

ТЕМА 10. ГРУПИ КРОВІ

Мета: Знати системи антигенів еритроцитів. Визначити групу крові за системою АВ0 за допомогою стандартних сироваток крові та моноклональних тест-реагентів анти-А і анти-В. Виявити в досліджуваній крові наявність або відсутність Д антигену системи Резус за допомогою специфічної ізоімунної анти-Д сироватки, Цоліклона анти-Д і визначити її резус-приналежність. Вивчити умови та хід проведення проб по визначенню групової сумісності крові.

ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ

1. Система АВ0.
2. Резус-фактор (Rh).
3. Інші системи антигенів еритроцитів.
4. Основи переливання крові.

Матеріали та обладнання: термостат, секундомір, спеціальні тарілки або планшети для визначення груп крові, скляні палички, штатив, піпетки, хімічні пробірки, гумова груша, скарифікатори, вата; плазма або сироватка крові; 96% етиловий спирт, стандартні сироватки I, II, III груп крові, Цоліклони анти-А, анти-В і анти-Д, специфічна ізоімунна анти-Д сироватка, фізіологічний розчин.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА

Завдання 1. Визначення групи крові людини за системою АВ0 за допомогою стандартних сироваток.

Принцип методу. Групи крові визначають за допомогою стандартних сироваток, що містять відомі аглютиніни.

Клінічне значення. Група крові встановлюється в залежності від наявності аглютинації.

1. Якщо аглютинації немає у всіх трьох краплях сироваток, це свідчить про відсутність аглютиногенів в еритроцитах досліджуваної крові, отже, ця кров належить до 0 (I) групи.

2. Якщо аглютинація відбулася з сироватками I і III груп, то еритроцити містять аглютиноген А, кров належить до А (II) групи.

3. Якщо аглютинація відбулася з сироватками I і II груп, то еритроцити містять аглютиноген В, кров належить до В (II) групи.

4. Якщо аглютинація відбулася з сироватками I, II, III груп, то еритроцити містять як аглютиноген А так і аглютиноген В, кров належить до АВ (IV) групи.

Хід проведення. Групу крові визначити на спеціальних тарілках або планшетах, які маркуються. Під позначенням сироваток помістити по одній краплі стандартних сироваток I, II, III груп крові (приблизно по 0,1 мл); піпетки для кожної сироватки строго індивідуалізовані. Потім палець проколоти скарифікатором (допускається брати кров з мочки вуха або з вени) і маленькі краплі крові (приблизно 0,01 мл; співвідношення кількості стандартної сироватки і крові повинно бути приблизно 10:1) перенести в краплі сироватки окремими скляними паличками. Перемішати кров з сироватками до рівномірного забарвлення, потім на 1-2 хв залишити та знову періодично помішати протягом 5 хв. Реакція може бути позитивною – наявність аглютинації, або негативною – відсутність аглютинації. При позитивній реакції у краплі сироватка повністю або майже повністю знебарвлюється, на цьому тлі розрізняються грудочки зі склеєних еритроцитів. При негативній реакції крапля зберігає рівномірний червоний колір без ознак аглютинації.

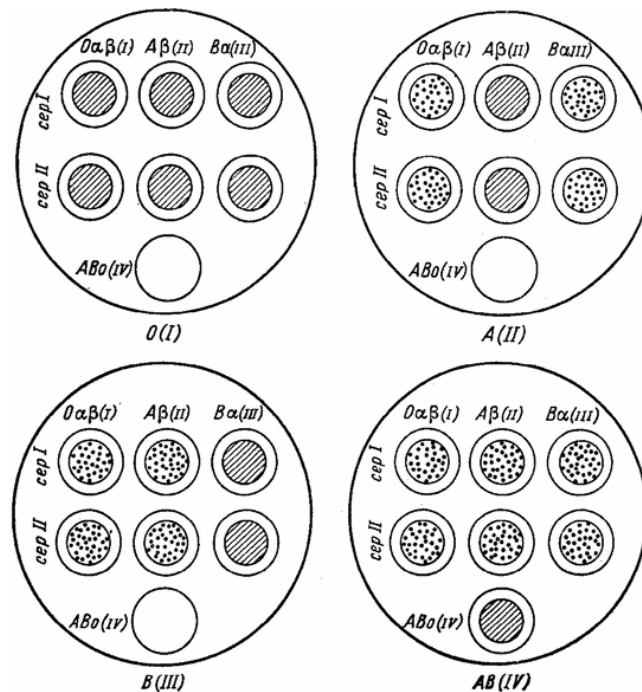


Рисунок 1. Результати визначення груп крові за системою АВ0 за допомогою стандартних сироваток.

