МІНСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
«УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ»
КАФЕДРА НЕЙРОРЕАБІЛІТАЦІЇ ІЗ КУРСАМИ МЕДИЧНОЇ РЕАБІЛІТАЦІЇ, ПУЛЬМОНОЛОГІЇ ТА ФТИЗІАТРІЇ

Дичка Л.В., Блага О.С.

ЗАГАЛЬНО-КЛІНІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРИ ЗАХВОРЮВАННЯХ ОРГАНІВ ТРАВЛЕННЯ

Методичні рекомендації

Ужгород – 2021

Автори:
К.мед.н., доцент кафедри нейрореабілітації із курсами медичної психології, пульмонології та фтизіатрії ФПОДП ДВНЗ «УжНУ» Дичка Людмила Василівна
Магістр медицини, старший викладач кафедри нейрореабілітації із курсами медичної психології, пульмонології та фтизіатрії ФПОДП ДВНЗ «УжНУ» Блага Ольга Сергіївна

Рецензенти:
к.мед.н., доцент кафедри терапії та сімейної медицини ФПОДП ДВНЗ «УжНУ» Ілько Андрій Васильович
к.мед.н., доцент кафедри терапії та сімейної медицини ФПОДП ДВНЗ «УжНУ» Фейса Сніжанна Василівна

Рекомендовано до друку методичною комісією факультету післядипломної освіти та доуніверситетської підготовки (протокол № 10 від 20 травня 2021 р.) та Вченою радою факультету післядипломної освіти та доуніверситетської підготовки (протокол № 10 від 20 травня 2021 р.).

Методичні рекомендації призначені для лікарів-лаборантів, гастроентерологів, лікарів-терапевтів, лікарів загальної практики та сімейної медицини, лікарів-інтернів, лікарів-курсантів, а також інших фахівців, що працюють в сфері клінічної лабораторної діагностики.

ЗМІСТ

1.	ОСНОВНІ ВІДОМОСТІ ПРО БУДОВУ ТА ФУНКЦІЇ ТРАВНОГО КАНАЛУ	4
2.	ЗОНДОВІ І БЕЗЗОНДОВІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ СЕКРЕЦІЇ ШЛУНКА. ПОНЯТТЯ ПРО БАЗАЛЬНУ ТА СТИМУЛЬОВАНУ СЕКРЕЦІЮ	9
3.	ВНУТРІШНЬОШЛУНКОВА РН-МЕТРІЯ. БЕЗЗОНДОВІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ СЕКРЕЦІЇ ШЛУНКА	12
4.	МЕТОДИ ВИЯВЛЕННЯ Helicobacter pylori	18
5.	Тестові завдання	30
6.	Контрольні запитання	32
7.	Література	33

ОСНОВНІ ВІДОМОСТІ ПРО БУДОВУ ТА ФУНКЦІЇ ТРАВНОГО КАНАЛУ

Травний канал – складна система, в якій перетравлюється і засвоюється їжа, яка є необхідним джерелом енергії і матеріалом для пластичних процесів в організмі: росту тканин і відновлення клітин, що постійно руйнуються в процесі життєдіяльності. До складу травного каналу входять: ротова порожнина, стравохід, шлунок, дванадцятипала кишка, тонка та товста кишки.

Травлення починається в ***ротовій порожнині,*** де їжа подрібнюється та перемішується зі слиною (секретом слинних залоз) до утворення кашкоподібної маси. У слині містяться ферменти: **амілаза** й значна кількість **мальтази**, які розщеплюють вуглеводи: **амілаза** — крохмаль, а **мальтаза** — дисахарид мальтозу. Отже, тут починається перетравлення вуглеводної їжі. їжа, змочена слиною, переходить у *стравохід,* що з'єднує порожнину рота й глотки зі шлунком. У *шлунку* їжа зазнає подальшого механічного оброблення та дії секрету залоз слизової оболонки. Шлунок може містити кілька літрів кашкоподібної маси. За добу в просвіт шлунка виділяється приблизно 1,5-2,5л шлункового соку (за один прийом їжі близько 700-800 мл). Хлоридна кислота шлункового соку змінює колоїдний стан білків і рослинної клітковини, тим самим готує їх до подальшого перетравлення: під впливом пепсину перетравлюється фібрин, колаген і сполучна тканина. Тривалість шлункового травлення залежить від кількості та якості прийнятої їжі. їжа, багата на вуглеводи, переходить у кишки швидко, білкова їжа — повільно, а жирна — надовго затримується в шлунку. Швидко проходить через травний канал молочна, що містить

лактозу, яка посилює перистальтику. У середньому в шлунку їжа перебуває 1,5-5 год, а спожита в значній кількості 6-8 год.

У ***дванадцятипалій кишці*** процес травлення відбувається інтенсивніше. Тут повністю розщеплюються жири, деяка частина білків і вуглеводів ферментами панкреатичного та кишкового соків за участі жовчі. Трипсин панкреатичного соку легко перетравлює м'язові волокна, альфа-хімотрипсин, карбокси- та амінопептидази беруть участь в гідролізі білків до амінокислот, які всмоктуються. Ліпаза за наявності жовчних кислот розщеплює нейтральні жири до жирних кислот і гліцерину. Жирні кислоти в лужному середовищі вмісту дванадцятипалої кишки під впливом жовчних кислот перетворюються на дисоційовані нестійкі мила, які потім розчиняються й всмоктуються. Під дією амілази панкреатичного соку полісахариди гідролізуються з утворенням мальтози.

Жовч (секрет печінки) посилює дію амілази, ліпази та трипсину панкреатичного соку. Особливо це стосується ліпази, активність якої збільшується під впливом жовчі в 15-20 разів.

Шлунок — важливий орган травлення, в якому здійснюється розщеплення білків до поліпептидів, є розширеною частиною травного каналу. Розміщується у верхній частині черевної порожнини. Більша його частина — у лівому підребер'ї.

У шлунку розрізняють ***кардіальну частину*** — місце переходу стравоходу в шлунок; зліва від неї розміщене куполоподібне вип'ячування — ***дно шлунка;*** середня частина називається *тілом,* а місце переходу в дванадцятипалу кишку **— *пілоричною* (або *воротаркою)***

частиною шлунка Стінка шлунка складається зі ***слизової, м'язової*** **та** ***серозної оболонок***.

