



(51) МПК  
*C12M 1/02* (2006.01)  
*C12M 1/34* (2006.01)  
*G01N 33/48* (2006.01)  
*C12Q 1/02* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК  
*G01N 33/48* (2006.01); *C12M 1/34* (2006.01)

(21)(22) Заявка: 2018111717, 02.04.2018

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
 02.04.2018

Дата регистрации:  
 29.11.2018

Приоритет(ы):  
 (22) Дата подачи заявки: 02.04.2018

(45) Опубликовано: 29.11.2018 Бюл. № 34

Адрес для переписки:  
 125502, Москва, ул. Лавочкина, 50-1-24, пат.  
 пов. РФ Цетович Н.Л.

(72) Автор(ы):

Черемных Елена Григорьевна (RU),  
 Савин Максим Викторович (RU),  
 Растрига Сергей Николаевич (RU),  
 Иванов Павел Александрович (RU),  
 Ермаков Алексей Евгеньевич (RU),  
 Яшин Евгений Юрьевич (RU),  
 Левин Антон Сергеевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
 БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ  
 УЧРЕЖДЕНИЕ "НАУЧНЫЙ ЦЕНТР  
 ПСИХИЧЕСКОГО ЗДОРОВЬЯ" (RU),  
 ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ  
 ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "Европолитест"  
 (RU)

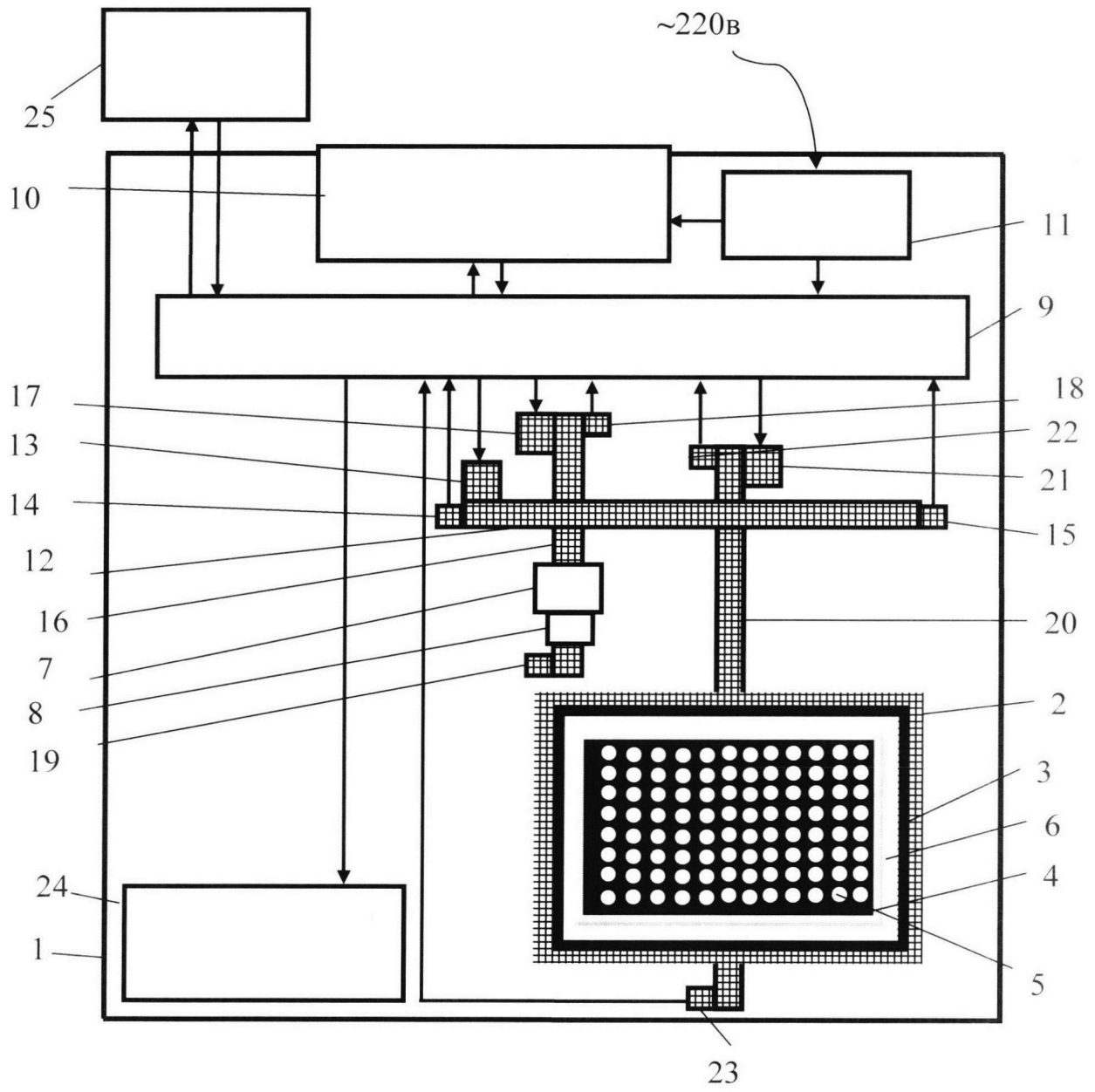
(56) Список документов, цитированных в отчете  
 о поиске: RU 2361913 C2, 20.07.2009. RU  
 2122025 C1, 20.11.1998. RU 2632694 C1,  
 09.10.2017. US 9602777 B2, 21.03.2017.

