

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

«Ставропольский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

Кафедра пропедевтики детских болезней с курсом дополнительного
профессионального образования

Методические рекомендации к практическим занятиям

Наименование дисциплины	Основы трансфузиологии
Специальность	34.03.01 – сестринское дело
Форма обучения	очная
Год начала подготовки	2025

ТЕМА 2

**Трансфузиология – организационные
теоретические, клинические, научно-
производственные задачи развития научной
дисциплины**

Методические указания к практическим занятиям по дисциплине «Основы трансфузиологии»

Разработаны:

Доцент кафедры пропедевтики детских болезней с курсом дополнительного профессионального образования, к.м.н.

 Смирнова О.Н.

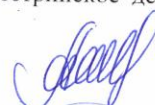
Обсуждены

на заседании кафедры пропедевтики детских болезней с курсом дополнительного профессионального образования, зав. кафедрой, д.м.н., профессор

 Безроднова С.М.

Согласованы и рекомендованы к использованию в образовательном процессе для обучающихся по специальности 34.03.01 - Сестринское дело 2025 года набора очной формы обучения

Руководитель ОПОП ВО

 Шишалова Т.Н.

Декан факультета гуманитарного и медико-биологического образования

 Федько Н.А.

Методические указания по дисциплине «Основы трансфузиологии» размещены в ЭИОС университета в авторской редакции

- 1. Цель** Ознакомить обучающихся с теорией сестринского дела
- 2. Учебные вопросы** Определение групповой принадлежности крови по системе АВ0 с помощью реакции агглютинации. Три способа определения групп крови по системе АВ0:
- с помощью стандартных изогемагглютинирующих сывороток;
 - с помощью стандартных изогемагглютинирующих сывороток и стандартных эритроцитов (перекрестный способ);
 - с помощью моноклональных антител (целиклонов анти-А и анти-В).

3. Теоретическая часть

Г р у п п ы к р о в и.

Для возникновения гемолитических посттрансфузионных реакций и несовместимости матери и плода имеет значение, прежде всего антигенная структура эритроцита. АНТИГЕНЫ - вещества белковой природы, способные вызывать в организме образование антител и вступать с ними в реакцию. В организме человека кроме иммунных антител, которые вырабатываются в ответ на попадание в него антигена, есть естественные антитела, существующие с момента рождения и обусловленные генетическими признаками, наследуемыми от родителей. Примером естественных антител являются групповые АГГЛЮТИНИНЫ а и b. Они специфичны и вступают в реакцию с соответствующими антигенами - АГГЛЮТИНОГЕНАМИ А и В.

Все человечество в зависимости от содержания в эритроцитах антигенов (агглютиногенов) А и В делится на 4 группы:

- 1 группа - не содержит антигенов;
- 2 группа - содержит агглютиноген А;
- 3 группа - содержит агглютиноген В;
- 4 группа - содержит агглютиногены А и В.

В крови этих групп в строгой зависимости от наличия или отсутствия групповых антигенов А и В, которые получили название агглютиногенов, содержатся групповые антитела, которые иначе называются агглютинидами (изоагглютинидами, групповыми агглютинидами). Система крови остается стабильной при отсутствии в ней одноименных агглютининов и агглютиногенов (антител и антигенов). В этом случае не происходит их взаимодействия, проявляющегося агглютинацией (склеиванием) и гемолизом (разрушением) эритроцитов. Таким образом, по серологическим свойствам эритроцитов и плазмы выделяют 4 группы крови.

Процентное соотношение лиц с различными группами крови в различных местах земного шара не одинаково. В странах СНГ оно приблизительно таково:

О(I гр.)	А(II гр.)	В(III гр.)	АВ(IV гр.)
34%	37%	21%	8%

Резус-фактор.

В 1937 году Ландштейнер и Винер открыли резус-фактор Rh - фактор). В ходе опытов по иммунизации кролика эритроцитами обезьяны макака-резус (Macakus rhesus) была получена сыворотка, агглютинирующая 85% образцов эритроцитов человека - независимо от групповой принадлежности. Так было установлено наличие в эритроцитах человека вещества антигенной природы, аналогичной таковому у макаки-резус. Оно получило название резус-фактор. Люди, в крови которых этот фактор есть, стали обозначаться как "резус-положительные", те, у кого он не определялся - "резус отрицательные". Резус-фактор содержится в крови около 85% людей и в отличие от агглютиногенов (антигенов) А и В не имеет, как правило, естественных антител. Антитела против резус-фактора (анти-резус) возникают только вследствие сенсibilизации резус-

отрицательного (не имеющего резус-фактора) человека эритроцитами, содержащими резус-фактор. Антитела могут также появиться в крови резус-отрицательной беременной женщины в ответ на резус-положительный плод. Резус-несовместимость (резус-конфликт) возникает в случае **повторного** контакта сенсibilизированного человека с резус-фактором (переливание крови, беременность).