Слизова оболонка складається з:

— покривно-ямкового епітелію (одношаровий циліндричний епітелій), що продукує видимий (нерозчинний) слиз;

— залозистого шару, де розміщені залози, які й виробляють секрет шлунка — шлунковий сік; залежно від ділянки шлунка розрізняють кардіальні залози, залози дна та тіла (власні залози шлунка) й пілоричні залози. Залози відрізняються одна від одної не лише будовою, а й характером секрету, який вони продукують. Найчисленніші ***власні залози шлунка*** (розміщені в ділянці тіла та дна шлунка), що складаються з трьох видів клітин: головних, парієтальних (обкладових) і додаткових (мукоцитів).

Головні клітини виробляють пепсиноген, парієтальні — хлоридну кислоту, а мукоцити — мукоїдний секрет (лужний компонент). У ***кардіальній частині*** шлунка є головні й обкладові клітини, які виділяють малу кількість ферменту та хлоридної кислоти. ***Пілоричні залози*** складаються з додаткових клітин (мукоцитів), що виробляють мукоїдний секрет (секрет лужної реакції, містить велику кількість слизу). У пілоричній частині містяться також гастринові клітини, що виробляють гастрит. У залозистому шарі також розміщені аргентофільні клітини, що продукують гістамін і серотонін, які беруть участь у регуляції секреторної діяльності залоз шлунка.

Перемішування їжі з шлунковим соком, а також пересування їжі відбувається завдяки хвилеподібним рухам шлунка — перистальтиці. Ці рухи зумовлені діяльністю поздовжніх і колових м'язів, розміщених у ***м'язовій оболонці*** шлунка. Третя оболонка шлунка — ***серозна,*** має

гладеньку блискучу поверхню й складається, в основному, зі щільної сполучної тканини.

Основні функції шлунка: кислотоутворювальна, секреторна та евакуаторна.

Кислотоутворювальна функція шлунка полягає у виробленні ***парієтальними клітинами,*** що входять до складу залоз, ***хлоридної кислоти***. У момент утворення хлоридної кислоти концентрація її вища. Це первинна кислотність. У подальшому під впливом лужного компоненту відбувається нейтралізація частини хлоридної кислоти, зниження її концентрації, формується вторинна кислотність, яку й визначають в лабораторії титрометричним методом. Таким чином, кислотність шлункового соку зумовлюється співвідношенням кислого та лужного компонентів секрету.

Роль ***хлоридної кислоти*** у процесі травлення:

— є активатором протеолітичного ферменту пепсину, який утворюється з неактивної форми пепсиногену

— створює оптимум pH для дії протеолітичних ферментів, перш за все пепсину;

— гідролізує білки їжі й тим самим прискорює дію на них ферментів;

— бере участь у гормональній стимуляції секреторної діяльності шлунка;

— посилює моторну діяльність шлунка;

— виконує антисептичну роль, вбиваючи мікроорганізми, що потрапляють у шлунок разом з їжею.

Секреторна функція шлунка полягає у виробленні ферментів, органічних сполук і неорганічних речовин.

Головні клітини залоз шлунка продукують неактивну форму протеолітичного ферменту пепсиногену,

який під дією хлоридної кислоти активується і перетворюється на ***пепсин.*** Пепсин розщеплює білки до поліпептидів і є найбільш активним за pH 1,5-2,5. При pH 4,5, коли в шлунковому вмісті немає вільної хлоридної кислоти, а є лише зв'язана, протеолітична активність пепсину зменшується, а в середовищі з pH 5,5, фермент повністю інактивується.

ЗОНДОВІ І БЕЗЗОНДОВІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ СЕКРЕЦІЇ ШЛУНКА. ПОНЯТТЯ ПРО БАЗАЛЬНУ ТА СТИМУЛЬОВАНУ СЕКРЕЦІЮ

Методи дослідження функціонального стану шлунка поділяють на дві групи:

1. Зондові методи:

а) одномоментний метод — одержання шлункового соку за допомогою товстого зонда;

б) фракційний метод — одержання шлункового соку за допомогою тонкого зонда;

в) рН-метричний метод — електрометричне визначення концентрації H^+-йонів в шлунку за допомогою зонда особливої конструкції.

2. Беззондові методи:

а) десмоїдна проба за Салі та її модифікації;

б) методи із застосуванням йонообмінних смол: "Ацидотест", "Гастроацидотест";

в) визначення уропепсину.

Нині широко використовується ***фракційний метод*** дослідження функціонального стану шлунка, тому що жоден інший метод не дає такої всебічної інформації про діяльність залоз слизової оболонки шлунка. Дослідження шлункової секреції складається з двох етапів: фракційного зондування з використанням стимуляторів секреції шлунка, результатом якого є одержання шлункового соку в різні періоди секреторної діяльності шлунка (базальний і стимульований), і дослідження отриманих порцій шлункового соку. Результатом правильного проведення обох етапів дослідження є дані, що дозволяють достовірно оцінити секреторну діяльність шлунка

Існує багато способів проведення фракційного зондування. Однак усі вони складаються з трьох етапів:

1) вивчення функції шлунка натще;
2) дослідження базальної секреції шлунка;
3) дослідження стимульованої секреції шлунка.

Базальною називають секрецію голодного шлунка. У цьому разі шлунковий сік виділяється у відповідь на подразнення слизової оболонки шлунка зондом (механічний подразник). Дослідження базальної секреції проводять впродовж години, аспіруючи з шлунка через кожні 15 хв весь вміст в окремі пробірки. Одержують 4 порції (фракції) шлункового соку.

Стимульованою називають секрецію у відповідь на введення подразника (стимулятора секреції), наприклад пробного сніданку, її також досліджують впродовж години, через кожні 15 хв, одержують 4 порції шлункового соку.

Об'єм вмісту шлунка, одержаний за годину, називають ***годинною напругою*** секреції. Визначають годинну напругу базальної секреції і годинну напругу стимульованої секреції.

