

ОСНОВЫ ИММУНОГЕМАТОЛОГИИ: Группы крови АВО

Байтугаева Г.А.

канд. мед. наук, доцент кафедры
анестезиологии и реаниматологии
ДПО

Нормативные документы

1. Приказ от 25.11.2002г. №363 «Об утверждении инструкции по применению компонентов крови».
2. Приказ №2 МЗ РФ от 09.01.1998г. «Об утверждении инструкций по иммуносерологии».
3. Постановление правительства от 31.12.2010г. №1230 «Об утверждении правил и методов исследований и правил отбора образцов донорской крови, необходимых для применения и исполнения технического регламента о требованиях безопасности крови, ее продуктов, кровезамещающих растворов и технических средств, используемых в трансфузионно - инфузионной терапии».
4. Приказ МЗ РФ от 02.04. 2013 г. № 183 Н «Об утверждении правил клинического использования донорской крови и (или) её компонентов».

- **МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ И ПИСЬМА**

1. Методические рекомендации МЗ РФ N 99/181. Утв. 17.05.2000 г.
"Алгоритмы исследования антигенов эритроцитов и антиэритроцитарных антител в сложнодиагностируемых случаях".
2. Методические указания МЗ РФ N 2001/109, утв. 11.04.2002 г.
"Требования к проведению иммуногематологических исследований доноров и реципиентов на СПК и в ЛПУ".
3. Методическое пособие МЗ РФ "Определение групп крови системы АВ0 в сложнодиагностируемых случаях с использованием различных реактивов"
Санкт-Петербург, 1993г.
4. Письмо МЗ РФ №15-4/3118-09 от 10.10.2008г " О порядке проведения иммуногематологических исследований у беременных, рожениц, плодов и новорожденных".

Организационные требования.

- Для проведения исследований могут применяться только те методики и реагенты, которые разрешены к использованию МЗ России.
- Осуществлять эти исследования могут только врачи, прошедшие специальную подготовку по вопросам иммуногематологии.
- Иммуногематологические исследования проводятся лицензированными лабораториями.
- Лаборатории, осуществляющие иммуногематологические исследования, должны принимать участие в Федеральной системе внешней оценки качества (ФСВОК).

Организация основных иммуносерологических исследований в клинико-диагностической лаборатории ЛПУ.

- В структуре клинико-диагностической лаборатории ЛПУ приказом главного врача назначается врач клинико-лабораторной диагностики, **ответственный за централизованное проведение** иммуносерологических исследований крови больных и прошедший тематическую подготовку по иммуногематологии.

ОБЯЗАННОСТИ ВРАЧА, ОТВЕТСТВЕННОГО ЗА ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОГЕМАТОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВИ БОЛЬНЫХ

Врач, ответственный за централизованное проведение иммуногематологического исследования:

- определяет группу крови и резус-принадлежность больных.
- исследует наличие антител, по специальным показаниям осуществляет постановку проб на совместимость.
- проводит подготовку врачей по определению группы, резус- принадлежности крови, постановки проб на совместимость.
- осуществляет учет и анализ допущенных лечащими врачами ошибок при определении группы и резус-принадлежности крови больных.
- ведет документацию и журнал определений группы крови и резус-принадлежности.

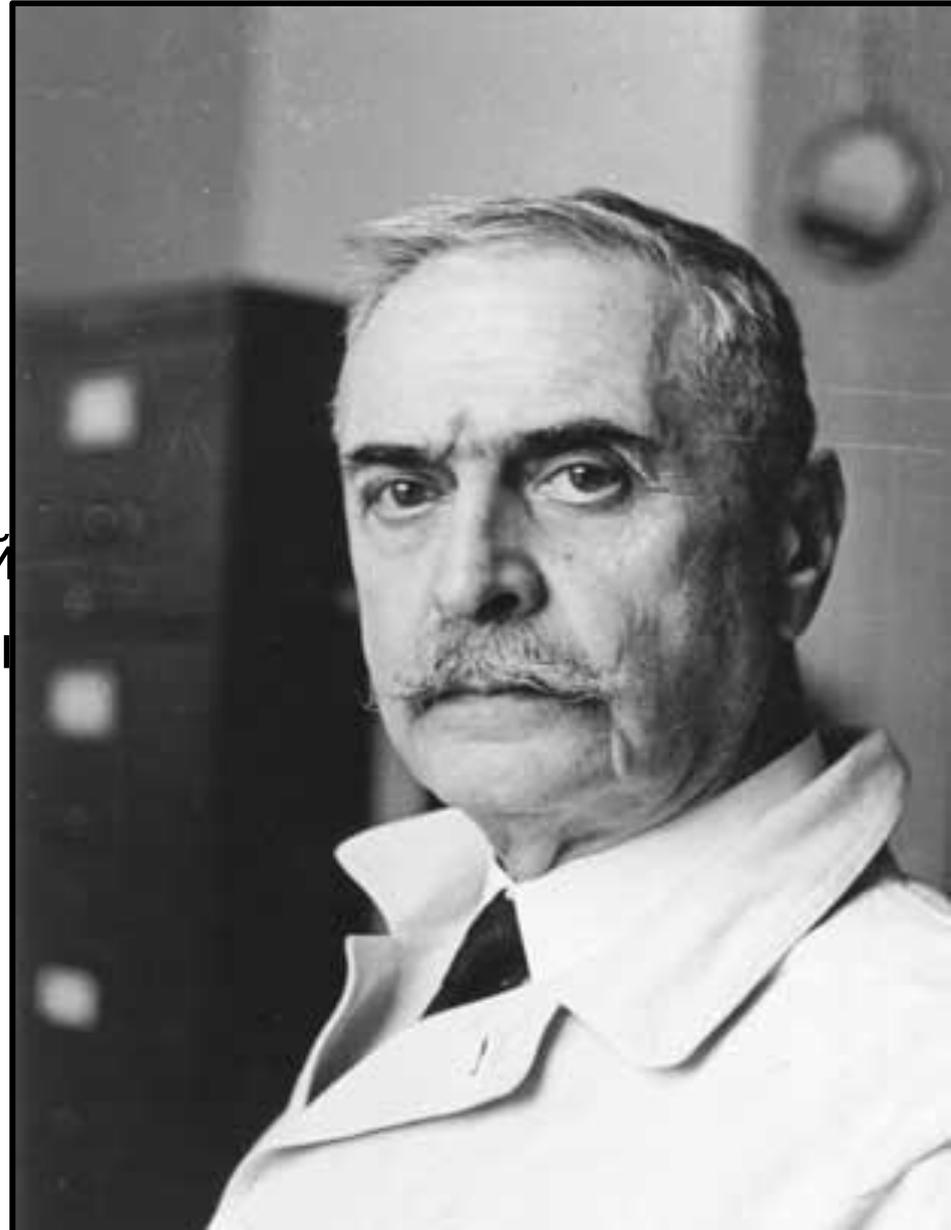
Группы крови человека – это наследственно детерминированный набор антигенов, который содержится в крови человека.

