



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **116325**

(13) **U**

(51) МПК

**G01N 33/48** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 13211**

(22) Дата подання заявки: **23.12.2016**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **10.05.2017**

(46) Публікація відомостей **10.05.2017, Бюл.№ 9**  
про видачу патенту:

(72) Винахідник(и):

**Гавриш Олександр Семенович (UA),  
Кричків Вікторія Анатоліївна (UA)**

(73) Власник(и):

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА НАЦІОНАЛЬНИЙ  
НАУКОВИЙ ЦЕНТР "ІНСТИТУТ  
КАРДІОЛОГІЇ ІМЕНІ АКАДЕМІКА М.Д.  
СТРАЖЕСКА" НАМН УКРАЇНИ,  
вул. Народного Ополчення, 5, м. Київ,  
03151 (UA)**

## (54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ОСМОРЕЗИСТЕНТНОСТІ ЕРИТРОЦИТІВ

(57) Реферат:

Спосіб визначення осморезистентності еритроцитів включає взаємодію крові і тестового розчину, що містить NaCl, і подальше визначення рівня резистентності. До 0,1 мл крові додають 0,4 мл дистильованої води, а через 1 хвилину - 0,5 мл 6 % розчину NaCl, краплину отриманої рідини наносять на предметне скло і виконують товстий мазок, який досліджують методом мікроскопії при збільшенні, при цьому коригують зображення оболонок еритроцитів, шляхом застосування світлофільтра, що збільшує контрастність зображення оболонки еритроцитів, а рівень осморезистентності визначають як співвідношення еритроцитів, що зберегли цілісність своєї оболонки після перебування у сформованому середовищі, і тих, які піддалися гемолізу з її руйнуванням.

**UA 116325 U**



Корисна модель належить до клінічної лабораторної діагностики і може бути використана для визначення резистентності еритроцитів пацієнтів при різних захворюваннях, а також для оцінки результатів терапії і при вивченні впливу на ефектори еритроцитарної мембрани.

Визначення осмотичної резистентності еритроцитів (ОРЕ) є одним з найбільш доступних в лабораторній діагностиці методом оцінки фізико-хімічних властивостей мембран еритроцитів. Зміни ОРЕ спостерігаються при ряді захворювань, зокрема при гемолітичних анеміях (спадкова мікросфероцитарна, аутоімунна) значення цього показника знижуються, при таласемії, гемоглобінопатіях, механічній жовтяниці - підвищуються.

Відомий спосіб визначення осморезистентності еритроцитів (Предтеченский В.Е., Кост Е.А., 1964), за яким капілярну кров розводять в 200 разів при використанні чотирьох розчинів NaCl-0,50 %; 0,46 %, 0,40 % і 3 %, а потім в рахунковій камері визначають число негемолізованих еритроцитів в кожній пробі. Його визначають у відсотках до початкового числа (тобто в 3 % розчині NaCl). Чим менше зберігається еритроцитів в 0,50 %; 0,46 % і 0,40 % розчинах NaCl, тим нижче ОРЕ.

Недоліками способу є тривалість виконання, відсутність стандартного часу експозиції еритроцитів, необґрунтованість вибору вказаних гіпоосмотичних середовищ, тобто концентрацій розчину NaCl, відсутність чітких критеріїв для оцінки нормальної і зміненої ОРЕ. Спосіб в цілому не знайшов широкого застосування в клінічній і експериментальній практиці.

Відомий спосіб визначення осморезистентності еритроцитів (Патент РФ № 2328741, МПК G01N33/49, дата публікації 10.07.2008) що включає дослідження крові і кількісне визначення міри гемолізу в розчинах натрію хлориду різної концентрації, при цьому вимірюють оптичну щільність надосадкових рідин трьох проб капілярної крові: з дистильованою водою, з 0,9 % розчином натрію хлориду і з 0,45 % розчином натрію хлориду на спектрофотометрі при довжині хвилі 414 нм в кюветі з довжиною поглинаючого шару 1 см проти дистильованої води, оцінюють міру гемолізу при початковому фізіологічному фізико-хімічному стані мембран еритроцитів в 0,9 % розчині натрію хлориду і при осмотичній пробі навантаження в 0,45 % розчині натрію хлориду в порівнянні з мірою гемолізу в пробі з дистильованою водою, яку приймають за 100 % та при значенні мір гемолізу  $1,61 \pm 0,23$  % в 0,9 % розчині натрію хлориду і  $25,16 \pm 1,83$  % в 0,45 % розчин натрію хлориду осмотичну резистентність еритроцитів інтерпретують як нормальну.

Недоліками способу є тривалість виконання, відсутність стандартного часу експозиції еритроцитів, трудомісткість методу, відсутність кількісної оцінки осмотичної резистентності еритроцитів.