Оформити протокол досліду. Записати результати визначення груп крові за системою АВ0 за допомогою стандартних сироваток. Зробити висновки.

Завдання 2. Визначення груп крові за системою АВ0 із застосуванням Цоліклонів анти-А і анти-В.

Принцип методу. Цоліклони анти-А і анти-В призначені для визначення групи крові людини за системою АВ0. Визначення групи крові включає виявлення антигенів А і В в еритроцитах. Цоліклони анти-А і анти-В містять

специфічні імуноглобуліни класу М, спрямовані проти групспецифічних антигенів А і В людини.

Клінічне значення. 1. Аглютинації немає (-) ні з реагентом анти-А, ні з реагентом анти-В. Значить досліджувані еритроцити не містять антигенів А і В і кров належить до групи О (I). Це підтверджується наявністю аглютининів у плазмі досліджуваної крові за результатами позитивної реакції аглютинації зі стандартними еритроцитами груп А (II) і В (III)

2. Аглютинація (+) спостерігається тільки з тест-реагентами анти-А. Отже, досліджувані еритроцити містять тільки антиген А і кров належить до групи А (II). Це підтверджується наявністю аглютининів β у досліджуваній (сироватці) плазмі за результатами позитивної реакції аглютинації зі стандартними еритроцитами групи В (III).

3. Аглютинація (+) спостерігається тільки з тест-реагентами анти-В. Отже, досліджувані еритроцити містять тільки антиген В і кров належить до групи В (III). Це підтверджується наявністю аглютининів α в досліджуваній плазмі за результатами позитивної реакції аглютинації зі стандартними еритроцитами групи А (II).

4. Аглютинація (+) спостерігається, як з тест-реагентом анти-А, так і з тест-реагентом анти-В. Отже, досліджувані еритроцити містять обидва антигени (А і В) і кров належить до групи АВ (IV). Це підтверджується відсутністю аглютининів α і β у досліджуваній плазмі за результатами реакції аглютинації зі стандартними еритроцитами груп А (II) і В (III).

У разі позитивної реакції аглютинації еритроцитів з обома тест-реагентами анти-А і анти-В необхідно провести додаткове контрольне дослідження даного зразка крові з фізіологічним розчином хлориду натрію. Для цього потрібно змішати одну краплю ізотонічного розчину з маленькою краплею досліджуваної крові в співвідношенні 10:1. Повторюють дослідження наявності антигенів А і В у цій контрольній краплі. При відсутності аглютинації і в цьому випадку можна бути впевненим, що кров належить до групи АВ (IV).

Тест-реагенти анти-А забарвлені в рожевий колір, а анти-В – у блакитний.

Хід проведення. На білу порцелянову тарілку нанести по одній краплі тест-реагентів анти-А і анти-В під відповідними написами. Поруч з краплями антитіл нанести по одній маленькій краплі досліджуваної крові в співвідношенні 10:1. Змішують кров з реагентами. Спостереження за ходом реакції провести при легкому погойдуванні тарілки протягом 2,5 хв.

Результат реакції у кожній краплі може бути позитивним або негативним. Позитивний результат виражається в аглютинації (склеюванні) еритроцитів. Аглютинати видно неозброєним оком у вигляді дрібних червоних агрегатів, які швидко зливаються і утворюють великі пластівці аж до одного великого аглютинату. При негативній реакції крапля залишається рівномірно забарвленою в червоний колір, аглютинати в ній не виявляються. Аглютинація з тест-реагентами анти-А і анти-В зазвичай настає в перші 3-5 с. Спостереження

слід вести 2,5 хв через можливість більш пізнього настання аглютинації з еритроцитами, що містять слабкі різновиди антигенів А і В.

Оцінка результатів аглютинації з тест-реагентами анти-А і анти-В (Цоліклони) наведені на рисунку 2 і в таблиці, в якій також містяться результати визначення аглютининів у сироватці (плазмі) донорів за допомогою стандартних еритроцитів.

