

## Определение геометрических размеров тромбоцитарных агрегатов *in vitro* методом цифровой микроскопии

### Аннотация

Экспериментально демонстрируются возможности метода цифровой микроскопии (МЦМ) для регистрации агрегации тромбоцитов крови *in vitro* на примере взаимодействия плазмы с индуктором АДФ. Показано, что МЦМ позволяет не только регистрировать тромбоцитарные агрегаты, но и определять распределение количества тромбоцитарных агрегатов по их геометрическим размерам, оценивать величину их среднего значения. Проведен анализ зависимости этих параметров тромбоцитарных образований от соотношения объемов взаимодействующих компонентов «индуктор-плазма», причем как для образцов плазмы с нормальным или повышенным содержанием тромбоцитов, так и для случаев тромбопении, а также для образцов плазмы со слабой агрегационной активностью тромбоцитов. Эксперименты показали, что метод МЦМ обладает высокой чувствительностью – он позволяет регистрировать агрегаты, состоящие всего лишь из нескольких тромбоцитов. В то же время для этого метода характерен большой динамический диапазон – он способен регистрировать как малые агрегаты, содержащие всего лишь несколько тромбоцитов, так и те, которые включают в себя сотни клеток.

Исследование агрегации тромбоцитов (PLT – platelet) является важным инструментом для оценки наследственных и приобретенных дефектов в функционировании тромбоцитов. Измерение характеристик агрегации тромбоцитов используется для диагностики ряда заболеваний, анализа антиагрегационной способности фармакологических препаратов, оценки жизнеспособности тромбоцитарной массы при переливании крови и пр. Как правило, исследования PLT-агрегации проводятся с использованием следующих индукторов: коллаген (collagen), аденозин дифосфат (АДФ; ADP – adenosine diphosphate), арахидоновая кислота (arachidonic acid), тромбин (thrombin), ристоцетин (ristocetin) [1]. Немало работ посвящено подбору оптимального соотношения объема жидкости (плазма или цельная кровь), содержащей тромбоциты, и того или иного индуктора, а также определению стабильности работы индукторов, например, в зависимости от сроков и условий их хранения [2].

Приборы для исследований процесса агрегации тромбоцитов (агрегометры) построены на ряде физических принципов и явлений, среди которых: турбидиметрия [3]-[5], импедансометрия [6], [7], нефелометрия, люминесцентный анализ [8], [9], проточная цитометрия.

На практике измеряемыми параметрами агрегации являются: оптический коэффициент экстинкции образца или его импеданс, кинетика их изменения в процессе агрегации тромбоцитов, величина скорости процесса.

В настоящее время существует множество агрегометров разного типа, например, серия приборов корпорации «Chrono-log», фирмы «Helena Laboratories», корпорации «Bio/Data», анализаторы агрегации тромбоцитов AP2110, а также отечественные приборы – анализатор агрегации тромбоцитов АТ-02 и серия приборов фирмы «Биола» [10]-[12]. Из зарубежных приборов представляются интересными [5], [13], где авторы предложили использовать принцип проточной цитометрии для регистрации агрегации тромбоцитов в цельной крови. Эти работы созвучны с [14]-[16], в которых подобные принципы используются для регистрации агглютинатов эритроцитов с целью определения группы крови исследуемого образца.

По нашему мнению, крайне важно подчеркнуть, что независимо от избранного физического принципа явления приборы для исследования агрегации тромбоцитов осуществляют регистрацию агрегатов не прямым, а косвенным образом. Именно поэтому турбидиметрия требует, например, нахождения взаимосвязи между значением измеряемого оптического коэффициента экстинкции образца и состоянием смеси «плазма-индуктор». При этом следует отметить, что несмотря на свою популярность, этот метод не позволяет определять количество агрегатов и их размеры. Он способен лишь качественно описать кинетику агрегационного процесса, определить его скорость. И прежде всего это связано с тем, что исследуемые образцы (смесь «плазма-индуктор») могут иметь одно и то же

значение оптического коэффициента экстинкции, несмотря на различие образцов в отношении количества сформированных агрегатов, распределения их по размерам, их средних геометрических размеров. Вот почему разработчики приборов повсеместно прибегают к процессу калибровки устройств перед проведением измерений. Даже в [11], [12], где впервые предложено оценивать средний размер тромбоцитарных агрегатов исследуемого образца плазмы, определяется не средний геометрический размер агрегатов непосредственно: за этот средний размер принимается некий параметр, пропорциональный отношению среднеквадратичного отклонения светопропускания образца к среднему значению коэффициента экстинкции исследуемой смеси [10]-[12].

