

УКРАЇНА

UKRAINE



ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 17723

**СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ХРОНІЧНОГО ГАСТРИТУ ТИПУ В, А  
ТАКОЖ ВИРАЗКОВОЇ ХВОРОБИ ТА РАКУ ШЛУНКА,  
АСОЦІЙОВАНИХ З ГЕЛІКОБАКТЕРНОЮ ІНФЕКЦІЄЮ**

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

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі **16 жовтня 2006 р.**

Голова Державного департаменту  
інтелектуальної власності

М.В. Паладій



(11) 17723

(19) UA

(51) МПК (2006)  
A61B 1/00

(21) Номер заявки:	u 2006 03422	(72) Винахідник:	Авраменко Анатолій Олександрович (UA)
(22) Дата подання заявки:	29.03.2006		
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	16.10.2006	(73) Власник:	Авраменко Анатолій Олександрович (UA)
(46) Дата публікації відомостей про видачу патенту та номер бюлетеня:	16.10.2006, Бюл. № 10		

(54) Назва корисної моделі:

СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ХРОНІЧНОГО ГАСТРИТУ ТИПУ В, А ТАКОЖ ВИРАЗКОВОЇ ХВОРОБИ  
ТА РАКУ ШЛУНКА, АСОЦІЙОВАНИХ З ГЕЛІКОБАКТЕРНОЮ ІНФЕКЦІЄЮ

(57) Формула корисної моделі:

1. Спосіб діагностики хронічного гастриту типу В, а також виразкової хвороби та раку шлунка, асоційованих з гелікобактерною інфекцією, що містить комплексне обстеження, складовими частинами якого є ендоскопічне обстеження шлунково-кишкового тракту та тестування на наявність гелікобактерної інфекції, який відрізняється тим, що також проводять визначення рівня кислотності шлункового соку шляхом здійснення покрокової внутрішньошлункової рН-метрії і гістологічне дослідження слизової оболонки; взяття біопсійного матеріалу здійснюють зі слизової 5-ти топографічних зон верхнього відділу шлунково-кишкового тракту: з цибулини дванадцятипалої кишки, з середньої третини антрального відділу і тіла шлунка по великій та малій кривині, а також проводять подвійне тестування на наявність гелікобактерної інфекції, використовуючи паралельно модифіковані уреазний тест і мікроскопування забарвлених за Гимзою мазків - відбитків, при цьому для уникнення хибно позитивних результатів при тестуванні наявності гелікобактерної інфекції у цибулині дванадцятипалої кишки уреазний тест проводять у закритій пробірці для центригування зі смужкою індикаторного паперу під корком; для виявлення внутрішньоклітинних форм інфекції проводять співвідносний аналіз двох тестів з кожної топографічної зони протягом 24 годин.

2. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що відстань між місцями слизової, з якої здійснюють взяття біоптатів, у кожній топографічній зоні не повинна перевершувати 0,5 см.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 17723 (13) U  
(51) МПК (2006)  
A61B 1/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ХРОНІЧНОГО ГАСТРИТУ ТИПУ В, А ТАКОЖ ВИРАЗКОВОЇ ХВОРОБИ ТА РАКУ ШЛУНКА, АСОЦІЙОВАНИХ З ГЕЛІКОБАКТЕРНОЮ ІНФЕКЦІЄЮ

1

(21) u200603422

(22) 29.03.2006

(24) 16.10.2006

(46) 16.10.2006, Бюл. № 10, 2006 р.

(72) Авраменко Анатолій Олександрович

(73) Авраменко Анатолій Олександрович

(57) 1. Спосіб діагностики хронічного гастриту типу В, а також виразкової хвороби та раку шлунка, асоційованих з гелікобактерною інфекцією, що містить комплексне обстеження, складовими частинами якого є ендоскопічне обстеження шлунково-кишкового тракту та тестування на наявність гелікобактерної інфекції, який відрізняється тим, що також проводять визначення рівня кислотності шлункового соку шляхом здійснення покрокової внутрішньошлункової рН-метрії і гістологічне дослідження слизової оболонки; взяття біопсійного матеріалу здійснюють зі слизової 5-ти топографічних зон верхнього відділу шлунково-кишкового

2

тракту: з цибулини дванадцятипалої кишки, з середньої третини антрального відділу і тіла шлунка по великій та малій кривині, а також проводять подвійне тестування на наявність гелікобактерної інфекції, використовуючи паралельно модифікований уреазний тест і мікроскопування забарвлених за Гимзою мазків - відбитків, при цьому для уникнення хибно позитивних результатів при тестуванні наявності гелікобактерної інфекції у цибулині дванадцятипалої кишки уреазний тест проводять у закритій пробірці для центригування зі смужкою індикаторного паперу під корком; для виявлення внутрішньоклітинних форм інфекції проводять співвідносний аналіз двох тестів з кожної топографічної зони протягом 24 годин.

2. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що відстань між місцями слизової, з якої здійснюють взяття біоптатів, у кожній топографічній зоні не повинна перевершувати 0,5 см.

Корисна модель відноситься до медицини, а саме до гастроентерології і онкології, і може бути використана для діагностики прояву хронічного гелікобактеріозу - хронічного гастриту (ХГ) типу В і його наслідка - виразкової хвороби (ВХ), незалежно від місця локалізації виразкового дефекта - дванадцятипала кишка, шлунок чи область анастомозу після резекції шлунку, а також раку шлунку (РШ).

За останніми даними етіологічним чинником хронічного гастриту типу В є специфічна бактеріальна флора - *Helicobacter pylori* (НР). НР первинне 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 гас-

рит типу В може трансформуватися у ВХ, незалежно від стадії розвитку ХГ (окрім стадії, коли настає повна атрофія слизової), а також у РШ [Гоженко А.І., Авраменко А.О. До питання про взаємовідношення НР-інфекції та кислотно-пептичного чинника при різних стадіях і періодах виразкової хвороби дванадцятипалої кишки // Бухаринський медичний вісник. - 2003. - №2. - С.43-48], [Авраменко А.А., Гоженко А.І. Хелікобактеріоз. - Одеса, 2004. - 324 с.]. Крім того, при певних обставинах НР-інфекція може потрапляти у парієтальні клітини і повністю блокувати синтез соляної кислоти, що призводить до стійкої гіпохлоридрії і спочатку негативно впливає на функцію шлунково-кишкового тракту, а потім - і інших органів і систем організму [Авраменко А.А., Гоженко А.І. Хелікобактеріоз. - Одеса, 2004. - 324 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 діагностики НР, який заснову-

(13) U

(11) 17723

(19) UA



ється на властивості даної інфекції продукувати фермент уреазу, що розщеплює сечовину до аміаку, вуглекислого газу та води (дихальний тест). Спосіб полягає у порівняльному аналізі повітря, яке видихує пацієнт до і після прийняття розчину сечовини, яка містить ізотоп  $C^{13}$ , у спеціальній пристрій - мас-спектрометр [Кишкун А.А. Современные методы диагностики и оценки эффективности лечения инфекции, вызванной *Helicobacter pylori* (обзор литературы) // Клиническая лабораторная диагностика. - 2002. - №8. - С.41-46.].

Однак відомий спосіб має свої недоліки: дороге обладнання; достовірно позитивний - тільки при наявності на слизовій активних форм НР-інфекції; хибно негативний - при неактивних (коковидних) формах НР та при внутрішньоклітинному знаходженні інфекції; хибно позитивний - при наявності на слизовій ротової порожнини та глотки уреазопродукуючих стрептококів і стафілококів [Авраменко А.А., Гоженко А.И. Хеликобактериоз. - Одесса, 2004. - 324 с.].

Близькими до заявленого технічного рішення є два засоби: уреазний тест та мікроскопування забарвлених за Гимзою мазків - відбитків, але кожний з них окремо має свої переваги і вади.

Уреазний тест 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, можна легко зробити, враховуючи низькі ціни на інгредієнти; наявність пробірок та термостату для підтримання температури  $+ 37^{\circ}C$  дозволяє проводити цей тест навіть у умовах поліклініки.

Однак відомий спосіб має свої недоліки: достовірно позитивний - тільки при наявності на слизовій активних форм НР-інфекції; хибно негативний - при неактивних (коковидних) формах НР та при внутрішньоклітинному знаходженні інфекції [Авраменко А.А., Гоженко А.И. Хеликобактериоз. - Одесса, 2004. - 324 с.].

Мікроскопування забарвлених за Гимзою мазків - відбитків також потребує біоптати слизової, які легко можна здобути під час проведення езофагогастродуоденоскопії з будь-якої ділянки верхнього відділу шлунково-кишкового тракту; подібне дослідження виконується протягом 15-60 хвилин; 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: неможливість визначити функціональну активність активних форм НР; неможливість визначити положення інфекції - поза клітини чи внутрішньоклітинне [Авраменко А.А., Гоженко А.И. Хеликобактериоз. - Одесса, 2004. - 324 с.].

