



Методы исследования антигенов системы крови

План лекции

- Типирование антигенов системы эритроцитов (ABO, Rh).
- Типирование трансплантационных антигенов лейкоцитов (HLA).
- Типирование антигенов системы тромбоцитов.
- Типирование антигенов плазменных белков крови.
- Клинико-диагностическое значение исследования антигенов системы крови.

Определение групп крови АВО. Актуальность.

Правильность определения групповой принадлежности крови донора и реципиента имеет большое значение в предотвращении посттрансфузионных осложнений гемолитического типа.

Определение групп крови АВО.

Принципы.

Определение группы крови АВ0 проводят:

- по антигенам, содержащимся в исследуемых эритроцитах, в этом случае для исследования используют стандартные изогемагглютинирующие сыворотки или моноклональные антитела;
- по антигенам эритроцитов, содержащимся в исследуемых эритроцитах, и антителам, содержащимся в исследуемой сыворотке крови . В этом случае для исследования используют стандартные изогемагглютинирующие сыворотки или моноклональные антитела, а также стандартные эритроциты групп крови А, В и 0 (перекрестный метод).

Определение групп крови с использованием изогемагглютинирующих сывороток.

Принцип метода.

Заключение о групповой принадлежности делают на основании наличия или отсутствия антигенов А и В на эритроцитах. Для исследования используют стандартные изогемагглютинирующие сыворотки групп **0, А, В, АВ.**

Сыворотку группы АВ используют для контроля только в тех случаях, когда имеется агглютинация со всеми сыворотками

Определение групп крови с использованием изогемагглютинирующих сывороток.

Оснащение.

- стандартные изогемагглютинирующие сыворотки группы крови 0 (анти-А, анти-В); группы крови А (анти-В); группы крови В (анти-А); группы крови АВ (без антител);
- раствор натрия хлорида 0,9%;
- пластинки со смачиваемой поверхностью;
- пипетки;
- стеклянные или пластмассовые палочки.

Определение групп крови с использованием изогемагглютинирующих сывороток.

Порядок проведения исследования.

1. Промаркировать пластинку, для чего указать Ф.И.О. лица, у которого определяют группу крови, а также надписать специфичность изогемагглютинирующих сывороток в порядке их нанесения: 0 (анти-А+В), А (анти-В), В (анти-А).
2. Нанести по одной большой капле (0,1 мл) стандартной сыворотки соответствующей группы. Для исследования используют по две серии сывороток каждой группы.

Определение групп крови с использованием изогемагглютинирующих сывороток.

Порядок проведения исследования.

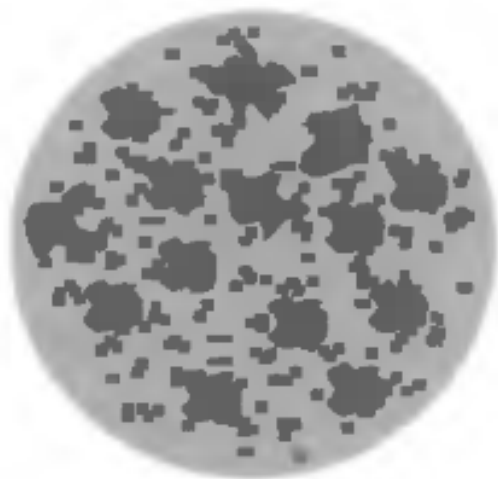
3. Рядом со стандартными сыворотками поместить маленькую каплю (0,01 мл) исследуемой крови.
4. Капли перемешать, наблюдать за ходом реакции, покачивая пластину. Агглютинация обычно наступает на первой минуте наблюдения, однако, результат реакции оценивают через пять минут. Перед чтением результатов в капли, где наступила агглютинация, добавить по 0,05 мл раствора натрия хлорида.

Определение групп крови с использованием изогемагглютинирующих сывороток.

Трактовка результатов реакции.

Реакция агглютинации в каждой капле может быть положительной или отрицательной. При положительной реакции в смеси появляются видимые мелкие агглютинаты, состоящие из эритроцитов, соединенных антителами. Мелкие агглютинаты постепенно сливаются в более крупные. При отрицательной реакции смесь остается равномерно окрашенной в красный цвет без присутствия агглютинатов

Наличие и отсутствие агглютинации эритроцитов при добавлении реагентов



Агглютинация есть



Агглютинации нет
(равномерное окрашивание капли)

Определение групп крови с использованием изогемагглютинирующих сывороток.