(54) **Прибор для биологических исследований**

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биотехнологии. Предложен прибор для биологических исследований. Прибор включает корпус и размещенные в нем платформу с держателем и модулем с емкостями для тестируемых образцов, узел подсветки образцов, видеокамеру, блок регулирования температуры, блок питания и подсоединенный к компьютеру микропроцессорный блок управления. Причём платформа установлена с возможностью перемещения по горизонтальной оси и резкой остановки, держатель выполнен сменным, а узел подсветки представляет собой установленные по периметру держателя ниже и под углом к

указанным емкостям светодиоды, где боковые поверхности емкостей покрыты светонепроницаемым материалом. Кроме того, видеокамера имеет объектив переменного фокусного расстояния и установлена с возможностью перемещения по вертикальной и горизонтальной осям. Изобретение обеспечивает проведение на одном приборе биологических, биохимических и микробиологических исследований, а также повышение достоверности, надежности и воспроизводимости результатов исследований при сокращении их трудоемкости. 2 з.п. ф-лы, 6 ил., 5 пр.



Фиг. 1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
*C12M 1/02* (2006.01)  
*C12M 1/34* (2006.01)  
*G01N 33/48* (2006.01)  
*C12Q 1/02* (2006.01)

**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

*G01N 33/48 (2006.01); C12M 1/34 (2006.01)*(21)(22) Application: **2018111717, 02.04.2018**(24) Effective date for property rights:  
**02.04.2018**Registration date:  
**29.11.2018**

Priority:

(22) Date of filing: **02.04.2018**(45) Date of publication: **29.11.2018** Bull. № 34

Mail address:

**125502, Moskva, ul. Lavochkina, 50-1-24, pat. pov.  
RF Tsetovich N.L.**

(72) Inventor(s):

**Cheremnykh Elena Grigorevna (RU),  
Savin Maksim Viktorovich (RU),  
Rastriga Sergej Nikolaevich (RU),  
Ivanov Pavel Aleksandrovich (RU),  
Ermakov Aleksej Evgenevich (RU),  
Yashin Evgenij Yurevich (RU),  
Levin Anton Sergeevich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**FEDERALNOE GOSUDARSTVENNOE  
BYUDZHETNOE NAUCHNOE  
UCHREZHDIENIE "NAUCHNYJ TSENTR  
PSIKHICHESKOGO ZDOROVYA" (RU),  
OBSHCHESTVO S OGRANICHENNOJ  
OTVETSTVENNOSTYU "Evropolitest" (RU)****(54) DEVICE FOR BIOLOGICAL RESEARCH**

(57) Abstract:

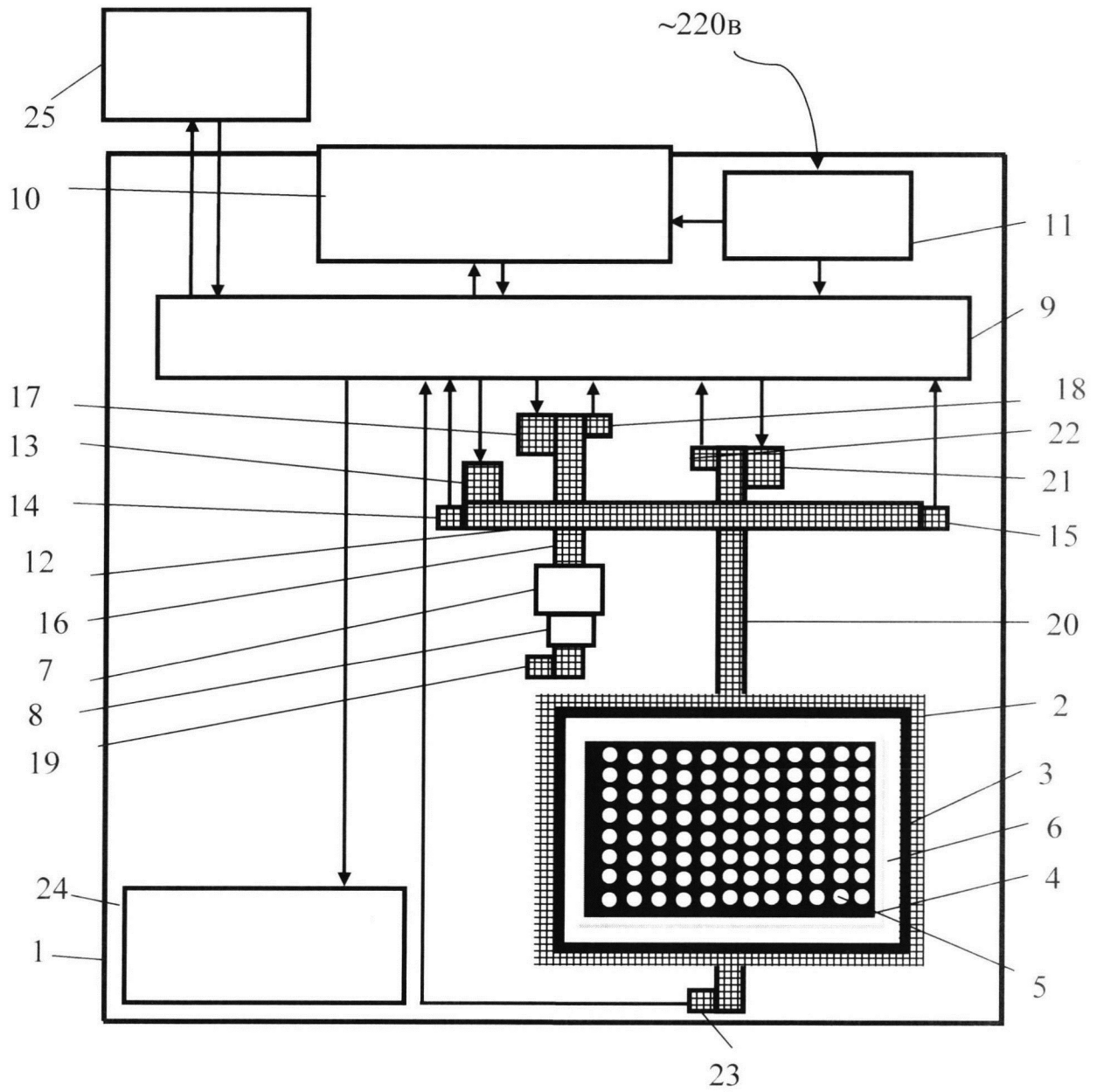
FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: proposed device for biological research. Device includes a housing and a platform with a holder and a module with containers for the tested samples, a sample backlight unit, a video camera, a temperature control unit, a power supply unit and a microprocessor control unit connected to the computer. Moreover, the platform is installed with the ability to move along the horizontal axis and abruptly stop, holder is replaceable, and the backlight assembly is an LED installed along the perimeter of the holder below and