Прототипом корисної моделі є комплексне обстеження хворих, складовими частинами якого є ендоскопічне обстеження шлунково-кишкового тракту та тестування на наявність гелікобактерної інфекції (уреазний тест і мікроскопування забарвлених за Гимзою мазків - відбитків), для проведення якого взяття біопсійного матеріалу здійснюють

зі слизової 4-х топографічних зон верхнього відділу шлунково-кишкового тракту: зі середньої третини антрального відділу і тіла шлунку по великій та малій кривині [Авраменко А.О. Напівпровідниковий інфрачервоний частотний лазер у комплексному лікуванні виразкової хвороби дванадцятипалої кишки // Одеський медичний журнал. - 1998. - №3. - С.49-51]. Тест на уреазну активність проводився за загальноприйнятою методикою: у колбу асептичне розміщувалося 10мг кристалічної сечовини, 10 ОД тетрацикліну гідрохлориду і 8-10 кристаліків індикатора фенолового червоного. Робочий розчин готувався щоденно перед дослідженням шляхом доливання у колбу 10мл води для ін'єкцій. Біоптати із топографічних зон шлунку розміщувались у пробірках для центригування, куди шприцем із колби додавалось 0,5мл робочого розчину. Тест оцінювався від моменту внесення біоптату протягом 24 годин за зміненням кольору розчину зі світло-жовтого на малиновий [Старостин Б.Д., Петрутик А.В. Экспресс-метод диагностики инфицированности *Campylobacter pylori* желудка и двенадцатиперстной кишки // Клиническая медицина. - 1989. - №8. - С.50-51]. Приготування забарвлених за Гимзою мазків-відбитків для мікроскопування також здійснювалось за загальноприйнятою методикою: мазки-відбитки забарвлювались водно-спиртовим розчином метиленового синього, який готується у пропорції 10:1 [Пяткин К.Д., Маркова Н.С., Трофимова Н.Д. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии. - М.: Медицина, 1969. - 296 с.].

Однак відомий спосіб має свої недоліки: відсутність даних про рівень кислотності шлункового соку не дає повної картини про стадію та фазу розвитку хронічного гастриту типу В; відсутність гістологічних даних не дозволяє оцінити ступінь змін стану слизової шлунку та дванадцятипалої кишки, що необхідно для прогнозу розвитку патологічного процесу, а також для виявлення раку шлунку у ранній стадії розвитку; тест на уреазну активність внаслідок малої концентрації сечовини у розчині дуже розтягнутий у часі; забарвлені бактерії у мазках-відбитках внаслідок великої кількості води у розчині мають дуже блідий синій окрас, що не дозволяє визначити наявність мітозу НР

В основу запропонованої корисної моделі поставлено задачу удосконалення способу діагностики прояву хронічного гелікобактеріозу - хронічного гастриту (ХГ) типу В і його наслідка - виразкової хвороби (ВХ), що сприятиме точному визначенню стадії і фази розвитку патологічного процесу і дозволить вибрати індивідуальну схему лікування, чим буде досягнена висока ефективність лікування, до мінімуму знизиться ймовірність виникнення рецидивів, а також дозволить підвищити рівень виявлення раку шлунку (РШ) у ранній стадії розвитку.

Поставлена задача вирішується тим, що, згідно корисної моделі, при комплексному обстеженні, складовими частинами якого є ендоскопічне обстеження шлунково-кишкового тракту та тестування на наявність гелікобактерної інфекції, також проводять визначення рівня кислотності шлункового соку шляхом здійснення покровової внутріш-

ньошлункової рН-метрії та гістологічне дослідження слизової оболонки; взяття біопсійного матеріалу здійснюють зі слизової 5-ти топографічних зон верхнього відділу шлунково-кишкового тракту: зі цибулини дванадцятипалої кишки, зі середньої третини антрального відділу і тіла шлунку по великій та малій кривині, а також проводять подвійне тестування на наявність гелікобактерної інфекції, використовуючи паралельно модифікований уреазний тест і мікроскопування забарвлених за Гімзою мазків - відбитків, при цьому для уникнення хибно позитивних результатів при тестуванні наявності гелікобактерної інфекції у цибулині дванадцятипалої кишки уреазний тест проводять у закритій пробірці для центригування зі смужкою індикаторного паперу під корком; для виявлення внутрішньоклітинних форм інфекції проводять співвідносний аналіз двох тестів з кожної топографічної зони протягом 24 годин; відстань між місцями слизової, з якої здійснюють взяття біоптатів, у кожній топографічній зоні не повинна перевершувати 0,5 см.

