

А.А. Долмашкин, В.А. Дубровский

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГРУППЫ КРОВИ НА ОСНОВЕ ЦИФРОВЫХ ФОТОГРАФИЙ ЭРИТРОЦИТОВ И ИХ АГГЛЮТИНАТОВ

Аннотация

Описана возможность определения групповой принадлежности крови человека на основе метода цифровой фотографии седиментации эритроцитов и их иммунных комплексов, усиленной ультразвуком. Экспериментально показано, что действие стоячей ультразвуковой волны приводит к ускорению образования агглютинатов, формированию более крупных иммунных эритроцитарных комплексов и, как следствие, к ускорению их седиментации. В то же время в отсутствие агглютинации эритроцитов ультразвук не интенсифицировал аналогичные процессы. Такое различие в результатах ультразвукового действия на смесь «кровь-сыворотка» позволяет предложить метод определения группы крови. С помощью цифровых фотографий с последующей их количественной обработкой выявлены области оптического зондирования седиментации эритроцитов и их иммунных комплексов, в которых разрешающая способность установления группы крови максимальна. Для этих зон исследовано влияние пробоподготовки, времени «озвучивания» образцов и их инкубации на разрешающую способность акусто-оптического метода типирования крови. Результаты могут быть использованы при разработке приборов для инструментального определения групповой принадлежности крови человека.

Определение группы крови по системе АВ0, или Rh (системе резус), является одним из наиболее часто используемых тестов лабораторной диагностики. Например, в США ежегодно проводится от 150 до 200 млн. подобных тестов в центрах по переливанию крови [1]. Учитывая соотношение населения России и США, можно полагать, что в нашей стране количество тестов по типированию крови приближается к 100 млн. в год. Естественно, такая частота тестирования крови на групповую принадлежность требует создания специальной аппаратуры, автоматов для определения группы крови.

Первые попытки создания таких приборов на основе проточного метода были предприняты в 1967 году [2], [3]. Они увенчались успехом: многие годы приборы «AutoAnalyzer», а затем «AutoGrouper 16-C» (фирма «Technicon», США) использовались на практике [2], [3]. Вплоть до настоящего времени исследователями предпринимаются попытки совершенствования проточного метода определения группы крови и других гематологических тестов [4]-[10].

Другой подход к созданию приборов для определения групп крови – статический метод, когда нет необходимости в формировании потока раствора смеси «кровь-сыворотка», а исследуемая жидкость располагается в кювете, тестовом стекле, ячейке микроплашки и т. п. Можно полагать, что первые «статические» автоматы для определения групп крови были созданы во Франции (прибор «Groupamatic», Centre National de Transfusion, Франция) [11], [12]. Фирма «Olympus» (Япония) внесла свой вклад в создание подобных приборов, впервые применив в 1980 году микроплашки, отказавшись от центрифугирования образцов и тем самым сократив время теста (прибор PK7200 «Automated Microplate System», «Olympus Diagnostics», Япония) [11].

В табл. 1 приведены известные авторам наименования приборов для определения групп крови, наименования фирм, страны.

Таблица 1

Наименование прибора	Фирма	Страна
Galileo Echo™	ImmucorGamma	США
PK7200® Automated Microplate System	Olympus Diagnostics	Япония
TANGO Benchtop Blood Bank Analyzer		
ORTHO AUTOVUE Innova/Ultra System	Ortho-Clinical Diagnostics Johnson & Johnson Company	США
ORTHO ProVue™ Automated BloodBank Instrument		
Automatic Analyzer WADiana Compact	Diagnostic Grifols S.A.	Испания
Auto Analyzer	Technicon Instrument Corporation	США
Groupamatic	Centre National de Transfusion	Франция
Haemotyper	Tecan	Швейцария

К сожалению, вынуждены констатировать, что по сведениям, которыми мы располагаем, отечественные приборы, автоматы для определения групп крови к настоящему времени отсутствуют. Это делает актуальными исследовательские разработки данного направления.

