

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ЗАМЕНЫ НАТИВНЫХ И ФОРМАЛИНИЗИРОВАННЫХ ЭРИТРОЦИТОВ БАРАНА ДЛЯ ПОСТАНОВКИ РГА И РТГА

Маматова Муборак Нурпулатовна

И.о.профессора кафедры клинической

лабораторной диагностики и КЛД ФПДО,

Абдушукуров Азизбек Самиевич врач лаборант,

Юлдошева Сарвиноз Мизробовна врач лаборант

Аннотация. Предложенные для консервации растворы удлиняют срок годности эритроцитов до 10-60 дней. Большая устойчивость к лизирующим агентам и продолжительному (до года) хранению может быть придана эритроцитам с помощью формальдегида. Режим стабилизации - температура, продолжительность, концентрация - определяется как степень устойчивости, так и способность рецепторов эритроцитов к взаимодействию с вирусными гемагглютинидами. Формалинизация полностью или частично устраняет чувствительность эритроцитов к нормальным сывороточным гемагглютинидам.

Ключевые слова: гемагглютинация, формалинизация, нативные и формализированные эритроциты, титр гемагглютинина.

Актуальность темы. Красные кровяные клетки широко используют в диагностических реакциях, основанных на феномене гемагглютинации. Однако работа с образцами крови разных, особенно мелких, доноров приводит к несопоставимым результатам испытания одних и тех же материалов. Нативные клетки недостаточно устойчивы при хранении и контакте с различными химическими и биологическими агентами [1, 9, 11].

Гемагглютинация – (от греч. *haima* - кровь и лат. *agglutinatio* - склеивание), процесс склеивания и последующего осаждения эритроцитов крови; вызывается гемагглютинидами, бактериями и вирусами, агентами, способными адсорбироваться на поверхности эритроцитов. При гемагглютинации образуются различимые глазом скопления эритроцитов в виде кучек, глыбок, комков. Гемагглютинация определяется взаимодействием находящихся в эритроцитах агглютиногенов и плазмы, содержащей агглютинины. Каждому агглютиногену соответствует свой агглютинин [3, 5, 8].

Предложенные для консервации растворы удлиняют срок годности эритроцитов до 10-60 дней. Большая устойчивость к лизирующим агентам и продолжительному (до года) хранению может быть придана эритроцитам с

помощью формальдегида. Режим стабилизации - температура, продолжительность, концентрация - определяется как степень устойчивости, так и способность рецепторов эритроцитов к взаимодействию с вирусными гемагглютинидами. Формалинизация полностью или частично устраняет чувствительность эритроцитов к нормальным сывороточным гемагглютинидам.

Несмотря на равную или даже большую чувствительность формализированных эритроцитов к вирусным антигенам по сравнению с нативными, до настоящего времени вирусологические лаборатории содержат лабораторных животных и пользуются почти исключительно нативными эритроцитами [2, 4, 10].

Цель научного исследования. Целью настоящей работы явилось изучение возможности замены нативных эритроцитов барана формализированными для постановки РГА и РТГА с вирусом паротита, а также повышение воспроизводимости результатов при постановке этих реакций микрометодом.

Материалы и методы. Антигеном для РГА служила хорионаллантоисная жидкость куриных эмбрионов, зараженных вакцинным штаммом вируса паротита. Были использованы петушиные и бараньи эритроциты, нативные и формализированные. РГА ставили на физиологическом растворе с добавлением $1/15$ М K_2HPO_4 и KH_2PO_4 1:100 до рН 7,2 и 1 % нормальной лошадиной сыворотки, прогретой при 56^0 30 минут и абсорбированной бараньими эритроцитами. Клетки отмывали ресуспендировали забуференным до рН 7,2 физиологическим раствором. РГА ставили в V-образных твердых пластинах микротитратора. Объем титруемых проб антигена и взвеси клеток - по 25 мкл.

