

ОСНОВЫ ИММУНОГЕМАТОЛОГИИ:

Группы крови системы Резус

Байтугаева Г.А.

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

Нормативные документы

1. Приказ от 25.11.2002 №363 «Об утверждении инструкции по применению компонентов крови».
2. Приказ №2 МЗ РФ от 09.01.1998г. «Об утверждении инструкций по иммуносерологии» (прил. №1 – «инструкция по предупреждению несовместимости при переливании крови»)
3. Приказ МЗ РФ от 02.04. 2013 г. № 183 н «Об утверждении правил клинического использования донорской крови и (или) её компонентов».

- Основу современной науки о переливании компонентов крови заложил К. Landsteiner, открыв в 1901 г. систему группы крови АВО, а спустя еще четыре десятилетия - систему Резус.
- К. Landsteiner, A. Wiener в 1940 г. установили, что при иммунизации кроликов эритроцитами обезьян Macacus rhesus сыворотка кроликов приобрела способность агглютинировать эритроциты не только этих обезьян, но и большинства людей. Так было открыто существование в эритроцитах агглютиногена, получившего название **резус – фактор**.
- Резус – фактор находится в эритроцитах людей, независимо от возраста и пола, и не связан с агглютиногенами А, В и О.

При помощи стандартных сывороток антирезус было установлено наличие резус фактора в эритроцитах около 85% людей, кровь которых названа резус – положительной (Rh+),

и отсутствие резус – фактора у 15% человек, кровь которых названа резус - отрицательной (rh-).

Определение резус–принадлежности.

Прежде чем приступить к исследованию, необходимо произвести макроскопическую оценку диагностических стандартов:

- реактивы должны быть прозрачными, без осадка и других признаков загрязнения,
- вскрытые флаконы должны быть закрытыми для предотвращения подсыхания содержимого,
- проверить срок годности реактивов с даты изготовления, указанной на этикетке,
- со дня вскрытия реактива (срок годности флакона).

Перед работой иммунологические стандарты выдержать при комнатной температуре не менее 1 часа.

Реакция гемагглютинации на плоскости с помощью анти-D IgM (полные антитела) моноклонального реагента

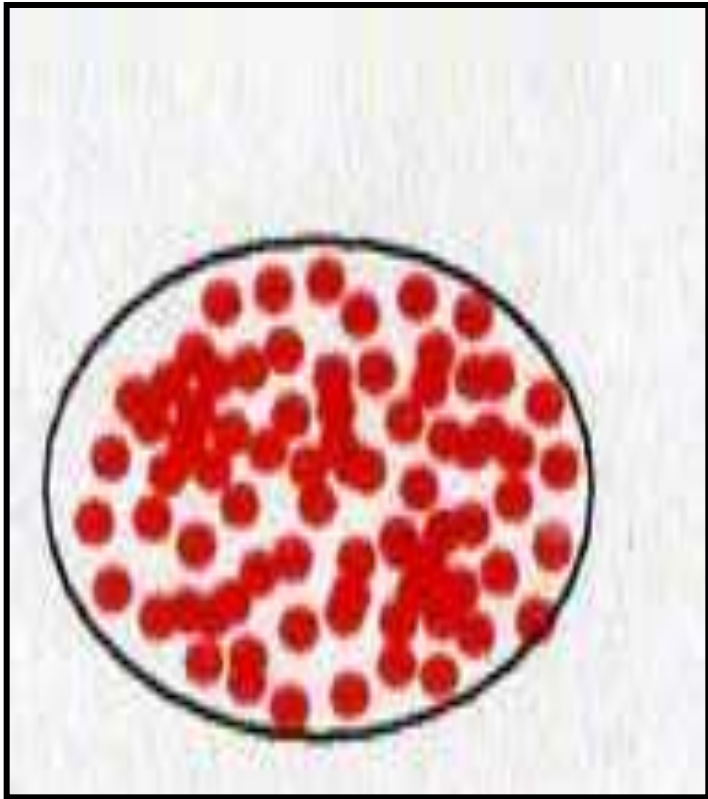
- Определение производят в нативной крови, стабилизированной с помощью консервантов; в крови без антикоагулянта, в т. ч. взятой из пальца.

Наиболее четкая реакция агглютинации наблюдается при использовании высокой концентрации эритроцитов и температуре около $+37^{\circ}\text{C}$, поэтому желательно использовать подогретую пластинку.