В [13]-[16] обсуждаются различные аспекты статических методов и устройств для определения групп крови. Возможность увеличения разрешающей способности таких устройств путем использования ультразвуковых волн рассматривалась в [17]-[21]. Напомним, что под разрешающей способностью

понимают отношение оптического сигнала P_+ , соответствующего положительной реакции агглютинации (сыворотка иммунологически адекватна группе исследуемой крови – агглютинаты образуются), к уровню фотосигнала P_- для отрицательной реакции агглютинации (сыворотка не соответствует данной группе крови – агглютинаты не образуются). Очевидно, что увеличение разрешающей способности $K = P_+ / P_-$ повышает надежность определения группы крови. Чрезвычайно важно отметить, что ошибка в определении группы крови образца должна исключаться абсолютно, единственное послабление прибору – в некоторых случаях он может не определить группу крови анализируемой пробы.

Физические принципы приборов для определения групп крови могут быть различными, однако следует отметить, что регистрация оптических сигналов и математическая их обработка, как правило, проводились в аналоговом режиме. Представляется, что лишь в приборе РК7200 «Automated Microplate System» впервые для таких устройств использована цифровая фотография в сочетании с распознаванием образов для анализа узоров агглютинации на дне кюветы [11]. Следует отметить, что метод цифровой фотографии в приложении к определению групп крови, по нашему мнению, является современным, перспективным, он позволяет проводить соответствующую цифровую математическую обработку результатов, вносить результат обработки в память ПК, представлять результаты в форме медицинских документов. Принципиальная возможность применения цифровой фотографии для регистрации процесса агглютинации и седиментации агглютинатов с целью определения группы крови рассмотрена в [22].

Цель настоящей статьи – анализ возможностей, которые предоставляет сочетание рассмотренного ранее авторами ультразвукового действия на реакционную смесь «кровь-сыворотка» с цифровой регистрацией и обработкой процесса агглютинации эритроцитов, седиментации эритроцитов и их агглютинатов. Особое внимание в статье уделено вопросам оптимизации оптического зондирования исследуемого объекта и соответствующей пробоподготовки для повышения разрешающей способности предлагаемого метода определения групп крови.

Объект исследования, техника эксперимента

Объектом исследования являлась донорская кровь в основном второй А(II) и третьей В(III) групп крови в сочетании с гемагглютинирующими сыворотками, как правило, A_{β} (II) и B_{α} (III) типов. Напомним, что А(II) не агглютинирует с A_{β} (II) – отрицательная реакция, но «кровь А(II) + сыворотка B_{α} (III)» дает агглютинацию эритроцитов – положительная реакция. Аналогично «В(III) + B_{α} (III)» – отрицательная реакция, но «В(III) + A_{β} (II)» – положительная реакция агглютинации эритроцитов. Обработка техники эксперимента и пробоподготовки проводились на этих типах реакций.

Сыворотку разводили физиологическим раствором, в который вносили пробу исследуемой крови. При этом в экспериментах соотношение «цельная кровь-цельная сыворотка» варьировали в пределах от 1:100 до 1:2, а степень разведения этой смеси изменяли от 1:100 к 1:10. Полученный раствор «кровь-сыворотка» в кювете размещали на пьезокерамическом преобразователе и облучали ультразвуком. Время облучения («озвучивание») в экспериментах также варьировалось от 15 до 240 с. Для возбуждения пьезокерамического преобразователя использовали генератор ГЗ-112/1 с усилителем, а его выходное напряжение контролировали осциллографом С1-79. Генератор настраивали резонансно по отношению к преобразователю $\nu = 2,25$ МГц, а его выходное напряжение, подаваемое на пьезокерамику, не превышало 15 В, что обеспечивало ультразвуковое действие на эритроциты без их гемолиза.

В [17]-[21] было показано, что при облучении ультразвуком раствора смеси «кровь-сыворотка» в кювете образовывалась стоячая УЗ-волна, которая приводила к группировке эритроцитов и их комплексов в области узлов. В результате раствор клеток крови расслаивался с пространственным периодом, равным половине ультразвуковой длины волны ($\lambda / 2$). Сближение эритроцитов в узловых областях приводит к увеличению вероятности их взаимодействия, а следовательно, к агглютинации при положительной реакции. При этом возрастают как скорость реакции агглютинации, так и размеры иммунных эритроцитарных комплексов и, как результат, скорость седиментации агглютинатов при выключении УЗ-генератора (окончание эффекта левитации эритроцитов и агглютинатов). Оптически исследуемая среда становится более прозрачной.