Перечисленное требует поиска новых подходов к прямой, непосредственной регистрации тромбоцитарных агрегатов, позволяющих находить их распределение по размерам и, как результат, определять средний геометрический размер агрегатов исследуемого образца плазмы. Именно эта задача является целью рассматриваемой работы. Первая попытка авторов в этом направлении предпринята в [17], где обработка цифровых микроизображений осуществлялась «вручную». Особенность настоящей работы – визуализация цифровых изображений проб «индуктор-плазма» с последующей их компьютерной, программной обработкой.

### Техника эксперимента

Объектами исследования являлись обогащенная тромбоцитами плазма и индуктор АДФ. В каждом из экспериментов объем плазмы оставался фиксированным и составлял 50 мкл. Перед экспериментом индуктор растворяли в дистиллированной воде до концентрации 0,1 мг/мл. Раствор индуктора объемом  $V_{инд}$  добавляли в заданный объем плазмы  $V_{пл}$ , при этом соотношении объемов  $V_{инд} / V_{пл}$  в разных опытах варьировалось, например 0,2; 0,5; 1; 1,5; 2. Смесь «PRP+ADP» наносилась в виде капли на стекло и анализировалась с помощью цифрового микроскопа.

Коэффициент увеличения объектива оптического микроскопа «ЛОМО БИОМЕД» составляет  $40\times$ , а окуляра  $10\times$ , поле зрения 200 мкм. К окуляру микроскопа подключалась полихромная цифровая камера «Logitect-Quick Cam» с разрешением 2 Мпкс.

Пространственная чувствительность (масштаб) устройства определялась с помощью камеры Горяева. Под термином «пространственная чувствительность» будем понимать количество пикселей на единицу длины объекта; в наших экспериментах этот параметр составлял 4 пкс/мкм. Для каждого образца смеси «индуктор-плазма» с заданным разведением индуктора изготавливалось 30 фотоизображений в различных областях анализируемой капли, что было вызвано желанием получить базу данных, достаточную для достоверной статистической обработки экспериментальных результатов. Заметим, что оптичес-

кая система микроскопа всегда фокусировалась на «дно» капли.

Данная техника эксперимента позволяла определять распределение тромбоцитарных агрегатов по размерам в виде гистограмм, рассчитывать средний геометрический радиус PLT-агрегатов для любого соотношения объемов компонентов «индуктор-плазма».

### Принципы обработки фотоизображений, расчет площадей агрегатов

Компьютерная обработка цифровых изображений осуществлялась в среде языка программирования Python 2.7 с помощью как функций специализированных библиотек [PIL (Python Image Library) – обработка изображений, numpy (numerical python) – обработка больших массивов данных], так и базовых средств Python 2.7. Данная обработка включала в себя следующие этапы (результаты некоторых из них иллюстрируются на рис. 1):

- 1) загрузка оригинального изображения (рис. 1а);
- 2) разложение оригинального изображения на RGB-компоненты;
- 3) получение градиентного изображения;
- 4) бинаризация изображения (рис. 1б);
- 5) заполнение пустот (рис. 1в);
- 6) медианная фильтрация изображения.

