



УКРАЇНА

(19) UA (11) 51977 (13) A

(51) B G01N1/02

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВІНАХІДВидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ЦИТОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ КОН'ЮНКТИВИ

1

2

(21) 2001128227

(22) 03 12 2001

(24) 16 12 2002

(46) 16 12 2002, Бюл. № 12, 2002 р.

(72) Кульбаба Олександр Григорович, Салдан Йосип Романович, Боцюн Павліна Миколаївна

(73) ВІННИЦЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ М.І. ПИРОГОВА

(57) Спосіб цитологічного дослідження

кон'юнктиви, шляхом прикладання на поверхню кон'юнктиви пластинки-переносника і з наступним переміщенням на предметне скло і мікроскопією, який відрізняється тим, що мазки-відбитки з поверхні кон'юнктиви отримують за допомогою тоненьких поролонових квадратів однакового розміру, які прикладають до нижньої і верхньої пальпебральної і бульбарної кон'юнктиви

Винахід відноситься до медицини, зокрема до офтальмології, і може бути використаний з діагностичною ціллю в пацієнтів з захворюваннями поверхні очей в лікувальних закладах.

Для цитологічних досліджень раньового екзудату використовувався метод М.П. Покровської (Велика Медична Енциклопедія — 1982 — Том 21 — Колонка 1555) адаптований П.Н. Журиним ("Трахома. Учебные записки" — Выпуск 12 — Москва Медицина — 1965) для забору цитологічних зразків поверхні кон'юнктиви. Метод забору цитологічного матеріалу заключається в наступному: добре знежирене і вимите скло поміщають в спирт, який потім на ньому запалюють, склу дають висохнути і охолонуть до температури тіла, готове стерильне предметне скло прикладають до різних ділянок кон'юнктиви верхньої повіки, вивернутої повікопідіймачем, скло прикладають до раньової поверхні без сильного тиску, препарати-відбитки висушують, фіксують і фарбують по Романовсько-Гімзі та мікроскопіють.

Недоліком методу є те, що в результаті короткочасного (кілька секунд) контакту скла з епітелієм кон'юнктиви, відбитки виявляються досить бідними на цитологічний матеріал. До того ж прикладання предметного скла до поверхні кон'юнктиви є травматичною маніпуляцією. Бідність цитологічного матеріалу на відбитках не дає можливості провести підрахунок відносної кількості клітин різних типів в препараті.

Найбільш близьким по технічній суті являється метод запропонований J.D. Nelson (Nelson Impression cytology // Cornea — 1998 — Vol 7 (2) — P 71 - 78 (США)). За цим методом до поверхні кон'юнктиви очного яблука під і над роговкою, по бокам від неї прикладають круглі диски діаметром

5мм з фільтрувального целюлозного паперу. Такі диски прикладають також до кон'юнктиви внутрішньої поверхні повік. Фільтрувальні паперові диски притискаються до поверхні кон'юнктиви на кілька секунд, потім поміщаються на предметне скло, фіксуються, фарбуються і їх мікроскопіють під світловим мікроскопом. Недоліком методу є те, що точні мікроскопії заважають пласти волокон паперу, через які потрібно проходити променям світла і нашарування клітин, виділених з кон'юнктиви. Клітини виявляються нагромадженими одна на одну, тому кількісний підрахунок клітин важкий. Недоліком методу являється також те, що целюлозний фільтрувальний папір неможливо стерилізувати загальнодоступними методами (кип'ятінням).

В основу винаходу "Спосіб цитологічного дослідження кон'юнктиви" поставлено завдання шляхом прикладання поролонових квадратів до поверхні кон'юнктиви вивчити цитологічну картину поверхні кон'юнктиви для забезпечення можливості підрахунку відносної кількості клітин епітелію і запальних клітин, що репрезентують собою клітинні елементи місцевого імунітету на поверхні кон'юнктиви. Поставлене завдання здійснюється способом цитологічного дослідження кон'юнктиви шляхом прикладання до поверхні кон'юнктиви пластинки-переносника із послідовним переміщенням на предметне скло і мікроскопією, в якому згідно з винаходом мазки-відбитки з поверхні кон'юнктиви отримують за допомогою тоненьких поролонових квадратів однакового розміру, які прикладають до нижньої і верхньої пальпебральної і бульбарної кон'юнктиви з наступним видаленням їх вмісту на предметне скло і його мікроскопією.