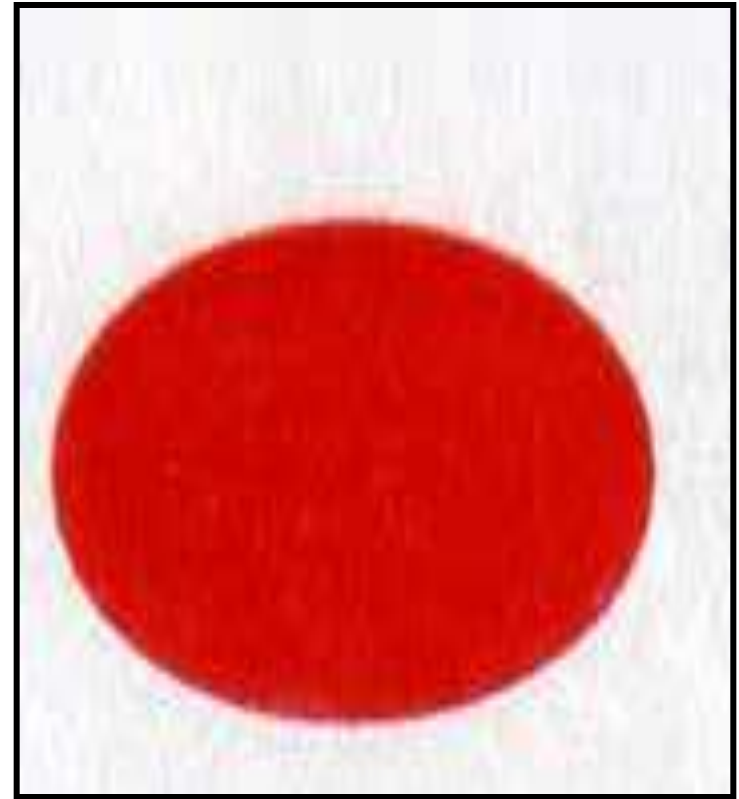
Ход определения:

- на пластинку со смачиваемой поверхностью наносят большую каплю (около 0,1 мл) реагента;
- рядом помещают маленькую каплю (0,01-0,05 мл) исследуемой крови;
- смешивают кровь с реагентом стеклянной палочкой;
- через 10-15 с покачивают пластинку в течение 20-30 с;
- реакция агглютинации начинает развиваться через 10-15 с, четко выраженная крупнолепестковая агглютинация наступает через 30-60 с.
- Результат агглютинации следует учитывать через 3 мин.

Резус-принадлежность крови устанавливают по наличию или отсутствию антигена D.



Rh₀(D) + положительная



Rh₀(D) – отрицательная

- Все отрицательные при первичном определении Резус – принадлежности (D) результаты должны подтверждаться в непрямой реакции Кумбса или с использованием цоликлона «Анти-D».
- Если при её выполнении определяется положительный результат, то Резус-принадлежность трактуется как D^u ($D^{weak} + D^{vi\ partial}$).

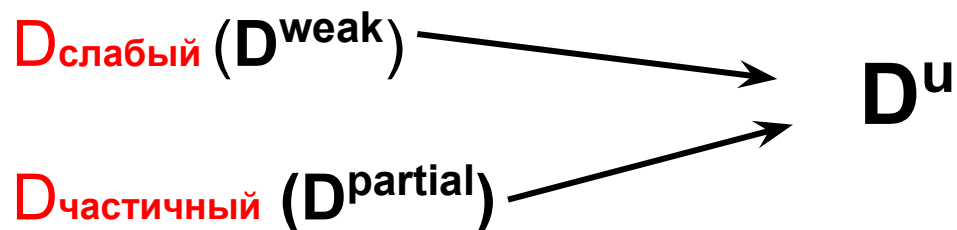
АНТИГЕННАЯ СИСТЕМА РЕЗУС

- Вариант антигена D со всеми эпитопами – **нормальный**, стандартный, полный D
- Вариант, в структуре которого отсутствует или несколько эпитопов – **частичный** (парциальный) D (D^{partial})
- Антиген D только с двумя-тремя эпитопами – D^{VI}
- Вариант со всеми эпитопами, но **выражены слабо** (низкая экспрессия) – D^{weak}

один

D^{u}

Для удобства в повседневной работе иммуногематологических лабораторий слабые варианты антигена **D** объединяют в группу **D^u**, частота которой в популяции составляет около 1%.