Бинарное изображение (рис. 1в) является результатом компьютерного преобразования реальной фотографии (рис. 1а). Бинарное, очищенное от шумов изображение содержало области двух типов: темная область с яркостью пикселей  $B_{bin} = 0$  соответствовала фону, а светлые, с яркостью  $B_{bin} = 255$  – тром-

боцитам, тромбоцитарным агрегатам и различным артефактам (царапины на стекле, помехи, отдельные эритроциты). Для того чтобы извлечь из такой картины данные о числе агрегатов и их площади, использовалась процедура сегментации изображения методом «расщепления и слияния» [18]. В результате этой операции были определены положение каждой связанной области и их площади. Для того чтобы учесть в дальнейших расчетах только площади агрегатов, проводилась фильтрация объектов по площади. Если площадь объекта была меньше заданной  $S_0$  (соответствовавшей максимальному размеру отдельного тромбоцита), то считалось, что этот объект – тромбоцит и информация о нем не учитывалась. Если же площадь объекта была больше или равна  $S_0$ , то считалось, что этот объект – агрегат и его площадь сохранялась в файл.

Рассчитанная площадь каждого агрегата позволяла определить его эффективный диаметр  $D_{эфф}$ , при этом форма реального агрегата аппроксимировалась кругом соответствующего диаметра.

### Экспериментальные результаты. Обсуждение

Типичные зависимости количества тромбоцитарных агрегатов в исследуемой пробе плазмы от соотношения объемов взаимодействующих компонентов «индуктор-плазма»  $V_{инд} / V_{пл}$  для различных образцов плазмы с различными свойствами приведены на рис. 2. Важно заметить, что рис. 2 и последующие рисунки отражают экспериментальные результаты, полученные для образцов плазмы конкретных пациентов. Усреднение результатов по многим образцам для данного заболевания нецелесообразно ввиду большой вариабельности исследуемых проб.

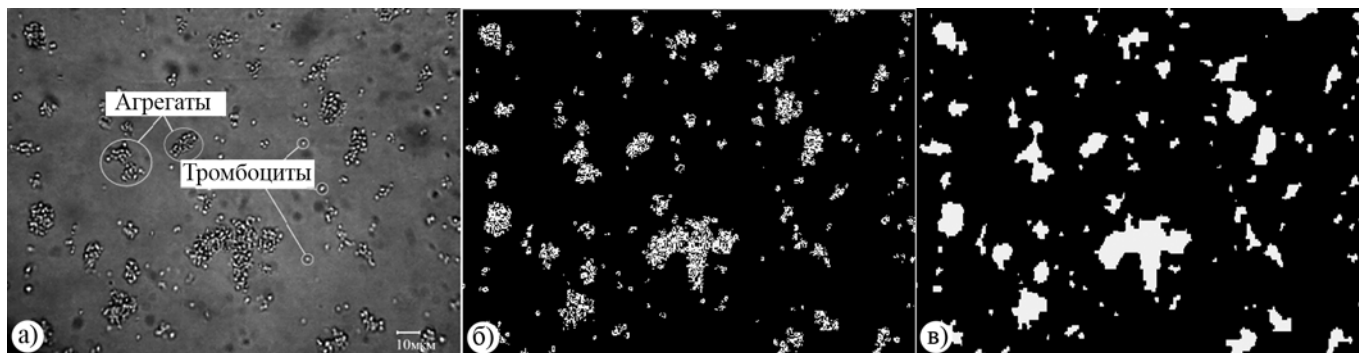


Рис. 1. Изображения тромбоцитов и их агрегатов PRP на различных этапах программной обработки: а) оригинальное изображение; б) бинарное изображение градиента яркости; в) изображение после заполнения пустот

