

6. Астахов А. А. Физиологические основы биоимпедансного мониторинга гемодинамики в анестезиологии (с помощью системы «Кентавр»): в 2-х т. Челябинск, 1996.
7. Дембо А. Г., Земцовский Э. В. Спортивная кардиология. М., 1989. 464 с.
8. Лучинин М. Ю. Половые и типологические особенности кардиогемодинамики лиц юношеского возраста, не занимающихся и занимающихся спортом, — в покое и при физических нагрузках. Дис. ... канд. биол. наук. Тюмень, 2003. 164 с.
9. Астахов А. А. Методический подход к исследованиям медленноволновых процессов у здоровых и больных. // Колебательные процессы гемодинамики. Пульсация и флуктуация сердечно-сосудистой системы: Сб. научн. тр. III Всерос. симпозиума. Челябинск, 2004. С. 132-145.
10. Баевский Р. М., Берсенева А. П. Оценка адаптационных возможностей организма и риск развития заболеваний. М.: Медицина, 1997. С. 265.

**Нина Николаевна МЕРКУЛОВА** —  
зав. иммунологическим отделением МУ «Городская  
станция переливания крови» (г. Сургут)

**Ильшат Расимович ВАЛИАХМЕТОВ** —  
врач отделения анестезиологии и реанимации  
новорожденных муниципальной городской  
больницы № 1 (г. Сургут)

УДК 616-053.31

## ГЕМОЛИТИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ НОВОРОЖДЕННЫХ ПО АНТИГЕНАМ СИСТЕМЫ АВ0-СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ

**АННОТАЦИЯ.** Изучали эффективность использования микротипирующей диагностической гелевой технологии *DiaMed ID Micro Typing System* (ДиаМед, Швейцария) в исследовании гемолитической болезни новорожденных по антигенам системы АВ0. Антитела IgG анти-А, анти-В системы АВ0 выявляли, используя 0,2М 2меркаптоэтанол. При положительном прямом антиглобулиновом тесте Кумбса проводили элюцию адсорбированных антител. Описаны случаи гемолитической болезни новорожденных из практики иммунологического отделения СПК.

*Studied efficiency of use Micro Typing diagnostic gell technologies DiaMed ID Micro Typing System (DiaMed, Switzerland) in research gemolysirt illnesses of newborns on antigenes of system АВ0. Antibodies IgG anti-A, anti-B revealed systems АВ0, using 0,2M 2mercapthoetanol. At positive direct antiglobulin test Coombs carried out (spent) elutio adsorbed antibodies. Cases gemolysirt illnesses of newborns from practice immunologych branches SPK are described.*

### Введение

Известно, что проникающие в организм матери фетальные эритроциты нередко являются причиной иммунологического конфликта вследствие несовместимости крови матери и плода по эритроцитарным антигенам. Образующиеся при этом аллоиммунные антиэритроцитарные антитела могут быть причиной гемолитической болезни плода и/или новорожденного.

Считается, что если аллоиммунные антитела проникали к плоду длительно и активно в течение беременности до начала родовой деятельности, то развивается внутриутробная мацерация плода, или отечная форма гемолитической болезни плода [1].

ABO-несовместимость является наиболее распространенной формой иммуногенетической несовместимости матери и плода, так как агрессия группоспецифических иммунных антител матери против тканей антигенно-несовместимого плода начинает проявляться задолго до периода новорожденности, часто уже при первой беременности [2-8].

Наиболее часто иммунологические конфликты по антигенам системы ABO возникают у женщин с группой крови O(I), когда у ребенка A(II) группа крови, реже B(III) [9,10,12]. Иные сочетания групп крови матери и ребенка, приводящие к гемолитической болезни, встречаются в практике значительно реже.