• Все варианты антигена D^u должны быть обнаружены в тех случаях, когда его присутствие может вызвать иммунологическую угрозу:

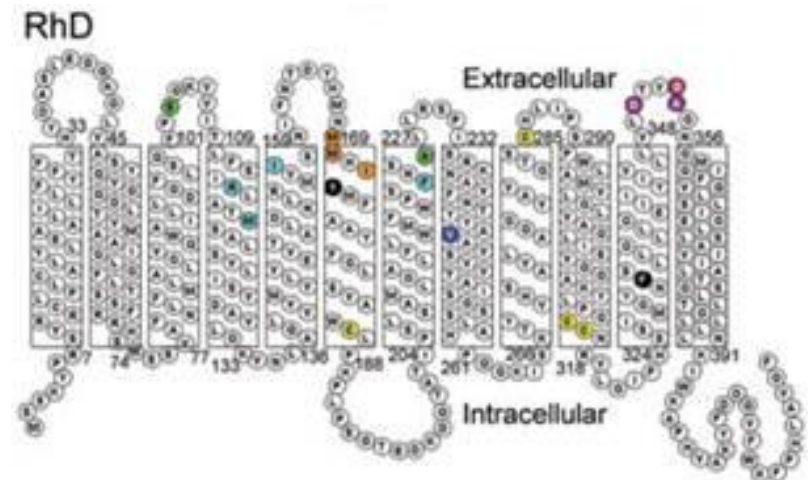
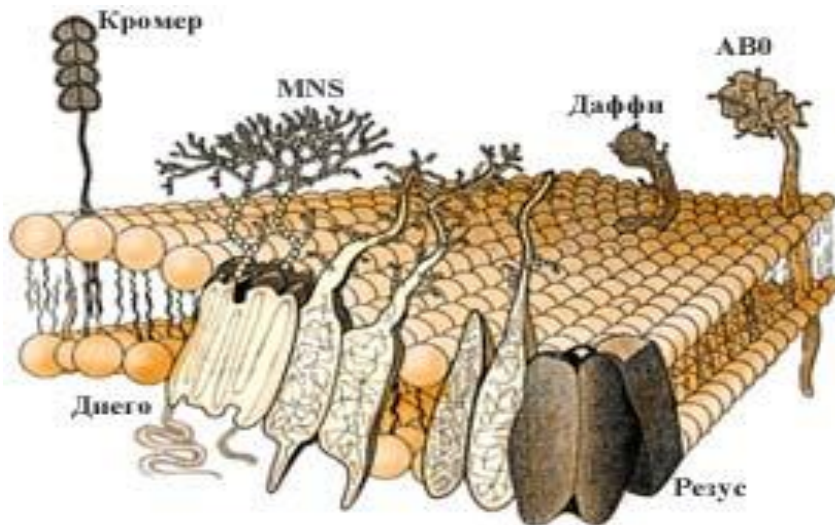
- у доноров гемокомпонентов;

- у беременных женщин;

- у новорожденных Rh (D) – отрицательных матерей.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕЗУС-ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

- D^u реципиент всегда Rh(D)-отрицательный
- D^u донор всегда Rh(D)-положительный
- D^u важно определять у беременных и новорожденных Rh(D)-отрицательных матерей



Система резус – одна из самых полиморфных антигенных систем эритроцитов крови человека.

Выделяют 5 антигенов системы Резус (Rh), имеющих наибольшее клиническое значение: **D, C, c, E, e**, из которых три условно обозначены прописными буквами D, C, E («большие» антигены или антигены Rh), а два – строчными c и e («малые» антигены или антигены rh).

Существование шестого антигена (d или Hr) не доказано, так как не получены антитела против него.

D пары в виде антигена **d** – нет.