При отрицательной реакции агглютинации эритроциты также группируются в узловых областях, формируются «неспецифические» агрегаты, которые рассыпаются на отдельные эритроциты при выключении ультразвука. Естественно, скорость оседания «свободных» эритроцитов значительно ниже, чем агглютинатов, среда длительное время остается мутной. Различие в величине коэффициента пропускания исследуемых образцов для положительной и отрицательной реакций соответственно несет информацию о том, состоялась реакция агглютинации или нет, что используется для определения группы крови образца.

Разрешающая способность $K = P_+ / P_-$ зависит от расположения области оптического зондирования седиментации эритроцитов и их иммунных комплексов. Вот почему определение зоны зондирования явилось первой и основной задачей экспериментов. Оптическая схема экспериментальной установки представлена на рис. 1. Световой луч He-Ne лазера 1 (ЛГН-207Б) пространственно расширялся телескопической системой 2. Нейтральные светофильтры 3 служили для ослабления света в обеспечение должного режима работы цифровой фотокамеры 7. Далее свет пропускали через вертикально ориентированную оптическую щель 4 (ширина

2 мм, высота 22 мм) и направляли в кювету с исследуемой жидкостью 5. Луч, прошедший через исследуемый раствор, поступал на фотокамеру «Logitect-Quick Cam 7», подключенную к ПК 8. На *рисунке* показан ультразвуковой пьезокерамический преобразователь 6. Оптическая щель позволяла создавать на кювете световое пятно с размерами порядка 2×22 мм, при этом размеры внутренней полости кюветы составляли 18×32 мм (объем около 4,2 мл).

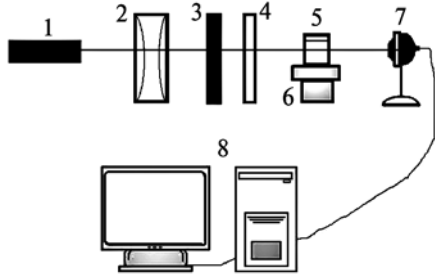


Рис. 1. Блок-схема экспериментальной установки: 1 – He-Ne-лазер; 2 – телескопическая оптическая система; 3 – нейтральные оптические светофильтры; 4 – оптическая щель; 5 – кювета; 6 – пьезокерамический ультразвуковой преобразователь; 7 – CCD-камера; 8 – компьютер

Представленная оптическая установка позволяла фотографировать, а следовательно, количественно определять распределение экстинкции (величины яркости B на выходе CCD-камеры) исследуемой жидкости по глубине кюветы X . В свою очередь, это позволяло определить оптимальное положение зондирующего луча лазера, при котором разрешающая способность $K = P_+ / P_-$ максимальна. Типичные фото лазерной засветки CCD-камеры для положительной и отрицательной реакции агглютинации представлены на *рис. 2*. Полоса засветки определялась геометрией щели, выделенные прямоугольниками указывают зоны, избранные для цифровой статистической обработки видеоизображений. Седиментация эритроцитов и их иммунных комплексов происходила в вертикальном направлении вдоль освещенных зон (*рис. 2а, б*).

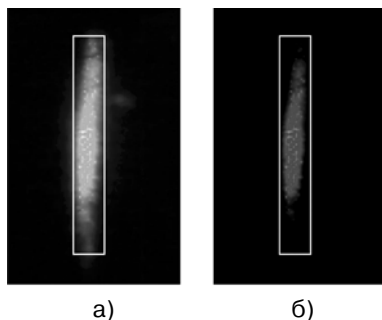


Рис. 2. Типичные фотографии засветки кюветы с исследуемым раствором для положительной (а) и отрицательной (б) реакций агглютинации эритроцитов. Прямоугольником выделены зоны статистической обработки экспериментальных результатов

Эксперименты с кровью предварялись проверкой линейности световой характеристики фотокамеры