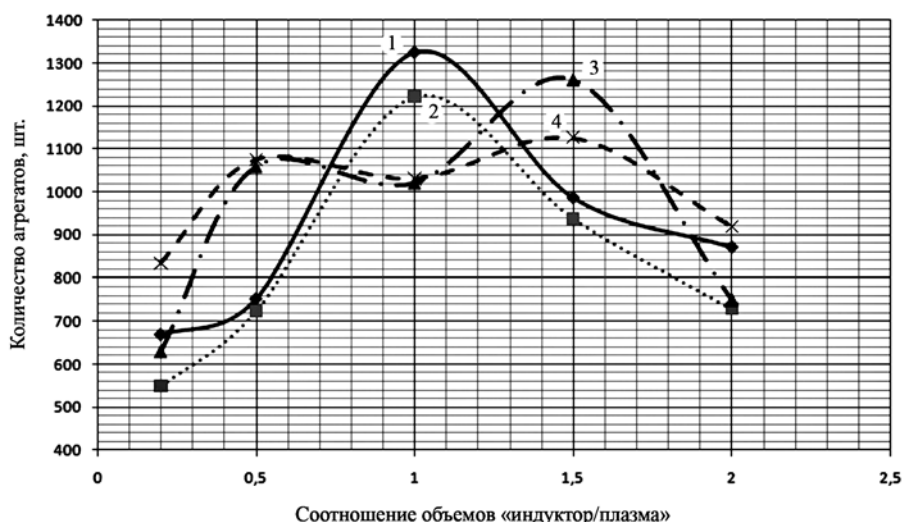


Рис. 2. Зависимость количества тромбоцитарных агрегатов от соотношения объемов «индуктор/плазма»  $V_{инд} / V_{пл}$  для различных типов образцов плазмы: 1 – нормальное содержание тромбоцитов в плазме и нормальная их агрегационная активность; 2 – тромбоцитопения; 3 – тромбоцитопатия; 4 – тромбоцитоз (точки – эксперимент, кривые – аппроксимация)

Из рис. 2 видно, что при нормальном количестве тромбоцитов в плазме (кривая 1,  $N = 240$  г/л) максимальное количество PLT-агрегатов формируется при  $V_{\text{инд}} / V_{\text{пл}} = 1$ , что соответствует рекомендациям производителя индуктора ( $N$  – количество тромбоцитов в единице объема). Примерно тот же результат получен и для образца плазмы с пониженным содержанием тромбоцитов (тромбоцитопения, кривая 2,  $N = 90$  г/л). Однако при значительно повышенной концентрации тромбоцитов (тромбоцитоз, кривая 3,  $N = 440$  г/л), как и в случае слабой агрегационной способности тромбоцитов (тромбоцитопатия, кривая 4,  $N = 290$  г/л), формы кривых значительно изменялись (рис. 2).

Возможно, это связано с индивидуальными свойствами образцов крови, видами заболеваний пациентов и средствами их медикаментозного лечения. В целом, независимо от типов образцов плазмы, вблизи точки  $V_{\text{инд}} / V_{\text{пл}} = 1$  количество регистрируемых тромбоцитарных агрегатов варьировалось от 1000 до 1300. Отсюда видно, что несмотря на сильную вариабельность свойств исследуемых образцов плазмы, количество агрегатов изменялось лишь в пределах  $\pm(6...7)$  %. Это обстоятельство стимулирует интерес к вопросу о размерах сформированных тромбоцитарных агрегатов: при близких общих количествах агрегатов для разных проб крови их размеры могут варьироваться в более широких пределах.

Гистограммы на рис. 3 иллюстрируют распределения тромбоцитарных агрегатов по размерам  $D_{\text{эфф}}$  для избранных выше типов образцов плазмы при соотношении  $V_{\text{инд}} / V_{\text{пл}} = 1$ . Очевидно, что во всех случаях в основном формируются тромбоцитарные агрегаты малых размеров с эффективным диаметром более 20 мкм.

В то же время следует отметить два полученных и довольно понятных результата:

- при слабой агрегационной активности тромбоцитов, несмотря на нормальное изначальное их содержание в образце крови, образуется малое количество агрегатов, причем с малыми размерами – в основном  $D_{\text{эфф}} \leq 12$  мкм;
- при нормальном и повышенном содержании тромбоцитов в крови образуются крупные тромбоцитарные агрегаты с эффективным диаметром вплоть до 100 мкм и более.

Сильное отличие агрегатов именно в области больших размеров в зависимости от особенностей и состояния исследуемых тромбоцитов может оказаться интересным для использования в диагностических целях.

