

Изобретение относится к медицине, в частности к лабораторной диагностике.

Наиболее близким к заявляемому есть способ определения фагоцитарно-метаболической активности фагоцитов по НСТ-тесту методом Парка и соавторов в модификации Логинского и соавторов [1], включающий забор крови, ее гепаринизацию, 30-минутную инкубацию с забуференным раствором (рН = 7,2), приготовление и окраску мазков унифицированным методом, подсчет процента формазанположительных гранулоцитов и оценку по этому показателю результатов НСТ-теста.

Недостатком способа-прототипа является отсутствие учета возможно повышенного уровня антигенными, при котором НСТ-тест может давать низкие и даже нулевые результаты, что вовсе не означает отсутствие фагоцитарно-метаболической активности гранулоцитов в этом случае.

В основу изобретения положена задача повышения точности оценки фагоцитарно-метаболического потенциала гранулоцитов крови путем постановки его в условиях максимального сжатия клеток и учета в результатах степени лизиса (гранулоцитов за счет повышения информативности НСТ-теста).

Техническим результатом является повышение информативности НСТ-теста, которую дает интегральная оценка фагоцитарно-метаболического потенциала гранулоцитов крови по модифицированному показателю ЧСТ теста.

Существует тесная причинно-следственная связь между указанным техническим результатом и всей совокупностью существенных признаков. До настоящего времени во всех существующих аналогах в результатах исследований не учитывалась степень разрушения гранулоцитов при ИСТ-тесте, что снижало информативность результатов исследования, его достоверность, а следовательно, и качество диагностики состояния больного. Предложенная интегральная оценка решает эту задачу.

Сущность способа состоит в том, что осуществляют забор крови, ее инкубацию с забуференным раствором НСТ, приготовление, окраску и микрофотографирование мазков с последующим подсчетом процента формазанположительных гранулоцитов и оценкой Фагоцитарно-метаболической активности гранулоцитов крови, затем дополнительно готовят, окрашивают и микрофотографируют мазок нативной крови, определяют нативную и постинкубационную лейкограмму, абсолютное количество лейкоцитов в нативной и постинкубационной крови, определяют процент лизиса гранулоцитов, а оценку результатов НСТ-теста производят по сумме процентов формазанположительных и лизированных гранулоцитов.

Способ осуществляется следующим образом.

Забор крови производят из вены, пальца и т.п. а количестве не менее 0,25 мл в гепаринизированную пластиковую минипробирку. Каплю свежей гепаринизированной крови наносят на предметное стекло, изготавливают мазок унифицированным методом, высушивают его, маркируют 0,1 мл свежей гепаринизированной крови из первой минипробирки переносят во вторую, добавляют 0,1 мл подогретого до 37°C 0,1% забуференного (рН = 7,2) НСТ на физрастворе, слегка встряхивают и инкубируют 30 минут при 37°C. Каплю крови из второй минипробирки после инкубации наносят на второе предметное стекло, изготавливают мазок, маркируют. Мазки окрашивают по Паппенгейму, не допуская переокрашивания (реактив Мей-Грюнвальда - 30 секунд, краска Романовского разведенная 1:10 - 5 минут). Определяют общее количество лейкоцитов унифицированным методом в первой и второй минипробирках. Микрофотографированием под иммерсионным объективом (7 x 90) подсчитывают: лейкоцитарную формулу в нативном мазке; лейкоцитарную формулу в постинкубационном мазке; процент формазанположительных гранулоцитов в постинкубационном мазке. При наличии гемоцитометра нативная и постинкубационная лейкограмма и общее количество лейкоцитов получают с его помощью, однако при этом необходимо изготовление постинкубационного мазка для подсчета процента формазанположительных гранулоцитов. Результаты НСТ-теста оценивают по сумме процентов формазанположительных и лизированных гранулоцитов по формуле:

$$P_{\text{нст}} = \% \text{ ФПК} + \left(1 - \frac{\text{Лейк}_2 \times \% \text{ Гран}_2 \times P}{\text{Лейк}_1 \times \% \text{ Гран}_1} \right) \times 100\%,$$

где $P_{\text{нст}}$ - модифицированный показатель НСТ-теста;

% ФПК - процент формазанположительных клеток;

Лейк₁ и Лейк₂ - абсолютное количество лейкоцитов в нативной и постинкубационной крови,

P - коэффициент разведения, равный 2;

% Гран₁ и Гран₂ - процент гранулоцитов в нативной и постинкубационной крови (сумма нейтрофилов, базофилов, эозинофилов и их молодых форм).

Проведено исследование крови доноров-полтавчан и доноров-киевлян, чернобыльцев-полтавчан и чернобыльцев-киевлян по показателю НСТ-теста по способу Парка и соавторов в модификации Логинского и соавторов и по заявляемому способу (по Р_{нст}).

Полученные данные представлены в таблице.

Результаты проведенного исследования, представленные в таблице, показали достоверное различие между исследуемыми группами по $P_{\text{нст}}$ и отсутствие достоверности при сравнении групп по НСТ-тесту по способу-прототипу (в модификации Логинского). Следовательно, предложенные модифицированный показатель НСТ-теста является более информативным, чем существующие аналоги.

Показатели НСТ-теста и $P_{\text{нст}}$ у доноров и чернобыльцев жителей г. Полтавы и г. Киева

Группы обследованных	Показатель НСТ-теста	МП НСТ
Доноры		
Полтавчане (20 чел.)	8,86+1,27%	17,13+1,82%
Киевляне (20 чел.)	12,46+2,18%	26,46+1,97%
Чернобыльцы		
Полтавчане (15 чел.)	11,02+3,24%	29,42+3,12%
Киевляне (22 чел.)	13,83+2,96%	41,53+2,46%