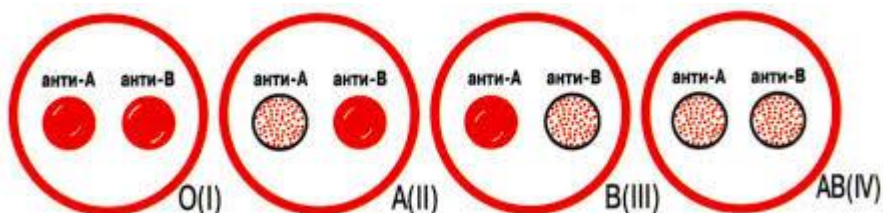


Рисунок 2. Результати визначення груп крові за системою АВ0 за допомогою Цоліклонів анти-А і анти-В.

Таблиця – Визначення груп крові людини

	Реакція досліджуваних еритроцитів з Цоліклоном		Реакція досліджуваної сироватки (плазми) зі стандартними еритроцитами групи		Досліджувана кров належить до групи
	Анти-А	Анти-В	А(II)	В(III)	
1	–	–	+	+	0(I)
2	+	–	–	+	А(II)
3	–	+	+	–	В(III)
4	+	+	–	–	АВ(IV)

Оформити протокол дослідження. Записати результати визначення груп крові за системою АВ0 із застосуванням Цоліклонів анти-А й анти-В. Зробити висновки.

Завдання 3. Визначення груп крові за системою Резус за допомогою специфічної ізоімунної анти-D сироватки.

Принцип методу. Визначення наявності аглютиногена Rh-фактора в крові необхідно як і визначення групи крові за системою АВ0. Найбільш зручним способом визначення Rh-фактора є методика з використанням специфічної ізоімунної анти-D сироватки.

Клінічне значення. За наявності аглютинації (позитивний результат) досліджувану кров вважають резус-позитивною; у разі відсутності аглютинації (негативний результат) досліджувану кров вважають резус-негативною.

Хід проведення. На білу тарілку або планшету нанести по краплині антирезусної і контрольної сироваток. Проколоти палець скарифікатором, в обидві краплі внести кров обстежуваного. Через 5 хв фіксувати результат.

Оформити протокол досліду. Записати результати визначення Rh-фактора з використанням специфічної ізоімунної анти-D сироватки. Зробити висновки.

Завдання 4. Визначення груп крові за системою Резус із застосуванням Цоліклона анти-D.

Принцип методу. Моноклональні антитіла Анти-D СУПЕР призначені для виявлення D-антигену системи Резус в еритроцитах людини. Вони застосовуються замість або паралельно з ізоімунною анти-D сироваткою.

Клінічне значення. Висновок про присутність D-резус антигену в досліджуваних еритроцитах роблять при наявності реакції аглютинації. Така кров є резус-позитивною.

Відсутність аглютинації еритроцитів у краплі говорить про те, що в досліджуваній крові немає антигену D. Отже, така кров є резус-негативною.

Для контролю специфічності тест-реагенту в кожен серію досліджень необхідно включати досліди зі стандартними D-позитивними і D-негативними еритроцитами.

Хід проведення. Визначення Rh D-антигену провести в нативній крові, взятій з пальця. На пластину з поверхнею, що змочується, нанести велику краплю тест-реагенту Анти-D СУПЕР. Поруч помістити маленьку краплю досліджуваної крові (у співвідношенні 10:1). Змішати кров з реагентом. Реакція аглютинації починає розвиватися через 10 с, чітко виражена аглютинація настає через 30-60 с. Результати реакції слід враховувати через 3 хв. Пластину після змішування реагенту з кров'ю рекомендується похитувати не відразу, а через 20-30 с, що дозволяє за цей час розвинути більш повній крупнопелюстковій реакції аглютинації.

Оформити протокол досліду. Записати результати визначення Rh-фактора з використанням Цоліклона анти-D. Зробити висновки.

Завдання 5. Вивчення умов та ходу проведення проб по визначенню групової сумісності крові.

У даний час переливання крові з урахуванням групової приналежності здійснюється тільки за принципом однойменної групи. В екстрених ситуаціях можливе застосування правила Оттенберга, яке засноване на підборі крові таким чином, щоб не допускати суміщення однойменних аглютиногенів донора і аглютинінів реципієнта (рис. 3). У цих випадках порція крові, що вводиться, обмежується кількістю 200 мл.