– зависимости яркости CCD-камеры B от мощности падающего на нее светового потока P , определяемого с помощью калиброванного фотоприемника «Newport Power Meter 1815-с». С этой целью на пути светового пучка поочередно устанавливали стандартные нейтральные светофильтры НС с различными коэффициентами пропускания и измеряли соответствующие уровни мощности P . Эти же световые потоки регистрировались с помощью испытываемой камеры с последующей оцифровкой результата B . Световая характеристика фотокамеры $B(P)$ изображена на *рис. 3*: точки – эксперимент, кривая – аппроксимация полиномом третьей степени

$$B(P) = 4 \cdot 10^{-6} P^3 - 4,2 \cdot 10^{-3} P^2 + 1,5 P. \quad (1)$$

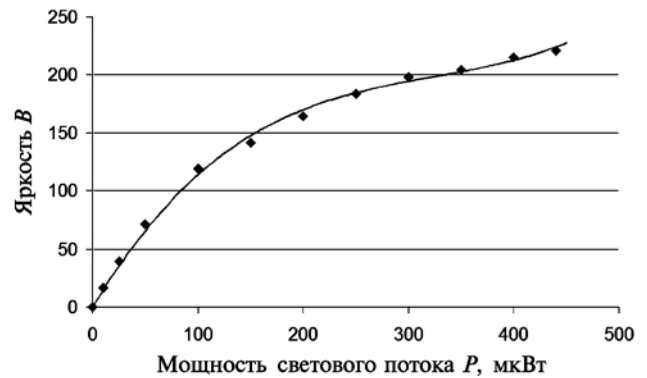


Рис. 3. Световая характеристика CCD-камеры – зависимость яркости B от мощности светового потока P , падающего на фотокамеру: точки – эксперимент, сплошная линия – аппроксимация

Найденная функция $B(P)$ преобразовывалась в зависимость $P(B)$, которая в дальнейшем служила калибровочной кривой (*рис. 4*):

$$P(B) = 5 \cdot 10^{-5} B^3 - 7,6 \cdot 10^{-3} B^2 + B. \quad (2)$$

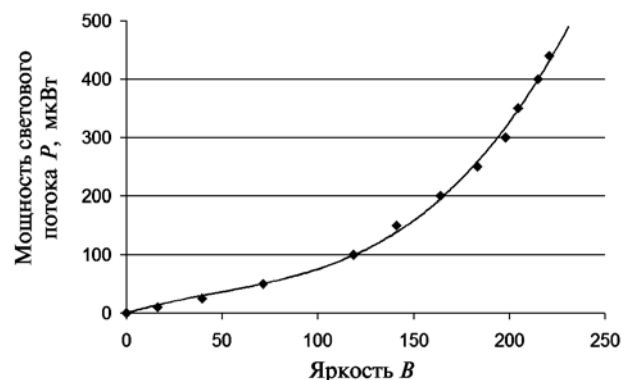


Рис. 4. Калибровочная кривая CCD-камеры – соответствие мощности светового потока P , падающего на фотокамеру, яркости B на выходе CCD-камеры: точки – эксперимент, сплошная линия – аппроксимация

Результаты дальнейших измерений обрабатывались математически с учетом этой зависимости. Такой подход расширяет динамический диапазон регистрируемых световых потоков. Действительно, проведение экспериментов с использованием всей световой характеристики $B(P)$ ведет к искажению

результатов, а работа лишь на линейном ее участке значительно ограничивает динамический диапазон измерений. Представляется важным отметить, что в экспериментах с биологическими объектами, динамически изменяющимися во времени, когда их коэффициент пропускания изменяется в широких пределах, часто оказывается невозможным заранее предусмотреть, чтобы световые потоки, зондирующие биообъект, были в пределах линейности световой характеристики CCD-камеры.

Результаты и их обсуждение

Разрешающая способность рассматриваемого метода регистрации реакции агглютинации существенно зависит от выбора области зондирования исследуемой жидкости лазерным лучом. На *рис. 5* представлена зависимость мощности светового потока P , прошедшего сквозь смесь «кровь-сыворотка» и падающего на CCD-камеру, от координаты слоя жидкости на разных ее глубинах X для положительной P_1 и отрицательной P_2 реакций при степени разведения смеси физраствором 0,04. Отметим, что здесь и далее величины мощности P определены на основе регистрируемых величин яркостей B с использованием калибровочной кривой [*рис. 4*, формула (2)].