Термином группы крови обозначают иммунобиологические свойства крови, на основании которых кровь всех людей независимо от пола, возраста, расы и географической зоны можно разделить на строго определенные группы.

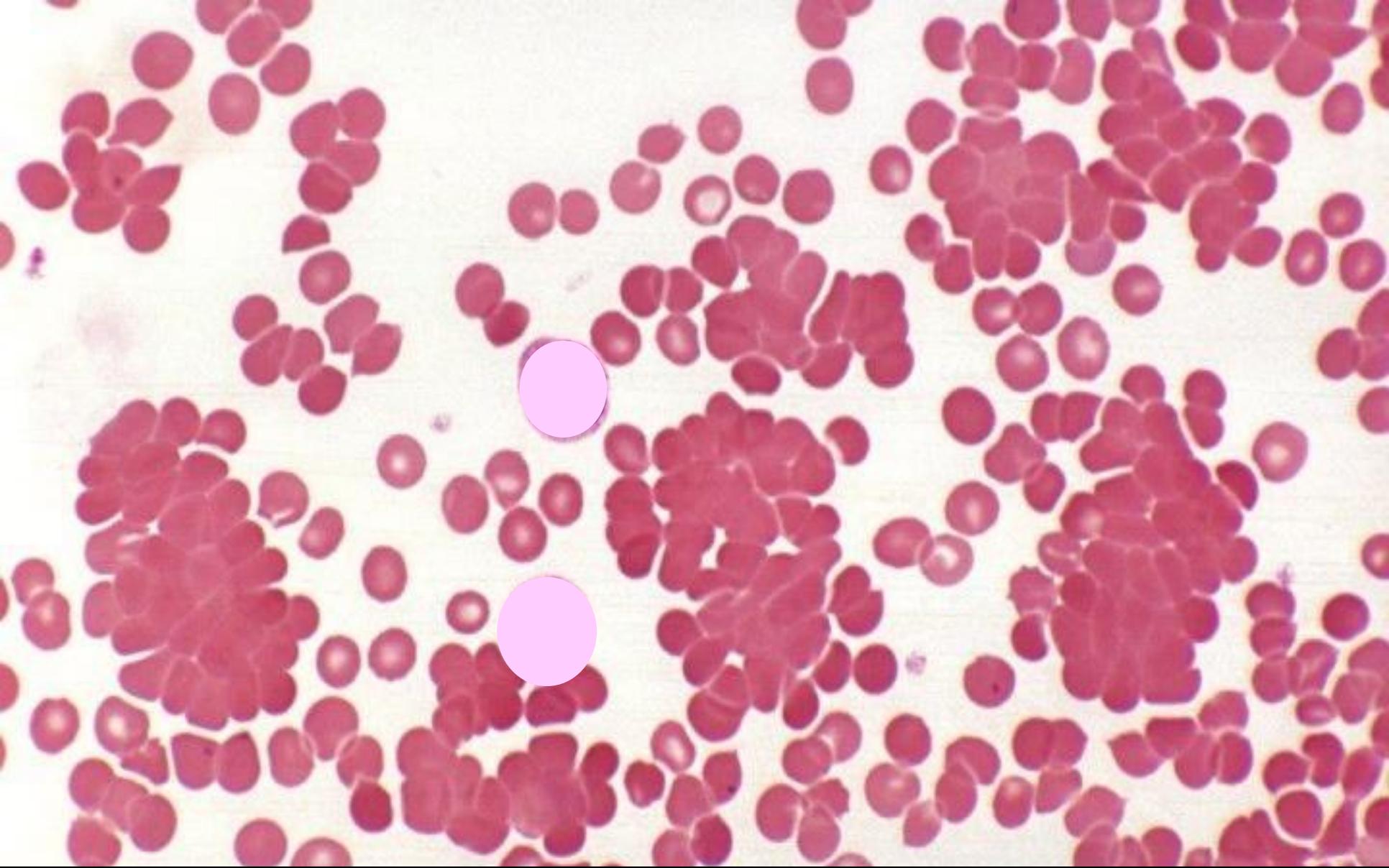
История открытия групп крови

В 1901 году К. Ландштейнер впервые опубликовал наблюдения о существовании различий среди эритроцитов человека.

