



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 32968

(13) U

(51) МПК (2006)
G01N 33/48МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ГРУПИ КРОВІ СИСТЕМИ АВО (ISBT 001) ПРИ НИЗЬКІЙ КОНЦЕНТРАЦІЇ ТА/АБО СЛАБКОМУ АВДИТЕТІ ІЗОГЕМАГЛЮТИНІНІВ α , β

1

2

(21) u200800583

(22) 17.01.2008

(46) 10.06.2008, Бюл. № 11, 2008 р.

(72) ДИЗИК ГАЛИНА МИХАЙЛІВНА, UA, ПАВЛЮК РАІСА ПАНТЕЛЕЙМОНІВНА, UA, ТИМОШЕНКО УЛЯНА ВАСИЛІВНА, UA, МИРОНЕНКО ГАЛИНА АНАТОЛІВНА, UA, ЛАВРОВСЬКА ЛЮБОВ НИКОДИМІВНА, UA

(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ГЕМАТОЛОПІЇ ТА ТРАНСFUЗІОЛОПІЇ АМН УКРАЇНИ", UA

(57) Спосіб визначення групи крові системи АВО (ISBT 001) при низькій концентрації та/або слабкому авідитеті ізогемаглютинінів α , β шляхом з'єднання досліджуваної сироватки крові із стандартними еритроцитами груп А(II) та В(III), який відрізняється тим, що стандартні еритроцити розводять 0,9% розчином хлориду натрію від 1:2 до 1:512 та проводять облік неозброєним оком з наступною мікроскопією.

Спосіб відноситься до галузі медицини, зокрема до клініко-лабораторних досліджень. Практика визначення групової належності вимагає визначення наявності антигену на еритроцитах за допомогою аллосироваток та/або моноклональних антитіл, а також обов'язкового виявлення наявності специфічних ізогемаглютинінів в сироватці крові досліджуваної особи.

Широко використовується метод визначення групи крові за допомогою моноклональних антитіл (МКА), що містять специфічні імуноглобуліни класу М (Ig М) які спрямовані проти групспецифічних антигенів А і В людини. Завдяки повній стандартності, а також високій активності і авідності реагентів МКА, дана методика вимагає використання тільки однієї серії МКА. З'єднавши МКА анти-А і анти-В з досліджуваною кров'ю (співвідношення 10:1) візуально оцінюється аглютинацію, яка свідчить про наявність відповідних антигенів [1]. Недоліком вищепри описаного методу є неможливість виявлення слабких антигенів (A_2 і т.п.). Метод дає можливість виявити тільки групові аглютиногени.

На практиці для ідентифікації групи крові використовуються методи визначення за допомогою стандартних сироваток та моноклональних антитіл (виявлення групових антигенів системи АВО), а також перехресним методом за допомогою стандартних еритроцитів (виявлення ізогемаглютинінів сироватки крові). Хід реакцій і трактування результатів регулюються Інструкціями та нормативними вимогами [1, 2, 3]. При застосуванні стандартних сироваток використовуються алоімуни групспе-

цифічні сироватки 0(1), А(II) та В(III) груп, що містять специфічні ізогемаглютиніни. З'єднавши по чергово вищевказані сироватки з досліджуваною кров'ю в співвідношенні 10:1 спостерігають візуальну аглютинацію, обумовлена поєднанням відповідних аглютиногенів з аглютинінами. Виходячи з групової специфічності сироваток та варіантів розподілу аглютинації в відповідних краплях можна ідентифікувати відповідну групу крові. Вказане дослідження обов'язково дублюється використанням іншої серії сироваток. Недоліками описаного методу є досить низькі титри антитіл в сироватках, громіздкість методу, а також, як і в попередньому випадку, виявлення лише групових аглютиногенів.

Загальноприйнятим способом і найближчим аналогом для визначення ізогемаглютинінів на практиці є перехресний спосіб [1]. Суть методу полягає в з'єднанні досліджуваної сироватки крові із нерозведеними еритроцитами А(II) та В(III) груп крові в співвідношенні 1:10 з наступним врахуванням аглютинації. В залежності від наявності аглютинації в двох зразках робиться висновок про наявність чи відсутність в сироватці α і β ізогемаглютинінів. Недоліком вищепри описаного способу є неможливість ідентифікації ізогемаглютинінів α і β при низькій концентрації та/або слабкому їх авідитеті. Відсутність ізогемаглютинінів в нерозведеній сироватці, як правило, може спостерігатись у осіб з групою крові АВ₀(IV), але якщо прямим методом визначається інша група, то

(13) U

(11) 32968

(19) UA

необхідно встановити наявність і специфічність ізогемагліутинінів.

Завданням способу, що пропонується, є уточнення групової ідентифікації пацієнтів в складних випадках, пов'язаних з низькою концентрацією та/або слабким авідитетом ізогемагліутинінів α і β , які неможливо виявити загальноприйнятим способом. Це досягається постановкою реакції аглютинації досліджуваної сироватки крові із стандартними тест-еритроцитами групи А та групи В в розведенні 0,9% розчином натрію хлориду від 1:2 до 1:512.