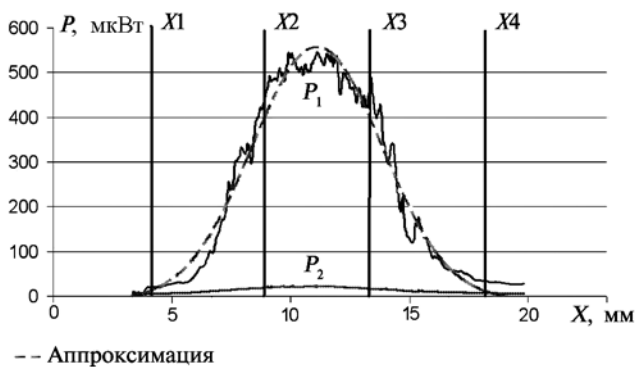


Рис. 5. Зависимость мощности светового потока P , прошедшего сквозь раствор смеси «кровь-сыворотка» и падающего на фотокамеру, от координаты слоя жидкости на разных ее глубинах X для положительной и отрицательной реакций (степень разведения смеси физраствором 0,04)

Экспериментальная кривая P_1 на *рис. 5* хорошо аппроксимируется кривой для нормального распределения. Координаты $X_1 \approx 4$ мм и $X_4 \approx 18$ мм соответствуют горизонтальным координатам вертикально расположенных прямоугольников (*рис. 2а, б*). Из *рис. 5* видно, что наибольшее отличие величин мощностей P_1 и P_2 лежит на глубине исследуемой жидкости в пределах от $X_2 \approx 9$ мм до $X_3 \approx 13$ мм. Легко видеть, что P_1 для положительной реакции превышает тот же параметр P_2 для отрицательной реакции более чем в 20 раз. Эта величина $K = P_1 / P_2$ и есть разрешающая способность метода в данной его реализации, она показывает, насколько эти две реакции отличимы друг от друга. Из этого же *рис. 5* видно, что для получения максимального разрешения область оптического зондирования кюветы

должна быть примерно на глубине 9 мм относительно мениска исследуемой жидкости (координата мениска X_0 на *рис. 5* не указана, отметим лишь $X_0 < X_1 = 2$ мм).

Другим способом повышения разрешающей способности рассматриваемого метода является обработка вопросов пробоподготовки. Хорошо известно, что при «ручном» определении группы крови общепринятое соотношение «кровь/сыворотка» составляет 1:10. Однако для инструментального типирования крови данное соотношение нуждается в проверке. С этой целью получена зависимость величины разрешающей способности K от соотношения «кровь/сыворотка» при степени разведения смеси 1:50, времени ее «озвучивания» 60 с, а время инкубации биообъекта $t_{инк}$ варьировалось как параметр: 0, 30, 90, 120 с.

Из *рис. 6* видно, что оптимальным соотношением «кровь/сыворотка» является величина порядка 1:5...1:10; в то же время следует отметить, что выбор этого соотношения дает существенный выигрыш в величине разрешающей способности регистрации реакции агглютинации. В дальнейших экспериментах выдерживалось соотношение «кровь/сыворотка» 1:10. Отметим, что кривые на *рис. 6* подобны известным в иммунологии «зонным эквивалентности» при взаимодействии антиген-антитело [23], [24].

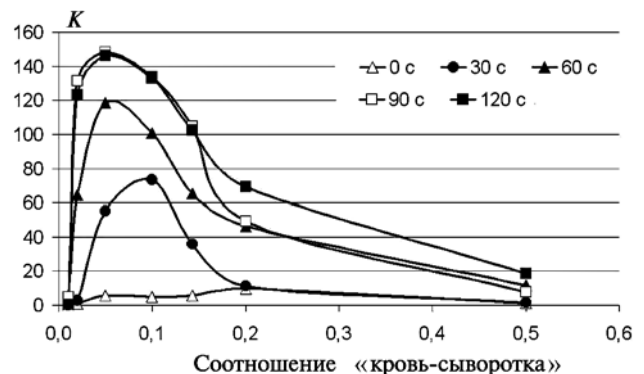


Рис. 6. Зависимость величины разрешающей способности K от соотношения «кровь/сыворотка»; время инкубации биообъекта $t_{инк}$ варьировалось как параметр в пределах от 0 до 120 с

Представляет интерес анализ влияния времени ультразвукового действия $t_{уз}$ на раствор смеси «кровь-сыворотка» на величину разрешения K . Результаты представлены на *рис. 7*. Из *рисунка* видно, что оптимальным является время «озвучивания» 60 с. Дальнейшее увеличение времени УЗ-действия на образцы снижает разрешающую способность K , Это обусловлено тем, что при отрицательной реакции большее время «озвучивания» раствора приводит к формированию более крупных «неспецифических» эритроцитарных агрегатов, следовательно, к увеличению скорости их седиментации и, как результат, просветлению жидкости (увеличению мощности P_2), т. е. снижению K .