До настоящего времени основным критерием оценки иммунологического конфликта при гетероспецифической беременности является исследование сыворотки беременной на величину титра антиэритроцитарных антител. Согласно мнению З. Ф. Васильевой, В. Н. Шабалина (1984), величина титра антител имеет лишь относительное значение в отношении прогноза как развития гемолитической болезни новорожденного, так и ее тяжести. Развитие ГБН возможно при установленном лабораторном факте сенсибилизации (при наличии разных антигенов эритроцитарных систем у супругов), нарастающем титре аллоиммунных антител у беременной. В настоящее время для диагностики ГБН в постнатальном периоде проводимая прямая проба Кумбса в ее классическом исполнении в большинстве случаев оказывается отрицательной. Показано, что при ее проведении возникают как ложноотрицательные (вследствие удаления слабофиксированных антител при отмывании) и ложноположительные (остающиеся следы сыворотки вызывают нейтрализацию антиглобулинового реагента) результаты. Использование новейшей гелевой технологии для диагностики гемолитической болезни новорожденных продиктовано данным обстоятельством.

### Цель

Показать эффективность использования микротипирующей диагностической гелевой технологии DiaMed ID Micro Typing System (Диамед, Швейцария) в диагностике иммуноконфликтной беременности, обусловленной антигенами системы ABO.

### Материалы и методы исследования

Иммуносерологические исследования крови новорожденных проводились в иммунологическом отделении городской станции переливания крови, которое располагает современными методами лабораторной диагностики и высокотехнологичным оборудованием.

Определение антигенов групп крови системы ABO и Резус новорожденного проводили в день взятия образца крови, методами, утвержденными приказом № 2 МЗ РФ от 01.98 г. с использованием моноклональных антител (целиклонов).

С этой целью на белую плоскость наносили слева направо МКА: анти-А, анти-В, анти-AB по 0,1 мл, после чего к целиклонам добавляли исследуемые эритроциты новорожденного в дозе 0,02-0,03 мл. После перемешивания капель наблюдали за реакцией в течение трех минут. Результат оценивали по взаимодействию эритроцитов ребенка со специфичным целиклоном (целиклонами) (табл. 1).

Таблица 1

**Интерпретация результатов реакции агглютинации  
исследуемой крови с цоликлонами**

Результат реакции с цоликлоном			Исследуемая кровь принадлежит к группе
Анти-А	Анти-В	Анти-АВ	
-	-	-	0(I)
+	-	+	А(II)
-	+	+	В(III)
+	+	+	АВ(IV)

Резус принадлежность крови новорожденного оценивали по реакции эритроцитов с цоликлоном анти-D Супер на плоскости через три минуты после перемешивания ингредиентов по наличию агглютинации (резус положительный), или по ее отсутствию (резус отрицательный).

Наряду с традиционными методами исследования крови новорожденных в последние годы появились новые высокочувствительные иммунологические методы и технологии, как для установления отдельных серологических признаков, так и в целом для диагностики гемолитической болезни в постнатальном периоде.

Микротипирующая гелевая технология ДиаМед (DiaMed ID Micro Typing System, Швейцария) рекомендована экспертной комиссией по лабораторным реагентам Комитета по новой медицинской технике Минздрава России для проведения всего спектра иммуносерологических исследований крови доноров, больных, беременных, новорожденных. Метод основан на осаждении агглютинатов в агаровом геле Сефадекс, помещенном в микропробирки. Реакция агглютинации между эритроцитами и антителами сыворотки легко определяется визуально, после центрифугирования агглютинированные клетки образуют слой в верхней части микропробирки, так как не проходят через гель. Неагглютинированные эритроциты, напротив, свободно проходят сквозь гель и оседают на дне микропробирки.

Показано, что гелевая технология является более чувствительной, чем традиционные серологические методики, более того, кровь младенца требуется в минимальных количествах.

Использование метода центрифугирования в геле позволяет избежать отмывания исследуемых эритроцитов при проведении прямого антиглобулинового теста (прямая проба Кумбса), в то же время обеспечивает высокий уровень стабильности всех тестов и достоверности результатов. С помощью идентификационных карт (ID) ДиаМед разной специфической направленности можно:

не только установить групповую принадлежность, но и определить фенотип эритроцитов крови ребенка, а также выявить смешанные популяции эритроцитов (примесь эритроцитов матери)

идентифицировать тип клинически значимых антител, адсорбированных на эритроцитах новорожденного

в случае гемолитической болезни установить класс иммуноглобулинов (Ig) и, что особенно важно, субкласс Ig, вызывающих данное заболевание.