Уніфікована методика зондування шлунка в разі фракційного дослідження шлункової секреції

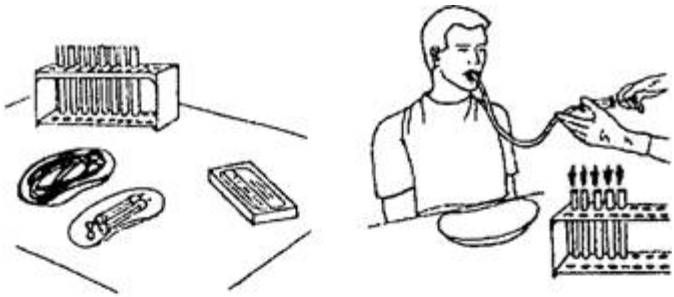
Принцип фракційного зондування. Одержання чистого шлункового соку шляхом активної аспірації на різних етапах секреторної діяльності шлунка.

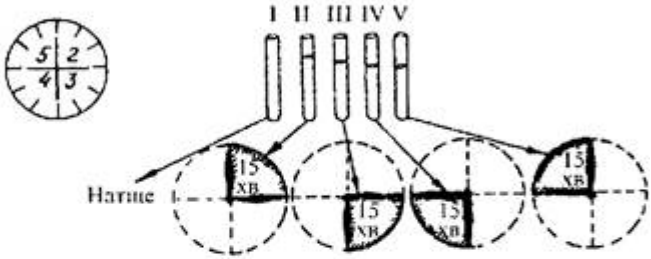
Хід зондування. Зондування проводять в спеціальному приміщенні. Дослідження починають зранку натще після 14-годинного голодування. Медична сестра кінець тонкого зонда кладе на корінь язика пацієнта і просить зробити декілька ковтальних рухів, завдяки яким зонд просувається по стравоходу. Введення зонда до першої мітки свідчить про те, що сліпий кінець його перебуває в ділянці дна

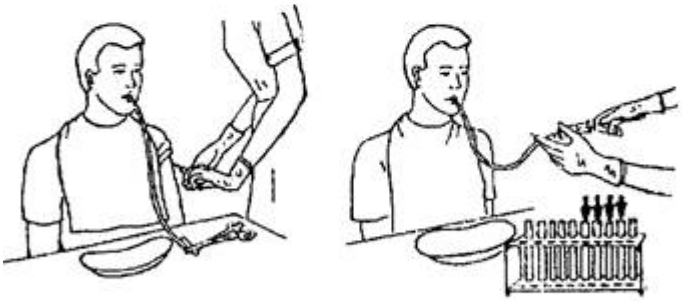
шлунка, а просування зонда до другої мітки, — що зонд досяг пілоричної частини шлунка. Необхідною умовою повної аспірації (добування) шлункового соку є введення зонду на глибину, розраховану таким чином: від зросту пацієнта (см) віднімають 100. В разі потреби положення зонда можна контролювати рентгенологічно.

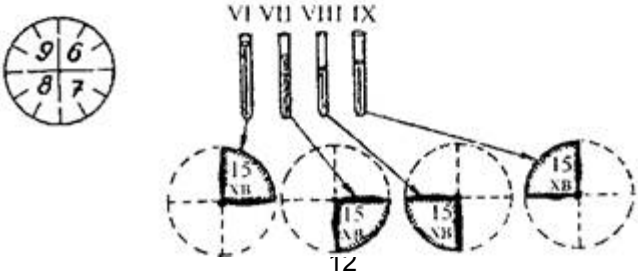
Після введення зонда повністю аспірують вміст шлунка натще, що складає окрему порцію для дослідження — порція натще. Треба намагатися, щоб час від введення зонда до добування порції натще не перевищував 5 хв, тобто дорівнював тривалості латентного періоду збудження шлункових залоз. Далі впродовж години збирають секрет шлунка, який виділяється внаслідок стимулювального впливу зонда (базальний секрет), а потім починають активну стимуляцію роботи слизової оболонки шлунка ентеральним або парентеральним подразником, після чого шлунковий сік збирають також впродовж години. Аспірацію базального та стимульованого секрету проводять безперервно через кожні 15 хв впродовж години. Таким чином, за кожну годину базальної та стимульованої секреції одержують по чотири порції шлункового соку, що складають так звану годинну напругу відповідного періоду шлункової секреції.

Одержані порції шлункового соку фракційним способом доставляють в клінічну лабораторію, де проводять фізико-хімічне та мікроскопічне дослідження.




I II III IV V
5 2
4 3
Напше
15 XB
15 XB
15 XB
15 XB




VI VII VIII IX
9 6
8 7
15 XB
15 XB
15 XB
15 XB

ВНУТРІШНЬОШЛУНКОВА РН-МЕТРІЯ. БЕЗЗОНДОВІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ СЕКРЕЦІЇ ШЛУНКА

Методи титрування шлункового соку для визначення кислотності мають такі недоліки:

- потребують значних затрат часу;
- є суб'єктивними,
- не дають змогу точно визначити кислотність шлункового соку за наявності в ньому домішок крові, жовчі, слини тощо;
- є менш чутливими, кислотність шлункового вмісту в діапазоні pH — 3,5—6,9 титрометричним методом визначається як нульова (ахлоргідрія).

Більш точну інформацію про величину продукції хлоридної кислоти слизовою оболонкою шлунка дає визначення вільних водневих H^+-йонів (pH) за допомогою ***pH-метрії шлункового соку***.

Концентрацію водневих йонів шлункового вмісту (pH) можна визначати двома способами.

1. Позашлункова pH-метрія — у порціях, одержаних під час фракційного зондування, pH визначають за допомогою pH-метра (Виноградова, 1956 р.).

2. Внутрішньошлункова pH-метрія — вимірювання pH в порожнині шлунка за допомогою pH-зонда Лінара (1968 р.).

ВНУТРІШНЬОШЛУНКОВА pH-МЕТРІЯ

Внутрішньошлункова pH-метрія належить до найбільш точних методів оцінювання функціонального стану шлунка. Принцип методу: вимірювання електрорушійної сили, що виникає під час введення в шлунок електродів внаслідок взаємодії їх із хлоридною

кислотою. Коливання електрорушійної сили за допомогою рН-метра перераховуються на величини рН.

Перевага методу

Методом внутрішньошлункової рН-метрії можна досліджувати кислотоутворювальну функцію шлунка як в базальний період секреції, так і в стимульований, після введення парентерального стимулятора (гістаміну).