Из рис. 4 видно, что средний эффективный диаметр  $\bar{D}_{\text{эфф}}$  тромбоцитарного агрегата слабо зависит от соотношения объемов «индуктор/плазма» при изменении  $V_{\text{инд}} / V_{\text{пл}}$  в заданных пределах. Более заметно  $D_{\text{эфф}}$  зависит от свойств исследуемой

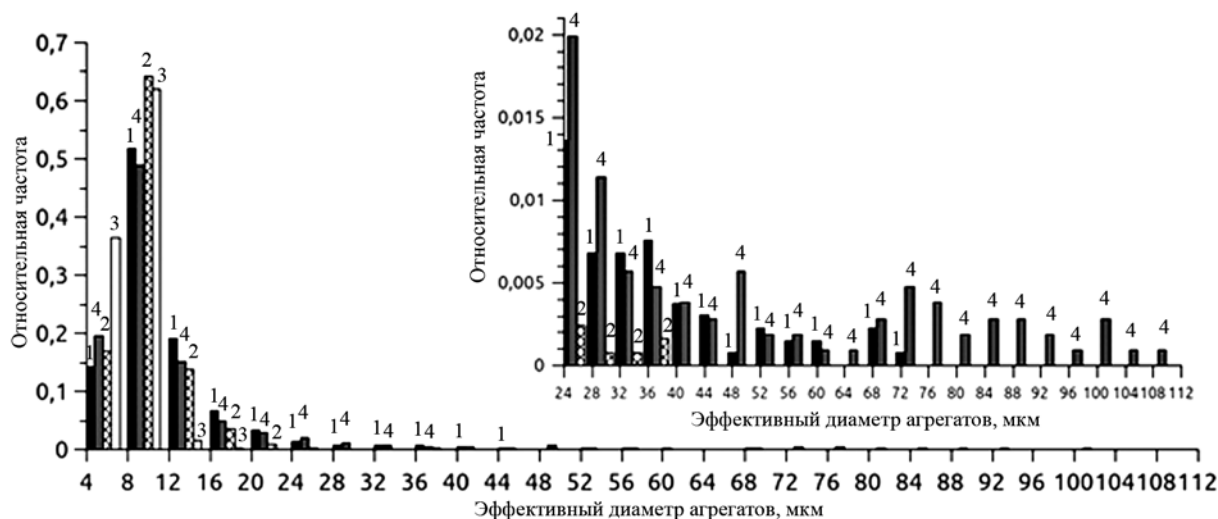


Рис. 3. Гистограммы распределения тромбоцитарных агрегатов по их размерам  $D_{\text{эфф}}$  для различных типов образцов плазмы: 1 – нормальное содержание тромбоцитов в плазме и их нормальная агрегационная активность; 2 – тромбоцитопения; 3 – тромбоцитопатия; 4 – тромбоцитоз. Врезка позволяет отследить исследуемое распределение для крупных агрегатов с размерами  $D_{\text{эфф}}$  более 20 мкм

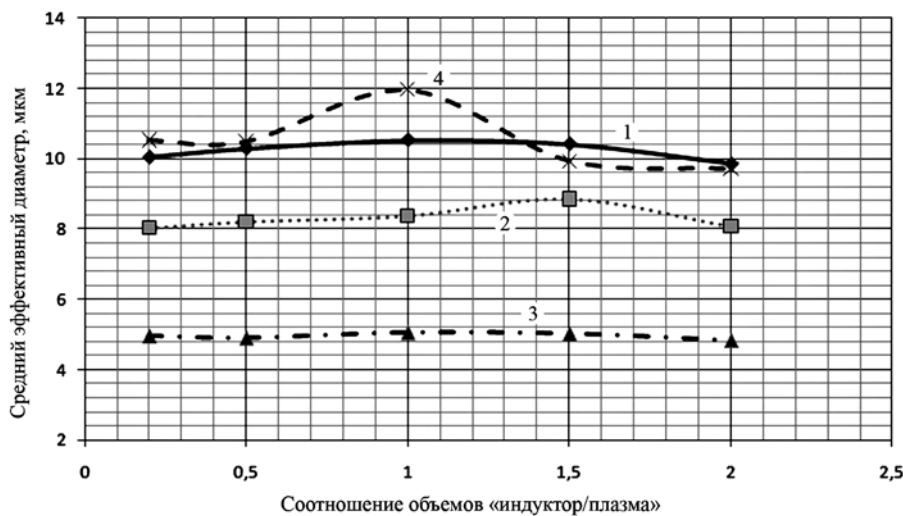


Рис. 4. Зависимость среднего эффективного диаметра тромбоцитарных агрегатов  $\bar{D}_{\text{эфф}}$  от соотношения объемов «индуктор/плазма»  $V_{\text{инд}} / V_{\text{пл}}$  для различных типов образцов плазмы: 1 – нормальное содержание тромбоцитов в плазме и их нормальная агрегационная активность; 2 – тромбоцитопения; 3 – тромбоцитопатия; 4 – тромбоцитоз (точки – эксперимент, кривые – аппроксимация)

