



(19) KG (11) 2013 (13) C1
(51) G01N 33/53 (2017.01)
A01N 1/02 (2017.01)

ГОСУДАРСТВЕННАЯ СЛУЖБА ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ И ИНОВАЦИЙ ПРИ ПРАВИТЕЛЬСТВЕ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ к патенту Кыргызской Республики под ответственность заявителя (владельца)

(21) 20160081.1

(22) 25.11.2016

(46) 31.01.2018, Бюл. № 1

(71) Кыргызско - Российский Славянский университет (KG)

(72) Цопова И. А.; Колодяжная Е. М.; Мещеряков В. Ю. (KG)

(73) Кыргызско - Российский Славянский университет (KG)

(56) Патент RU № 2551570, A01N 1/02,

G01N 1/30, 2015

(54) Раствор для фиксации, транспортировки и хранения клеток для цитологического исследования

(57) Изобретение относится к области медицины, касается составов для консервации живых клеток и представляет собой раствор для хранения и транспортировки клеток с целью последующего цитологического анализа.

Задачей изобретения является разработка упрощенного состава раствора, используемого для фиксации, транспортировки и хранения клеток для цитологического исследования с применением составляющих, имеющихся в свободном доступе в Кыргызстане, снижение себестоимости реактива.

Поставленная задача решается в растворе для фиксации, транспортировки и хранения клеток для цитологического исследования, состоящего из физиологического раствора, чистого этилового спирта и раствора формалина, дополнительно содержащего раствор крахмала и дистиллированной воды, где количество компонентов в одном литре раствора составляет (мл):

физиологический раствор	250
25 % раствор крахмала	10
чистый этиловый спирт	240
2,0 % раствор формалина	5
дистиллированная вода	445

1 н. п. ф., 1 пр., 2 ил.

Изобретение относится к области медицины, касается составов для консервации живых клеток и представляет собой раствор для хранения и транспортировки клеток с целью последующего цитологического анализа.

Известен солевой раствор Хенкса, предназначенный для консервирования образцов клеток после отбора пробы и ее фиксацией и анализом (справочник химика <http://chem21.info/page>), который представляет собой буферную систему, состоящую из растворимых в 100 мл воды неорганических солей NaCl , KCl , CaCl_2 безводного, $\text{MgSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , NaHCO_3 (0,80; 0,04; 0,014; 0,01; 0,01; 0,006; 0,006; 0,035, соответственно) и 0,1 г глюкозы.

К недостаткам этого способа относится то, что после пребывания клеток в растворе Хенкса, который содержит незначительное количество глюкозы, которая служит питательным субстратом, более тридцати-сорока минут их морфологические характеристи-

стки претерпевают существенные изменения, и картина цитологического препарата становится необъективной.

Известна питательная среда накопления образца клеток для последующего цитологического и\или иммуноцитохимического анализа (патент RU № 2246110, кл. G01N 33/48, 33/53, A01N 1/02, 2005), которая представляет собой раствор Хенкса, содержащий соли NaCl, KCl, CaCl₂ безводный, MgSO₄ · 6H₂O, MgCl₂ · 6H₂O, Na₂HPO₄ · 2H₂O, KH₂PO₄, NaHCO₃, 10 %-ный раствор альбумина и полиглюкин (декстран 60000), при соотношении 10 %-ный раствор альбумина: раствор Хенкса: полиглюкин = 1:1:1.

Недостатками известной питательной среды являются невозможность ее самостоятельного приготовления в лабораторных условиях из-за необходимости соблюдения сочетания и дозировки компонентов, отсутствие готовой среды на фармацевтическом рынке Кыргызстана, а также ее высокая стоимость.

В качестве прототипа выбран раствор для фиксации биологических клеток (патент RU № 2551570, A01N 1/02, G01N 1/30, 2015), предназначенный для сохранения *in vitro* цитологического образца. Он содержит физиологический раствор (0,9 % NaCl), формалин и полиэтиленгликоль для сохранения размера и целостности ядерных клеток и их структур, а также изопропиловый спирт, этанол и азид натрия. Однако, состав является дорогостоящим, содержит небольшое количество энергетического субстрата для обеспечения питания клеток, а концентрация формалина может быть аллергеном и произвести токсический эффект при частом использовании.

Задачей изобретения является разработка упрощенного состава раствора, используемого для фиксации, транспортировки и хранения клеток для цитологического исследования с применением составляющих, имеющихся в свободном доступе в Кыргызстане, снижение себестоимости реактива.