Метод внутрішньошлункової рН-метрії є чутливішим і точнішим, ніж титрометричний, бо дає змогу визначати кислотність у діапазоні рН 3,5-6,9, тобто тоді, коли титрометричним методом визначається ахлоргідрія. Під час дослідження електрометричним методом ахлоргідрія встановлюється тільки при рН 8.

Отже, висока чутливість цього методу, можливість динамічного спостереження за виділенням хлоридної кислоти під час споживання їжі, а також після введення гістаміну, можливість об'єктивно реєструвати процеси кислотоутворення в різних відділах шлунка, незважаючи на домішки в шлунковому вмісті крові та жовчі, розширює діапазон оцінювання функцій шлунка, визначає високу діагностичну цінність внутрішньо шлункової Рн метрії.

Оснащення: двоканальний рН-зонд (зонд Лінара); рН-метр, в який вмонтовано два діапазони вимірювання рН: Корпус (у тілі шлунка) і Антрум (в пілоричній частині шлунка); подразник шлункової секреції: капустяний відвар, гістамін, пентагастрин. *Двоканальний зонд (зонд Лінара)* має товщину 5 мм, довжину близько 1,5 м і вкритий м'яким, гладеньким пластмасовим чохлом. На кінці зонда є олива із вмонтованими електродами: кінцевим (каломельним) — для визначення рН в пілоричній частині шлунка і проміжним (стибієвим) — для визначення рН в тілі шлунка. Зонд

Лінара дає змогу:

• виміряти pH безпосередньо біля стінки шлунка в ***тілі й дні шлунка*** в момент утворення хлоридної кислоти, ще до змішування її з іншими компонентами шлункового вмісту, тобто визначити ***первинну кислотність*** — за допомогою стибієвого електрода*;* виміряти pH безпосередньо біля стінки шлунка в ***пілоричній частині****,* де залози виділяють лужний компонент, що в нормі здатен нейтралізувати надлишкову кислотність — за допомогою каломельного електрода.

• одночасна реєстрація величини pH у вказаних відділах шлунка дає змогу вивчити ***кислотоутворювальну функцію шлунка*** та ***нейтралізуючу здатність шлункового соку***

Методика. Пацієнту натще вводять зонд Лінара приблизно на 0,7 м (під рентгенологічним контролем), стибієвий електрод розміщується в тілі шлунка, а каломельний — в пілоричній частині шлунка. Зонд підключають до pH-метра, в якому вмонтовано два діапазони вимірювання для тіла шлунка (Корпус) і його пілоричної частини (Антрум). В нормі натще в тілі шлунка pH 5,0-6,0, а в пілоричній частині — pH 7,0-7,5, що вказує на фізіологічний спокій секреції шлунка.

Реєстрацію pH проводять за певні проміжки часу (10-15 хв) до та після введення подразника (наприклад, гістаміну). Всього на дослідження витрачають дві години.

У клінічній практиці під час масових обстежень або у разі наявності у хворого протипоказань до зондування, для орієнтовного визначення кількості хлоридної кислоти поширення набули препарати ***"Гастротест"*** (виробник фірма "Cilak", Швейцарія) і ***"Ацидотест"*** (виробник фірма "Chmoin", Угорщина). До складу "Гастротесту" входить

барвник 3-феніл-азо-2,6-діамінопіридин, а до складу "Ацидотесту" — барвник 2,4-діаміно-4-етоксіазобензол. Кількість хлоридної кислоти оцінюють за забарвленням сечі. Колориметрію проводять візуально за допомогою кольорової шкали. Йонообмінні смоли нетоксичні для організму.

Протипоказаннями до використання йонообмінних смол для дослідження функціонального стану шлунка є тяжкі захворювання печінки та нирок, набряки, серцева недостатність, ентероколіти.

Ацидотест". ***Принцип.*** Ацидотест, розчиняючись у кислому середовищі (pH 3,0), вивільнює барвник, еквівалентно до концентрації H^+-йонів в шлунковому соці. Барвник виділяється з організму з сечею, надаючи їй різних відтінків червоного забарвлення (від світло-рожевого до насичено-червоного). У разі нормальної кислотності шлункового соку барвник виявляють у сечі через півтори години.

Оснащення.

1. Ацидотест складається з: а) двох таблеток кофеїн-бензоату натрію (білого кольору) — подразник шлункової секреції; б) трьох тест-драже коричневого кольору — йонообмінна смола з барвником 2,4-діаміно-4-етоксіазобензол.
2. 25 % розчин хлоридної кислоти.
3. Кольорова шкала.
4. Пробірки, піпетки.
5. Дистильована вода.

Хід дослідження. Уранці пацієнт випорожнює сечовий міхур. Натще приймає 1-2 таблетки кофеїн-бензоату натрію (білого кольору), запиваючи 100 мл води. Через годину під час наступного сечовипускання всю

кількість сечі (перша порція) збирає в спеціальну склянку з написом "контрольна сеча". Потім обстежуваний приймає з невеликою кількістю води, не розжовуючи, 3 тест-драже (таблетки коричневого кольору). Через півтори години збирає другу порцію сечі в іншу склянку з написом "півторагодинна сеча". Обидві порції доставляють в лабораторію і кожну розводять водою до об'єму 200 мл.

У дві хімічні пробірки з однаковим діаметром наливають по 5 мл розбавленої сечі з першої та другої порції. У кожну пробірку додають по 5 мл 25 % розчину хлоридної кислоти.

Результат. Колір сечі в першій пробірці ("контрольна сеча") після добавляння хлоридної кислоти не змінюється.

Якщо ***кислотність*** шлункового соку в межах ***норми,*** то в пробірці, що містить "півтора-годинну сечу" після добавляння хлоридної кислоти з'являється ***червоне*** забарвлення, яке відповідає поділці "А" на кольоровій шкалі.

Якщо ***кислотність*** шлункового соку ***підвищена (гіперхлогідрія),*** то в пробірці з "півтора-годинною сечею" після додавання хлоридної кислоти з'являється інтенсивніше забарвлення **—** ***насичено-червоне***.