under the edge to the indicated containers, where the side surfaces of the containers are covered with an opaque material. In addition, the video camera has a variable focal length lens and is mounted for movement along the vertical and horizontal axes.

EFFECT: invention provides for carrying out biological, biochemical and microbiological research on one device, as well as increasing the reliability, reliability and reproducibility of research results while reducing their labor intensity.

3 cl, 6 dwg, 5 ex



Фиг. 1

Изобретение относится к области экологии, фармакологии, токсикологии, медицины и касается процесса определения состояния тест-организмов или оценки изменения живых систем или их частей при действии тестовых компонентов, а более конкретно, к области биологических, биохимических и микробиологических исследований *in vitro*, в которых используется анализ изменения изображений при взаимодействии тест-систем, состоящих из разного рода тест-организмов или специальных активных растворов и проб исследуемых объектов, (тест-систем)

*In vitro* (с лат. - «в стекле») - это технология выполнения экспериментов, когда опыты проводятся «в пробирке» - вне живого организма. В общем смысле этот термин противопоставляется термину *in vivo* - эксперимент на живом организме (на человеке или на животной модели). Многие эксперименты, имеющие отношение к молекулярной биологии, биохимии, фармакологии, медицине, генетике и др., проводятся вне организма, на культуре живых клеток или в бесклеточной модели.

В настоящее время многие из этих методов не автоматизированы, проведение опытов при этом трудоемко, а оценка отличается субъективностью. В основном это биологические методы исследования безопасности природных объектов.

Известны биологические методы исследования безопасности поверхностных и сточных вод, отходов и почв по реакции микроскопических гидробионтов.

[ФР.1.39.2006.02506. ПНД ФТ 14.1:2:3.13-06 Методика определения токсичности отходов, почв, осадков сточных, поверхностных и грунтовых вод методом биотестирования с использованием равноресничных инфузорий *Paramecium caudatum* Ehrenberg., ФР1.39.2006.02505. ПНД ФТ 14.1:2.14-06 Методика определения токсичности высокоминерализованных поверхностных и сточных вод, почв и отходов по выживаемости солоноватоводных рачков *Artemia salina* L., ФР.1.39.2007.04104. Методика определения токсичности золошлаковых отходов методом биотестирования на основе выживаемости парамеций и цериодафний., ФР.1.39.2007.03222. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний, ФР. 1.39.2007.03221. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний, ФР.1.39.2007.03223. Методика определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей].

Оценка качества исследуемых объектов осуществляется на основе визуального подсчета и сравнения количества тест-организмов, до и после их экспонирования в пробе, что является трудоемким фактором, требующим определенной квалификации лаборанта. Особенно трудоемким является метод подсчета клеток водорослей в камере Горяева или Фукса-Розенталя под микроскопом.

Известен биологический метод оценки безопасности почвы по сравнительной длине проростков семян [В.В. Заболотских, А.В. Васильев, С.Н. Танких Экспресс-диагностика токсичности почв загрязненных нефтепродуктами Известия Самарского научного центра Российской академии наук, т. 14, №1(3), 2012; МР 2.1.7.2297-07 Обоснование класса опасности отходов производства и потребления по фитотоксичности]. В этом методе длина корешков в экстракте исследуемой почвы сравнивается с длиной корешков этих семян в контрольном растворе. Измерения длины корешков производят по линейке. Для достижения приемлемой достоверности необходимо в одном опыте измерить более 300 корешков проростков. Метод весьма время- и трудо- затратный.

Существуют также аппаратные методы для исследования систем комплемента, гемостаза, подсчета колоний микроорганизмов.

Так известен микробиологический прибор для подсчета колоний микроорганизмов [Автоматический счетчик колоний IUL Flash&Go]. Прибор осуществляет подсчет колоний в различных средах, и оснащен цветной камерой с высоким разрешением. Однако, этот прибор может использоваться только при микробиологических исследованиях и не пригоден для иных биологических и биохимических методов.

Известен биохимический прибор для оценки гемостаза [Регистратор тромбодинамики Т-2]. Модельный вариант свертывания в плазме крови, лежащий в основе прибора, наиболее близок к реальному процессу образования тромба в кровеносном сосуде, но одновременно прибор позволяет анализировать только 2 образца плазмы крови и реальная производительность этого прибора всего 4 образца за один рабочий день: кроме того, зарубежные расходные материалы имеют высокую стоимость.

Известно устройство для определения функциональной активности системы комплемента [патент РФ 2632694, 2016 г.]. Устройство включает корпус, внутри которого расположен измерительный блок, содержащий модуль для размещения тестируемых образцов, источники света для подсветки образцов и видеокамеры с микрообъективами для фиксации состояния образцов, блок питания и микроконтроллер, подсоединенный к персональному компьютеру. Модуль для размещения тестируемых образцов выполнен в виде стрипа с ячейками и снабжен узлом встряхивания.

