

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ



Первый заместитель Министра

Е.Н.Кроткова

2021 г.

Регистрационный № 090 – 0721

**МЕТОД РАСЧЕТА ИНДЕКСА ХИМИЧЕСКОГО ГАСТРИТА,
ОСНОВАННЫЙ НА АНАЛИЗЕ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ
БИОПТАТОВ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ АНТРАЛЬНОГО ОТДЕЛА
ЖЕЛУДКА, У ДЕТЕЙ С ДУОДЕНОГАСТРАЛЬНЫМ РЕФЛЮКСОМ**
(инструкция по применению)

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: учреждение образования «Витебский
государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

АВТОРЫ: Мазуренко Н.Н., к.м.н., доцент Журавлева Л.Н.

Витебск, 2021

Настоящая инструкция по применению (далее – инструкция) разработана с целью диагностики химического гастрита при анализе гистологической картины биоптатов антрального отдела желудка у детей с дуоденогастральным рефлюксом (ДГР), основанная на расчете индекса химического гастрита (ИХГ) (МКБ-10 – К29.3).

Метод, изложенный в настоящей инструкции, предназначен для врачей-патологоанатомов, врачей-эндоскопистов, врачей-педиатров, иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь детям с заболеваниями верхних отделов желудочно-кишечного тракта, у которых выявлен ДГР при проведении эзофогогастродуоденоскопии, в стационарных и(или) амбулаторных условиях, и(или) в условиях отделения дневного пребывания.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

1. Особая формы гастрита (хронический химико-токсикоиндуцированный) на фоне дуоденогастрального рефлюкса
2. Окрашивание желчью желудочного сока.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Наследственные или приобретенные расстройства гематологического и/или коагуляционного характера у детей.
2. Выраженная сердечно-сосудистая и сердечно-легочная недостаточность.
3. Стриктура пищевода.
4. Острые воспалительные заболевания миндалин, глотки, гортани, бронхов, средостения.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ, РАСХОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

1. Фиброгастродуоденоскоп.
2. Загубник.
3. 10% раствор лидокаина (спрей) для орошений слизистых оболочек.
4. Биопсийные щипцы.
5. 10 мл емкость для размещения биоптатов слизистой оболочки желудка.
6. 10% нейтрального забуференного раствора формалина для фиксации биологического материала.
7. Микротом.
8. Раствор спиртов для обезвоживания 50°, 60°, 70°, 80°, 90°, 96°, 100°.
9. Ксилол, раствор парафина в хлороформе для парафинизации препарата.
10. Дистиллированная вода.
11. 1% соляной кислоты на 70° этаноле.
12. 0,5 % раствор аммиака.
13. Красители гематоксилин, эозин.
14. Смесь расплавленного фенола и ксилола в соотношении 1:4 или 1:5.
15. Стекла предметные ГОСТ 9284-75.
16. Стекла покровные ГОСТ 6672-75.
17. Световой микроскоп с иммерсионным объективом 10х, 20х, 40х, 100хOil; окулярами 10х/20; 10х/22; 10х/25.
18. Канадский бальзам для заключения срезов.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА

Метод, изложенный в данной инструкции, реализуется поэтапно.

Забор биоптатов для исследования

Производится орошение задней стенки глотки 10% раствором лидокаина. В рот вставляется загубник, через который вводится эндоскоп в полость рта, пищевода, полость желудка и двенадцатиперстной кишки. Проводится визуальная оценка слизистых оболочек, оценивается желудочный сок (объем, цвет, характер примесей). Для оценки морфологической картины слизистой оболочки желудка проводится щипцевая биопсия. Забор биоптатов производится биопсийными щипцами в количестве 2 штук из антрального отдела, которые помещают в 10 мл 10% раствора формалина для фиксации. После завершения процедуры аппарат извлекается из просвета желудочно-кишечного тракта, загубник удаляется изо рта.