Для распознавания адсорбированных аллоиммунных материнских антител на эритроцитах новорожденных использовали метод замораживания-оттаивания (Lui-elutio) фетальных эритроцитов [11], в результате чего последние разрушались, а антитела высвобождались и активно были выявлены в ID картах Liss/Coombs DiaMed (непрямая проба Кумбса) с соответствующими стандарт-

ными эритроцитами. Данный метод быстрый и простой, требует малого количества клеток и успешно применяется в диагностике антител при ГБН по антигенам системы АВ0.

Нами проанализированы истории болезни детей, находящихся на лечении в отделении анестезиологии и реанимации новорожденных муниципальной городской больницы №1 (ОАРН МГБ 1) (г. Сургут) с иммунологическим конфликтом по антигенам системы АВ0. Группа крови младенцев А(II) или В(III), мамы которых имели группу крови 0(I). Показаниями к направлению ребенка в ОАРН, как правило, являются неотложные состояния новорожденного, требующие проведения интенсивной терапии и мониторинга витальных функций, проведения операции заменного переливания крови. При наличии абсолютных показаний к проведению обменно-заменного переливания крови (ОЗПК) используется трансфузионная среда в объеме, рассчитанная лечащим врачом, индивидуально подобранных отмытых эритроцитов и свежезамороженной плазмы. Решение о проведении повторного ОЗПК принимается на основе мониторинга за показателями непрямого билирубина, результата прямой пробы Кумбса, общего анализа крови, динамической оценки клинического состояния.

При поступлении детей с подозрением на иммунологический конфликт в течение первых суток, а некоторых случаях в течение первого часа жизни, оценивали общее состояние тяжести ребенка. Осуществляли биохимические исследования крови на билирубин, в том числе мониторинг почасового прироста непрямого билирубина, параллельно проводили симптоматическую терапию. Следует отметить, что у основной части новорожденных детей, поступивших в ОАРН, в той или иной степени к концу первых-началу вторых суток жизни развивается конъюгационная желтуха.

Основным диагностическим значимым обследованием при постановке диагноза гемолитической болезни новорожденного (ГБН) является прямая проба Кумбса. С этой целью кровь новорожденного направляли в иммунологическое отделение городской станции переливания крови (ГСПК) для проведения данной пробы.

*Иммуносерологические исследования крови новорожденного начинали с установления группы крови младенца с одновременной постановкой прямого антиглобулинового теста Кумбса (ПАГТ) в карточках ID Newborns DiaMed. Эритроциты новорожденного взвешивали в растворе низкой ионной силы (Diluent 2 Liss), полученную 0,8% взвесь сразу же по 50 мкл помещали в микропробирки и центрифугировали 10 минут. Если антиэритроцитарные антитела матери класса IgG системы АВ0 (анти-А или анти-В) адсорбированы на эритроцитах ребенка, то прямой антиглобулиновый тест Кумбса (прямая проба Кумбса) будет положительным различной степени выраженности, от 2+ до 4+. В этом случае исследовали титр ПАГТ, так как этот параметр оказывает влияние на уровень клеточной деструкции.*

Суспензию эритроцитов новорожденного в растворе Liss вносили по 50 мкл в микропробирки ID карты DAT Dilution, центрифугировали. Агглютинированные эритроциты образовывали красную линию на поверхности геля или распространялись в его толще.

При наличии агглютинации в титре 1:100-1:300 результат считается клинически значимым, что свидетельствует о высоком риске гемолиза эритроцитов новорожденного, для этого необходимо установить субкласс IgG, использовать ID карты DAT IgG1/IgG3.

Антитела класса IgG системы АВ0 выявляли с использованием 0,2М раствора 2-меркаптоэтанола (2МЭ), сульфидредуцента, разрывающего дисульфидные связи между субъединицами в молекуле IgM. Известно, что оба вида антител системы АВ0 одновременно присутствуют в сыворотке крови большинства людей, но естественные антитела анти-А, анти-В вследствие своей высокоагглютинабельной активности делают интактными антитела анти-А, анти-В системы АВ0, относящиеся к классу IgG.