В крови существует множество других антигенов. Они обозначены как системы MN, Келл, Даффи, Льюис, Лютеран и др. Выраженные посттрансфузионные осложнения и гемолитическая болезнь вызываются ими крайне редко. В настоящее время антигены выявлены в лейкоцитах, тромбоцитах, других белковых структурах общей численностью около 300 видов.

Перед каждой гемотрансфузией обязательны следующие исследования крови и пробы:

1. Определение группы крови - системы АВО у донора и реципиента.
2. Определение резус - принадлежности крови донора и реципиента.
3. Определение групповой совместимости крови донора и реципиента.
4. Определение резус - совместимости крови донора и реципиента.
5. Проведение биологической пробы.

Только правильное и полное выполнение этих проб и реакций гарантирует от переливания несовместимой крови, от развития гемотрансфузионных осложнений.

Определение групп крови системы АВО.

Групповая принадлежность крови определяется реакцией агглютинации при помощи стандартных гемагглютинирующих сывороток или цоликлонов.

Определение групп крови стандартными гемагглютинирующими сыворотками.

Стандартные гемагглютинирующие сыворотки (из крови доноров или ретроплацентарной крови) поступают в ампулах по 2 мл. Перед определением следует убедиться в наличии на этикетке ампулы обозначения:

группы сыворотки,

срока годности,

номера серии

наименования учреждения его изготовившего.

Срок годности сыворотки- 4 месяца со дня изготовления. Если в ампулах с сыворотками обнаруживаются хлопья или взвесь, то они для использования не пригодны, несмотря на не истекший срок. Для удобства пользования сыворотка окрашивается в различные цвета.

Сыворотка *1-й группы* **не окрашивается,**

2-й группы - окрашивается в **голубой цвет,**

3-ей группы в **розовый,**

4-ой группы в **желтый.**

Аналогичного цвета полосами маркируются ампулы. Ампулы хранятся в холодильнике при температуре $+4^{\circ}$ - $+6^{\circ}$ С. Допускается хранение открытых ампул 3-4 дня в холодильнике при условии, если горлышко заклеивается лейкопластырем или закрывается ваткой.

Определение группы крови проводится при температуре $+15^{\circ}$ - $+25^{\circ}$ С на маркированной плоскости (тарелке) белого цвета, где записывается фамилия лица, у которого определяется кровь, согласно международной классификации маркируются точки нанесения сыворотки. **Используются стандартные сыворотки двух серий групп О(І), А(ІІ), В(ІІІ).** После их нанесения получается шесть капель, расположенных в два ряда в следующем порядке: О(І), А(ІІ), В(ІІІ). Каждая сыворотка наносится своей пипеткой. Исследуемая кровь углами предметного стекла или стеклянными палочками вносится в сыворотку в количестве в десять раз меньшем и тщательно перемешивается. Можно перемешивать кровь с сывороткой одним и тем же углом предметного стекла (или стеклянной палочкой), но в этом случае после каждого перемешивания необходимо промывать стекло в воде и насухо вытирать. За ходом реакции, в общей сложности,

наблюдают не менее 5-ти минут, периодически покачивая тарелку. В лунки, где к третьей минуте наблюдения произошла агглютинация, вносят по капле физ.раствора и наблюдают еще две минуты. Добавление физиологического раствора не разрушает истинной агглютинации и позволяет дифференцировать ее от псевдоагглютинации, обусловленной самопроизвольным склеиванием эритроцитов в монетные столбики. Результат оценивается по наличию агглютинации. Эритроциты группы O(I) не содержат антигенов и в реакцию агглютинации не вступают. Эритроциты группы A(II) не дают агглютинации только с сывороткой своей группы, эритроциты B(III) также не дают агглютинации только с сывороткой своей группы. Если во всех сыворотках произошла агглютинация, то для исключения неспецифической панагглютинации и подтверждения, что это эритроциты IV группы крови, следует дополнительно исследовать их стандартной сывороткой группы AB (IV). Для этого используется одна сыворотка, исследование проводится с соблюдением всех выше указанных условий. Сыворотка группы AB(IV) не содержит никаких антител, а поэтому не должна давать агглютинации. (таблица 1). При определении групп крови следует обратить особое внимание на сроки чтения результата - они не должны быть менее 5-ти минут. Так разновидность второй группы крови A(II) дает агглютинации, как правило, раньше чем обычно - к исходу 3-4-ой минуты.