Он исследовал в перекрестной пробе сыворотки и эритроциты взятые от разных людей.



- Открытие групп крови имело огромное практическое значение. Была объяснена причина возникновения посттрансфузионных осложнений и намечены пути их преодоления посредством подбора доноров, одинаковых с реципиентом по группе крови.
- С этого времени переливание крови получило научное обоснование и стало относительно быстро распространяться в медицинской практике.



Реакция гемагглютинации — один из основных методов, с помощью которого определяют эритроцитарные антигены.

- В мембране эритроцитов есть комплексы, обладающие антигенными свойствами.

Они называются **агглютиногены**.

- С ними взаимодействуют специфические антитела, растворенные в плазме – **агглютинины**.

II

III

IV

I

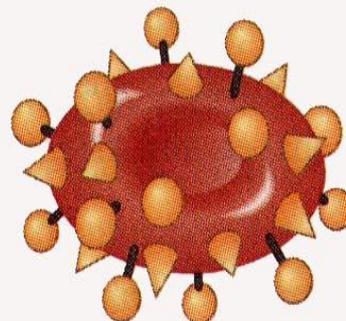
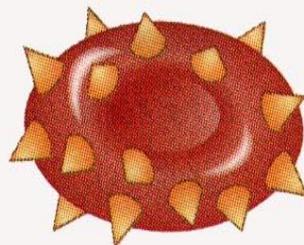
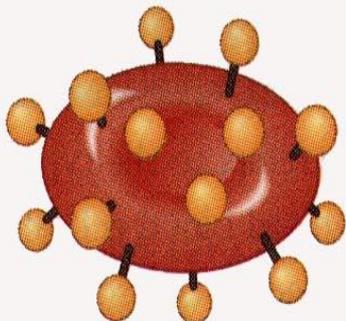
Антигени А

Антигени В

Антигени А і В

Антигени Н

Еритроцити



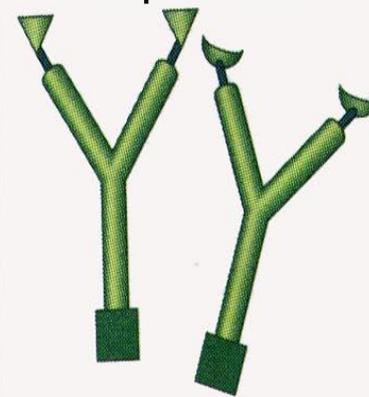
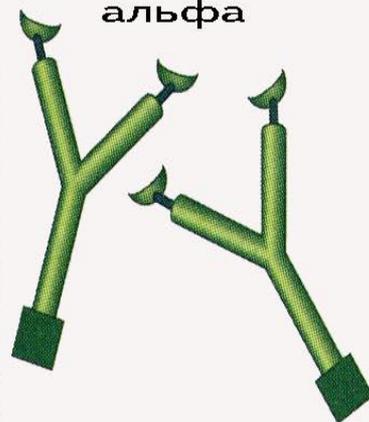
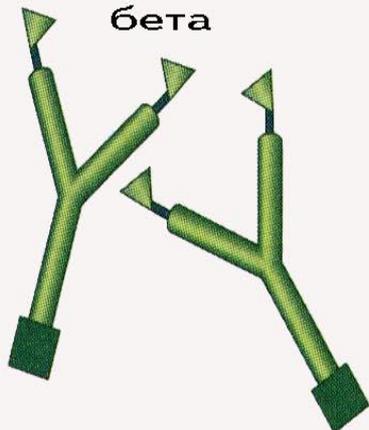
Антитіла бета

Антитіла альфа

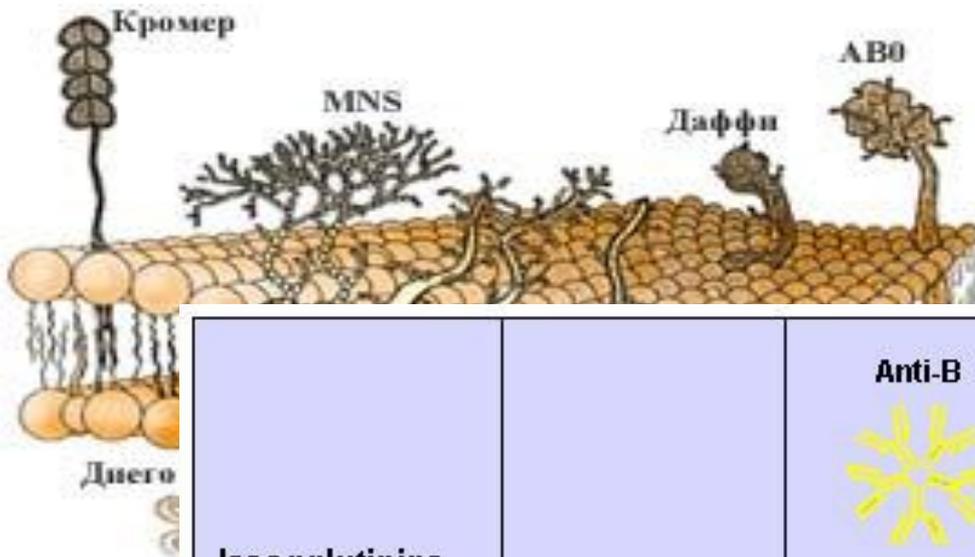
Антитіла відсутні

Антитіла альфа і бета

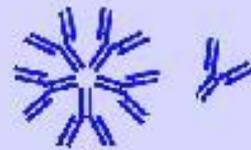
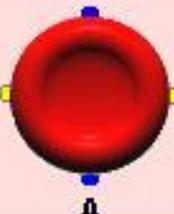
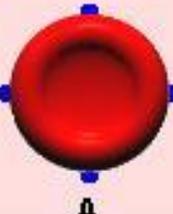
Плазма



