

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2431833

СПОСОБ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ЦИТОМЕТРИИ ПРИ МИКСТИНВАЗИЯХ ПТИЦ

Патентообладатель(ли): *Федеральное государственное образовательное учреждение Высшего профессионального образования КАБАРДИНО-БАЛКАРСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ им. В.М. КОКОВА (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2010108283

Приоритет изобретения 05 марта 2010 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 20 октября 2011 г.

Срок действия патента истекает 05 марта 2030 г.

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам



Б.П. Симонов



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2010108283/15, 05.03.2010

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
05.03.2010

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 05.03.2010

(45) Опубликовано: 20.10.2011 Бюл. № 29

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: ПОГОРЕЛОВ В.М. и др. Лабораторно-клиническая диагностика анемий. - М.: Медицинское информационное агентство, 2004, 173 с. САРКИСОВ Д.С. Очерки по структурным основам гомеостаза. - М.: Медицина, 1977, с.147-246. RU 2104528 C1, 10.02.1998.

Адрес для переписки:

360030, г.Нальчик, пр. Ленина, 1в, КБГСХА,
НИС (патентный отдел), А.К. Апажеву

(72) Автор(ы):

Кожок Мухамед Кадирович (RU),
Алабов Артур Муаедович (RU),
Арамисов Асланби Мухамедович (RU),
Вологирова Фатимат Алихановна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное
образовательное учреждение Высшего
профессионального образования
КАБАРДИНО-БАЛКАРСКАЯ
ГОСУДАРСТВЕННАЯ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ
АКАДЕМИЯ им. В.М. КОКОВА (RU)

(54) СПОСОБ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ЦИТОМЕТРИИ ПРИ МИКСТИНВАЗИЯХ ПТИЦ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области ветеринарной медицины. Способ основан на том, что показания индикатора кондуктометрического счетчика микрочастиц PICOSCALE вычитаются друг из друга при различных порогах напряжения с шагом 0,5 В, при этом абсолютное количество эритроцитов с различными объемами определяют по формуле: $\mathcal{E}_a = \mathcal{E}_n - \mathcal{E}_{n+1}$ где \mathcal{E}_a - абсолютное количество эритроцитов с различными объемами, \mathcal{E}_n - количество эритроцитов, объем которых выше уровня дискриминации, т.е. отсчет начинается с

минимального объема клеток, определяемых прибором при заданном пороге напряжения, \mathcal{E}_{n+1} - последующее значение количества эритроцитов, объем которых выше уровня дискриминации при очередном положении регулятора напряжения, а процентное содержание эритроцитов определяют по отношению абсолютного количества эритроцитов с различными объемами к общему количеству эритроцитов (RBC). Способ позволяет выявить патологические сдвиги в популяции эритроцитов, а также значительно повысить точность цитометрии и сократить время ее проведения. 1 табл.

Изобретение относится к области ветеринарной медицины и может быть использовано при диагностике инвазионных болезней птиц - микстинвазиях.

Существует способ подсчета эритроцитов при помощи счетных камер [1]. Недостатками данного способа являются низкая точность измерений и
5 невозможность определения объема клеток.

Известен также способ подсчета эритроцитов, основанный на использовании проточных счетчиков микрочастиц [2] (прототип). Этот способ не позволяет определять абсолютное количество и процентное содержание эритроцитов с
10 различными объемами. Например, принцип работы счетчика LABROSCALE основывается на построении кривой распределения, с которой снимаются параметры объема эритроцитов. Данный способ трудоемок и имеет низкую точность измерений.

Цель изобретения - повышение точности определения абсолютного количества и процентного содержания эритроцитов с различными объемами.

Поставленная цель достигается тем, что показания индикатора кондуктометрического счетчика микрочастиц PICOSCALE вычитываются друг из
15 друга при различных порогах напряжения с шагом 0,5 В. Абсолютное количество эритроцитов с различными объемами (Ξ_a) определяется по формуле

$$20 \quad \Xi_a = \Xi_n - \Xi_{n+1},$$

где Ξ_n - количество эритроцитов, объем которых выше уровня дискриминации, т.е. отсчет начинается с минимального объема клеток, определяемых прибором при заданном пороге напряжения;

Ξ_{n+1} - последующее значение количества эритроцитов, объем которых выше уровня
25 дискриминации при очередном положении регулятора порога напряжения.

Процентное содержание эритроцитов определяется по отношению абсолютного количества клеток с различными объемами к их общему количеству (RBC).

Способ осуществляется следующим образом.

30 Измерительный стаканчик с взвесью крови в электропроводящей жидкости в соотношении 1:63000 общим объемом 10 мл устанавливается на подставку кондуктометрического счетчика PICOSCALE. Нажатием кнопки «Start» до отказа вниз создается разность давлений, под действием которой электропроводящая жидкость продавливается через измерительную цепь электродов, создавая импульсы
35 напряжения при переходе эритроцитов через измерительное отверстие. Величина электрического импульса, создаваемого эритроцитами при переходе через измерительное отверстие, зависит от их размера.