плазмы, а именно содержания тромбоцитов и их агрегационной активности. В ряде работ, и в частности авторов прибора «Биола» [11], [12], использовались более низкие соотношения  $V_{инд} / V_{пл}$ , чем отображенные на рис. 4, поэтому нами были проведены дополнительные аналогичные эксперименты с плазмой при нормальном содержании тромбоцитов и их нормальной агрегационной активности, но с перестройкой соотношения  $V_{инд} / V_{пл}$  в более широких пределах. Результаты опытов отображены на рис. 5. Из рис. 5 видно, что:

- результаты рис. 5 в пределах  $0,5 < V_{инд} / V_{пл} < 2$  совпадают с результатами рис. 4;
- при низких соотношениях  $V_{инд} / V_{пл}$  (малом содержании индуктора), вплоть до  $V_{инд} / V_{пл} = 0,005$ , средний эффективный диаметр  $\bar{D}_{эфф}$  остается практически неизменным.



Рис. 5. Зависимость среднего эффективного диаметра тромбоцитарных агрегатов  $\bar{D}_{эфф}$  от соотношения объемов «индуктор/плазма» для случая нормального содержания тромбоцитов в плазме и их нормальной агрегационной активности:  $V_{инд} / V_{пл} > 1$  означает избыток индуктора, в противном случае – избыток плазмы

Последнее свидетельствует о том, что при исследовании агрегации тромбоцитов путем измерения их среднего эффективного диаметра  $\bar{D}_{эфф}$  можно достаточно экономно поступать в отношении индуктора, даже если по условию эксперимента объем исследуемой плазмы значителен.

В табл. 1 приведены экспериментальные результаты, отражающие возможности цифровой микроскопии в регистрации и анализе агрегации тромбоцитов для различных свойств исследуемых образцов плазмы.

В табл. 1 приняты следующие обозначения:

- $N_i / N_1$  – количество агрегатов (все или только с размером свыше 16 мкм) для образцов плазмы с различными свойствами ( $i = 1, 2, 3, 4$ ), нормированное на количество агрегатов, образованных для случая «нормы»;
  - $S_i / S_1$  – средняя площадь агрегатов (все или только с размером свыше 16 мкм) для образцов плазмы с различными свойствами ( $i = 1, 2, 3, 4$ ), нормированная на среднюю площадь агрегатов, образованных для случая «нормы».
- Из табл. 1 видно:
- величина максимального эффективного диаметра агрегатов  $D_{max}$  варьируется в больших пределах в зависимости от свойств анализируемой плазмы, чем средний эффективный диаметр агрегатов  $\bar{D}_{эфф}$ , что может использоваться в исследовательских или диагностических целях;

- количество нормированных крупных тромбоцитарных агрегатов  $N_i / N_1$  (например с размером свыше 16 мкм) в большей степени зависит от свойств исследуемой плазмы, чем тот же параметр для всех агрегатов данной пробы интегрально;
- наиболее информативным параметром, отображающим влияние свойств исследуемой плазмы на агрегацию тромбоцитов, оказался  $S_i / S_1$ , причем в большей степени для крупных тромбоцитарных агрегатов; последнее неудивительно, так как площадь агрегата пропорциональна квадрату его эффективного диаметра.

## Заключение

Экспериментально показано следующее:

- цифровая микроскопия является прямым методом исследования агрегации тромбоцитов *in vitro*, она позволила зарегистрировать тромбоцитарные агрегаты поштучно, получить гистограммы распределений агрегатов по размерам для различных экспериментальных условий, определить средний геометрический диаметр агрегатов;
- метод цифровой микроскопии позволяет не только регистрировать агрегацию тромбоцитов, но и исследовать взаимосвязь свойств тромбоцитов изучаемой плазмы с количеством и размерами формируемых агрегатов;
- наиболее информативным параметром, отображающим влияние свойств исследуемой плазмы на агрегацию тромбоцитов, является средняя площадь тромбоцитарных агрегатов.