Хід дослідження. Беруть 4 штативи. В штативи №1 та №2 поміщають по 10 скляних пробірок, куди вводять по 0,2 мл досліджуваної цільної сироватки.

В штатив №3 поміщають 10 скляних пробірок для титрування тест-еритроцитів групи А. В пробірку №1 штативу №3 вводять по 0,2 мл еритроцитів групи А, в пробірки від №2 до №10 вводять по 0,2мл 0,9% розчину натрію хлориду, після чого послідовно переносять з пробірки №1 до пробірки №2 і т.д. по 0,2мл зависі еритроцитів, попередньо перемішуючи суспензію. Так утворюється розведення еритроцитів від 1:2 в пробірці №2 до 1:512 в пробірці №10.

В штатив №4 поміщають 10 скляних пробірок для титрування тест-еритроцитів групи В. Розведення еритроцитів групи В починають аналогічно порядку розведення еритроцитів групи А, де в пробірку №1 вводять 0,2мл еритроцитів групи В і далі їх розводять до титру 1:512 в пробірці №10.

Після розведення еритроцитарної зависі починають проводити реакцію аглютинації цільної сироватки крові досліджуваної особи з еритроцитарною суспензією групи А і групи В з різною концентрацією еритроцитів.

Для цього в кожен пробірку штативу №1 вводять по 0,2мл еритроцитів групи А у відповідному порядку, тобто з пробірки №1 штативу №3 в пробірку №1 штативу №1 в пробірку №2 штативу №1 з пробірки №2 штативу №3 і т.д. до 10 пробірок.

В кожен пробірку штативу №2 вводять по 0,2мл еритроцитів В із пробірок штативу №4 відповідно до їх нумерації.

В результаті вищевизначеного порядку титрування і поєднання тест-еритроцитів групи А та групи В утворюються реагуючі суміші антитіл (в цільній сироватці) та антигенів (в послідовному двократному розведенні). Облік реакцій здійснюється візуально з обов'язковою наступною мікроскопією.

Контроль 1 реакції ставиться із цільною сироваткою та титрованими еритроцитами досліджуваної особи. Контроль повинен бути негативним, оскільки власні ізогемагліутиніни спрямовані до антигенів, відсутніх у даної особи.

Контроль 2 виконується із цільною сироваткою досліджуваної особи та титрованими стандартними тест-еритроцитами групи 0(I). Контроль повинен бути негативним.

Контроль 3 виконується з цільною сироваткою досліджуваної особи та з титрованими тест-еритроцитами групи АВ(IV). Контроль може бути позитивним (якщо досліджувана особа в прямому методі відноситься до 0(I), A(II), B(III)) або негативним при АВ(IV) групі крові досліджуваної особи.

Приклад використання способу.

Пацієнт К-н, 33 роки. В період підготовки до оперативного втручання (холецистектомія ?) звернувся для встановлення групи крові системи АВО. Попередні неодноразові визначення не співпадали і встановлювалась кілька разів група 0(I) або A(II).

Нами встановлено:

1. При визначенні групи крові моноклональними антитілами на площині відсутні антигени А та В, тобто при прямому способі належить до групи 0(I).

2. При зворотному способі анти-А та анти-В антитіла не виявляються навіть під мікроскопом.

Запропонованим способом встановлено наявність аглютинації тест-еритроцитів групи А в зоні розведення 1:16 - 1:64, наявність аглютинації тест-еритроцитів В в зоні розведення 1:8 - 1:128, що дозволило встановити наявність в досліджуваній сироватці ізогемагліутинінів α , β та встановити групу крові 0_{αβ}(I).

Таким чином, у даної особи прямим способом встановлено групу крові 0(I), а при використанні зворотного способу спостерігалась аглютинація сироватки із розведенням стандартними тест-еритроцитами А(1:16 - 1:64) та еритроцитами В 1:8 - 1:128), що свідчить про наявність ізогемагліутинінів α (альфа) та β (бета), які присутні в сироватці осіб з групою крові 0_{αβ}(I).

Таким чином, використання запропонованого нами способу дало змогу точно ідентифікувати групову належність пацієнта з огляду на неможливість виявлення групових ізогемагліутинінів звичайним способом. Даний метод можна рекомендувати для впровадження в лікувально-профілактичних закладах.

Джерела інформації:

1. Визначення груп крові за системами АВО, Резус та імунних антитіл. (Інструкція МОЗУ №164 від 05.07.1999р.).

2. Анализ ошибок при проведении иммунологических исследований//Вестник службы крови России, 2007.- №2.-С.3-5.(Авторы: Н.В.Минеева, Н.Н.Бодряева, О.А.Заварзина, В.Е.Солдатенков и др.).

3. Изоиimmunология и вопросы клиники и лечения гемотрансфузионных осложнений. Сборник инструкций и методических указаний. -М.: Медицина, 1979, 268с.

