масу хворого збирають у стерильну ємність для аналізу сечі, наповнюючи не менше як 1/3 об'єму ємності з 5 різних зон калової "ковбаски" чи "купки" стерильним шпателем, після чого фекалії ретельно перемішують, забір зразка фекалій для проведення тесту проводиться з 5 різних точок калової маси, яка знаходиться у ємності.

Комп'ютерна верстка В. Мацело

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601