В основу корисної моделі поставлена задача створення способу визначення осморезистентності еритроцитів, в якому за рахунок зміни сукупності та порядку дій по обробці тестовими розчинами, застосуванню у спосіб нових засобів забезпечується кількісна експрес-діагностика осморезистентності еритроцитів.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб включає взаємодію крові і тестового розчину, що містить NaCl, і подальше визначення рівня резистентності еритроцитів.

Згідно з корисною моделлю, що до 0,1 мл крові додають 0,4 мл дистильованої води, а через 1 хвилину - 0,5 мл 6 % розчину NaCl, краплину отриманої рідини наносять на предметне скло і виконують товстий мазок, який досліджують методом мікроскопії при збільшенні, при цьому коригують зображення оболонок еритроцитів, шляхом застосування світлофільтра, що збільшує контрастність зображення оболонки еритроцитів, а рівень осморезистентності визначають як співвідношення еритроцитів, що зберегли цілісність своєї оболонки після перебування у сформованому середовищі і тих, які піддалися гемолізу з її руйнуванням їх оболонки.

Внаслідок застосування ознак способу еритроцити, що після застосування способу зберігають свою оболонку і мають звичайну дископодібну форму з потовщенням по периферії, та у разі застосування коригування зображення оболонок еритроцитів, шляхом застосування світлофільтра, що збільшує контрастність зображення оболонки еритроцитів, вони виглядають як інтенсивно зафарбоване коло, яке суцільно оточує стоншену серединну зону еритроцита. У разі пошкодження цитолемою еритроцита при гемолізі периферійне коло нерівномірно фрагментується і навіть зникає зовсім.

Використання заявленого способу дозволяє підвищити точність визначення осморезистентності еритроцитів і надійність інтерпретації результатів дослідження.

Ознаки отриманих за способом зображень еритроцитів завдяки невеликої різноманітності та подібності їх форм легко формалізуються для їх програмного розпізнавання за допомогою комп'ютерних способів розпізнавання зображень задля автоматичного їх підрахунку.

Спосіб здійснюють наступним чином.

При здійсненні прикладу застосовували мікроскоп MC 100X fluoro (Micros), а коригування зображення оболонок еритроцитів, здійснювали шляхом застосування світлофільтра В.

У донора М. (36 р.) забирали кров. До 0,1 мл отриманої крові додавали 0,4 мл дистильованої води, через 1 хвилину - 0,5 мл 6 % розчину NaCl. Краплину цієї рідини наносили на предметне скло і робили товстий мазок, який досліджували у мікроскопі MC 100X fluoro (Micros) при збільшенні з використанням світлофільтра В.

5 При дослідженні отриманого зображення спостерігали еритроцити, що зберегли цілісність своєї оболонки після перебування у гіпотонічному середовищі і еритроцити, які піддалися гемолізу з їх руйнуванням. Перші зберігають свою звичайну дископодібну форму з потовщенням по периферії, що у разі використання світлофільтра В при дослідженні при великому (40/10) збільшенні в мікроскопі MC 100X fluoro (Micros) з фільтром В виглядають як інтенсивно зафарбоване коло, яке суцільно оточує стоншену серединну зону еритроцита. У випадках пошкодження цитолемі еритроцита при гемолізі периферійне коло нерівномірно фрагментується і навіть зникає зовсім. Порушення осморезистентності еритроцитів у хворих або в експерименті визначали порівнянням (у %) з відповідним показником в контролі.

10 Осморезистентність визначали як кількісне співвідношення таких елементів, що зберегли цілісність своєї оболонки після перебування у гіпотонічному середовищі, і тих, які піддалися гемолізу з її руйнуванням, яка у даному прикладі складала 1,3.

Використання заявленого способу дозволяє забезпечити кількісну експрес діагностику осморезистентності еритроцитів, підвищити точність визначення осморезистентності еритроцитів і надійність інтерпретації результатів дослідження.

20

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб визначення осморезистентності еритроцитів, що включає взаємодію крові і тестового розчину, що містить NaCl і подальше визначення рівня резистентності, який **відрізняється** тим, що до 0,1 мл крові додають 0,4 мл дистильованої води, а через 1 хвилину - 0,5 мл 6 % розчину NaCl, краплину отриманої рідини наносять на предметне скло і виконують товстий мазок, який досліджують методом мікроскопії при збільшенні, при цьому коригують зображення оболонок еритроцитів, шляхом застосування світлофільтра, що збільшує контрастність зображення оболонки еритроцитів, а рівень осморезистентності визначають як співвідношення еритроцитів, що зберегли цілісність своєї оболонки після перебування у сформованому середовищі, і тих, які піддалися гемолізу з її руйнуванням.

25

30

---

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601