С целью устранения действия естественных антител к испытуемой сыворотке добавляли равный объем 0,2М 2-меркаптоэтанола, смесь инкубировали в термостате в течение часа, после чего редуцированную сыворотку испытывали в реакции прямой гемагглютинации на плоскости со стандартными эритроцитами А или В. Положительный результат проб свидетельствовал о наличии антител анти-А или анти-В, относящихся к классу IgG.

Специфичность адсорбированных иммунных антител на эритроцитах новорожденного при положительном ПАГТ устанавливали методом «замораживание-оттаивание», в результате чего адсорбированные антитела на эритроцитах новорожденного переходили в элюат вследствие разрушения структуры эритроцитов. Наличие антител установленной специфичности указывает на АВ0-зависимую болезнь.

В нашей практике зарегистрированы случаи АВ0 конфликта тяжелой степени.

В акушерском анамнезе женщины Р. четыре беременности: после первых родов следует замершая беременность, медаборт, четвертая протекает на фоне гестоза, отечный вариант.

Иммуносерологические показатели: группа крови 0(I) резус положительный, в сыворотке антитела анти-А в титре 1:8 класса IgG системы АВ0, тепловые гемолизины анти-А. Рождение ребенка соответствовало 7-8 баллов по шкале Апгар, кожные покровы иктеричны до 2 степени повсеместно, печень увеличена до 1,5 см. С диагнозом: гемолитическая болезнь новорожденного по АВ0, желтушная форма, среднетяжелой степени, ребенок поступает в отделение реанимации новорожденных. При поступлении уровень непрямого билирубина 316 мкмоль/л, почасовой прирост составил 8,3 мкмоль/час. При исследовании крови новорожденного в иммунологическом отделении ГСПК выяснено: группа крови А(II) резус-положительный, прямая проба Кумбса 3+, установлен субкласс иммуноглобулина IgG-IgG1, в элюате детектированы антитела анти-А материнского происхождения. В возрасте одних суток ребенку проводится первое обменно-заменное переливание отмытых индивидуально подобранных эритроцитов группы 0(I). К концу вторых суток жизни, несмотря на проводимую консервативную терапию, уровень непрямого билирубина повторно возрос до 314 мкмоль/л, на этом фоне проводится повторное ОЗПК. После этого состояние новорожденного стабилизировалось. Выписан из больницы на 12 сутки в удовлетворительном состоянии при полном купировании проявлений желтухи.

У женщины Г-вой в анамнезе 11 беременностей, пятые роды, 2 умерших новорожденных в возрасте 7 суток и 24 часов. На учет по беременности встает в 29 недель, при наличии анти-В антител класса IgG системы АВ0 в титре 1:32, обнаружены субклассы иммуноглобулина IgG — IgG1 в разведении 1:100(2+), IgG3 в разведении 1:100 (3+). Наличие обоих субклассов иммуноглобулина IgG в высоком титре у беременной является усугубляющим фактором для возникновения патологического гемолиза эритроцитов плода в значительной степени. Несмотря на проводимые сеансы лечебного плазмафереза беременной, титр антител снижался на одну ступень и через сутки восстанавливался до прежних

значений. В сроке 34-35 недель с клиническим диагнозом: АВ0 гемолитическая болезнь плода, анемия I степени, многоводие, проведено преждевременное оперативное родоразрешение.

В первые часы жизни кровь младенца с диагнозом: ГБН АВ0 желтушно-отечная форма, среднетяжелое течение, вместе с образцом крови его мамы поступает в иммунологическое отделение СПК. Нами установлено, что группа крови матери O(I) резус-положительный, титр анти-В IgG антител системы АВ0 1:32. Кровь новорожденного группы В(III) резус-положительный, сыворотка насыщенно желтого окрашивания. ПАГТ слабоположительный (+), в сыворотке анти-В антитела материнского происхождения в титре 1:32, в элюате также идентифицируются анти-В IgG антитела. Почасовой прирост непрямого билирубина 8 мкмоль/час.