Видеокамеры с микрообъективами объединены в блок таким образом, что каждая ячейка стрипа имеет размещенную над ней видеокамеру с микрообъективом. Измерительный блок снабжен узлом термостатирования, выполненным в виде теплового насоса на основе элемента Пельтье и термодатчика. При этом источники света для подсветки образцов размещены под каждой ячейкой стрипа и образуют осветительный узел темнопольной микроскопии. Недостатки известного устройства состоят в следующем:

При расположении источников света под каждой ячейкой неизбежны паразитные засветки от источников света соседних ячеек, в результате ячейка будет освещена неравномерно, а на пятнах засветки клетки не видны.

Микро- видеокамеры имеют разрешающую способность, не позволяющую достоверно оценить количество клеток в 100 мкл среды, а микрообъективы не имеют достаточную глубину резкости для подсчета клеток во всем объеме среды.

Исследование системы комплемента в рассматриваемом устройстве состоит в использовании инфузорий в среде с добавлением разных объемов сыворотки крови. Без использования специального буферного раствора такой опыт может длиться несколько часов, что не позволяет применять это устройство и описанный метод для быстрых скрининговых оценок.

Все указанные приборы и устройства пригодны только для одного вида исследований.

Наиболее близким к предложенному является прибор для биологических исследований, [патент РФ 2361913, 2006 г], включающий корпус с размещенными в нем перемещаемой платформой с держателем и модулем с емкостями для тестируемых образцов, узлом подсветки образцов, видеокамерой, микропроцессорным блоком управления, блоком регулирования температуры и блоком питания.

Платформа в известном приборе может осуществлять только круговое шаговое перемещение. При этом время между подсчетами клеток в каждой емкости составляет около 1,5 минут, что не позволяет использовать прибор для ряда биохимических исследований, где существуют процессы, протекающие стремительно, а такая дискретизация подсчетов может существенно снизить информационность оценки.

Круговое перемещение платформы не обеспечивает перемешивание образцов и

равномерное распределение тест-организмов в емкостях.

Поскольку платформа и модуль с емкостями выполнены круглой формы, то отсутствует возможность одновременного введения исследуемых проб и/или тест-организмов во все емкости, что не дает возможности использовать многоканальные пипетки прямоугольного формата. Время старта при этом для разных емкостей может быть определено с ошибкой.

Прибор снабжен двумя узлами подсветки образцов, каждый из которых включает светодиоды, укрепленные на пластине, расположенной ниже дна емкости. Такие источники света не обеспечивают равномерного освещения емкостей с тест-организмами, поскольку середина емкости освещена меньше, чем края, а боковые поверхности емкости засвечены полностью. Это ведет к недостаточному и неравномерному освещению емкостей. Кроме того, контрастность изображения невысока, т.к. светочувствительные матрицы видеокамер автоматически настраиваются на среднюю освещенность изображения. При этом изображение тест-организмов имеет меньшую яркость, чем боковые поверхности емкости, их распознавание и подсчет осуществляется с ошибкой.

Видеокамеры установлены без возможности перемещения, что не позволяет использовать стандартные модули с разным количеством емкостей, имеющих разный диаметр.

Основным недостатком описанного устройства является невозможность использования его для проведения различных исследований, таких как биологические, биохимические и микробиологические.

Технической проблемой, решаемой в настоящем изобретении, является расширение области применения прибора, автоматизация и стандартизация проводимых исследований.

Техническим результатом изобретения является возможность проведения на одном приборе биологических, биохимических и микробиологических исследований, повышение достоверности, надежности и воспроизводимости результатов исследований, сокращения их трудоемкости.

Для достижения этого результата предложен прибор для биологических исследований, включающий корпус с размещенными в нем перемещаемой платформой с держателем и модулем с емкостями для тестируемых образцов, узлом подсветки образцов, видеокамерой, микропроцессорным блоком управления, блоком регулирования температуры и блоком питания, при этом платформа установлена с возможностью перемещения по горизонтальной оси и резкой остановки, держатель выполнен сменным, узел подсветки представляет собой светодиоды, установленные по периметру держателя ниже и под углом к емкостям для тестируемых образцов, видеокамера имеет объектив переменного фокусного расстояния и установлена с возможностью перемещения по вертикальной и горизонтальной осям, перпендикулярно перемещению платформы, при этом боковые поверхности емкостей для тестируемых образцов покрыты светонепроницаемым материалом.

При этом, модуль с емкостями для тестируемых образцов может быть выполнен в виде планшета с лунками, причем сверху на планшет наложен лист из светонепроницаемого материала с отверстиями для лунок.

При этом, модуль с емкостями для тестируемых образцов может представлять собой чашку Петри.

Установка платформы с модулем с возможностью перемещения по горизонтальной оси и резкой остановки позволяет обеспечить перемешивание образцов и равномерное распределение тест-организмов в емкостях и не использовать специальное устройство

для встряхивания.

Тест-организмы - это одноклеточные простейшие (инфузории), важнейшим свойством которых является их непрерывное движение, осуществляемое за счет согласованного движения многочисленных ресничек, находящихся на поверхности клетки. В неподвижной емкости с водной суспензией инфузорий эти тест-организмы размещаются неравномерно, как правило, группируясь около границ емкости.

При ускоренном линейном перемещении такой емкости и резкой ее остановке клетки по инерции продолжают перемещение и, ударяясь о стенки емкости, меняют направление на противоположное. Процесс повторяется, и общая масса клеток будет равномерно распределена в емкости. Это обеспечивает достоверность при оценке количества клеток (коэффициент вариации <5%).

Выполнение держателя сменным позволяет использовать различные модули, например, модуль с емкостями для тестируемых образцов может быть выполнен в виде планшета с лунками или чашки Петри.