		Донор			
Група крові		А	В	АВ	0
Реципієнт	А	так	ні	ні	так
	В	ні	так	ні	так
	АВ	так	так	так	так
	0	ні	ні	ні	так

		Донор	
Фактор Rh		Rh ⁺	Rh ⁻
Реципієнт	Rh ⁺	так	так
	Rh ⁻	ні	ні

Рисунок 3. Схематичне зазначення допустимого переливання крові.

Принцип методу. Проби, які дозволяють зробити висновок про сумісність переливаної крові по груповій системі АВ0 і системі резус-фактора, обов'язкові і не замінюють одна одну.

Клінічне значення. Переливання несумісної крові викликає гемотрансфузійний шок, який характеризується важкими клінічними проявами, небезпечними для життя. Одним з механізмів розвитку даного стану є те, що в результаті склеювання еритроцитів при здійсненні реакції антиген-антитіло, звільняються фактори згортання крові і блокуються мікроциркуляторні судини всіх органів і тканин утвореними фібриновими і тромбоцитарними тромбами. Розвивається гостра серцево-судинна недостатність, порушення дихання, гостре порушення функції нирок і печінки.

Запобігти несумісності при переливанні крові, можна шляхом врахування анамнезу та проведення чутливих проб на сумісність.

Пряма проба. Еритроцити донора змішати зі свіжої сироваткою реципієнта при 37⁰С. Мета її – визначення в сироватці реципієнта антитіл до еритроцитів донора.

Зворотна проба. Еритроцити реципієнта помістити в сироватку донора при 37⁰С. Мета проби – виявлення в крові донора антитіл до еритроцитів реципієнта.

Біологічна проба. Її проводять перед переливанням наступним чином: потрібно струменево перелити 10-15мл крові (еритроцитарної маси, плазми), потім протягом 3 хв спостерігати за станом людини. При відсутності явищ несумісності пробу продовжити. Процедуру слід повторити тричі. Відсутність реакції несумісності після проби дозволяє проводити переливання.

Оформити протокол дослідження. Записати результати проведення проб на сумісність крові по груповій системі АВ0 і системі резус-фактора. Зробити висновки.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Як проводять визначення груп крові по системі АВ0?
2. Як визначають резус-фактор?
3. Які причини помилок при визначенні груп крові?
4. Назвіть особливості несумісності груп крові та їх успадкування.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Абдулкадыров К. М. Клиническая гематология: справочник. Санкт-Петербург : Питер, 2006. 448с.
2. Богданов А. Н., Волошин С. В., Кулибаба. Т. Г. Изменения в системе крови в клинической практике. Москва : Фолиант, 2017. 172 с.
3. Воробель А. В. Основы гематологии : монографія. Івано-Франківськ : Вид-во «Плай» ЦІТ Прикарпатського університету імені Василя Стефаника, 2009. 148 с.
4. Гематология : посібник / за ред. А. Ф. Романової. Київ : Медицина, 2006. 456 с.
5. Гематология. Национальное руководство / под ред. О. Я. Рукавицына. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2017. 784 с.
6. Гематологические методы исследования. Клиническое значение показателей крови / В. Н. Блиндарь, Г. Н. Зубрихина, И. И. Матвеева, Н. Е. Кушлинский. Москва : МИА, 2013. 96 с.
7. Донсков С. И., Уртаев Б. М., Дубинкин И. В. Новая тактика гемотрансфузионной терапии – от совместимости к идентичности. Москва : Бином, 2015. 270 с.
8. Донсков С. И., Мороков В. А. Группы крови человека. Руководство по иммуносерологии. Москва : Бином, 2014. 1016 с.
9. Козинец Г. И., Высоцкий В.В. Кровь как индикатор состояния здоровья. Москва : Практическая медицина, 2014. 208 с.
10. Лабораторная гематология / С. А. Луговская, В. Т. Морозова, М. Е. Почтарь, В. В. Долгов. Москва : Триада, 2014. 218 с.
11. Минеева Н.В. Группы крови человека. Основы иммуногематологии. Санкт-Петербург : А-принт, 2004. 188 с.
12. Шиффман Ф. Дж. Патофизиология крови / пер. с англ. Н. Б. Серебряной, В. И. Соловьева. Москва : Санкт-Петербург : Бином, 2016. 448 с.