Приготовление срезов

После фиксации материал промывается (в течение нескольких часов в проточной воде) с тем, чтобы избавить его от избытка фиксатора и осадков фиксирующих жидкостей. Обезвоживание ткани производится постепенно (чтобы не произошло сморщивания) путем проведения ее через спирты возрастающей крепости: 50°, 60°, 70°, 80°, 90°, 96°, 100°. В каждом спирте кусочки находятся до нескольких часов. Затем осуществляется заливка в парафин. Кусочки биологического материала из абсолютного спирта переносятся в смесь абсолютного спирта с хлороформом или ксилолом, взятых поровну, затем чистый ксилол и, наконец, в расплавленный насыщенный раствор парафина в хлороформе, где они находятся в термостате при температуре 37° до 1 суток и более. Дальнейшая заливка проводится в термостате при температуре 54° -56° в трех порциях парафина. Окончательная заливка проводится в парафин с добавлением воска, который наливается в специальные бумажные коробочки или стеклянные чашки, а затем эти коробочки или чашки после

появления на поверхности парафина пленки, погружаются в воду. После полного затвердевания заливки, кусочки с окружающим их парафином извлекаются из коробочек и с помощью расплавленного парафина, наклеиваются на деревянные кубики для получения парафиновых блоков. Срезы с блоков изготавливаются на микротоме.

Методика окраски биологических препаратов

1. Удаляется парафин из срезов в ксилоле, проводятся по спиртам нисходящей концентрации и доводятся до воды (две порции ксилола – 3-5 минут, 96° этанол – 3 минуты, 80° этанол – 3 минуты, 70° этанол – 3 минуты, дистиллированная вода – 5 минут).
2. Окрашиваются гематоксилином 7–10 минут.
3. Промываются в дистиллированной воде – 5 минут.
4. Дифференцируются в 1% соляной кислоты на 70° этаноле до побурения срезов.
5. Промываются дистиллированной водой, а затем слабым (0,5 %) раствором аммиака до посинения срезов.
6. Окрашиваются водным раствором эозина 0,5-1 минуту.
7. Промываются в трех порциях дистиллированной воды для удаления избытка эозина.
8. Вода удаляется из срезов в одной порции 70° этанола, двух порциях 96° этанола. Экспозиция в каждой порции спирта – 2 минуты.
9. Просветляются срезы в двух порциях карбол-ксилола (смесь расплавленного фенола и ксилола в соотношении 1:4 или 1:5) – 1 минуту.
10. Производится окончательное обезвоживание срезов в двух порциях ксилола. Пребывание срезов 2 минуты.
11. Заключаются срезы в канадский бальзам или синтетическую среду.

Оценка морфологического состояния

Морфологическое состояние слизистой оболочки желудка оценивается согласно визуально-аналоговой шкале полуколичественной оценки морфологических изменений (Сидней-Хьюстонская, 1996 г.) по следующим признакам:

а. хроническое воспаление (CI) – выявляется по мононуклеарной, преимущественно лимфоплазмочитарной инфильтрации, наличии более двух плазмочитов в поле зрения при микроскопии с увеличением $\times 400$;

б. активность воспаления (AI) – оценивается по присутствию полиморфноядерной, преимущественно нейтрофильной, инфильтрации, присутствии более 4 нейтрофилов в поле зрения с увеличением $\times 400$ по визуально-аналоговой шкале для нулевой степени характерно присутствие 4 клеток;

в. фовеолярная гиперплазия (FH) – определяется по ускоренной регенерации и двукратном удлинении желудочных ямок, аномальной извитости валиков, гиперхроматозу за счет интенсивного окрашивания гематоксилин-эозином и увеличении количества добавочных клеток, уменьшении числа главных и париетальных клеток пилорической трубчатой железы;

г. вазодилатация (VC) – характеризуется увеличением количества, диаметра и полнокровием капилляров в слизистой оболочке желудка;

д. отек в собственной пластинке (Oed) – выявляется по увеличению площади собственной пластинки слизистой оболочки желудка за счет отека и воспалительной лимфоплазмочитарной инфильтрации;

Наличие и выраженность каждого из указанных признаков определяется в баллах:

- 0 – отсутствие признака,
- 1 – незначительное,
- 2 – умеренное,
- 3 – выраженное проявление признака.

Методика оценки результатов морфологического состояния

$$\text{ИХГ} = (\text{FH} + \text{VC} + \text{Oed}) - (\text{AI} + \text{CI}) + 6, \text{ где}$$

FH – фовеолярная гиперплазия,

VC – вазодилатация,

AI – острое воспаление и

CI – хроническое воспаление,

Oed – отек в собственной пластинке слизистой оболочки желудка.

При получении результата ИРГ 6 баллов и менее у пациента на фоне ДГР диагностируется развитие химического гастрита (100% чувствительность). А при снижении показателя ИХГ у детей менее 4 баллов можно сделать вывод о тяжелом течении химического гастрита и наличии выраженных морфологических изменений в слизистой оболочке желудка.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

Кровотечение из места биопсии. Причиной ложных результатов исследования может быть нарушение методики и техники проведения исследования.