Проведенные исследования могут стать основой для разработки агрегометров нового типа, основанных на принципах цифровой микроскопии.

## Список литературы:

- Podczasy J.J., Lee J., Vucenik I. // Clin. Appl. Thrombosis/Hemostasis. 1997. Vol. 3 (3). PP. 190-195.
- Vucenik I., Podczasy J.J. // Clin. Appl. Thrombosis/Hemostasis. 1998. Vol. 4 (4). PP. 253-256.
- Born G.V.R. Quantitative investigation into the aggregation of blood platelets // J. Physiol. (Lond.). 1962. PP. 67P-68P.
- O'Brien J.R. Platelets aggregation. Part II. Some results of a new study // J. Clin. Pathol. 1962. Vol. 15. PP. 452-455.
- Zheng Yu., Solen K.A., Mohammad S.F. The light-scattering whole blood aggregometer: A novel device for assessment of platelet aggregation in undiluted blood // Arch. Pathol. Lab. Med. 1998. Vol. 122. PP. 880-886.
- Dyszkiewicz-Korpanry A.M., Frenkel E.P., Sarode R. // Clin. Appl. Thrombosis/Hemostasis. 2005. Vol. 1 (1). PP. 25-35.
- Cardinal D.C., Flower R.J. // J. Pharmacol. Method. 1980. Vol. 3. PP. 135-158.
- Sbrana S., Della Pina F., Rizza A., Buffa M., De Flippis R., Gianetti J., Clerico A. // Cytometry B. Clin. Cytom. 2008. Vol. 74 (1). PP. 30-39.
- Serebuany V.L., McKenzie M.E., Meister A.F., Fusaylov S.Y., Gurbel P.A., Atar D., Gattis W.A., O'Connor C.M. // The European Journal of Heart Failure. 2002. № 4. PP. 461-467.
- Markosyan et al. US patent #5,071,247; 12/1991 (US Cl. 356/39; Int Cl. G01N 33/48).

Таблица 1

Свойства плазмы	Количество тромбоцитов, г/л	$\bar{D}_{эфф}$ , мкм	$D_{max}$ , мкм	$N_i / N_1$		$S_i / S_1$	
				Все	$\geq 16$ мкм	Все	$\geq 16$ мкм
Норма	240	10,53	72	1	1	1	1
Тромбоцитопения	90	8,38	36	0,9222	0,308	0,4492	0,156
Тромбоцитоз	440	11,97	108	0,796	0,873	1,6406	2,1995
Тромбоцитопатия	290	5,05	16	0,7703	0,0101	0,2218	0,0037

11. Gabbasov Z.A., Popov E.G., Gavrilov I. Yu., Posin E. Ya. Platelet aggregation: The use of optical density fluctuations to study microaggregate formation in platelet suspension // *Thromb. Res.* 1989. Vol. 54 (3). PP. 215-223.
12. Gabbasov Z.A., Gavrilov I. Yu., Popov E.G. The use of optical density fluctuations for determination of platelet concentration in stirred suspension // *Platelets.* 1992. Vol. 3. PP. 281-282.
13. Solen K.A., Sukavaneshvar S., Zheng Y., Hanrahan B., Hall M.W., Goodman P., Goodman B., Mohammad S.F. A Light-Scattering Instrument to Detect Thromboemboli in Blood // *J. Biomedical Optics.* 2003. Vol. 8. PP. 70-79.
14. 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».* 1993. Vol. 2082. P. 184.
15. 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.
16. Дубровский В.А., Ганилова Ю.А., Забенков И.В. Применение спектрально фильтрованного зондирующего светового луча и RGB разложения микрофотографий для проточной регистрации агглютинации эритроцитов, усиленной ультразвуком // *Оптика и спектроскопия.* 2012 (принята в печать).
17. Дубровский В.А., Торбин С.О., Елисеева А.А., Гарина К.И. Определение метрологических характеристик тромботических агрегатов методом цифровой микроскопии / *Проблемы оптической физики и биофотоники. SFM-2011.* Саратов. 2011. С. 8-12.
18. Rosenfeld A., Kak A.C. *Digital Picture Processing.* Vol. I and II. – San Diego: Academic Press, 1982.
- Валерий Александрович Дубровский,*  
канд. физ.-мат. наук, доцент, зав. кафедрой,  
*Игорь Владимирович Забенков,*  
канд. физ.-мат. наук, ст. преподаватель,  
*Станислав Олегович Торбин,*  
аспирант,  
*кафедра медицинской и биологической*  
*физики им. В.Д. Зернова,*  
*Вячеслав Иванович Еремин,*  
канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой эпидемиологии,  
*Ольга Евгеньевна Царева,*  
канд. мед. наук,  
*зав. гематологической лабораторией клиники гематологии,*  
*Саратовский государственный медицинский*  
*университет им. В.И. Разумовского,*  
г. Саратов,  
e-mail: [dubrovski43@yandex.ru](mailto:dubrovski43@yandex.ru)