На *рис. 8* представлена зависимость величины разрешения K от времени инкубации раствора сме-

си «кровь-сыворотка» $t_{инк}$ при варьировании степени разведения смеси физраствором от 1:100 до 8:100.

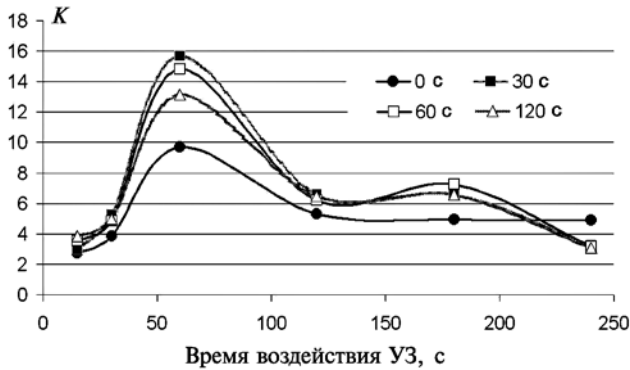


Рис. 7. Влияние времени ультразвукового действия на раствор смеси «кровь-сыворотка» $t_{уз}$ на величину разрешения K ; время инкубации биообъекта $t_{инк}$ варьировалось как параметр в пределах от 0 до 120 с

Отметим, что время инкубации – это время от момента выключения ультразвука (начало процесса седиментации эритроцитов и комплексов) до момента фотографирования биообъекта. Пределы варьирования степенью разведения и временем инкубации продиктованы ранее выполненными работами [17]-[20]. Из рис. 8 видно, что разрешающая способность возрастает до 40...60, а затем весьма слабо зависит от времени инкубации исследуемого раствора. Такое поведение графиков объясняется тем, что увеличение времени инкубации для положительной реакции приводит к большему просветлению раствора смеси, т. е. возрастанию величины P_1 , в то время как величина P_2 практически не меняется – «свободные» эритроциты оседают медленно. В результате значение K увеличивается. Однако к 60-й с основная масса крупных иммунных эритроцитарных комплексов уже осела, поэтому с этого момента величина P_1 стабилизируется, а разрешение K практически перестает меняться.

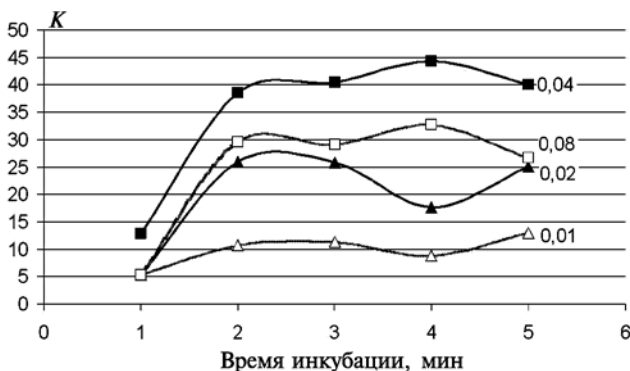


Рис. 8. Зависимость величины разрешения K от времени инкубации раствора смеси «кровь-сыворотка» $t_{инк}$ при варьировании степени разведения смеси физраствором от 1:100 до 8:100

Рис. 9, основанный на результатах рис. 8, демонстрирует оптимальное значение степени разведения смеси «кровь-сыворотка» для разных времен инкубации биообъекта. Из рис. 9 видно, что величина

разрешения K существенно зависит от особенностей пробоподготовки. Для условий эксперимента оптимальным уровнем разведения оказалось 1:25, что близко к результатам [17]-[20], но полученным аналоговым, а не цифровым методом.