Время оседания при $18-20^0$ 1 - $1\frac{1}{2}$ ч. Результаты учитывали по трем проявлениям: полная агглютинация (+), частичная агглютинация (\pm) и отсутствие агглютинации (-). Испытание эритроцитов, нативных и формализированных, от разных доноров проводили многократно. Статистический анализ результатов - сопоставление средних величин - выполнен по общепринятым методам [6, 7].

Были сопоставлены способы стандартизации густоты взвесей нативных и формализированных эритроцитов, исследована количественная зависимость титров гемагглютинида вируса паротита от густоты применявшихся взвесей и количественно охарактеризована воспроизводимость результатов титрования вируса паротита микрометодом.

Стандартизация густоты взвеси достигалась тремя методами: в соответствии с объемом осадка отмывых эритроцитов, по числу клеток в миллионах на 1 мл, по определению оптической плотности проб разной

концентрации. Для нативных и формализированных эритроцитов сопоставлены результаты применения кювет разной глубины и разных светофильтров: красного, синего, зеленого и желтого.

Счет клеток проводили в камере Горяева обычным способом. Исследование каждого варианта концентрации эритроцитов, нативных и формализированных, повторяли 8 раз. Для каждой из 128 взвесей получены характеристики объемного определения, числа подсчитанных эритроцитов и данные оптической плотности в кювете 3,07 мм. Значения показателей оптической плотности у каждой из 8 проб в пределах каждой концентрации (0,25, 0,3, 0,5 и 1 %) оказались близкими. Средняя величина отклонения в группе формализированных эритроцитов составила 3 %, а для нативных 4-5 %. Средняя величина отклонения при определении числа клеток счетом в камере в тех же пробах составила 9 %.

Основой сравнения фотоэлектроколориметрического измерения и прямого подсчета в камере были взвеси, приготовленные в соответствии с объемом осадка. В другом опыте была определена воспроизводимость результатов подсчета клеток во взвесах с произвольно заданными значениями оптической плотности (от 0,4 до 1,4 с интервалом в 0,1 шкалы левого барабана при красном фильтре). Средние величины отклонения в числе клеток в группах по 6 образцов на каждый показатель также составили 9 %. Приготовление произвольных концентраций в соответствии с объемом осадка обеспечивало такую же воспроизводимость, как и при получении заданных концентраций. В тех случаях, когда пробы эритроцитов были невелики и измерение объема осадка было затруднено.

При исследовании нативных и формализированных клеток против разных фильтров, концентраций с показателями 1,0-1,5 при красном фильтре (с интервалом в 0,1 деления шкалы, по 32 повторных исследования на каждую концентрацию) было показано, что лишь синий фильтр дает наибольшие цифровые выражения плотности - на 0,2 деления шкалы выше, чем красный.

Нативные и формализированные эритроциты сравнивали по чувствительности к гемагглютинирующему вирусу паротита. Были получены убедительные данные о равной их чувствительности. Высокая воспроизводимость результатов (100%) была присуща титрованию вируса с нативными и формализированными эритроцитами, взвеси которых имели одинаковые показатели оптической плотности.

Применение в РГА взвесей с оптической плотностью, варьирующей в пределах 0,1 деления шкалы, обеспечивало 88-98 % совпадения титров. Большие различия между взвесьями, невидимые глазом, находящиеся в пределах 0,2

деления шкалы, давали меньшую воспроизводимость результатов - 77% и 4-8-кратные различия в титрах.

Размеры эритроцитов и их густота в значительной мере определяли скорость оседания, т. е. быстроту и четкость получения ответа. С нативными эритроцитами барана, густоту которых характеризовала оптическая плотность от 0,7 до 1,4 деления шкалы левого барабана устройства, РГА проходила за 45-60 минут. Формализированные эритроциты с теми же показателями оседали за 60-90 минут. Более крупные клетки петуха во взвесах с показателями оптической плотности 0,7-1,1 оседали за 15-45 минут.