	ГРУППА КРОВИ			
	О	А	В	АВ
Антигены на эритроцитах	нет	А	В	А+В
Антитела в сыворотке	анти - А анти - В	анти - В	анти - А	нет



СИСТЕМА АВ0

<p>Isoagglutinins</p>		<p>Anti-B</p> 	<p>Anti-A</p> 	<p>Anti-B</p>  <p>Anti-A</p> 
<p>Erythrocytes with surface antigens</p>				
<p>Blood groups</p>	<p>AB</p>	<p>A</p>	<p>B</p>	<p>0</p>

Возрастные особенности групп крови в системе

- Групповые антигены ^{ABO} появляются в раннем периоде эмбрионального развития. Максимум их на 3 году жизни.
- Нормальные групповые антитела начинают появляться в первые месяцы после рождения и достигают максимального титра к 10 годам. Титр антител держится на высоком уровне много лет, с возрастом уменьшается.

Группа крови отца

I (O)

II (A)

III (B)

IV (AB)

I (O)

I (O)

II (A)
I (O)

III (B)
I (O)

II (A)
III (B)

II (A)

II (A)
I (O)

II (A)
I (O)

любая

II (A), III (B)
IV (AB)

III (B)

III (B)
I (O)

любая

III (B)
I (O)

II (A), III (B)
IV (AB)

IV (AB)

II (A)
III (B)

II (A), III (B)
IV (AB)

II (A), III (B)
IV (AB)

II (A), III (B)
IV (AB)

Группа крови матери

Группа крови матери

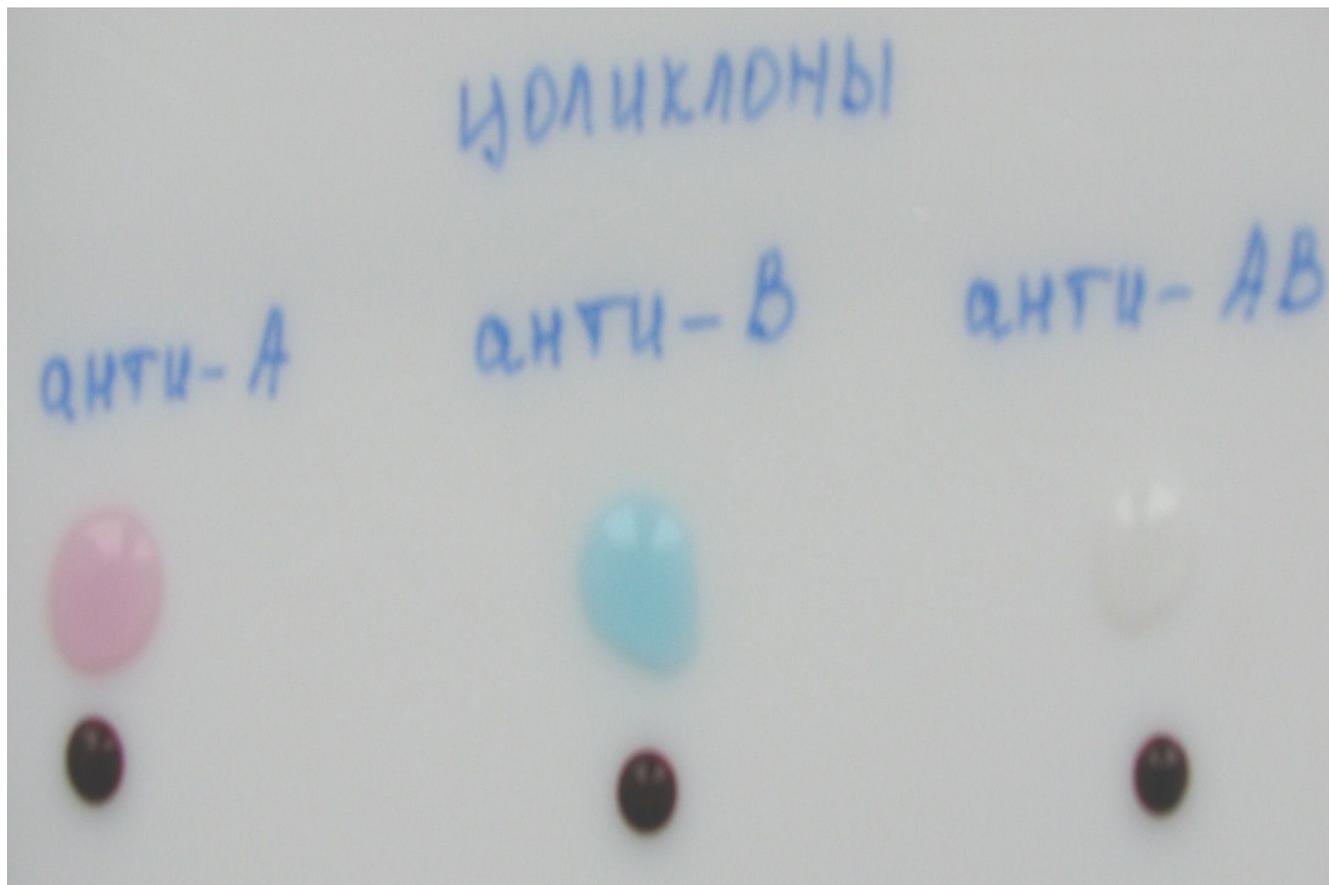
- Для правильной иммуногематологической диагностики нужно соблюдать преаналитический этап:

- Кровь для иммуногематологической диагностики заготавливается с консервантом ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная K_2 или K_3 соль).
- Пробирку перевернуть несколько (6 – 8) раз , иначе сразу же образуются сгустки и значение ЭДТА уже не имеет.
- Образцы, которые не могут быть исследованы сразу, хранить при $t+ 2 - 8^{\circ}C$ не более 48 часов.

«При поступлении реципиента,
нуждающегося в проведении трансфузии
донорской крови или ее компонентов,
врачом клинического отделения ЛПУ,
прошедшим обучение по вопросам
трансфузиологии,
проводится **первичное** исследование
групповой
и резус - принадлежности крови
реципиента».

(Приказ МЗ РФ от 02.04. 2013 г. № 183 н).

- Первичное определение группы крови по системе ABO **проводит врач клинического отделения ЛПУ** моноклональными сыворотками анти-А, анти-В, анти- АВ.



Порядок расположения моноклональных антител и соотношение с исследуемыми эритроцитами

- При этом способе в крови устанавливают наличие или отсутствие антигенов и делают заключение о групповой принадлежности исследуемой крови.

- **Результат исследования** записывается в дневнике истории болезни и в направлении в подтверждающую лабораторию с обязательным указанием серий используемых реагентов, даты и фамилии врача, проводившего определение.
- В направлении указывается также: ФИО больного, возраст, отделение, N палаты, N истории болезни.
- Вместе с направлением в подтверждающую лабораторию для выполнения иммуногематологических исследований передается **промаркированный образец крови больного.**

«Подтверждающее определение группы крови **по системе АВО** и резус - принадлежности, а также фенотипирование по антигенам С, с, Е, е, С^w, К, к и определение антиэритроцитарных антител у реципиента осуществляется в клинико - диагностической лаборатории»

(Приказ МЗ РФ от 02.04. 2013 г. № 183 н).

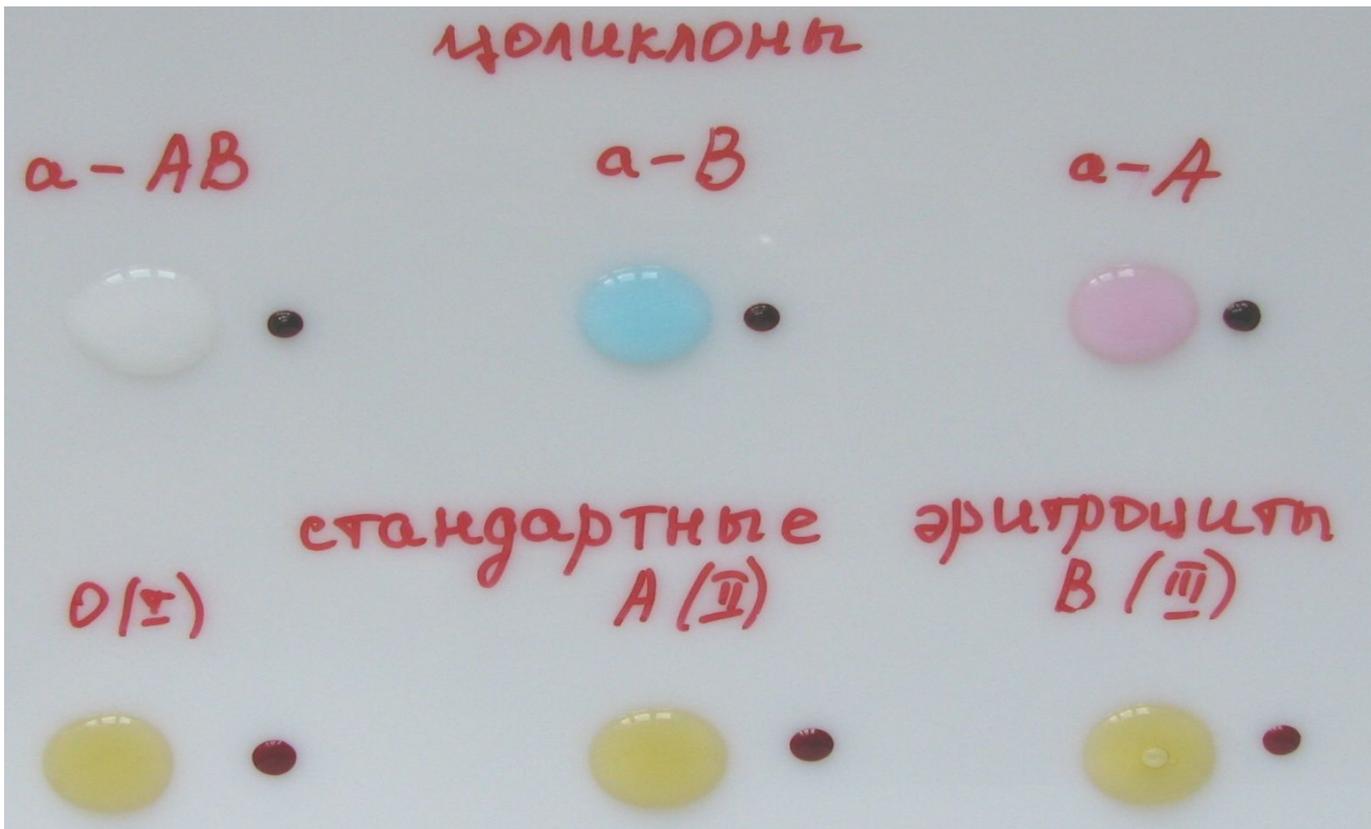
- Подтверждение групповой принадлежности больных проводит в лаборатории ЛПУ **врач КДЛ** перекрестным методом с применением моноклональных сывороток анти-А, анти-В, анти - АВ и стандартных эритроцитов О, А1, В.