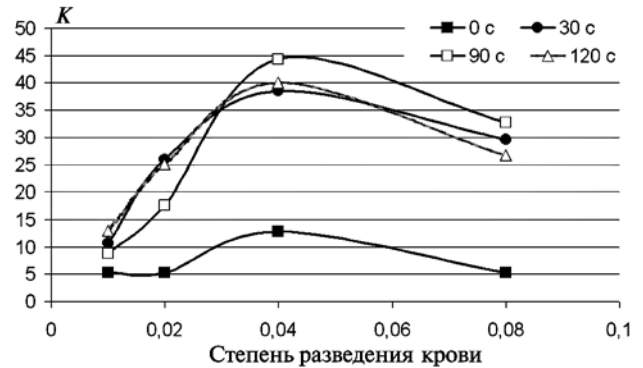


Рис. 9. Зависимость величины разрешения K от степени разведения смеси «кровь-сыворотка» физраствором; время инкубации биообъекта $t_{инк}$ варьировалось как параметр в пределах от 0 до 120 с

Таким образом, экспериментально показано, что оптимальными условиями, при которых разрешающая способность определения группы крови рассмотренным акусто-оптическим методом в данной его реализации $K = P_+ / P_-$, являются условия, представленные в табл. 2.

Таблица 2

№ п/п	Условие эксперимента	Рекомендуемая величина
1	Соотношение «кровь/сыворотка»	1:5...1:10
2	Время действия УЗ на раствор смеси «кровь/сыворотка», с	60
3	Степень разведения смеси «кровь/сыворотка»	1:25
4	Время инкубации облученной смеси «кровь/сыворотка», с	90

Типичные значения разрешения K в экспериментах по определению групп образцов донорской крови для условий табл. 2 представлены в табл. 3.

Таблица 3

Группа крови	Тип сыворотки		
	$O_{сф}(I)$	$A_{\beta}(II)$	$B_{\alpha}(III)$
$O(I)$	0,3	0,5	0,5
$A(II)$	56	3,5	76
$B(III)$	82	67	2,0
$AB(IV)$	152	86	85

В табл. 3:

- 1) не приведены экспериментальные результаты с сывороткой четвертой группы крови АВ – известно, что этот тип сыворотки не приводит к агглютинации эритроцитов любой группы крови, это находило подтверждение в проведенных нами экспериментах;

- 2) жирным шрифтом выделены значения разрешения K для тех комбинаций «кровь-сыворотка», при которых агглютинация эритроцитов должна происходить; курсив – агглютинация объективно отсутствует.

Из табл. 3 видно, что для сочетаний «кровь-сыворотка», когда процесс агглютинации должен иметь место, величины разрешающей способности K значительны: для разных групп крови и доноров они колеблются от 56 до 152. В то же время при объективном отсутствии агглютинации значения K существенно ниже – от 0,3 до 3,5.

Заключение

Экспериментально показано:

- метод цифровой фотографии применим для регистрации процесса агглютинации эритроцитов, усиленного ультразвуком; этот метод способен достичь значительных уровней разрешающей способности типирования крови;
- подбор расположения зондируемой области тестируемого образца, техники пробоподготовки, а также времени ультразвукового воздействия на исследуемый объект позволяет существенно повысить разрешающую способность акусто-оптического метода регистрации реакции агглютинации.

Результаты исследования могут быть использованы при разработке прибора для определения группы крови на основе акусто-оптического метода с использованием цифровой фотографии.

Список литературы:

1. *Vyas et al.* Simultaneous human AB0 and RH(D) blood typing an antibody screening by flow cytometry / United States Patent № 5,776,711. July 7, 1998.
2. *Sturgeon P.* Automation: Its introduction to the field of blood group serology // *Immunohematology*. 2001. Vol. 17. № 4.
3. *Blood Policy and Technology* / Washington, DC: U.S. Congress of Technology Assessment, OTA-H-260. January 1985.
4. *Tatsumi N., Tsuda I., Inoue K.* Trial AB0 and Rh blood typing with an automated blood cell counter // *Clin. Lab. Haematol.* 1989. Vol. 11 (2). PP. 123-130.
5. *Murai J., Naka K., Shimojo N., Katakami T., Nakagishi M., Kuroki T., Okuda K.* Quantitative analysis of Lewis antigens on erythrocytes by flow cytometry // *Clin. Chim. Acta*. 1994. Apr. Vol. 226 (1). PP. 21-28.
6. *Muranyi et al.* Blood typing apparatus / United States Patent № 4533638, US Patent Issued on August 6. 1985.
7. *Tatsumi N., Tsuda I., Inoue K.* Trial AB0 and Rh blood typing with an automated blood cell counter // *Clin. Lab. Haematol.* 1989. Vol. 11 (2). PP. 123-130.
8. *Дубровский В.А., Дворецкий К.Н., Щербакова И.В., Балаев А.Э., Киричук В.Ф.* Лазерное пространственное сканирование в проточной цитометрии // *Цитология*. 1999. Т. 41. № 1. С. 104-108.
9. *Дубровский В.А., Дворецкий К.Н., Щербакова И.В., Балаев А.Э.* Пространственное сканирование лазерного излучения в проточных счетчиках-анализаторах частиц // *Приборы и техника эксперимента*. 1999. Т. 42. № 2. С. 111-115.