*В.А. Дубровский, И.В. Забенков, С.О. Торбин*

## Определение группы крови человека по системе АВ0 методом цифровой микроскопии

### Аннотация

Предложено использование метода цифровой микроскопии для определения групповой принадлежности крови человека. Экспериментально показано, что сочетание метода цифровой микроскопии с усилением агглютинации эритроцитов с помощью стоячей ультразвуковой волны позволяет получить величины разрешения около/более трех порядков. Столь надежная регистрация агглютинации эритроцитов может стать хорошей базой для постановки задачи о разработке прибора для типирования крови на основе цифровой микроскопии.

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 приборы такого типа на основе проточного метода описаны в [2], [3], их дальнейшее развитие затронуто во многих статьях, например в [4]-[10]. Приборы статического типа, не требующие создания исследуемого потока раствора крови, обсуждаются, например, в [11], [12].

Напомним, что в основе определения группы крови человека лежит процесс агглютинации (склеивания) эритроцитов. Этот процесс происходит в том случае, если геагглютинирующая сыворотка (антисыворотка) иммунологически соответствует эритроцитам данной группы крови («положительная» реакция с образованием агглютинатов). В противном случае агглютинация эритроцитов не наблюдается, эритроциты остаются одиночными («отрицательная» реакция агглютинации).

Одной из наиболее важных характеристик приборов для типирования крови является их разрешающая способность. Авторы различных работ определяют этот параметр по-разному [11]-[15]. Напомним, что под разрешающей способностью можно понимать отношение оптического сигнала  $P_+$ , соответ-

ствующего «положительной» реакции агглютинации, к уровню фотосигнала  $P_-$  для «отрицательной» реакции [13]-[15]. Очевидно, что увеличение разрешающей способности  $r = P_+ / P_-$  повышает надежность определения группы крови.

Важно подчеркнуть, что независимо от избранного физического принципа приборы для типирования крови осуществляют регистрацию агглютинации эритроцитов, как правило, не прямым, косвенным образом. Например, фотометрический метод позволяет экспериментально определить взаимосвязь между значением измеряемого оптического коэффициента пропускания образца и состоянием смеси «кровь-сыворотка».

Цели рассматриваемой работы:

- изучение возможности применения цифровой микроскопии в качестве прямого метода определения групповой принадлежности крови человека;
- оценка разрешающей способности метода типирования крови, основанного на принципах цифровой микроскопии.

### 1. Объект исследования, технология пробоподготовки, техника эксперимента

Объектом исследования являлась «эритроцитарная масса» (ЭМ) донорской крови всех четырех групп по системе АВ0 в сочетании с соответствующими геагглютинирующими сыворотками. Отношение объемов «кровь/сыворотка» составляло 1:10, что соответствует норме, принятой в медицинской практике. Полученная смесь «кровь-сыворотка» разбавлялась физиологическим раствором так, что соотношение объемов крови/физиологическим раствором было равным 1:25. Исследуемая жидкость поме-