Выполнение узла подсветки в виде светодиодов, установленных по периметру держателя ниже и под углом к емкостям для тестируемых образцов и покрытие боковых поверхностей емкостей для тестируемых образцов светонепроницаемым материалом позволяет получить контрастное изображение за счет того, что изображения тест-организмов в этом случае имеют максимальную яркость и нет засветки от соседних лунок.

Использование видеокамеры с объективом переменного фокусного расстояния, которая установлена с возможностью перемещения по вертикальной и горизонтальной осям, перпендикулярно перемещению платформы позволяет использовать стандартные модули с разным количеством емкостей, имеющих разный диаметр. Использование стандартных модулей позволяет применять для преаналитической подготовки весь спектр готовых инструментов, в том числе и автоматические многоканальные дозаторы, которые обеспечивают одновременное введение исследуемых проб. Это позволяет точно фиксировать время начала реакции или воздействия пробой на тест-организмы во всех лунках планшета, повышая воспроизводимость и надежность оценки.

Емкости стандартных модулей имеют разный диаметр, например 6, 10, 16, 20, 34 мм, их количество в модуле может быть - 96, 48, 24, 12, 6. Для получения изображения емкости целиком необходимо увеличивать расстояние камеры от емкости и изменять фокусное расстояние объектива. Изображение емкости целиком нужно при использовании подвижных тест-организмов, таких как инфузории. Для оценки неподвижных изображений, например, колонии микроорганизмов или проростки семян изображение фиксируется по частям.

Схематично и условно предлагаемый прибор показан на чертежах, где на фиг. 1 - общий вид прибора, на фиг. 2 - пример выполнения модуля с емкостями для тестируемых образцов в виде планшета с лунками и держателя планшета. На фиг. 3 схематично показано расположение светодиода по отношению к емкостям для тестируемых образцов.

Прибор для биологических исследований включает корпус 1 с размещенными в нем перемещаемой платформой 2 с держателем 3 и модулем 4 с емкостями 5 для тестируемых образцов (лунками), узлом подсветки образцов 6, видеокамерой 7 с объективом 8 переменного фокусного расстояния, микропроцессорным блоком управления 9, блоком регулирования температуры 10 и блоком питания 11, устройство перемещения видеокамеры 7, состоящее из узла перемещения по горизонтальной оси 12 с шаговым двигателем 13 и оконечными выключателями 14, 15, узла перемещения по вертикальной



оси 16 с шаговым двигателем 17 и оконечными выключателями 18, 19 (показаны условно), узел перемещения платформы 20 по горизонтальной оси перпендикулярно перемещению видеокамеры, включающее шаговый двигатель 21 и оконечные выключатели 22, 23 (показан условно), индикаторная панель 24, компьютер 25.

5 На фиг. 2 показан узел сборки модуля 4 в виде планшета с лунками 5. боковые поверхности которых покрыты светонепроницаемым материалом. Сверху на планшет наложен лист 26 из светонепроницаемого материала с отверстиями для лунок 5. Узел подсветки 6 имеет светодиоды 27.

В зависимости от вида проводимых исследований модуль с емкостями для 10 тестируемых образцов может быть выполнен в виде чашки Петри (на чертеже не показан).

На фиг. 3 показано размещение одного из светодиодов 27, установленных по периметру держателя 3 ниже и под углом к емкостям 5 для тестируемых образцов.

15 Работа предлагаемого прибора показана на примере биологических, биохимических и микробиологических исследований.

В качестве биологических исследований приведены примеры 1 и 2, биохимических исследований - примеры 3 и 4, микробиологических - 5.

Пример 1 Исследование фитотоксичности почвы

20 Фитотест основан на измерении длины корешков проростков семян в экстракте исследуемой почвы и сравнении их с длиной корешков в контроле.

В десять модулей 4 в виде чашки Петри (опытная группа модулей) помещается:

- фильтровальная бумага,
- по десять семян кресс-салата *Lepidium sativum*,
- водный экстракт почвы.

25 Таким же образом формируется десять контрольных модулей 4 (контрольная группа модулей), но в них вместо экстракта почвы вносится отстоянная водопроводная вода. Через трое суток семена прорастают.

30 Оценка длины корешков в опытном и контрольном наборах модулей осуществляется с помощью обработки изображения модулей с проростками и начинается с подготовительного этапа.

Подготовительный этап работы прибора состоит во включении блока питания 11 прибора и компьютера 25. После достижения заданной температуры внутри корпуса 1 с помощью блока регулирования температуры 10 и микропроцессорного блока управления 9, платформа 2 с держателем 3 автоматически устанавливается в крайнее 35 переднее положение с помощью узла перемещения платформы 20. В держатель 3 устанавливается модуль 4. Видеокамера 7 с объективом 8 перемещается с помощью узла перемещения по вертикальной оси 16 для обеспечения необходимой резкости изображения.

40 Основной этап начинается с автоматической установки платформы 2 с держателем 3 и модулем 4 в начальное положение с помощью узла перемещения платформы 20. Далее видеокамера 7 с объективом 8 последовательно фиксирует и передает фрагменты изображения модуля с проростками в компьютер 25, который формирует целостное изображение модуля 4. Такое сканирование осуществляется с помощью узла перемещения видеокамеры по горизонтальной оси 12 и узла перемещения платформы 45 20, при этом оси перемещения видеокамеры и платформы перпендикулярны.

Все действия повторяются для модулей опытной и контрольной групп. Далее вычисляется длина корешков с помощью распознавания изображения, основанного на выявлении связанности точек объектов, отличающихся по яркости от фона (фиг. 4).

Коэффициент фитотоксичности (КФ) вычисляется автоматически по формуле 1 как отношение средней величины корешков в контроле к средней величине корешков в почвенном экстракте. Чем больше этот коэффициент, тем выше фитотоксичность почвы.