На основании клинического состояния ребенка и лабораторных исследований, новорожденному проводится первое обменно-заменное переливание (ОЗПК) индивидуально подобранных в ID Liss/Coombs DiaMed донорских эритроцитов группы O(I) резус-положительных. Несмотря на активную инфузионно-трансфузионную терапию, проведенную накануне, у ребенка отмечается гипербилирубинемия, в связи с чем проводится второй сеанс ОЗПК. Контрольное исследование эритроцитов новорожденного в прямом антиглобулиновом тесте (DiaMed) через сутки после второго ОЗПК дает отрицательный результат, состояние новорожденного стабилизировалось.

Беременная Ш-на становится на учет в женскую консультацию с пятой беременностью. Из анамнеза: первая беременность закончилась рождением младенца с гемолитической болезнью и последующей гибелью новорожденного на 10 сутки, от второй беременности родился ребенок с группой O(I), последующие 3 и 4 закончились выкидышами.

Группа крови женщины A(II), резус положительный. Начальный титр, выявленный нами, анти-В антител системы АВ0 класса IgG 1:16, к концу третьего триместра достигает значений 1:64. На протяжении беременности проведено несколько сеансов лечебного плазмафереза.

Кровь новорожденного с диагнозом: гемолитическая болезнь новорожденного по АВ0, отечно-анемичная форма тяжелой степени тяжести направляется в иммунологическое отделение ГСПК. Группа крови ребенка В(III), резус положительный. Прямой антиглобулиновый тест Кумбса (прямая проба Кумбса) резко положительный (4+), одновременно установлен субкласс иммуноглобулина IgG — IgG3 в разведении 1:100(2+), что свидетельствует о высоком риске гемолиза эритроцитов новорожденного. В сыворотке ребенка обнаружены анти-В антитела класса IgG системы АВ0, в элюате — также анти-В антитела.

Проведенные новорожденному 2 сеанса обменно-заменного переливания индивидуально подобранных донорских отмытых эритроцитов в сочетании с другими медицинскими мероприятиями позволили купировать процесс патологического гемолиза, тем самым улучшить качество жизни новорожденного.

Новорожденный Ше-в в возрасте 32 дней госпитализирован в детское отделение городской больницы с диагнозом: анемия, конъюгационная желтуха.

Кровь ребенка и его матери поступает в иммунологическое отделение. При исследовании выяснилось, что группа крови матери O(I), резус положительный, группа крови малыша — A(II), резус положительный. В сыворотке матери выявлены анти-А антитела класса IgG системы АВ0 в высоком титре 1:32.

У новорожденного ПАГТ положительный на 3+. С целью идентификации адсорбированных антител проведена элюция последних с эритроцитов ребенка. В элюате детектированные специфические антитела реагировали с эритроцитами группы А в ID Liss/Coombs, положительный результат свидетельствовал о нали-

чии анти-А антител материнского происхождения. Полученные данные, положительный ПАГТ и наличие анти-А IgG антител, адсорбированных на эритроцитах ребенка, повышенный уровень ретикулоцитов до 5 промилле, свидетельствовали о длительно текущей АВ0 зависимой болезни, не диагностируемой у новорожденного после его рождения. Грудное вскармливание способствовало продолжению иммунологического конфликта. Консервативные методы лечения, в результате чего значительно снизился уровень непрямого билирубина, адекватно повысился уровень гемоглобина крови ребенка и отказ от грудного вскармливания, позволили остановить процесс разрушения эритроцитов, и с положительной динамикой ребенок выписан для поликлинического наблюдения.

### Обсуждение результатов

Исследование крови новорожденного в DiaMed ID Micro Typing System начиналось с постановки прямого антиглобулинового теста с одновременным тестированием групповой и резус принадлежности, для чего были использованы минимальные количества крови младенца. В описанных нами случаях проявления АВ0 зависимой болезни индивидуально выраженные по активности.

Прямой антиглобулиновый тест Кумбса в классическом исполнении в большинстве случаев не отражает глубину происходящих процессов в организме новорожденного. В описанных нами случаях (пример второй) даже высокочувствительная гелевая технология зафиксировала силу реакции прямой пробы Кумбса у новорожденного как слабоположительную (+). Убедительное дифференцирование адсорбированных материнских аллоиммунных IgG антител на эритроцитах ребенка в элюате при положительном ПАГТ стало возможным только в диагностических картах DiaMed Liss/Coombs. С использованием ID карт DAT IgG1/IgG3 установлены субклассы иммуноглобулинов IgG- IgG1 и IgG3, тем самым конкретизирована причина гемолитического процесса фетальных эритроцитов у младенцев.