- Система Резус представлена 5 антигенами, которые встречаются в эритроцитах в виде одного из 28 возможных сочетаний:

**Распределение по группам системы резус
в зависимости от фенотипа**

| | Фенотип | Частота в популяции, % |
|--|---------------------|-------------------------------|
| Резус – положительные (Rh+) | C+c+D+E+e+ | 15,85 |
| | C+c- D+E+e+ | 0,09 |
| | C+c+D+E+e- | 0,17 |
| | C+c- D+E+e- | Крайне редко |
| | C+c+D+E-e+ | 37,68 |
| | C+c- D+E-e+ | 15,52 |
| | C-c+D+E+e+ | 11,51 |
| | C-c+D+E+e- | 3,07 |
| | C+c+D-E- e+ | 0,08 |
| | C+c- D-E- e+ | |
| Резус – отрицательные (rh-) | C+c+D-E+e+ | |
| | C- c+D-E+e+ | 0,26 |
| | C- c+D-E+e- | Крайне редко |

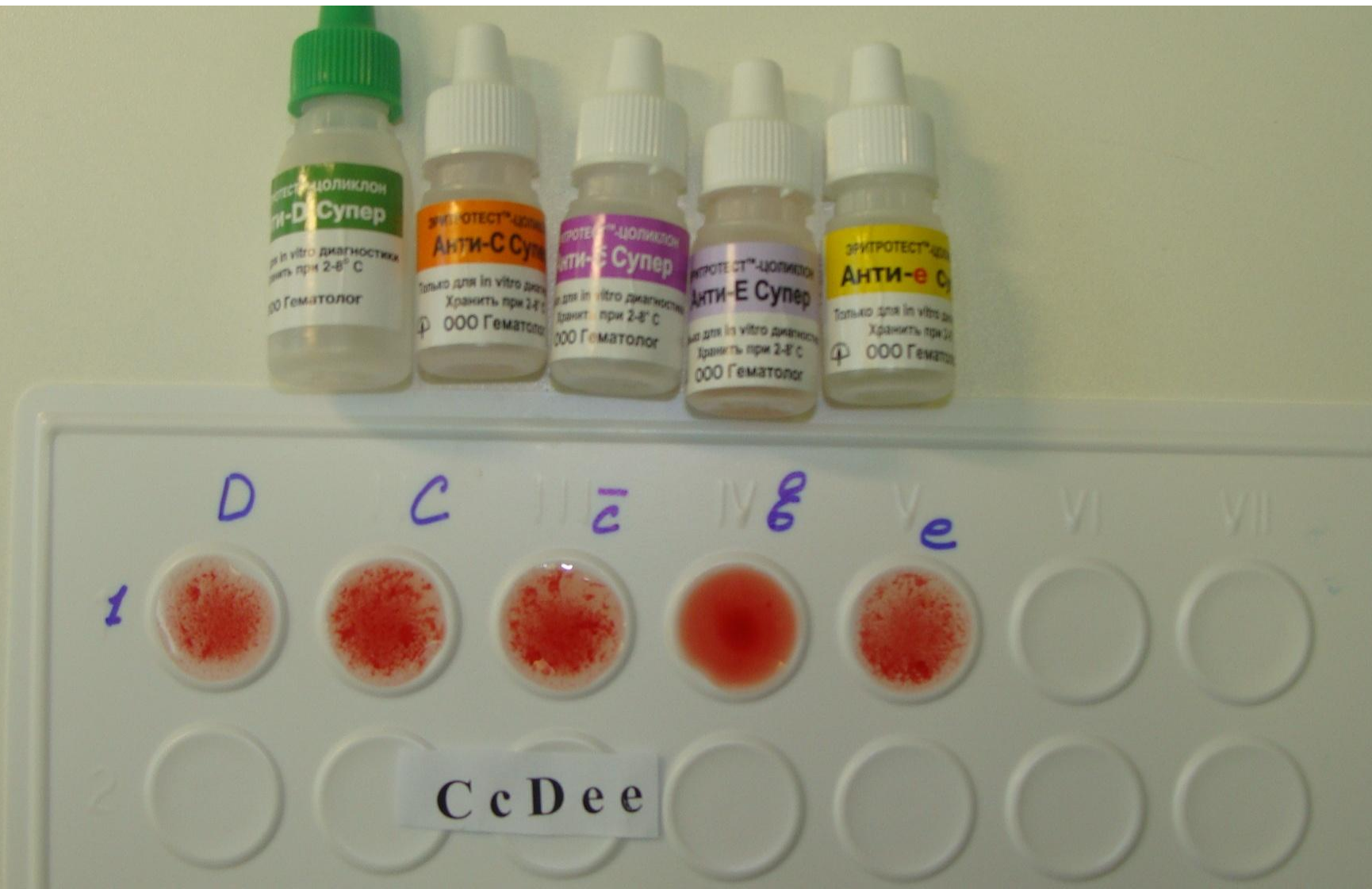
Фенотип реципиента устанавливают посредством определения резус – принадлежности (антигена D) и минорных трансфузионно опасных антигенов С с Е е К к, тем самым осуществляя переливание реципиенту идентичных по трансфузионно опасным антигенам эритроцитов.