* Тестирование на плоскости.



- Цоликлоны анти-А, анти-В, анти –АВ и т. д., предназначены для определения группы крови по системе АВО, Rh, фенотипа, Kell в прямой реакции гемагглютинации.
- Стандартные эритроциты

При этом способе определяют наличие или отсутствие **антигенов** содержащихся в исследуемых эритроцитах и устанавливают наличие или отсутствие **групповых антител** в исследуемой сыворотке.



Моноклональные антитела и стандартные эритроциты
ABO
и их соотношение с исследуемыми эритроцитами.

Ошибки в типировании антигенов эритроцитов системы АВО могут быть обусловлены следующими причинами:

- **Технические погрешности**
- **Недостаточно высоким качеством применяемых реактивов**
- **Индивидуальными особенностями исследуемой крови.**

Указывать срок хранения вскрытых флаконов реагентов используемых в работе.



При выявлении антигенов системы АВО существуют определенные трудности.

- У здоровых людей отмечается гетерогенность антигена А. В 1911 году было установлено, что существует две подгруппы А антигена: A_1 и A_2 . Среди европейцев 80% индивидов, принадлежащих к группе крови А, имеют подгруппу A_1 , остальные 20% принадлежат к A_2 -подгруппе.

ФЕНОМЕН ПОДГРУППЫ

- Описано более 30 разновидностей антигена А
- Наиболее часто встречаются
 - антиген A_1 (80-90 %)
 - антиген A_2 (10-20 %)
 - антиген A_3 (0,06 %)
 - антиген A_x (0,03 %)
 - антиген A_m (0,01 %)

ФЕНОМЕН ПОДГРУППЫ

- **A1, A2, A3 Am**



A2

- **A2 в A(II) – 1-3% (до 15%)**
- **A2 в АВ(IV) – 25% (до 40%)**

Количество антигенных детерминант на эритроците:

- антиген A1 - 810 000 – 1 170 000
- антиген A2 - 160 000 – 440 000

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДГРУППЫ ПО АНТИГЕНУ A

- **A1, A2, A3 Am**



- **Применение реагента анти-A1**
- **У детей до 18 месяцев подгруппа определяется (ложноположительная реакция с реагентом анти-A1)**



ФЕНОМЕН ПОДГРУППЫ И ЭКСТРААГГЛЮТИНИНЫ

- Экстраагглютинины
 - анти-A1 (α 1)
 - анти-A2 (α 2)
 - Обнаруживаются только у людей A(II) и АВ (IV)
 - **Анти-A1** в подгруппах A2(II) (1-8 %) и **A2B(IV) (25-38 %)**
 - анти-A2 – крайне редко – в подгруппах A1(II) и A1B(IV)

ФЕНОМЕН ПОДГРУППЫ И ЭКСТРААГГЛЮТИНИНЫ

- Экстраагглютинины

- анти-A1 взаимодействует с эритроцитами A1
- анти-A2 взаимодействует с эритроцитами A2 и O
- антитела полные (IgM), строго холододовые ($t < 37^{\circ}$ C)
- **Практическое значение имеет экстраагглютинин анти-A1**
- Концентрация анти-A1 антител может различаться у разных людей.
- Антитела анти-A1 у одного индивидуума могут выявляться по разному.
- Выявляемость зависит от качества стандартных эритроцитов A1.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГРУППЫ КРОВИ ПО СИСТЕМЕ АВ0

- Группа крови по системе АВ0 определяется перекрестным способом у всех категорий реципиентов при каждой госпитализации.
- Типирование подгруппы А2 в группах крови А(II) и АВ (IV) с использованием реагента анти-А1.
- Выявление экстраагглютининов анти-А1 с использованием стандартных эритроцитов А1 .

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ НЕСОВМЕСТИМОСТИ ПРИ ТРАНСФУЗИИ
ЭРИТРОЦИТСОДЕРЖАЩИХ ГЕМОКОМПОНЕНТОВ
ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ПОДГРУППЫ ПО **АНТИГЕНУ А**

- «При выявлении у реципиента экстраагглютининов анти- A_1 , ему переливаются эритроцитсодержащие компоненты, не содержащие антигена A_1 :
 - реципиенту $A_{2\beta\alpha_1}$ (II) переливаются эритроцитсодержащие компоненты O(I),
 - реципиенту $A_2B_{\alpha_1}$ (IV) – эритроцитсодержащие компоненты B(III)»;

(Приказ МЗ РФ от 02.04. 2013 г. № 183 н).

«При выявлении у реципиента **детского возраста** экстраагглютининов анти- A_1 ему переливаются эритроцитсодержащие компоненты, не содержащие антигена A_1 , свежезамороженную плазму - одногруппную.