5 Результат фитотеста отражается на индикаторной панели 24.

$$КФ = \frac{\sum_{k=1}^{100} X_k}{\sum_{k=1}^{100} Y_k} \quad (1)$$

где  $X_k$  - длина корешков в контрольной группе модулей,

$Y_k$  - длина корешков в опытной группе модулей.

10 Пример 2 Биотестирование кормов для сельскохозяйственных животных на инфузориях *Paramecium caudatum* и *Tetrahymena pyriformis*

Это двух этапный тест используется для определения уровня токсичности кормов, на первом этапе которого оценивается количество выживших инфузорий *Paramecium caudatum* в пробах исследуемых объектов после 2х часовой экспозиции. Пробами  
15 являются водные экстракты и растворы ацетоновых экстрактов кормов.

Для уточнения результатов на втором этапе определяется увеличение количества *Tetrahymena pyriformis* через 24 часа экспозиции в этих же пробах.

Для проведения первого этапа используется модуль 4 с диаметром емкостей 16 мм (24 емкости в модуле), в которые вносят многоканальным автоматическим дозатором  
20 по 300 мкл суспензии инфузорий *Paramecium caudatum*.

Подготовительный этап работы прибора такой же, как при исследовании фитотоксичности и для всех вариантов исследований он одинаков.

Основной этап состоит в подсчете клеток инфузорий в каждой емкости модуля 4 в держателе 3 без пробы исследуемого объекта. Для этого осуществляется фиксация  
25 изображений видеокамерой 7 с объективом 8 каждой емкости 5 модуля 4 и передача его в компьютер 25. Изображение фиксируется и передается в компьютер 25 целиком. Далее видеокамера 7 последовательно перемещается на позиции, соответствующие заданным емкостям модуля 4, с помощью узла перемещения видеокамеры 12 и узла перемещения платформы 20.

30 После сканирования всех заданных лунок платформа 20 перемещается в крайнее переднее положение для внесения проб исследуемых объектов. Через 2 часа после экспонирования инфузорий в пробах, осуществляется автоматический повторный подсчет инфузорий во всех заданных емкостях и вычисление коэффициента выживаемости.

35 Токсичность определяется коэффициентом выживаемости (КВ), вычисляемом по формуле 2. Чем больше этот коэффициент, тем меньше токсичность. Максимально безопасной считается проба с коэффициентом токсичности равным единице. Эта оценка в силу биологических особенностей *Paramecium caudatum* имеет только 2 градации:

- токсичная исследуемая проба -  $КВ \leq 0,5$ ,
- 40 - нетоксичная проба -  $КВ \geq 0,9$ .

Результат 1 этапа биотеста отражается на индикаторной панели 24 с рекомендациями о завершении или продолжении исследования на втором этапе.

$$КВ = \frac{К1}{К2} \quad (2)$$

45 где  $К1$  - количество инфузорий в емкости модуля после 2х часовой экспозиции их в пробе,

$К2$  - количество инфузорий до внесения пробы.

Если значение КВ оказывается в диапазоне от 0,51 до 0,89, то проводится второй

этап исследования на инфузориях *Tetrahymena pyriformis*. В этом варианте исследования используется модуль с 48 емкостями, каждая диаметром 10 мм. Алгоритм проведения исследования аналогичен предыдущему, но объем суспензии инфузорий, вносимых в емкости, равен 150 мкл и, соответственно объем пробы тоже 150 мкл.

5 Токсичность пробы оценивается с помощью коэффициента роста (КР) по формуле 3 через 24 часа после экспонирования их в пробе. Этот коэффициент для нетоксичной пробы должен быть больше или равен 2.

$$10 \quad \text{КР} = \frac{K1}{K2} \quad (3)$$

где K1 - количество инфузорий через 24 часа после экспонирования в пробе, K2 - количество инфузорий до внесения пробы.

Пример 3 Оценка функциональной активности системы комплемента сыворотки крови

15 Система комплемента (СК) - самая древняя составляющая иммунитета, в ее состав входит около 40 белков - протеолитических ферментов, рецепторов, активаторов и ингибиторов ферментативных реакций. СК является глобальным регулятором иммунных процессов, что является жизненно важной функцией для организма. Оценка функциональной активности СК необходима при многих заболеваниях. Доказано [1, 2], что СК может активироваться клетками простейших *Tetrahymena pyriformis*, а  
20 результате активации СК инфузории гибнут, т.к. на их мембранах образуются мембрано-атакующие комплексы, что приводит к нарушению осмотического давления внутри клетки и ее разрушение. Концентрация сыворотки в растворе с инфузориями может быть от 5 до 0,625%, что достигается предварительным разведением. Время гибели половины количества инфузорий (Т50) в растворах сыворотки крови здоровых людей  
25 является оценкой функциональной активности СК и для здоровых людей составляет:

- при концентрации сыворотки 5% - 4-7 минут,
- при концентрации сыворотки 2,5% - 8-17 минут,
- при концентрации сыворотки 1,25% - 20-30 минут,
- при концентрации сыворотки 0,625% - 40-60 минут

30 Для оценки уровня активации СК в настоящем приборе используется модуль с 48 емкостями. После подготовительного этапа в емкости модуля (4) многоканальными автоматическими дозаторами вносят 270 мкл буферного раствора с рН равным 7.5. содержащего ионы кальция и магния, и по 15 мкл суспензии инфузорий и сыворотки крови или ее водного раствора.

35 Все действия узлов прибора при оценке СК аналогичны действиям узлов прибора при биотестировании кормов, но подсчет инфузорий происходит непрерывно до полной их гибели. Далее вычисляется оценка Т50, которая выводится на индикаторную панель 24. Динамика изменения количества клеток простейших при разной концентрации сыворотки в емкостях показана на фиг. 5.