Таблица 1.

Результат реакции с изогемагглютинирующими сыворотками группы				Исследуемая кровь принадлежит к группе
0ab(I)	Ab(II)	Ba(III)	AB(IV)	
-	-	-	-	0(I)
+	-	+	-	A(II)
+	+	-	-	B(III)
+	+	+	-	AB(IV)

Оценка результатов определения групп крови при помощи стандартных гемагглютинирующих сывороток.

Знаком плюс (+) обозначено наличие агглютинации, знаком минус (-) - её отсутствие.

Определение группы крови системы ав0 моноклональными антителами

Принимая во внимание высокую активность и авидность реагентов **Цоликлон**, а также полную их стандартность, для каждого определения группы крови достаточно применять по одной серии реагентов **анти-А** и **анти-В**. Цоликлоны анти-А и анти-В наносят на планшет или пластинку по одной большой капле (0,1 мл) под соответствующими надписями: анти-А и анти-В. Рядом с каплями антител наносят исследуемую кровь по одной маленькой капле (0,01 мл). После смешивания реагентов и крови за реакцией агглютинации наблюдают в течение **2,5 мин**. Оценка результатов реакции агглютинации с Цоликлонами анти-А и анти-В представлена в таблице 2, в которую также включены результаты определения агглютининов сыворотке (плазме) доноров с помощью стандартных эритроцитов

Таблица 2

Реакция исследуемых эритроцитов с цоликлонами		Исследуемая кровь принадлежит к группе
анти-А	анти-В	
-	-	0(I)

+	-	A(II)
-	+	B(III)
+	+	AB(IV)

1. Агглютинации нет (-) ни с Цоликлоном анти-А, ни с Цоликлоном анти-В. Следовательно, исследуемые эритроциты не содержат антигенов А и В, и кровь принадлежит к группе 0 (I). Это подтверждается наличием агглютининов α и β в исследуемой сыворотке (плазме) по результатам положительной реакции агглютинации со стандартными эритроцитами групп А (II) и В (III).
2. Агглютинация (+) наблюдается только с Цоликлоном анти-А. Следовательно, исследуемые эритроциты содержат только антиген А, и кровь принадлежит к группе А(II). Это подтверждается наличием агглютининов β в исследуемой сыворотке (плазме) по результатам положительной реакции агглютинации со стандартными эритроцитами группы В(III).
3. Агглютинация (+) наблюдается только с Цоликлоном анти-В. Следовательно, исследуемые эритроциты содержат только антиген В, и кровь принадлежит к группе В (III). Это подтверждается наличием агглютининов α в исследуемой сыворотке (плазме) по результатам положительной реакции агглютинации со стандартными эритроцитами группы А(II).
4. Агглютинация (+) наблюдается как с Цоликлоном анти-А, так и с Цоликлоном анти-В. Следовательно, исследуемые эритроциты содержат оба антигена (А и В), и кровь принадлежит к группе АВ(IV). Это подтверждается отсутствием агглютининов α и β в исследуемой сыворотке (плазме) по результатам отрицательной реакции агглютинации со стандартными эритроцитами групп А (II) и В (III).

С целью исключения аутоагглютинации, которая может наблюдаться у некоторых больных (миеломная болезнь, ожоговая болезнь), а также в пуповинной крови новорожденных, в случае установления группы крови АВ (IV) необходимо произвести контрольное исследование: одну каплю (0,1 мл) изотонического раствора хлористого натрия смешать с маленькой каплей (0,01 мл) исследуемой крови. Реакция агглютинации должна ОТСУТСТВОВАТЬ.

Определение групп крови системы аво перекрестным способом.

Для выполнения этого способа требуется то же оснащение, что и для определения групп крови с помощью стандартных сывороток. Дополнительно надо иметь стандартные эритроциты группы А(II), В(III). Стандартные эритроциты готовятся из крови резус-отрицательных доноров. Требования, предъявляемые к этикеткам и условия те же, что для стандартных сывороток. Длительность хранения 2-3 суток при температуре $+4^{\circ}$ - $+8^{\circ}$ С. Техника определения следующая: к нанесенным в два ряда стандартным сывороткам снизу дополнительно наносят ряд стандартных эритроцитов А (II), В (III). От исследуемого кровь забирается в пробирку. Ей дают отстояться. Затем к стандартным эритроцитам добавляют сыворотку исследуемой крови, а в стандартные сыворотки вносят эритроциты исследуемой крови. Наблюдение за реакцией проводят в течение 5-ти минут. Через 3 минуты в каждую каплю, где наступила агглютинация, добавляют каплю физиологического раствора, продолжая наблюдение до истечения 5-ти минут. Результаты реакций, полученные при помощи стандартных эритроцитов и стандартных сывороток должны совпадать, т.е. указывать на содержание агглютиногенов и агглютининов, соответствующих одной и той же группе крови.