Якщо ***кислотність*** шлункового соку знижена ***(гіпохлоргідрія),*** колір сечі в другій пробірці після додавання хлоридної кислоти відповідає кольору на шкалі між поділками "А" і "В" — ***рожевий колір.***

Якщо в шлунковому соку ***відсутня вільна хлоридна кислота (ахлоргідрія),*** то в пробірці з "півтора-годинною сечею" з'являється колір, що відповідає на шкалі поділці "В" **—** ***блідо-рожевий колір.***

МЕТОДИ ВИЯВЛЕННЯ Helicobacter pylori

Частота гастроентерологічної патології в Україні за останні 10 років збільшилась на 53%. Одним з самих розповсюджених збудників захворювань шлунково-кишкового тракту являється бактерія Helicobacter pylori. Особливості життєдіяльності даного збудника дозволяють йому тривалий час продуктивно функціонувати в кислому середовищі шлунку, яке шкідливе для більшої кількості існуючих мікроорганізмів. H. pylori продукує фермент уреазу, який нейтралізує середовище навколо себе, проникає в слизову оболонку шлунку і починає руйнівну дію. Для діагностики вищезгаданої інфекції існують дві групи методів: неінвазивні (дихальний тест, визначення антитіл до хелікобактера в біологічних рідинах) та інвазивні (культуральний метод, гістологічний, уреазний тест на матеріалі, отриманому при проведенні біопсії). З недавнього часу в практику лікарів увійшли швидкі тести діагностики хелікобактерної інфекції, які дозволяють визначати в фекаліях антиген хелікобактера (CITO TEST H. Pylori Ag), а в сироватці чи в цільній крові - антитіла (CITO TEST H. Pylori Ab. При цьому результат отримується вже через 7-10 хвилин.

1. Прямі методи (біопсійний матеріал)

Біохімічний (CLO-тест) на виявлення уреази є високочутливим та специфічним (96 - 99 %). Оснований на визначенні уреазної активності біоптату слизової оболонки шлунка з допомогою спеціального готового реактива - HP - виділяє велику кількість уреази.

Гідроліз сечовини під впливом хелікобактерної уреази веде до pH середовища і змінює забарвлення на протязі від 5-20 хв. до 24 год. Поява малинового забарвлення на протязі 1 год. свідчить про значне інфікування слизової оболонки

Нр (+++), на протязі 2 год (++) - помірної, до кінця доби (+) - незначне. Якщо результат настає пізніше - результат вважають від'ємним.

На практиці використовують декілька різновидностей CLO - тесту.

Гістологічний метод визначення НР полягає в обробці біоптатів спеціальними барвниками (за Грамом, Гімзою – Романовським, акридиновим оранжевим, сріблoвміщуючими барвниками), при цьому інші бактерії також забарвлюються. НР ідентифікують за характерною зігнутою формою та тісним зв'язком із поверхнею слизової оболонки шлунка.

Культивування НР на спецсередовищах

Матеріал -біоптат слизової шлунку або 12 п.к. Посів проводиться на спеціальні середовища (кров'яні), на яких хелікобактер на 3-5 добу формує дрібні круглі, гладкі, прозорі колонії діаметром 1-3 мм.

Молекулярні методи

1) за допомогою полімеразної ланцюгової реакції, що володіє 100 % специфічністю швидко визначають НР;

2) за допомогою методу молекулярного типування. Визначає характер ураження в межах однієї сім'ї.

Крім того, в останні роки появились відомості, що за допомогою молекулярного типування можна встановити резистентність до макролідів (еритроміцину, кларитроміцину).

2. Непрямі методи (без біопсії)

Серологічний метод

Як імунна відповідь, в сироватці інфікованих появляються антитіла класів JgG та JgA. Серологічне визначення протихелікобактерних антитіл в сироватці крові

є найбільш простим, найменш дешевший і найбільш доступний для первинного скрінінга. Недолік - не варто застосовувати для контролю після ерадикації HP, тому що рівень антитіл залишається ще довго позитивним (своєрідний “серологічний рубець"). Антитіла також визначають у слині (менш точний метод).

Дихальний тест з сечовиною

Принцип методу в тому, що після перорального прийому розчину сечовини, міченою C^{13} або C^{14}, уреаза Hp метаболізує мічену сечовину і звільняє мічений вуглекислий газ, який визначають у видихаючому повітрі через 30 хвилин.

Виділяють два різновиди цього тесту: застосування радіоактивного C^{14} і нерадіоактивного C^{13}.

Імунокопрологічний метод – виявлення антигену Hp в стільці.

Дихальний та імунокопрологічний методи діагностики є стандартами контролю за якістю лікування активного гелікобактеріозу без застосування ендоскопії та біопсії.

CITO TEST H. Pylori Ab Тест-система імунохроматографічна для виявлення антитіл до антигену H. Pylori

Використання тесту є швидким, горизонтально поточним, якісним імунохроматографічним аналізом для виявлення антитіл класу IgG до антигену H.Pylori в цільній крові чи сироватці з метою діагностики хелікобактерної інфекції. Існують два методи діагностики захворювань шлунково-кишкового тракту: інвазивні та неінвазивні.

До інвазивних методів діагностики відносять бактеріологічний, гістологічний методи та уреазний (CLO) тест. Ці методи потребують взяття біоптичного матеріалу

під час ендоскопії, котрий є дорогим методом дослідження і зазвичай приносить дискомфорт та становить ризик пацієнту.

До неінвазивних методів діагностики відносять уреазний дихальний тест та серологічні методи. Уреазний дихальний тест потребує використання незначної кількості радіоактивної речовини та мас-спектрометра. Під час серологічного дослідження виявляються антитіла, які виробляються в результаті імунологічної відповіді організму на хелікобактерну інфекцію. CITO TEST H.Pylori Ab використовується для виявлення специфічних IgG антитіл до антигену H.Pylori в цільній крові чи сироватці. Пороговий рівень визначення становить 10 μg/мл. Даний аналіз відноситься до неінвазивних методів діагностики і не вимагає використання радіоактивних речовин. Тест є простим у використанні, тому не потребую професійно підготовленого персоналу для його проведення. Принцип тесту Тест є горизонтально поточним імунохроматографічним аналізом. Тест-смужка складається з 1) прокладки червоного кольору для кон'югату антигенів H.Pylori з колоїдним золотом та 2) нітроцелюлозної мембрани з нанесеними лініями тесту (Т) та контролю (С). На тестову лінію наносять антигени H.Pylori, на контрольну лінію наносять козячі антитіла до антигену H.Pylori. Антигени, які використовуються в даному тесті, є похідними клітинного лізату H.Pylori. Під час дослідження проходить взаємодія антигенів, нанесених на мембрану із антитілами в зразку. Якщо досліджуваний зразок містить антитіла класу IgG, тестова лінія червоного кольору з'являється на мембрані в результаті такої взаємодії. У випадку відсутності їх, тестова лінія не з'являєтья. Контрольна лінія (С) буде завжди з'являтися на мембрані

незалежно від наявності IgG антитіл у зразку. С лінія є внутрішнім контролем виконання процедури і свідчить, що достатня кількість зразку була використана і заповнення капілярів мембрани відбулося.