40 Пример 4 Оценка коагуляции в плазме крови

Оценкой коагуляции в плазме крови является размер фибринового сгустка и время до начала его образования. Эти параметры определяются с помощью обработки изображения емкостей 5 модуля 4. При этом используется модуль с 96 емкостями.

45 Основной этап исследования начинается после подготовительного этапа. В емкости модуля вносят 70 мкл буферного раствора с рН равным 7,5 и 30 мкл плазмы крови, не содержащей свободные ионы кальция. Платформа 2 с держателем 3 и модулем 4 в начальное положение с помощью узла перемещения платформы 20. Далее видеокамера 7 с объективом 8 последовательно фиксирует изображения каждой емкости модуля 4

и переедет их в компьютер 25. Изображения фиксируются и передаются в компьютер 25 целиком. Видеокамера 7 последовательно перемещается на позиции, соответствующие заданным емкостям модуля 4, с помощью узла перемещения видеокамеры 12 и узла перемещения платформы 20. Все изображения сохраняются в компьютере и называются стартовыми кадрами.

После сканирования всех заданных емкостей платформа 20 перемещается в крайнее переднее положение для внесения 50 мкл раствора ионов кальция, запускающего процесс коагуляции. Далее происходит непрерывное сканирование заданных емкостей модуля 4 с помощью узла перемещения видеокамеры 12 и узла перемещения платформы 20. Видеокамера 7 с объективом 8 фиксирует и передает изображения емкостей в компьютер. Все изображения сохраняются в компьютере 25. Через некоторый промежуток времени, названный лаг фазой, происходит коагуляция. В результате чего в растворе плазмы на изображении емкости появляются области с увеличенной яркостью. Общая площадь этих областей соответствует размеру сгустка, образовавшегося в результате коагуляции. На фиг. 6 показано изображение сгустка. Процесс сканирования заканчивается после образования сгустков во всех заданных емкостях. Результаты отражаются на индикаторной панели 24.

#### Пример 5 Подсчет колоний микроорганизмов

Подсчет колоний микроорганизмов используется в многочисленных методиках в области медицины для оценки и идентификации патогенных микроорганизмов или оценки сапрофитной микрофлоры человека, в области экологии для оценки микробиотических сообществ, в санитарии при оценке безопасности пищевых продуктов. Для этого осуществляется подготовка пробы исследуемого объекта, которая может состоять для разных объектов в экстрагировании, разведении или концентрации объекта или выделении с помощью специальных методов из объекта исследования. Далее подготовленную пробу вносят в чашку Петри с агаровой средой. Через некоторое время, например 2 суток, после посева на каждой бактериальной клетке вырастает целая колония - множество клеток этих бактерий. Таких колоний может быть в чашке 30-300.

Подсчет колоний микроорганизмов с помощью прибора осуществляется по алгоритму полностью идентичному, описанному в примере 1, но обработка изображений основана на идентификации и замкнутых областей с измененной яркостью, и оценкой цветовой составляющей, т.к. разные микроорганизмы образуют колонии разного цвета.

#### (57) Формула изобретения

1. Прибор для биологических исследований, включающий корпус с размещенными в нем перемещаемой платформой с держателем и модулем с емкостями для тестируемых образцов, узлом подсветки образцов, видеокамерой, блоком регулирования температуры, блоком питания и микропроцессорным блоком управления, подсоединенным к компьютеру, отличающийся тем, что платформа установлена с возможностью перемещения по горизонтальной оси и резкой остановки, держатель выполнен сменным, узел подсветки представляет собой светодиоды, установленные по периметру держателя ниже и под углом к емкостям для тестируемых образцов, видеокамера имеет объектив переменного фокусного расстояния и установлена с возможностью перемещения по вертикальной и горизонтальной осям перпендикулярно перемещению платформы, при этом боковые поверхности емкостей для тестируемых образцов покрыты светонепроницаемым материалом.

2. Прибор по п. 1, отличающийся тем, что модуль с емкостями для тестируемых

образцов выполнен в виде планшета с лунками, при этом сверху на планшет наложен лист из светонепроницаемого материала с отверстиями для лунок.

3. Прибор по п. 1, отличающийся тем, что модуль с емкостями для тестируемых образцов представляет собой чашку Петри.