Реципиенту детского возраста с $A_{2\beta\alpha_1}$ (II) переливаются **отмытые эритроциты** O(I) и свежезамороженная плазма A(II),

реципиенту детского возраста с $A_2B_{\alpha_1}$ (IV) переливаются **отмытые эритроциты** O(I) или B(III) и свежезамороженная плазма AB(IV)»;

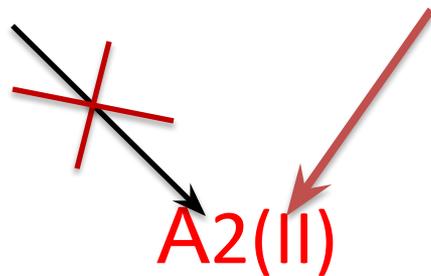
(Приказ МЗ РФ от 02.04. 2013 г. № 183 н).

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ НЕСОВМЕСТИМОСТИ ПРИ
ТРАНСФУЗИИ ЭРИТРОЦИТСОДЕРЖАЩИХ
ГЕМОКОМПОНЕНТОВ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ПОДГРУППЫ
ПО АНТИГЕНУ А**

A(II)

O(I)

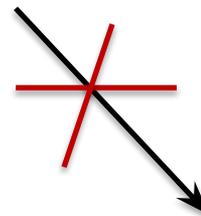
A1, A2, A3 Am



AB(IV)

B(III)

O(I)



A2B(IV)

Правила, которые надо соблюдать при исследовании группы крови

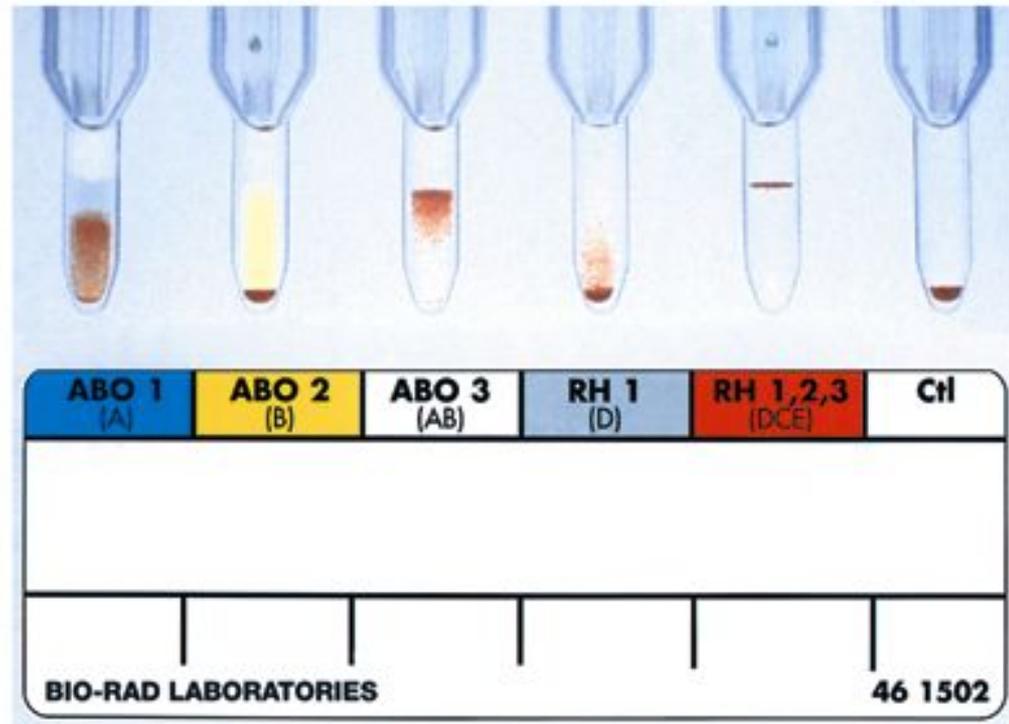
- **Образец крови для исследования брать в пробирку с ЭДТА**
- **Образец крови для исследования брать у больного до проведения гемотрансфузии**
- **Образец крови для исследования брать до переливания плазмозамещающих растворов (для исключения ошибок, вызванных склеиванием эритроцитов в монетные столбики).**
- **Использовать реагенты, в качестве которых вы не сомневаетесь.**
- **Определение группы крови проводить перекрестным способом.**
- **Для исследования применять только стандартные эритроциты (не использовать эритроциты А и В, взятые от произвольных лиц)**
- **Выполнять обязательный контроль специфичности реакции агглютинации.**
- **Обязательно учитывать диагноз реципиента**

Гелевый тест - простой, воспроизводимый, быстрый и очень чувствительный метод, позволяющий сразу выявлять слабые варианты антигенов эритроцитов.

