



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **63526** (13) **U**
(51) МПК
G01N 33/48 (2006.01)ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ**ОПИС**
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту**(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ СЛАБОАГЛЮТИНАБЕЛЬНИХ ФОРМ АНТИГЕНУ D (D^U) ЕРИТРОЦИТАРНОЇ СИСТЕМИ РЕЗУС**

1

2

(21) u201103417

(22) 22.03.2011

(24) 10.10.2011

(46) 10.10.2011, Бюл.№ 19, 2011 р.

(72) ПАВЛЮК РАЇСА ПАНТЕЛЕЙМОНІВНА, ТИ-
МОШЕНКО УЛЯНА ВАСИЛІВНА(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ГЕМА-
ТОЛОГІЇ ТА ТРАНСФУЗІОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ"(57) Спосіб визначення слабоаглютинабельних
форм антигену D (D^U) еритроцитарної системи
Резус шляхом постановки реакції гемаглютинації в
гелевому середовищі, який **відрізняється** тим, що
застосовують ізоіммунні антирезус-сироватки.

Спосіб належить до галузі медицини, а саме,
до клініко-лабораторних досліджень.

На даний час серологічно можна виявити бли-
зько 30 епітопів антигену D. Найчастіше спостері-
гається експресія всіх епітопів. В такому випадку
іде мова про нормально виражений антиген D.

Коли на еритроцитах кількість нормального
антигену D значно знижена, ідеться про слабкий D
(D weak) фенотип. В результаті різних генних му-
тацій може відбуватися втрата одного чи декількох
епітопів, внаслідок чого утворюється D partial (час-
тковий, варіантний) фенотип. На сьогоднішній
день описано близько 14 типів варіантних антиге-
нів D.

В повсякденній лабораторній практиці через
неможливість з тих чи інших причин точно відди-
ференціювати D слабку від D варіантної форми
антигену D, для зручності прийнято користуватися
терміном D^U, під яким розуміють всі випадки сла-
боаглютинабельних форм антигену D.

Для визначення слабоаглютинабельних форм
антигену D відомі такі способи, як спосіб визна-
чення резус-належності в реакції конглютинації із
застосуванням 10 % желатину [1], непрямий анти-
глобуліновий тест Кумбса (пробірочний метод) [2],
гелевий тест ДіаМед [3].

Спосіб визначення резус-належності в реакції
конглютинації із застосуванням 10 % желатину
полягає в аглютинації еритроцитів під дією ізоім-
унної сироватки та розчину желатину. Проте чутли-
вість цього методу значно нижча за антиглобулі-
новий тест.

Суть непрямого пробірочного методу Кумбса
полягає в тому, що сенсibilізовані ізоіммунною си-
роваткою еритроцити піддаються гемаглютинації в

пробірках за допомогою антиглобулінового реаге-
нту Кумбса. При використанні цього способу вини-
кає ряд незручностей, що можуть призвести до
викривлення результату: необхідність великої кі-
лькості матеріалу для дослідження, тривалий час
інкубації, багаторазове відмивання та певні умови
підготовки еритроцитів для дослідження.

Найближчим аналогом запропонованого нами
способу визначення слабоаглютинабельних форм
антигену D (D^U) є гелевий тест ДіаМед. При цьому
сенсibilізовані моноклональними анти-D антиті-
лами і антитілами проти відповідних форм D partial
досліджувані еритроцити аглютинуються антигло-
буліновою сироваткою та під дією центрифугуван-
ня проходять крізь пори в гелі, завдяки чому дося-
гається візуалізація результату. Недолік цього
способу - його порівняно висока собівартість.

Завданням способу, що пропонується, є під-
вищення точності виявлення слабоаглютинабель-
них форм антигену D (як D weak, так і D partial, без
ідентифікації останніх), зменшення витрат дослід-
ного матеріалу та необхідного для дослідження
часу. Це досягається шляхом постановки реакції
гемаглютинації досліджуваних еритроцитів зі ста-
ндартною ізоіммунною антирезус сироваткою з по-
ліклональними анти- D антитілами за допомогою
антиглобулінового реагенту в гелі. Ізоіммунні анти-
резус сироватки специфічні до більшості епітопів
антигену D, тому виявляють як D weak, так і D
partial.

Спосіб, що пропонується реалізується наступ-
ним чином. Еритроцити для дослідження двічі від-
мивають від консерванту 0,9 % розчином натрію
хлориду. Фізіологічний розчин низької іонної сили (LISS) ви-
тримують до досягнення кімнатної температури

(19) **UA** (11) **63526** (13) **U**

(+18 - +25 °C). Готують 0,8% завис досліджуваних еритроцитів, для чого в пробірку поміщають 1 мл розчину LISS та 12,5 мкл осаду еритроцитів.

Беруть пластикову картку з мікропробірками, в яких знаходиться гель з антиглобуліновим реагентом (сироваткою Кумбса). В верхній розширений відділ двох мікропробірок вносять по 50 мкл 0,8 % завису досліджуваних еритроцитів, додають по 25 мкл ізоімунної антирезус сироватки (в першу мікропробірку - сироватку однієї серії, в другу - іншої серії). Поміщають картку в термостат при 37 °C на 15 хвилин, після чого центрифугують 10 хвилин при 1000 об/хв.

Утворення на дні мікропробірки щільного осаду з еритроцитів свідчить про негативний результат, розсіювання аглютинатів в товщі гелю або скупчення на його поверхні - про позитивний результат. При отриманні позитивного результату роблять висновок про наявність слабоаглютинабельної форми антигену D (D^U).

Приклад використання способу.

Вагітна Л-ва була направлена для уточнення резус-належності крові. Попередні неодноразові визначення в різних лікувальних закладах не співпадали - встановлювали то резус-позитивний, то резус-негативний тип.

Визначення резус-належності здійснювалося аналогічно описаному вище способу, в результаті чого встановлено:

1. Реакція гемаглютинації на площині за допомогою моноклонального реагенту анти-D була сумнівна.

2. Реакція конглютинації із застосуванням 10 % желатину візуально була негативна, при мікроскопії - слабо позитивна.

3. Запропонованим нами способом була досягнута чітка позитивна реакція. Це дозволило зробити висновок про наявність слабоаглютинабельної форми антигену D (D^U).

Таким чином, використання запропонованого нами способу дало змогу точно ідентифікувати резус-належність пацієнтки. Даний спосіб можна рекомендувати для впровадження в лікувально-профілактичних закладах.

Джерела інформації:

1. Е.Б. Жибурт. Трансфузіологія / Е.Б. Жибурт - СПб.: Питер, 2002. - 736с.

2. Визначення груп крові за системами АВ0, Резус та імунних антитіл / В.Л. Новак, П.М. Перехрестенко, Б.В. Качоровський та ін. // Інструкція. - К., 1999. - 50с.

3. Минеева Н.В. Группы крови человека. Основы иммуногематологии / Минеева Н.В. - СПб.: А-принт, 2010. - 188с.