Реципиенту следует переливать эритроциты, содержащие имеющиеся у него антигены.

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).

Определение фенотипа при помощи ЦОЛИКЛОНОВ



Шкала иммуногенности трансфузионно - опасных антигенов эритроцитов

$D > K > c > E > C^w > C > e > Fy > Le^\beta > Jk > S > s > Le^\alpha > k > P > M > N$

- Для клинической практики шкала приоритета трансфузионно опасных антигенов важна, поскольку подчеркивает значение антигенов эритроцитов, в особенности D, K, c, E, C^w, как **источника наиболее частой причины посттрансфузионных осложнений.**
- Если при переливании эритроцитов учитывать минорные антигены: K > c > E > C^w > C > e, то посттрансфузионные осложнения **можно профилактировать на 98%.**

Из большого числа трансфузионно опасных антигенов эритроцитов современными нормативными документами выделены лишь немногие, совместимость по которым является обязательным условием при переливании.

«Фенотипирование по антигенам С, с, Е, е, С^w, К, к у реципиента осуществляется в клиничко – диагностической лаборатории».

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

- «Донорская кровь и эритроцитсодержащие компоненты переливаются только той группы системы **ABO** и той группы системы **Резус-** и **Келл** – принадлежности, которая имеется у реципиента».

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

- «Определение антигенов эритроцитов **C, c, E, e, C^w, K, k** с использованием реагентов, содержащих соответствующие антитела ***(у детей до 18 лет, женщин детородного возраста и беременных, реципиентов с отягощенным трансфузионным анамнезом, имеющих антитела к эритроцитам, реципиентов, нуждающихся в многократных (в том числе повторных) трансфузиях донорской крови или ее компонентов*** (кардиохирургия, трансплантология, ортопедия, онкология, онкогематология, травматология, гематология)».

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

Гелевая технология

Типирование эритроцитов по антигенам систем RH / Kell

КАРТОЧКИ СКАНГЕЛЬ

Моноклональные RH/Kell: микропробирки 1-5 содержат специфические моноклональные антитела: анти-А, анти-Е, анти-с, анти-е, анти-К, нейтральный гель (контроль).

ЭРИТРОЦИТЫ

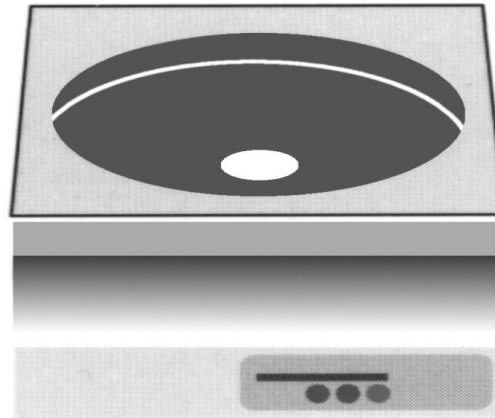
Образец крови:
10 мкл эритроцитов + 1000 мкл (1 мл) СканЛисс