Измерения проводят при порогах напряжения 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 и т.д. до 10,0 В,
40 значения которых устанавливаются с помощью регулятора. При этом каждое очередное повышение порога напряжения с шагом в 0,5 В сопровождается исключением из общего количества эритроцитов группы клеток объемом ниже уровня дискриминации.

Способ позволяет получить общее количество эритроцитов в 1 мкл (RBC),
45 распределение эритроцитов по объему на 18 субпопуляций (см. таблицу), отражающее их абсолютное и процентное содержание. Кроме того, предлагаемый способ позволит путем несложных математических расчетов определить средний объем эритроцитов (MCV), процентное содержание микро-, нормо- и макроцитов, характер
50 распределения эритроцитов по объему (RDW).

Пример реализации способа при исследовании эритроцитов птиц

№п/п	Пороги напряжения, В	Объем эритроцитов, соответствующий пороговому уровню дискриминации, V_e , мкм^3	Количество эритроцитов, объем которых выше порогового уровня дискриминации, Ξ_n ($n=1,2,3\dots 18$), $10^{12}/\text{л}$	Абсолютное количество эритроцитов, Ξ_a , $10^{12}/\text{л}$	Процентное содержание эритроцитов, %
	1,25		3,47 (RBC)		
1	1,5	32,4	3,45	0,02	0,7
2	2,0	43,2	3,08	0,37	10,6
3	2,5	54,0	1,66	1,42	40,8
4	3,0	64,8	1,02	0,64	18,3
5	3,5	75,6	0,70	0,32	9,1
6	4,0	86,4	0,43	0,27	7,7
7	4,5	97,2	0,26	0,17	4,9
8	5,0	108,0	0,16	0,10	2,8
9	5,5	118,8	0,09	0,07	2,1
10	6,0	129,6	0,04	0,05	1,4
11	6,5	140,4	0,02	0,02	0,7
12	7,0	151,2	0,01	0,01	0,3
13	7,5	162,0	0	0,01	0,3
14	8,0	172,8	0	0,00	0,2
15	8,5	183,6	0	0	0,1
16	9,0	194,4	0	0	0
17	9,5	205,2	0	0	0
18	10,0	216,0	0	0	0

Средний объем эритроцитов (MCV) можно определить по данным таблицы как сумма произведений объемов эритроцитов (V_e) на их процентное содержание (%), отнесенное к 100 ($MCV = \sum(V_{e1} \times \%_1, V_{e2} \times \%_2, \dots, V_{e18} \times \%_{18}) / 100$).

Процентное содержание микро-, нормо- и макроцитов можно определить как сумму процентных содержаний эритроцитов ($\sum\%$) с объемами 32,4-75,6 мкм^3 , 86,4-151,2 мкм^3 и 162,0-216,0 мкм^3 соответственно.

Характер распределения эритроцитов по объему (RDW) оценивается по: преобладанию клеток определенных объемов (микроцитарный, нормоцитарный, макроцитарный); ширине основания кривой распределения эритроцитов по объему (гомогенный - при узком основании, гетерогенный - при широком основании); количеству вершин у кривой (униmodalная - с одной, бимodalная - с двумя и полиmodalная - более двух).

По отклонению от нормы значений показателей дифференциальной цитометрии: RBC, MCV, процентное содержание микро-, нормо- и макроцитов, RDW, можно оценить тяжесть, динамику и прогноз патологических процессов, происходящих при микстинвазиях птиц.

Таким образом, при использовании способа значительно сокращается время проведения исследований эритроцитов, а также повышается точность выполнения измерений. Вместе с тем, данный способ выявляет патологические сдвиги в популяции эритроцитов, что позволяет использовать его в качестве оперативной экспресс-диагностики при оценке тяжести микстинвазий птиц.

Источники информации

1. Атлас клеток крови сельскохозяйственных и лабораторных животных / В.Н. Никитин. - М.: Государственное Издательство Сельскохозяйственной литературы, 1949. - 48 с.

2. Лабораторно-клиническая диагностика анемий / В.М. Погорелов, Г.И. Козинец, Л.Г. Ковалева. - М.: Медицинское информационное агентство, 2004. - 173 с.

Формула изобретения

Способ дифференциальной цитометрии при микстинвазиях птиц, основанный на том, что показания индикатора кондуктометрического счетчика микрочастиц PICOSCALE вычитаются друг из друга при различных порогах напряжения с шагом 0,5 В, при этом абсолютное количество эритроцитов с различными объемами определяют по формуле: $\mathcal{E}_a = \mathcal{E}_n - \mathcal{E}_{n+1}$,

где \mathcal{E}_a - абсолютное количество эритроцитов с различными объемами;

\mathcal{E}_n - количество эритроцитов, объем которых выше уровня дискриминации, т.е. отсчет начинается с минимального объема клеток, определяемых прибором при заданном пороге напряжения;

\mathcal{E}_{n+1} - последующее значение количества эритроцитов, объем которых выше уровня дискриминации при очередном положении регулятора напряжения, а процентное содержание эритроцитов определяют по отношению абсолютного количества эритроцитов с различными объемами к общему количеству эритроцитов (RBC).