Для кожного зразку слід використовувати окрему піпетку та тест-систему. Відкривати запаяні пакети з тестом необхідно безпосередньо перед проведенням дослідження. Не використовувати тест після закінчення терміну придатності, вказаного на пакеті.

Забір і підготовка зразків

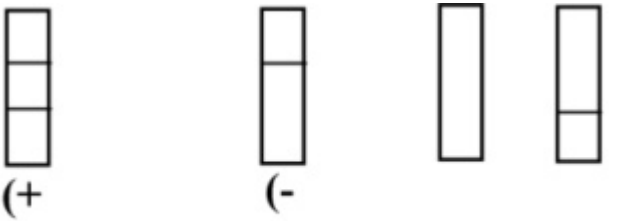
І. Сироватка

1. Слід дотримуватися стандартній лабораторній процедурі забору зразку сироватки. 2. Зразки сироваток можуть зберігатися при температурі від 9 до 30°C (48-86°F) протягом 8 годин, від 2 до 8°C (36-46°F) протягом тижня та на більший термін зберігання при температурі - 20°C чи менше. Повторно заморожені та розморожені зразки не рекомендується використовувати для тестування. 3. Будь-який осад в зразку сироватки слід усунути цинтрифугуваням. Уникайте використання мутних зразків, які можуть бути контаміновані мікроорганізмами.

ІІ. Цільна кров

1. Рекомендується використовувати для тестування цільну кров з пальця. 2. Для забору цільної крові з пальця:• Протріть змоченою у спирті ваткою середній чи безіменний палець. Висушіть.• Проколіть шкіру стерильним ланцетом. Витріть першу краплю крові.• Масажуючи руку від зап’ястя до пальців, отримайте утворення достатньої краплі крові.• Використовуючи капілярну трубочку, додайте краплю цільної крові з пальця у лунку S на тест-касеті. Надані матеріали - Тест- Буфер- Інструкція Необхідні, але не надані

матеріали- Пробірка- Годинник Процедура тестування



Позитивний: Поява лінії С та лінії Т свідчить про позитивний результат, тобто про наявність специфічних антитіл IgG до антигену H.Pylori. Примітка: Нечітка Т лінія повинна трактуватися як негативний результат. Негативний: Поява лише лінії С свідчить, що специфічні антитіла IgG до антигену H.Pylori відсутні в зразку. Бліда тестова лінія свідчить про наявність антитіл IgG на межі порогового рівня. Дані позитивні зразки повинні бути підтверджені більш специфічним методом для підтвердження результату.

Недійсний: Якщо контрольна лінія не з‘являється протягом 5 хвилин, повторіть процедуру тестування, використовуючи нову тест-систему.

Контроль якості Контрольна (С) лінія є вбудованим внутрішнім контролем процедури виконання. Наявність її свідчить, що достатня кількість зразку та буферу були використані і заповнення капілярів мембрани відбулося. Рекомендується використовувати позитивні та негативні стандарти в якості зовнішніх контролів процедури виконання.

Обмеження 1. Тест є якісним аналізом, для професійної in vitro діагностики. 2. За допомогою даного тесту не можливо відрізнити гостру інфекцію від

колонізації H. Pylori. Тому, позитивний результат слід підтверджувати іншими методами, доступними лікарю.

CITO TEST H. Pylori Ag Тест-система імунохроматографічна для виявлення антигенів Helicobacter pylori

ІНСТРУКЦІЯ Використання тесту на виявлення H. pylori є однокроковим імунохроматографічним аналізом для якісного виявлення антигенів H. pylori у зразках фекалій.

Helicobacter pylori (H. pylori)– це спіралеподібна бактерія, яка знаходиться в слизовій оболонці шлунку і спричиняє появу більш ніж у 90% випадків виразкову хворобу дванадцятипалої кишки та у 80% випадків виразкову хворобу шлунку. Важливість виявлення H. Pylori значно збільшилась відколи була підтверджена кореляція між наявністю збудника та підтвердженими захворюваннями шлунка та дванадцятипалої кишки, таких як гастрит, пептична виразка, рак шлунку. Принцип тесту є якісним імунохроматографічним аналізом для виявлення антигенів H. pylori у зразках фекалій. Під час тестування зразок вступає в реакцію із забарвленим кон'югатом (моноклональні антитіла до антигенів H. pylori – червоні мікросфери), який був заздалегідь нанесений та висушений на мембрані тесту. Потім суміш мігрує вздовж мембрани під дією капілярної сили і у випадку позитивного результату специфічні антитіла, які присутні на тестовій ділянці тесту, будуть захвачувати забарвлений кон'югат. Суміш продовжує просовуватися вздовж мембрани до імобілізованих антитіл, розміщених на контрольній ділянці тесту і лінія зеленого кольору завжди буде з'являтися. Наявність цієї зеленої лінії служить підтвердженням достатньої кількості використаного зразку, заповнення

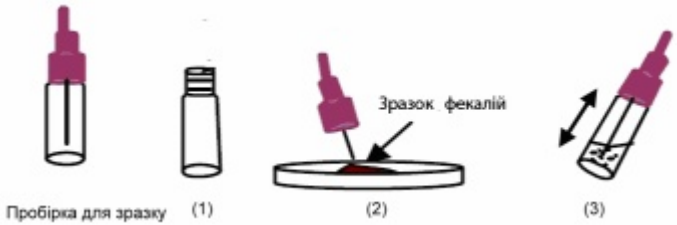
капілярів мембрани, а також як внутрішній контроль якості реагентів.