На наш взгляд, АВ0 ГБН с наличием у новорожденного группы крови В(III), судя по лабораторным исследованиям, имеет более выраженный патологический гемолиз и клинически новорожденный страдает сильнее, чем ребенок с группой крови А(II). Исследования крови, проведенные нами у новорожденных и их мам по диагностированию АВ0 гемолитической болезни, согласуются с данными в зарубежной литературе [10, 11].

### Выводы

По общераспространенному мнению, свидетельствующему об единичных тяжелых случаях АВ0 гемолитической болезни новорожденных по сравнению с конфликтами по антигенам системы Резус, наша практика показывает, что иммуногематологические наблюдения должны проводиться за всеми беременными, особенно с группой крови O(I) независимо от резус-принадлежности, начиная с первой беременности.

Изучение случаев гемолитической болезни новорожденных, независимо от направленности аллоиммунизации, следует проводить с использованием микро-типизирующей диагностической гелевой технологии ДиаМед (DiaMed ID Micro Typing System). Современный уровень лабораторной диагностики позволяет на ранних сроках развития беременности установить факт аллоиммунизации, диагностировать наличие антигена-«виновника», дифференцировать класс и субкласс иммуноглобулина, обуславливающего развитие и степень гемолитической болезни плода и/или новорожденного.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шабалов Н. П. Неонатология. СПб. 1996. Т. 2. С. 103.
2. Доссе Ж. Иммуногематология. М.: Медгиз, 1959.
3. Косяков П. Н. Изоантигены и изоантитела человека в норме и патологии. М.: Медицина, 1974. 360 с.
4. Нестеров Н. Л., Петина Ю. В. Проблемы акушерства, гинекологии и перинатологии. М.: ММА, 2002. С. 149-152.
5. Шабалов Н. П., Цвелев Ю. В. Основы перинатологии. М.: МЕДпресс-информ. 2002. 573 с.
6. Issitt, P. D. Applied Blood Group Serology. 3-ed. Montgomery Sc. Publ. Miami USA 1985, 683.
7. Говалло В. И. Иммунология репродукции. М.: Медицина. 1987. 304 с.
8. Technical Manual. 12<sup>th</sup> edition. 1996. 665.
9. Меркулова Н. Н. Распространенность, физиологические и иммуносерологические особенности естественных и иммунных групповых антител системы АВ0 у жителей Среднего Приобья. Автореф. дис. .... канд. биол. наук. М. 1999. С. 35.
10. Васильева З. Ф., Шабалин В. Н. Иммунологические основы акушерской патологии. М.: Медицина. 1984. 192 с.
11. Минеева Н. В. Группы крови человека. Основы иммуногематологии. СПб., 2004. С. 178.
12. Maisels, J. Jaundice. In: Avery, G. B., Fietcher, M. A., MacDonald, M. G. (eds). Neonatology: Pathophysiology and management of the newborn, 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: J. B. Lippincott. 1994. С. 630-725.

*Наталья Николаевна МАЛЯРЧУК —  
докторант академической кафедры  
методологии и теории  
социально-педагогических исследований  
Тюменского государственного университета,  
кандидат медицинских наук, доцент*

УДК 614.2:37

**ФОРМИРОВАНИЕ КУЛЬТУРЫ ЗДОРОВЬЯ ПЕДАГОГОВ**

*АННОТАЦИЯ. Автором обосновывается необходимость разработки системы формирования культуры здоровья педагога как субъекта образовательного процесса и предлагается модель формирования культуры здоровья педагогов в общеобразовательных учреждениях.*

*The author bases the necessity of teacher's health culture forming as a subject of educational process and suggests the model of teacher's health culture forming in educational establishments.*

Показатели здоровья подрастающего поколения определяются современными исследователями (Р. И. Айзман, В. Ф. Базарный, М. М. Безруких, В. М. Чимаров и др.) как катастрофические. Очевидно, что серьезное влияние на рост, развитие и состояние здоровья детей оказывают социально-экономические про-