

ČESKOSLOVENSKÁ  
SOCIALISTICKÁ  
REPUBLIKA  
(19)



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY  
A OBJEVY

# POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

(22) Přihlášeno 07 06 79  
(21) (PV 3908—79)

(40) Zveřejněno 29 08 80

(45) Vydáno 30 04 84

206004  
(11) (B1)

(51) Int. Cl.<sup>3</sup>  
G 01 N 33/54

(75)

Autor vynálezu

DOLNÍK VLADISLAV RNDr., BRNO

(54) Stromatolysující činidlo k elektronickému počítání leukocytů

Vynález se týká činidla, které destruuje erytrocyty při elektronickém počítání leukocytů. Při elektronickém stanovení počtu obecně jakýchkoliv částic prochází otvorem o známé velikosti současně elektrický proud a suspenze počítaných částic. Při průchodu částice otvorem klesá elektrická vodivost díky zmenšení účinné plochy, kterou může procházet proud. Vzniká úbytek napětí, který přístroj registruje jako impuls. Při počítání leukocytů ovšem měrným otvorem procházejí i erytrocyty, jejichž počet v krvi výrazně převahuje, a ty při stanovení leukocytů z celé krve interferují. Proto je zapotřebí je destruovat.

K destrukci erytrocytů při elektronickém počítání leukocytů je principiálně vhodný každý prostředek, který v minimálním časovém intervalu zničí dokonale všechny erytrocyty, aniž by jakkoliv poškodil ve vzorku přítomné leukocyty. Nejjednodušším prostředkem popsáným v literatuře je kyselina chlorovodíková [R. Otis and R. Tennant: Am. J. Clin. Pathol. 35, 383 (1961).] Tento postup se však vzhledem k nedokonalé lýze erytrocytů a tím zachování zbytků stromat ve vzorku neosvědčil. Nejdéle používaným prostředkem k tomuto účelu je roztok saponinu [W. Richar and E. Breakell: Amer. J. Clin. Pathol. 31, 384 (1959)], který je účinnější než kyselina chlorovodíková, avšak vzhledem ke stále ještě nedokonalé stromatolýze, omezené trvanlivosti (cca 1 týden za chladu) a relativně dlouhé době

nutné ke stromatolýze není roztok saponinu optimálním činidlem k hemolýze erytrocytů před počítáním leukocytů. V současné době nejmodernější činidla používají jako účinnou látku kvarterní amonné báze: hexadecyltrimethylamoniumbromid a hexadecylethyltrimethylamoniumbromid [W. Elliot and J. Wood: Amer. J. Clin. Pathol. 51, 298 (1969)]. Rada firem vyrábí svá vlastní činidla, jejichž složení tají, a proto nelze říci, která látka je v jejich případě aktivní lýzující složkou, lze však předpokládat, že se jedná o jednu z výše uvedených kvarterních amonných bází. Jejich přednostmi jsou: a) prakticky neomezená životnost činidla, b) dokonalá lýze erytrocytů, c) široký časový interval, ve kterém lze leukocyty počítat: leukocyty lze počítat ihned po přidání činidla, přičemž počet leukocytů se nemění po dobu alespoň 30 minut. Pro úplnost je třeba uvést činidlo složené z Tritonu X—100 a kyseliny octové (V. Bičík: osobní sdělení), které se svými vlastnostmi blíží činidlům připraveným z kvarterních amonných bází, avšak při jeho užití je ucpávána apertura měřicího přístroje patrně řetězci bílkovin, takže toto činidlo je oproti kvarterním amonným bázím krokem zpět.

Podstatou vynálezu je použití 1-ethoxykarbonylpentadecyltrimethylamoniumbromidu jako účinné složky v činidle připraveném ke stromatolýze červených krvinek při elektronickém počítání krvinek bílých. Tato látka svými povrchové aktiv-

ními účinky dokonale rozštěpí erytrocyty v čase řádově stanoveném na sekundy, přičemž její účinek na leukocyty se začne projevovat až po 35 minutách, takže leukocyty lze přesně a spolehlivě elektronicky počítat v intervalu 0 až 30 minut od přidání činidla. Vysvětlit podstatu jevu, především proč jedno činidlo je lepší než druhé, není, vzhledem k tomu, že se jedná o biologický systém, jednoduché. Štěpení erytrocytů selektivně povrchově aktivními látkami je dáno rozdílnou rezistencí morfologické membrány erytrocytů a leukocytů, přičemž selektivitu lze ovlivnit změnou pH prostředí.

Použitím 1-ethoxykarbonylpentadecyltrimethylamoniumbromidu jako účinné složky ve stromatolýzujícím činidle je možné vzhledem k vyš-

šímu účinku snížit používaný objem činidla, aniž by se tím nepříznivě ovlivnila některá z výše uvedených charakteristik. Činidlo lze za pomoci 1-ethoxykarbonylpentadecyltrimethylamoniumbromidu připravit jak pro manuální, tak i pro automatizovaný provoz. Pro manuální provoz se připraví činidlo následovně:

Příklad provedení

10,0 g 1-ethoxykarbonylpentadecyltrimethylamoniumbromid se rozpustí v 0,1 M kyselině chlorovodíkové, kterou se doplní objem činidla na 100,0 ml. Složení činidla pro automatický provoz nelze takto jednoduše uvést, protože různé přístroje různých firem užívají různé poměry objemů roztoků, a proto se bude složení činidla pro jednotlivé přístroje lišit.

## PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Použití 1-ethoxykarbonylpentadecyltrimethylamoniumbromidu jako účinné složky ve stroma-

tolýzujícím činidle pro elektronické počítání leukocytů.