Определение резус-принадлежности.

В повседневной практике определение резус-фактора производится либо с помощью антирезусных сывороток (анти-Д) или моноклональными анти-Д антителами.

Определение резус-фактора антирезусной сывороткой анти-д экспресс-методом (в пробирках без подогрева).

Для проведения данного исследования используется универсальная антирезусная сыворотка для экспресс-метода (анти-Д). Исследуемая кровь берется из пальца или из флакона с консервированной кровью непосредственно перед исследованием. На дно пробирки наносят одну каплю стандартной антирезусной сыворотки для экспресс - метода и добавляют одну каплю исследуемой крови. После чего осторожными движениями добиваются, чтобы образовавшаяся жидкость растекалась по стеклу пробирки. Через 3 минуты после внесения эритроцитов добавляют в пробирку 2-3 мл физиологического раствора. Пробирку осторожно переворачивают 3 раза. Затем читают результат. Наличие глыбок агглютинатов свидетельствует о содержании в эритроцитах резус-фактора. В случае резус-отрицательной крови агглютинация не наблюдается.

Определение резус-фактора с помощью моноклонального реагента (цоликлон анти-d Супер).

На тарелку наносят большую каплю реагента (около 0,1 мл). Рядом помещают маленькую каплю (0,01-0,05 мл) исследуемой крови и смешивают кровь с реагентом. Реакция агглютинации начинает развиваться через 10 - 15 сек., а четко выраженная агглютинация наступает через 30 - 60 сек. Результаты реакции учитывают через 3 мин. Тарелку после смешивания реагента с кровью рекомендуется покачивать не сразу, а через 20 - 30 сек, что позволяет за это время развиться более полной крупнопестковой агглютинации. Цоликлон анти-D Супер выпускается во флаконах по 2, 5 или 10 мл (1 мл содержит 10 доз). Срок хранения - 1 год в холодильнике при 2-8°C. Вскрытый флакон можно хранить в холодильнике в течение месяца в закрытом виде.

4. Практическая часть - нет.

5. Вопросы для собеседования

1. Понятия о группах крови и резус факторе
2. Способы определения групп крови и резус – фактора
3. Показания и противопоказания к переливанию крови
4. Макроскопическая оценка годности крови к переливанию
5. Способы переливания крови и ее компонентов
6. Оформление протокола гемотрансфузии
7. Посттрансфузионные реакции и осложнения, их профилактика и лечение

6. Тестовые задания

1.Агглютинины содержатся:

- А) в плазме
- Б) в лейкоцитах
- В) в тромбоцитах
- Г) в эритроцитах

Правильный ответ: А

2.Агглютиногены находятся в:

- А) сыворотке
- Б) плазме
- В) лейкоцитах
- Г) тромбоцитах
- Д) эритроцитах

Правильный ответ: Д

3.Rh-фактор находится в:

- А) сыворотке
- Б) плазме
- В) лейкоцитах
- Г) тромбоцитах

Д) эритроцитах

Правильный ответ: Д

4.Какой процент людей имеет положительный Rh-фактор:

А) 5%

Б) 20%

В) 85%

Г) 90%

Д) 95%

Правильный ответ: В

5.Какой процент людей имеет отрицательный Rh-фактор:

А) 5%

Б) 10%

В) 15%

Г) 65%

Д) 85%

Правильный ответ: В

6.В крови человека с I группой крови по системе АВО присутствуют агглютиногены:

А) А

Б) В

В) АВ

Г) О

Д) ни один из указанных

Правильный ответ: Г

7.В крови человека III группы крови по системе АВО содержатся агглютиногены:

А) А₁

Б) В

В) АВ

Г) О

Д) А₂

Правильный ответ: Б

8.В крови человека II группы крови по системе АВО содержатся агглютинины:

А) альфа

Б) бетта

В) альфа и бетта

Г) О

Д) ни один из указанных

Правильный ответ: Б

9.В крови человека IV группы крови по системе АВО содержатся агглютиногены:

А) А₁

Б) В

В) АВ

Г) А

Д) ни один из указанных

Правильный ответ: В

10.В крови человека II группы крови по системе АВО содержатся агглютиногены:

А) А

Б) В

В) 0

Г) АВ

Д) ни один из указанных

Правильный ответ: А