Зберігання і стабільність. Зберігати тест запакованим у блістер при температурі 2-30ºС. Тест зберігає стабільність до моменту закінчення терміну придатності, вказаного на кожному блістері. Тест повинен знаходитися в закритому пакеті до моменту використання. Не заморожувати.

Застереження. Лише для професійної in vitro діагностики. Не використовувати після закінчення терміну придатності. Усі зразки можуть вважатися як потенційно небезпечними і поводитися з ними слід як з інфекційними речовинами. Після тестування тест слід знищити в контейнері для біологічно небезпечних матеріалів.

Забір і підготовка зразків. Зразки фекалій слід збирати в чисту ємкість. Для отримання кращого результату тестування рекомендується проводити відразу після забору зразку. Зразки можуть зберігатися в холодильнику (2-4 ºС) протягом 1-2 днів. Для тривалого зберігання (до 1 року) зразки повинні зберігатися при температурі –20ºС. В даному випадку перед тестуванням зразки повинні бути розморожені і доведені до кімнатної температури.

Приготування зразку: 1. (1) Зніміть з пробірки кришечку з паличкою, за допомогою якої візьміть невелику кількість зразку. Закрийте пробірку з розчинником та зразком фекалій. (2) Збовтайте пробірку для того, щоб отримати однорідну суспензію зразку (3).



Надані матеріали - Тест- Розчинник зразку- Інструкція- Пробірка для зразку

Необхідні, але не надані матеріали. Ємкість для забору зразку. Пробірка. Одноразові рукавички. Годинник.

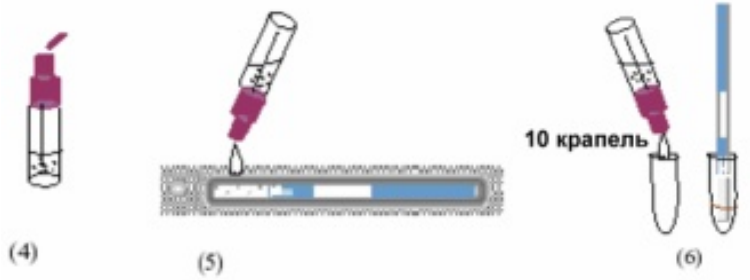
Процедура тестування. Доведіть тест, зразки фекалій до кімнатної температури (15-30ºС) перед тестуванням. Не відкривати блістер поки Ви не готові до проведення аналізу. Перед відкриванням упаковки необхідно довести до кімнатної температури необхідну для проведення аналізу кількість тестів. Існує два можливих варіанти виконання тесту:

А) Використання однієї упаковки блістер-тесту як тест-картки: 5. Відріжте від блістеру одну упаковку тесту, тримаючись за незапаяний бік тесту, відкрийте його, знімаючи верхній шар фольги. Не виймайте тест із блістерної упаковки і використайте як можна швидше. 6. Збовтайте пробірку зі зразком фекалій для того, щоб отримати однорідну суспензію. Зріжте кінчик кришечки (4).7. Покладіть одну упаковку блістер-тесту горизонтально. Внесіть 5 крапель чи 150 µL отриманого зразку на білу ділянку тесту (5). Використовуйте окрему пробірку та тест-систему для кожного зразку фекалій. Облік результату тесту проводиться на 10 хвилині.

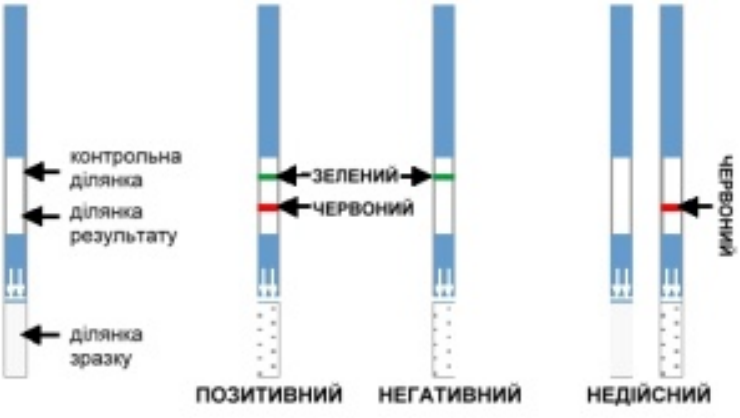
В) Використання однієї упаковки блістер-тесту як тест-смужки методом занурення 1. Відріжте від блістеру одну упаковку тесту, тримаючись за незапаяний бік тесту, відкрийте його, знімаючи верхній шар фольги.2. Збовтайте пробірку зі зразком для того, щоб отримати однорідну суспензію. Зріжте кінчик кришечки (4). 3. Внесіть 10 крапель отриманого зразку в іншу пробірку (6). Тримаючи блістер-тест вертикально, занурте білим кінцем тесту в зразок, не перевищуючи межу занурення, вказаної на тесті

стрілками. Облік результату тесту проводиться на 10 хвилині.

А) Як тест-картка В) Метод занурення



Інтерпретація результату (див. малюнок)



Негативний: Лише одна лінія зеленого кольору (контрольна лінія) з’явиться на білій центральній ділянці тесту (контрольна ділянка тесту).

Позитивний результат: В доповнення до зеленої контрольної лінії також з’являється чітка червона лінія (лінія результату) на білій центральній зоні тесту (ділянка результату тесту).

Тест недійсний: Відсутність контрольної лінії (зеленої)

незалежно від появи чи відсутності результативної лінії (червоної). Недостатня кількість зразку, неправильна техніка виконання тесту чи псування реагентів є вірогіднішими причинами відсутності контрольної лінії. Перегляньте техніку виконання та повторіть процедуру тестування з новим тестом.

Примітка до інтерпретації результату тесту. Інтенсивність червоної лінії на тестовій ділянці тесту буде залежати від концентрації антигенів, присутніх в зразку. Однак, ні кількісний вміст, ні ступінь підвищення антигенів H. pylori неможливо визначити даним якісним тестом.

Контроль якості. Тест має внутрішній контрольний пристрій. Зелена лінія, яка з'являється на контрольній ділянці тесу, є тим самим внутрішнім контрольним пристроєм. Вона підтверджує достатню кількість зразку і правильну техніку виконання тесту.