Поставленная задача решается в растворе для фиксации, транспортировки и хранения клеток для цитологического исследования, состоящего из физиологического раствора, чистого этилового спирта и раствора формалина, дополнительно содержащего раствор крахмала и дистиллированной воды, где количество компонентов в одном литре раствора составляет (мл):

физиологический раствор	250
25 % раствор крахмала	10
чистый этиловый спирт	240
2,0 % раствор формалина	5
дистиллированная вода	445

В предлагаемом растворе, вместе с дистиллированной водой, используемой в качестве основы, применяется физиологический раствор для предотвращения осмотического шока на уровне клеточной стенки.

Используют также крахмал в качестве питательного субстрата и сорбента, этиловый спирт, который способствует сохранению клеток в настоящем состоянии, фиксируя их в спиртовой среде и формалин для сохранения размера клеток, что позволяет цитологу четко видеть морфологию клеток, качественно провести анализ (рис. 1) и поставить более точный диагноз.

Раствор для фиксации, транспортировки и хранения клеток для цитологического исследования готовят в естественных условиях, непосредственно в лаборатории с применением составляющих, которые постоянно используют в рутинной лабораторной практике. Вначале готовят 25 % раствор крахмала из сухого порошка и смешивается с физиологическим раствором. Затем в смесь добавляется 2,0 % раствор формалина, приготовленный из 40 % раствора формальдегида и чистый этиловый спирт. В полученный раствор добавляют дистиллированную воду. До начала использования раствор хранится 24 часа при комнатной температуре.

Полученный раствор для фиксации, транспортировки и хранения клеток для цитологического исследования обеспечивает лучшую сохранность клеточных элементов и

не нарушает их соотношений, в нем нет вредных для здоровья человека компонентов и он частично очищен от органических примесей. Данный раствор слабо воспламеняется, нетоксичен и не канцерогенен, а предлагаемый состав позволяет снизить его себестоимость.

Пример 1.

Раствор, образованный на 100 % по объему из:

- 250 мл физиологического раствора,
- 10 мл 25 % раствора крахмала,
- 240 мл чистого этилового спирта,
- 5 мл 2,0 % раствора формалина,
- 445 мл дистиллированной воды

после приготовления имеет прозрачный цвет, спиртово-формалиновый запах и нейтральный уровень рН, что соответствует оптимальным условиям хранения клеток живых организмов.

Раствор для фиксации, транспортировки и хранения клеток для цитологического исследования был опробован в рутинной практике общеклинического отдела Аква-лаборатории. Биологический материал из цервикального канала, полученный у 350 пациенток при гинекологическом обследовании был доставлен в лабораторию в предлагаемом растворе для фиксации, транспортировки и хранения клеток для цитологического исследования. Окрашивание проводили по методу Папаниколау с использованием технологии жидкостной цитологии. При сравнении результатов окрашивания биологического материала, транспортированного в предлагаемом растворе и в растворе «Цитоскрин», производитель ООО «Хоспитек Диагностик» (рис. 2) видно, что описанный выше, предлагаемый раствор для фиксации, транспортировки и хранения клеток для цитологического исследования обеспечивает прекрасную сохранность целостности структур клеток, препарат не содержит слизи и бактериологического материала и не уступает по своим качествам дорогостоящим, иностранным реактивам.

Преимущество изобретения заключается в том, раствор для фиксации, транспортировки и хранения клеток для цитологического исследования обеспечивает лучшую сохранность клеточных элементов и не нарушает их соотношений, в нем нет вредных для здоровья человека компонентов и он частично очищен от органических примесей.

Формула изобретения

Раствор для фиксации, транспортировки и хранения клеток для цитологического исследования, состоящий из физиологического раствора, чистого этилового спирта, раствора формалина, отличающийся тем, что дополнительно содержит раствор крахмала и дистиллированную воду, где количество компонентов в одном литре раствора составляет (мл):

физиологический раствор	250
25 % раствор крахмала	10
чистый этиловый спирт	240
2,0 % раствор формалина	5
дистиллированная вода	445

Морфология клеток, окрашенных по Папаниколау, после транспортировки в растворе для фиксации, транспортировки и хранения клеток для цитологического исследования