Спосіб здійснюється наступним чином. Для

(19) UA (11) 51977 (13) A

забору цитологічного матеріалу ми використовуємо дрібнопористий поролон, нарізаний на квадратні тоненькі смужки розмірами  $8 \times 8 \times 1,5$  мм. Квадрати нарізаються з смужок дрібнопористого поролону, що використовується для збереження мікрохірургічних голів і мікрохірургічного шовного матеріалу. Смужки поролону розрізаються вздовж їх поверхні навпіл, на дві однакові тоненькі смуги так, що одна поверхня отриманої смуги гладенька, а інша шорстка. З цих тоненьких смуг далі нарізаються квадратики розмірами  $8 \times 8$  мм. Нарізані квадратики стерилізують кип'ятінням в стерилізаторі на протязі 20 - 30 хвилин. Перед використанням їх дають охолонути до температури тіла. Кон'юнктиву анестезують закапуванням розчину Пропакану 0,5% 2 рази. Простерилізовані поролонні квадратики викладаються на стерильний лоток. Захоплюються поролонні квадратики офтальмологічним пінцетом для повік по два, так, щоб квадратики гладенькими поверхнями прилягали один до одного, а шорсткі поверхні були назовні. Далі вставляють їх в кон'юнктивальну порожнину так, щоб шорсткі поверхні квадратиків прилягали до поверхні кон'юнктиви повіки і очного яблука. Попарно прикладають квадрати під верхню і нижню повіки, так щоб один з них шорсткою поверхнею прилягав до кон'юнктиви повіки, а інший - до кон'юнктиви очного яблука. Квадрати залишають в кон'юнктивальній порожнині 3 - 5 хвилин. Аналогічні маніпуляції проводять і на другому оці.

Потім їх обережно виймають з кон'юнктивальної порожнини і поміщають на протерті і знежирені предметні скельця так, щоб шорсткі їх поверхні, ті що прилягали до поверхні кон'юнктиви, прилягали б до поверхні скла. Потім захоплюють один з кінців квадрату пінцетом і шпателем щільно і ретельно притискають поролонний квадрат до поверхні скла і відтискають всю поверхню квадрату на скло. Таким чином кілька разів відтискають поверхню квадрата, що прилягала до кон'юнктиви, до поверхні предметного скла. На поверхні поролонного квадрата містяться кілька шарів відділеного епітелію кон'юнктиви і лейкоцити, що знаходяться в кон'юнктивальній порожнині. За допомогою кількарізного відтискання квадратів до поверхні скла переносять максимальну кількість клітин на поверхню скла. Але цитологічний зразок на кожному склі репрезентує лише клітини, що захоплюються поверхнею одного квадрата, а саме поверхнею кон'юнктиви площею  $8 \times 8$  (64 кв. мм). З одного ока отримують 4 зразки, з обох - 8 зразків цитологічного матеріалу. Зразкам дають висохнути на повітрі. Після цього їх фіксують і фарбують по Папенгей-

му. Отримані зразки мікроскопують під світловим мікроскопом.

Методика використовується в хворих на інфекційні запальні захворювання поверхні очей і переднього відрізка очей.

Приклад

- Деркач З.О. 1931 р.н. Діагноз: Виразка рогівки лівого ока. В результаті проведення вищевказаних маніпуляцій і дослідження цитологічної картини мазків-відбитків кон'юнктиви на предметних скельцях під мікроскопом проведено підрахунок відносної кількості клітин епітелію і запальних клітин. Отримано цитограму мазків-відбитків кон'юнктиви і підраховано лейкоцитарну формулу в даних зразках.

Ліве око, верхня пальпебральна кон'юнктива

Цитограма: епітеліоцити - 54%, сегментоядерні нейтрофіли - 33%, лімфоцити - 13%

Лейкоцитарна формула: сегментоядерні нейтрофіли - 79%, лімфоцити - 20%, еозинофіли - 1%

Ліве око, нижня пальпебральна кон'юнктива

Цитограма: переважають нейтрофіли, виявляються одиничні клітини епітелію

Лейкоцитарна формула: сегментоядерні нейтрофіли - 98%, еозинофіли - 1%, лімфоцити - 1%

Ліве око, верхня бульбарна кон'юнктива

Цитограма: епітелій - 72%, сегментоядерні нейтрофіли - 24%, лімфоцити - 4%

Лейкоцитарна формула: сегментоядерні нейтрофіли - 86%, лімфоцити - 14%

Ліве око, нижня бульбарна кон'юнктива

Цитограма: мало клітин епітелію, переважають нейтрофіли

Лейкоцитарна формула: сегментоядерні нейтрофіли - 100%

Праве око, верхня кон'юнктива

Цитограма: епітеліоцити - 93%, сегментоядерні нейтрофіли - 5%, лімфоцити - 2%

Праве око, нижня кон'юнктива

Цитограма: епітелій - 86%, сегментоядерні нейтрофіли - 11%, лімфоцити - 3%

Лейкоцитарна формула: сегментоядерні нейтрофіли - 82%, лімфоцити - 18%

Даний метод цитологічного дослідження кон'юнктиви дає змогу вивчати клітинні елементи місцевого імунітету поверхні очей і його динамічні зміни при інфекційних запальних захворюваннях поверхні очей. Цей метод може бути корисним при диференційній діагностиці запальних захворювань поверхні очей при неясній етіології процесу. Метод є простим і доступним при дослідженні патологічних процесів поверхні очей.

ДП «Український інститут промислової власності» (Укрпатент)

вул. Сім'ї Хохлових, 15, м. Київ, 04119, Україна

(044) 456 - 20 - 90

ТОВ «Міжнародний науковий комітет»

вул. Артема, 77, м. Київ, 04050, Україна

(044) 216 - 32 - 71