10. *Doubrovski V.A., Osin A.B., Milovanov S.E.* Laser space scanning in flow cytometry / *Proc. SPIE «Basic applications of lasers, Qualification and localization using diffused photon in highly scattered media»*. USA. 1993. Vol. 2082.
11. *Steven R.A.* A Simplified Visible/Near-Infrared Spectrophotometric Approach to Blood Typing for Automated Transfusion Safety / A thesis presented to North Carolina State University, Raleigh, North Carolina, USA, 2005.
12. *Lambert J.B.* A miniaturized device for blood typing using a simplified spectrophotometric approach / A thesis submitted to North Carolina State University, Raleigh, North Carolina, USA, 2006.
13. *Moncharmont P., Plantier A., Chirat V., Rigal D.* AB0 and Rh(D) blood typing on PK-700 with ready-to-use kits // *Immunohematology*. 2003. Vol. 19 (2). PP. 54-56.
14. *Mintz P.D., Anderson G., Barasso C., Sorenson E.* Application of inverness blood grouping system for semiautomated AB0 and D testing of patients' sample // *Immunohematology*. 1994. Vol. 10 (2). PP. 60-63.
15. *Goldfinger et al.* Portable blood typing apparatus and method / United States Patent № 4650662. US Patent Issued on March 17. 1987.
16. *Battrell C.F. et al.* Microfluidic apparatus and methods for performing blood typing and crossmatching / United States Patent. Patent application number: 20100112723. Publication date: 05/06/2010.
17. *Алипов А.Н., Ванинский В.З., Денисов Л.Б., Донсков С.И., Дубровский В.А., Завьялов Э.Н., Князьков Н.Н.* Способ определения реакции агглютинации / А. с. № 1683760.
18. *Doubrovski V.A., Kirichouk V.F., Scherbakova I.V.* Propagation and elastic scattering of laser radiation in biological agglutination system / *Biomedical Optics Europe 94*. France, Lille, 1994. P. 60.
19. *Дубровский В.А., Дворецкий К.Н.* Упругое светорассеяние для регистрации индуцированной ультразвуком агглютинации эритроцитов in vitro // *Опт. и спектр.* 2000. Т. 89. № 1. С. 109.
20. *Doubrovski V.A., Dvoretzki K.N.* Ultrasonic wave action upon the red blood cell agglutination in vitro // *Ultrasound in Medicine & Biology*. 2000. Vol. 26. № 4. P. 655.
21. *Дубровский В.А., Дворецкий К.Н., Балаев А.Э.* Исследование механизма усиления агрегации эритроцитов ультразвуковым полем // *Акустический журнал*. 2004. Т. 50. № 2. С. 184.
22. *Дубровский В.А., Долмашкин А.А.* Определение групповой принадлежности крови человека на основе цифровых фотографий процесса агглютинации эритроцитов // *Оптика и спектроскопия*. 2010. Т. 109. № 2. С. 1346-1350.
23. *Бойд У.* Основы иммунологии. – М.: Мир, 1969.
24. *Ройт А.* Основы иммунологии. – М.: Мир, 1991.

Алексей Александрович Долмашкин,
ассистент,

Валерий Александрович Дубровский,
канд. физ.-мат. наук, доцент, зав. кафедрой,
кафедра медицинской и биологической
физики им. В.Д. Зернова,
Саратовский государственный медицинский
университет им. В.И. Разумовского,
г. Саратов, e-mail: doubrovski43@yandex.ru