5

10

15

20

25

30

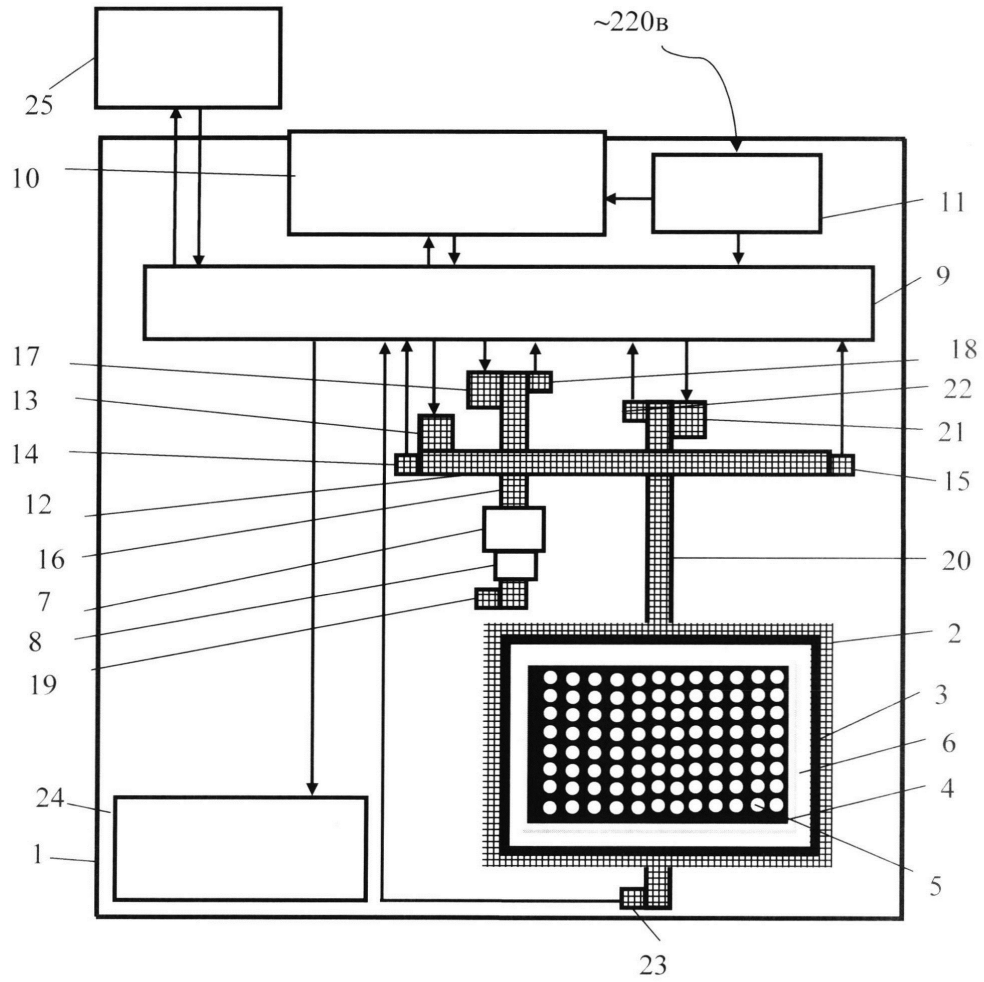
35

40

45

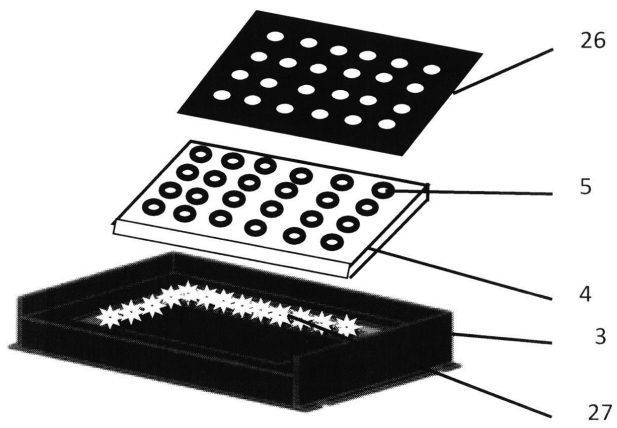
1

13

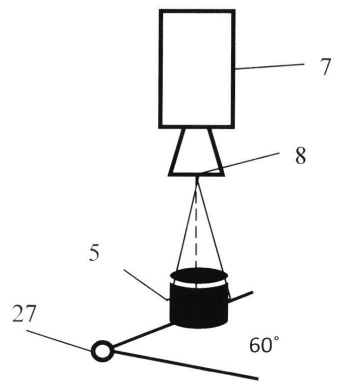


Фиг. 1

2



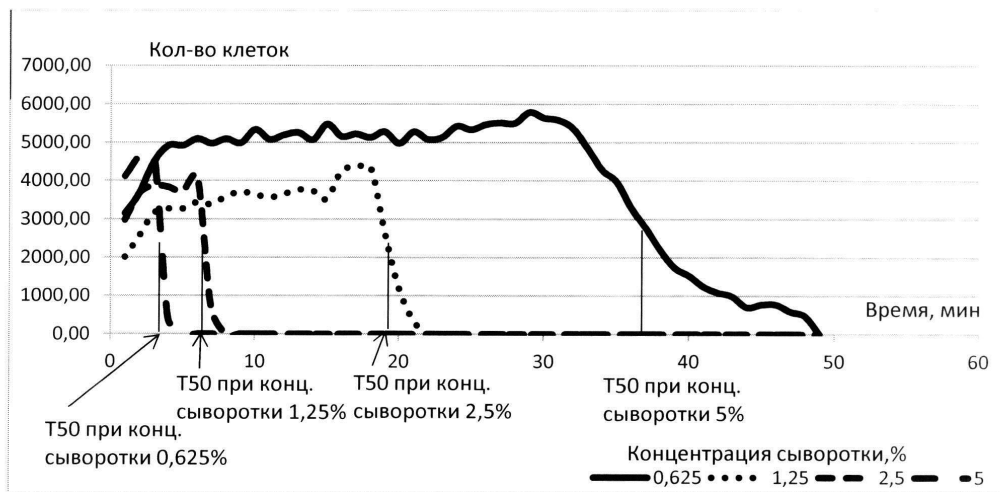
Фиг.2



Фиг.3

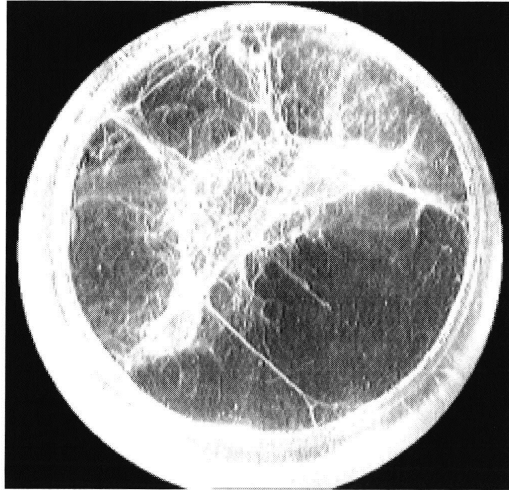


Фиг.4



Фиг.5





Фиг.6