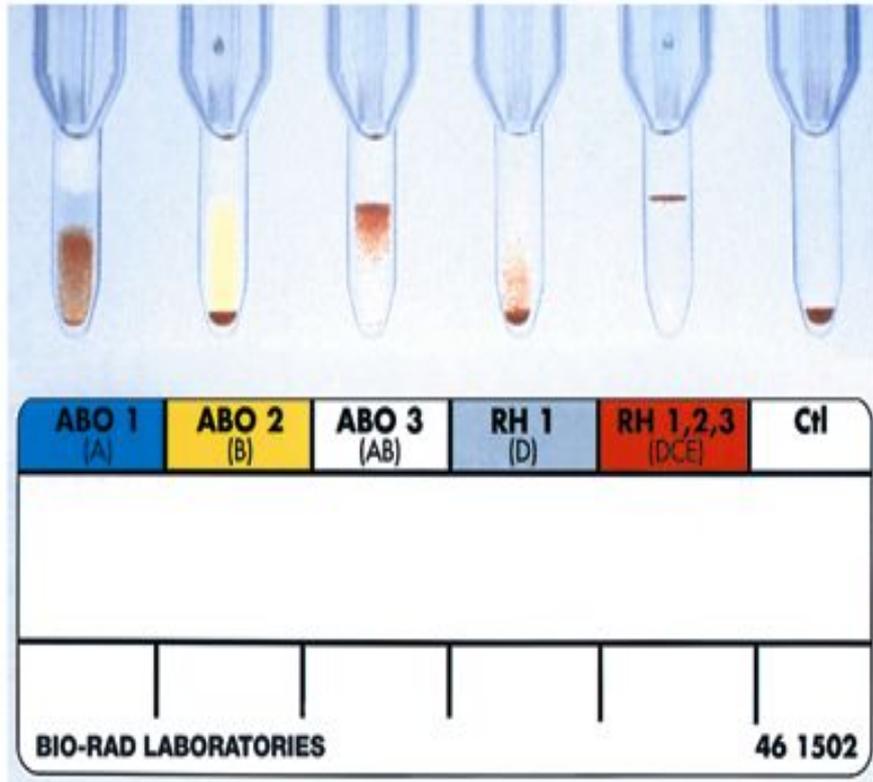
* Гелевые технологии.

Быстрое и точное определение группы крови, резус-принадлежности, в том числе в сложных случаях:

- Скрининг и идентификация аллоантиэритроцитарных антител
- Диагностика аутоиммунной гемолитической болезни эритроцитов.
- Индивидуальный подбор гемокомпонентов для переливания.
- Диагностика посттрансфузионных осложнений и гемолитической болезни новорожденных.



Преимущества метода гель - фильтрации



- Высокая чувствительность и специфичность тестов, возможность диагностики слабых вариантов антигенов и антител
- Объективизация оценки результатов
- Стандартный учет результатов
- Срок хранения результатов более 7 дней
- Фотодокументация результатов
- Удобство и простота в использовании, сокращение времени в 2 - 5 раз
- Отсутствует этап отмывания эритроцитов
- Минимальное количество крови

Диагностика слабых вариантов антигенов и антител.



00202336



ABR438A 2013-12-02 606300021

LOT					
A	B	D	CONTROL	A ₁	B



- **При совпадении** результатов первичного и подтверждающего исследований лечащий врач записывает данные о группе крови системы АВО и Резус на лицевую сторону истории болезни с указанием даты и личной подписью, а заключение о подтверждающем определении вклеивают в историю болезни.

- **При несовпадении** результатов исследования специалист, выявивший несовпадение, **НЕЗАМЕДЛИТЕЛЬНО** сообщает лечащему врачу (устно и письменно), и комиссионно, совместно с лечащим врачом, исследование повторяют из **нового образца крови реципиента,** заготовленной и оформленной в присутствии лечащего врача.

Любые расхождения должны быть выяснены и разрешены до переливания.

Запрещается переносить данные о группе крови системы АВО с других документов.

(Приказ МЗ РФ от 02.04. 2013 г. № 183 н).

- **Если при подтверждающем иммуногематологическом исследовании выявлены:**

- аллоиммунные антиэритроцитарные антитела любой специфичности и активности;
- фиксированные на эритроцитах антитела;
- неспецифические свойства сыворотки или эритроцитов реципиента;
- затруднения при определении группы крови;

лечащему врачу следует обязательно еще раз вернуться к обоснованию показаний для гемотрансфузии, т. к. такой реципиент имеет высокую степень риска ответить посттрансфузионным осложнением на переливание компонентов крови.

***Категории пациентов, у которых
встречаются затруднения при определении
групп крови АВО***

Категория пациентов	Индивидуальные особенности	Характер затруднения	Способ решения проблемы
Новорожденные	Слабо выражена активность групповых антигенов А и В	Слабо выраженная агглютинация	Использовать прямой метод с цоликлонами анти-А, анти-В, анти-АВ или гелевую методику.
	Отсутствие в сыворотке естественных групповых анти-А, анти-В антител	Отсутствие агглютинации во всех лунках со стандартными эритроцитами АВ0	
Беременные	Ослабление активности групповых антигенов А и В	Слабо выраженная агглютинация, вероятность пропустить реакцию агглютинации	Использовать различные реактивы в перекрёстном методе
Больные с гематологическими или онкологическими заболеваниями	Ослабление активности или полная утрата групповых антигенов А и В вследствие приема цитостатиков,	Слабо выраженная агглютинация или ее отсутствие. Несовпадение результатов исследования,	Использовать различные реактивы в перекрёстном методе.
	Наличие неспецифических алло- и/или аутоантител	Ложно - положительные реакции агглютинации	Использовать перекрёстный метод или гелевую методику.
	Полиагглютинабельность исследуемого образца	Положительные результаты контроля	Использование гелевой методики.
У различных категорий пациентов	Слабые варианты антигена А	Несовпадение результатов исследования,	Использовать цоликлон анти-А ₁ (лектин) или гелевую методику.
	Массивная гемотрансфузия или трансфузия несовместимых переносчиков газов крови по АВ0	Сомнительный результат исследования	Использовать гелевую методику.
	Гиперлипидемия	Возможна неспецифическая агглютинация	Исследуемые эритроциты отмыть.
	Внутривенное введение		