У порівнянні з прототипом, заявлений спосіб діагностики ХГ типу В і ВХ дозволить точно визначити стадію і фазу розвитку патологічного процесу і вибрати індивідуальну схему лікування, чим буде досягнута висока ефективність лікування, до мінімуму знизиться ймовірність виникнення рецидивів, а також дозволить підвищити рівень виявлення РШ у ранній стадії розвитку.

Спосіб здійснюється наступним чином

Після проведення покрової внутрішньошлункової рН-метрії для визначення стану органів верхнього відділу шлунково-кишкового тракту здійснюється езофагогастродуоденоскопія (ЕГДС). Під час проведення ЕГДС проводиться взяття біопсійного матеріалу для проведення гістологічного дослідження слизової та подвійного тестування на НР-інфекцію з 5-ти топографічних зон верхнього відділу шлунково-кишкового тракту: зі цибулини дванадцятипалої кишки, зі середньої третини антрального відділу (65-70 см від різців) і тіла шлунку (50-55 см від різців) по великій та малій кривині, при цьому відстань між біоптатами з кожної топографічної зони не повинна перевершувати 0,5 см. У кожній топографічній зоні перший біоптат береться у місці виразного запалення, інші - під контролем зору відносно місця взяття першого біоптату (всього - 3-4 біоптати з кожної топографічної зони). 1-2 біоптати з кожної зони використовуються для гістологічного дослідження слизової, 1 біоптат - для проведення уреазного тесту, 1 біоптат - для виготовлення і мікроскопування забарвленого за Гімзою мазка-відбитка.

Гістологічне дослідження слизової проводиться за загальноприйнятою методикою [Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники. М.: Медицина, 1988. - 253 с.].

Тест на уреазну активність проводиться за нашою модифікацією, яка підвищує якість тесту відносно загальноприйнятої методики. Розчин для проведення тесту готується щоденно: до 10,0 мл дистильованої води, яка міститься у пробірці для центригування, додається 8-10 частинок індикатору (феноловий червоний) та 0,01 г тетрацикліну гідрохлориду для подавлення іншої бактеріальної

флори крім НР, після чого розчин ретельно змішується і ставиться у термостат при температурі +37°C. Перед проведенням тестування у 5 пробірок для центригування вміщують по 15 мг лабораторної сечовини і додають по 0,5 мл базового розчину. У пробірки з готовим розчином додають біоптати слизової з кожної топографічної зони і інкубують у термостаті (температурі +37°C) протягом 24 годин. Тест зараховується як позитивний при зміні кольору розчину зі світло-жовтого на світло-малиновий. Відносно часу появи позитивної реакції підраховується концентрація активних форм НР-інфекції на слизовій: від 1 до 10 хвилин - (++++); від 11 до 45 хвилин - (+++); від 46 хвилин до 1 години 30 хвилин - (++) ; від 1 години 31 хвилин до 24 годин - (+); відсутність реакції протягом 24 годин - (-).

Мікроскопування забарвлених мазків-відбитків проводилось за нашою модифікацією, що підвищує якість мазків відносно загальноприйнятої методики, особливо при визначенні наявності мітозу НР. Приготування мазків-відбитків здійснюється наступним засобом: біоптат слизової розмазується по склу, заздалегідь обробленому 96% етиловим спиртом, і просушується у термостаті при температурі + 37° С протягом 1 години. Потім мазок-відбиток забарвлюється водно-спиртовим розчином (1:1) метіленового синього протягом 0,5-1 хвилини, ретельно промивається дистильованою водою і просушується у термостаті протягом 1 години, після чого проводиться мікроскопування мазка-відбитка з використанням іммерсійної системи. Підрахунок концентрації як активних, так і коковидних форм НР у полі зору здійснюється за загальноприйнятими критеріями: від 1 до 20 - (+); від 21 до 50 - (++) ; від 51 до 100 - (+++) ; від 101 і більше - (++++).

Обидва тести проводяться паралельно з метою визначення містознаходження НР-інфекції - позаклітинно чи внутрішньоклітинно. Наша методика визначення внутрішньоклітинного містознаходження НР ґрунтується на знаннях властивостей НР, а саме - можливість проникати у парієтальну клітину і блокувати синтез соляної кислоти [Авраменко А.А., Гоженко А.И. Хеликобактериоз. - Одесса, 2004. - 324 с.]. Коли бактерія знаходиться у клітині, то вона не реагує з реактивом під час проведення уреазного тесту, тому що між бактерією і реактивом знаходиться стінка клітини, що призводить до зміни часу прояви реакції: якщо НР-інфекція повністю знаходиться позаклітинно, то час позитивної реакції уреазного тесту співпадає з дійсною концентрацією НР, що підтверджується мікроскопуванням мазків-відбитків; якщо частково НР знаходиться у клітині, а частково - поза клітиною, то час настання позитивної реакції уреазного тесту не буде збігатися з дійсною концентрацією НР - він буде більшим; у ситуації, коли уся НР-інфекція знаходиться у парієтальних клітинах, уреазний тест через 24 години буде негативний. Одним із проявів внутрішньоклітинного містознаходження НР є гіпоахлоргідрія, яка відмічається під час проведення покрової рН-метрії.