Обмеження. Тест повинен бути виконаний протягом 2 годин після відкриття запаяної упаковки. Надлишок зразку фекалій може стати причиною неправильного результату (з'являються коричневі лінії). Розведіть зразок фекалій розчинником і повторіть тестування. Деякі зразки фекалій можуть зменшити інтенсивність зеленої контрольної лінії. За допомогою даного тесту можна встановити припустимий діагноз інфекції, спричиненої H. pylori. Остаточний діагноз повинен бути встановлений лікарем після всіх клінічних та лабораторних досліджень.

Чутливість. Пороговий рівень: Культура бактерій H. Pylori була піддана руйнуванню ультразвуком потім її центрифугували і відібрали білковий комплекс. Даний препарат антигенів H. Pylori був розчинений в PBS-BSA буфері і протестований згідно інструкції. Пороговий рівень тестування був встановлений 4-8 нг/мл.

Специфічність. Результати, отримані при використанні імунохроматографічного тесту для виявлення антигенів H. Pylori, були порівняні з результатами, отриманими при використанні ІФА тестів. Результати співпали у 95% випадків. Антитіла, які використані в тесті, розпізнають епітопи антигенів як в зразку фекалій так і в зразку культури бактерій in vitro. Можливість втручання людських анти-мишачих антитіл та високого рівня РФ не були вивчені. Деякі зразки фекалій можуть зменшити інтенсивність контрольної зеленої лінії.

Тестові завдання

1.Яким епітелієм вистелена слизова оболонка стравоходу?

A.Циліндричним епітелієм

B.Метаплазованим епітелієм

C.Багатошаровим плоским епітелієм

D,Перехідним епітелієм

2.Яким епітелієм вистелена слизова оболонка шлунку?

A.Багатошаровим плоским епітелієм

B.Циліндричним епітелієм

C.Перехідним епітелієм

D.Метаплазованим епітелієм

3.Якими клітинами залоз шлунку виробляється соляна кислота?

A.Головними клітинами

B.Додатковими клітинами

C.Обкладочними клітинами

D.Аргентофільними клітинами

4.Перевагою pH - метрії в порівнянні з титраційним методом дослідження кислотності шлункового соку є?

A.Одержання більш точних даних про істинну кислотність шлункового вмісту

B.Визначення вмісту вільної соляної кислоти

C.Встановлення тривалості шлункової секреції

D.Встановлення місця локалізації патологічного процесу в шлунку

5.Яку апаратуру повинна мати клініко-діагностична лабораторія для проведення внутрішньошлункової pH - метрії?

A.Іонометр

B.Внутрішньошлункові pH – зонди

C.Пристрій, що реєструє pH

D.Всі відповіді правильні

6.У яких випадках застосовують беззондові методи дослідження шлункової секреції?

A.При діагностиці захворювань шлунку в ранньому дитячому віці

B.При варикозному розширенні вен стравоходу

C.При виразці шлунка, що кровоточить

D.Всі відповіді правильні

7.Який із перерахованих нижче подразників шлункової секреції є найбільш фізіологічним?

A.Алкогольний

B.Гістамін підшкірно

C.Інсулін підшкірно

D.Капустяний сік

8.При яких значеннях pH хворому призначається введення блокатору шлункової секреції?

A. pH =1.4

B. pH =2.2

C. pH =2.7

D.pH =3.4

9.Який з перерахованих нижче методів дозволяє найбільш об'єктивно охарактеризувати кислотоутворюючу

функцію, при гіпо- і анацидних станах?

A.Титраційний метод із використанням барвних індикаторів

B.Метод іонообмінних смол

C.Метод визначення уропепсину

D.Метод електрометричного виміру pH шлунку

10.Для якого з перерахованих нижче захворювань характерно значне зниження кислотоутворення в шлунку?

A.Виразкова хвороба дванадцятипалої кишки

B.Хронічний гіпертрофічний гастрит

C.Хронічний коліт

D. Хронічний атрофічний гастрит

№ тесту	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Відповідь	C	B	C	A	D	D	D	A	D	D

Контрольні з а п и т а н н я

1. Які недоліки титрометричного методу визначення кислотності шлункового соку?
2. Які види pH-метрії вам відомі?
3. Як здійснити позашлункову pH-метрію?
4. Який принцип внутрішньошлункової pH-метрії?
5. Які переваги внутрішньошлункової pH-метрії перед фракційним зондуванням?
6. Яке оснащення потрібне для проведення дослідження?
7. Яка методика внутрішньошлункової pH-метрії?
8. Яке діагностичне значення внутрішньошлункової pH-метрії?
9. Які переваги та недоліки беззондових методів дослідження секреції шлунка?
10. Які беззондові методи дослідження функціонального стану шлунка вам відомі?
11. Методи визначення Нр.

Література

1. Камишніков В.С. Клінічна лабораторна діагностика (методи і трактування лабораторних досліджень). – Медпрес-інформ, 2017. – 720 с.
2. Клінічна лабораторна діагностика: підручник / Л.Є. Лаповець, Г.Б. Лебедь, О.О. Ястремська та ін. — 2-е видання. – 2021. – 472 с.
3. Клінічні лабораторні дослідження: підручник (ВНЗ I—III р.а.) / Т.І. Бойко. — 2-е вид., переробл. і допов.- 2015. – 352 с.+ 16 іл.
4. Лабораторные и инструментальные исследования в диагностике: Пер. с англ. В.Ю. Халатова / Под ред. В.Н. Титова. — М.: ГЭОТАР-медика, 2004.
5. Лабораторные методы исследования в клинике / В.В. Меньшиков, Л.Н. Делекторская, Р.И. Золотницкая и др. / Под ред. В.В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 368 с.
6. Морозова В. Т., Миронова И.И., Марцишевская РЛ. Лабораторная диагностика патологии пищеварительной системы. — М.: РМАПО, 2001. — 124 с.
7. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. — М.: Медицина, 2000. — 544 с.
8. Руководство по клинической лабораторной диагностике. Ч. 1—2 І М.А. Базарнова, А.И. Воробьев, З.С. Баркаган и др. / Под ред. М.А. Базарновой, А.И. Воробьева. — 2-е изд, перераб. и доп. — К.: Вища шк., 1991. — 615 с.