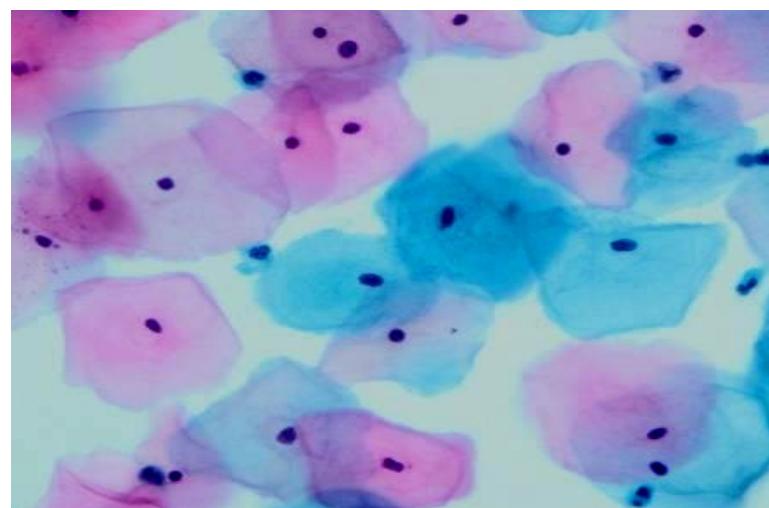
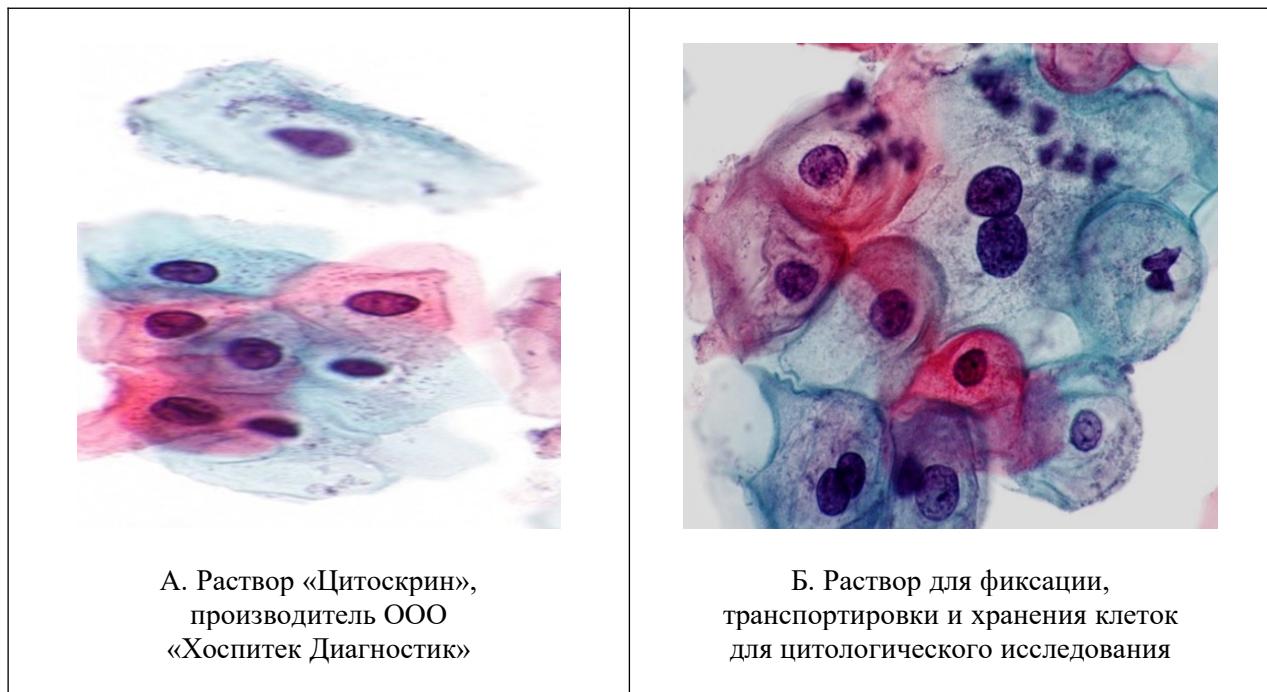


Рис. 1

Окрашивание по методу Папаниколау материала,
транспортированного в различных растворах



А. Раствор «Цитоскрин»,
производитель ООО
«Хоспитек Диагностик»

Б. Раствор для фиксации,
транспортировки и хранения клеток
для цитологического исследования

Рис. 2

Выпущено отделом подготовки материалов

Государственная служба интеллектуальной собственности и инноваций при Правительстве Кыргызской Республики,
720021, г. Бишкек, ул. Московская, 62, тел.: (312) 68 08 19, 68 16 41; факс: (312) 68 17 03