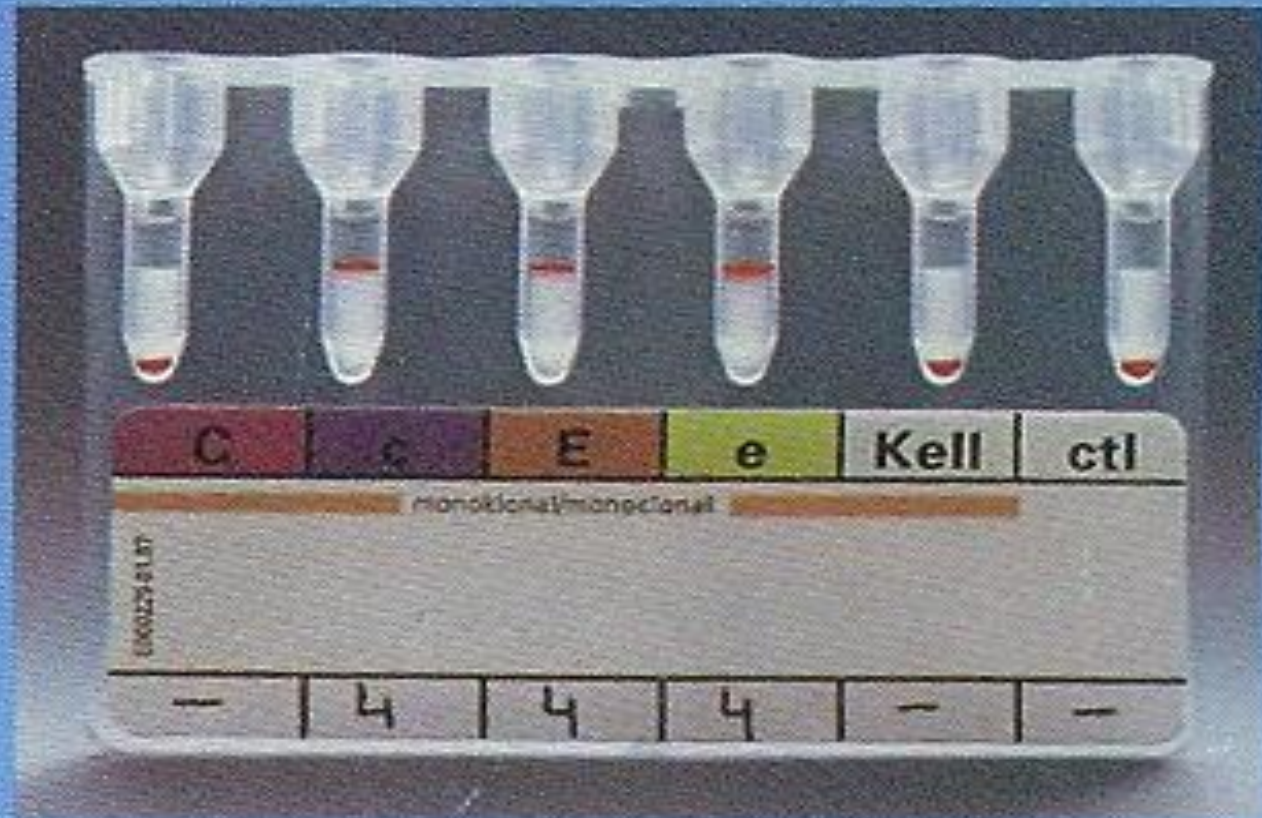
ВЫПОЛНЕНИЕ ТЕСТА

Добавьте в каждую микропробирку по 50 мкл суспензии эритроцитов в СканЛисс

Центрифугируйте

Считайте результаты





**DiaClon Rh-subgroups+K
фенотипирование
антигенов эритроцитов**

***Категории пациентов, у которых встречаются
затруднения
при определении резус–принадлежности.***

| Категория пациентов | Индивидуальные особенности | Характер затруднения | Способ решения проблемы |
|---|--|---|---|
| Беременные | Слабо выражена активность антигена D | Слабо выраженная агглютинация, почти не различима глазом. Вероятность пропустить реакцию агглютинации | Использовать различные типы реагентов. |
| Больные с гематологическими, онкологическими заболеваниями и др. | Ослабление активности и/или полная утрата антигена D | Слабо выраженная агглютинация или ее отсутствие. | Использовать различные типы реагентов. |
| | Слабые варианты антигена D | Несовпадение рез-тов исследования, получен. при исследовании и произведённых ранее | Использовать разл. типы реагентов или гелевую методику. |
| У различных категорий пациентов | Гиперлипидемия | Возможна неспецифическая агглютинация | Исследуемые эритроциты отмыть. |
| | Массивная гемотрансфузия или трансфузия несовместим. переносчиков газов крови по системе Резус | Сомнительный результат исследования | Использовать гелевую методику. |
| | Внутривенное введение растворов декстранов или | Ложноположительные реакции агглютинации и/или положительный результат контроля | Исследуемые эритроциты отмыть. |

- **«Запрещается переносить данные о группе крови и резус принадлежности в медицинскую документацию, отражающую состояние здоровья реципиента, организации, в которой планируется проведение трансфузии донорской крови и (или) ее компонентов реципиенту, с медицинской документации, отражающей состояние здоровья реципиента, других организаций, где ранее реципиенту была оказана медицинская помощь, в том числе включающая трансфузию донорской крови и (или) ее компонентов, или проводилось его медицинское обследование».**

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