Результаты. Оптимальным требованиям удовлетворяла взвесь нативных и формализированных эритроцитов с показателем оптической плотности, равным 1,2 деления шкалы.

Кроме стандартности густоты взвеси эритроцитов, влияние на воспроизводимость результатов при микрометоде оказывает тщательность и стереотипность исполнения всех процедур. В технических требованиях инструкции к микротитратору не регламентированы элементы работы, зависящие от малого набора пипеток.

Приходится пользоваться влажным стеклом. Наибольшее однообразие результатов обеспечивает внесение титруемого материала в первые лунки прокаленными термостойкими петлями. Эта зависимость одинаково выражена при работе с живым началом - вирусом паротита и при работе со стабильным эритроцитарным диагностикумом в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА) со столбнячным анатоксином и стандартом антитоксина: 94-98% воспроизводимость в РГА и 97-100 % - в РПГА.

Выводы. Формализированные разными методами эритроциты барана можно применять для определения титра гемагглютинина вируса эпидемического паротита наравне со свежими. Фотоколориметрический метод стандартизации густоты взвесей нативных и формализированных эритроцитов более эффективен, чем объемный или прямой счет клеток в камере Горяева. Воспроизводимость результатов РГА и РПГА в микромодификации при стандартизованных условиях постановки достигала 94-100 %.

Использованные литературы:

1. Бердиярова Ш.Ш., Нажмиддинова Н.К. Важность лабораторного анализа в ПЦР // Журнал. Tadqiqotlar. UZ. – 2024. Т. 48(1), С. 68-75.
2. Даминов Ф.А., Якубова Д.М., Курбонов Ф.Б. Современные методы лабораторного подтверждения инфаркта миокарда // Т. Журнал. Tadqiqotlar. UZ, 2024.

3. Дикий И.Л., Сидарчук И.И. и др. Микробиология // Руководство к лабораторным занятием. Киев, 2004, С. 583.
4. Кадыров Ж.Ф., Маматова М.Н. К морфологическому изучению базофильных гранулоцитов крови // Журнал. Tadqiqotlar. UZ. - 11.2024. Т. 5(49) С. 25-31.
5. Кадыров Ж.Ф., Маматова М.Н., Осланов А.А. Влияние пандемии Covid-19 на борьбу с туберкулезом // Биология ва тиббиёт муаммолари. Илмий журнал. - 2023, 1(142).
6. Маматова М.Н. Study of the biological properties of rabies by the method of diagnosis of the "Gold standard" // Scientific Journal, Colden Brain, 2024, 2(4), 129-144.
7. Маматова М.Н., Насриддинова Б.М. [Видоспецифичность колигемолизина при кишечной инфекции](#) // International journal Pedagogics. -2024, 5(68) 22-30.
8. Корнилова О.Г., Парамонова Е.В., Нечаев А.В., Кудашева Э.Ю., Борисевич И.В., Кишкурно Н.И. Методы гемагглютинации в оценке специфической безопасности препаратов иммуноглобулинов человека для внутривенного введения // Медицинская иммунология 2017, Т. 19, № 5, стр. 513-520 © 2017, СПб РО РААКИ.
9. Zhiburt E.V. Transfusion Medicine: a textbook // St. Petersburg: Peter, 2002. 736 p.
10. Жибурт Е.Б., Караваев А.В., Мадзаев С.Р., Губанова М.Н. Особенности национального определения антител к эритроцитам // Вестник Росздравнадзора, 2012. № 4. С. 61-63.
11. Daw Z., Padmore R., Neurath D., Cober N., Tokessy M., Desjardins D., Olberg B., Tinmouth A., Giulivi A. Hemolytic transfusion reactions after administration of intravenous immune (gamma) globulin: a case series analysis // Transfusion, 2008, Vol. 48, pp. 1598-1601.