Уреазний тест через 24 години буде негативний і при наявності неактивних форм НР, які виявляються при мікроскопуванні мазків-відбитків, од-

нак при цьому гіпохлоргідрія не фіксується. Гіпохлоргідрія при відсутності внутрішньошлункового знаходження НР фіксується у випадку повної атрофії парієтальних клітин, що підтверджується гістологічними дослідженнями. Гістологічні дослідження по 5-ти топографічним зонам підвищують відсоток виявлення таких змін слизової, як метapлазія і дисплазія, а також рак шлунку у початковій формі.

Приклад конкретного застосування.

Хворий Р., 25 років, хворіє на ВХ ДПК протягом 3-х років з рецидивуючим перебігом, частота загострень - 2 рази на рік (весною і восени). При обстеженні скаржився на "нічну" голодну біль, нудоту, жагу. Після проведення комплексного обстеження 05.08.2004р. були отримані наступні результати: у цибуліні дванадцятипалої кишки по задній стінці була виявлена виразка до 1,2см у діаметрі, вкрита сірим фібрином; було підтверджено тип гастриту - тип В - при високій концентрації активних форм НР-інфекції на слизовій і антральному відділі, і тіла шлунку - (+++); рівень кислотності, відповідно методиці Чорнобрового В.М., відповідав нормацидності селективній. При гістологічному дослідженні у цибуліні була виявлена масивна лімфоцитарна інфільтрація; в антральному відділі та тілі шлунку - хронічне запалення слизової в активній формі (+++).

Хворий С., 46 років, хворіє на ХГ протягом 26-ти років з рецидивуючим перебігом, частота загострень - 1 раз на рік (весною). При обстеженні скаржився на тупу біль через 1-1,5 години після їжі, нудоту, жагу. Після проведення комплексного обстеження 03.04.2003р. були отримані наступні результати: у хворого був виявлен активний процес у дванадцятипалій кишці і шлунку; підтверджено тип гастриту - тип В - при концентрації активних форм НР-інфекції на слизовій (в антральному відділі - (++) , у тілі шлунку - (+++)); рівень кислотності, від-

повідно методиці Чорнобрового В.М., відповідав гіпоацидності помірній селективній. При гістологічному дослідженні у цибуліні була виявлена масивна лімфоцитарна інфільтрація; в антральному відділі - дисплазія слизової легкого ступеню, хронічне запалення слизової в активній формі (++); у тілі шлунку - хронічне запалення слизової в активній формі (+++).

Хворий Л., 43 роки, хворіє на ХГ протягом 25-ти років з рецидивуючим перебігом, частота загострень - 2 рази на рік (весною і восени). При обстеженні скаржився на тупу біль через 1-1,5 години після їжі, нудоту. Після проведення комплексного обстеження 23.05.2004р. були отримані наступні результати: у хворого був виявлен активний процес у дванадцятипалій кишці і шлунку; в антральному відділі - виразка до 2,0см у діаметрі, вкрита сірим фібрином; підтверджено тип гастриту - тип В - при концентрації активних форм НР-інфекції на слизовій: в антральному відділі - (+), у тілі шлунку - (+++), однак внутрішньоклітинно; рівень кислотності, відповідно методиці Чорнобрового В.М., відповідав гіпоацидності виразній тотальній. При гістологічному дослідженні у цибуліні була виявлена масивна лімфоцитарна інфільтрація; в антральному відділі з краю виразки - дисплазія слизової тяжкого ступеню, хронічне запалення слизової в активній формі (+); у тілі шлунку - малігнізація слизової.

Таким чином, у порівнянні з прототипом, заявлений спосіб діагностики ХГ типу В і ВХ, а також РШ, дозволяє точно визначити стадію і фазу розвитку патологічного процесу і вибрати індивідуальну схему лікування, чим буде досягнена висока ефективність лікування, до мінімуму знизиться ймовірність виникнення рецидивів, а також дозволить підвищити рівень виявлення раку шлунку у ранній стадії розвитку.