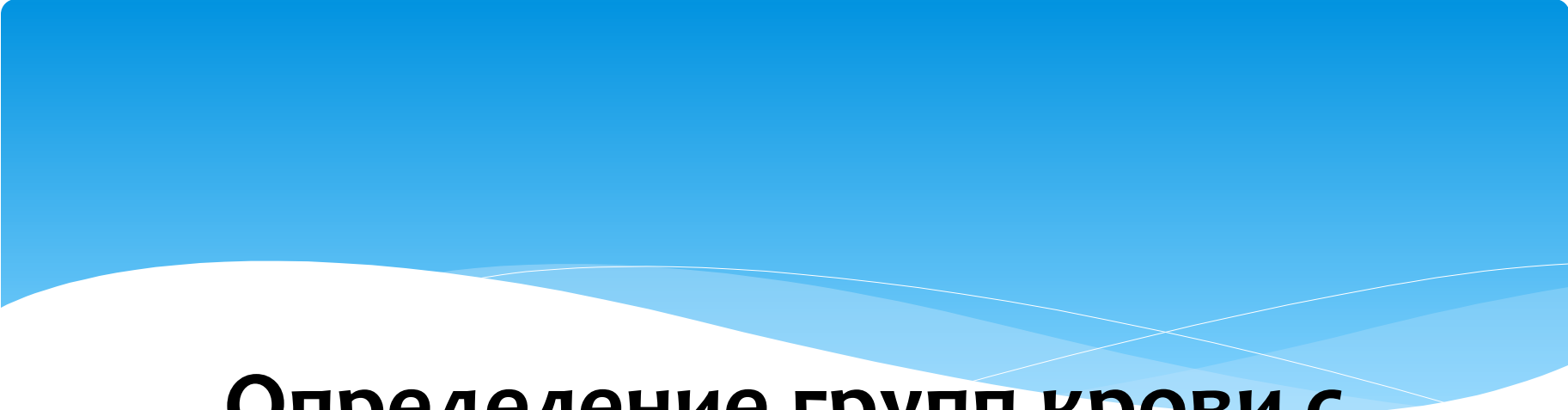
Варианты заключений.

1. Агглютинация отсутствует с сыворотками всех трех групп крови, смесь осталась равномерно окрашенной. Это значит, что исследуемая кровь не содержит антигены А и В, т.е. принадлежит к группе крови 0.
2. Агглютинация наступила с сыворотками групп 0 (анти-А+В) и А (анти-В) и не наступила с сывороткой В (анти-А). Это значит, что исследуемая кровь содержит антиген В и принадлежит к группе крови В.
3. Агглютинация наступила с сыворотками групп 0 (анти-А+В) и В (анти-А) и не появилась с сывороткой А (анти-В). Это значит, что исследуемая кровь содержит антиген А и принадлежит к группе А.

Определение групп крови с использованием изогемагглютинирующих сывороток.

Варианты заключений.

4. Агглютинация наступила с сыворотками трех групп. Это значит, что исследуемая кровь содержит антигены А и В и принадлежит к группе крови АВ. Для исключения неспецифической агглютинации исследуемых эритроцитов проводят дополнительное контрольное исследование с сывороткой АВ группы крови. Для чего необходимо нанести на пластинку большую каплю (0,1 мл) стандартной сыворотки АВ и добавить маленькую каплю исследуемой крови, перемешать и наблюдать за ходом реакции в течение 5 минут. Отсутствие агглютинации свидетельствует об отсутствии неспецифичности исследуемых эритроцитов, что позволяет отнести исследуемую кровь к группе крови АВ.



**Определение групп крови с
использованием цоликлонов (или
моноклональных антител другого
производителя)**

Определение групп крови с использованием цоликлонов.

Оснащение.

- цоликлоны анти-А+В, анти-А, анти-В;
- раствор натрия хлорида 0,9%;
- пластинки со смачиваемой поверхностью;
- пипетки;
- стеклянные или пластмассовые палочки.

Определение групп крови с использованием цоликлонов. Порядок проведения исследования.

1. Отмаркировать секции на пластинке или планшете, указав Ф.И.О. исследуемого лица и специфичность реагента.
2. Нанести по одной большой капле (около 0,1 мл) каждого реагента: анти-А, анти-В и анти-АВ.
3. Нанести по 1 маленькой капле (около 0,03 мл) исследуемой крови (эритроцитов) рядом с каждым реагентом.
4. Смешать отдельными чистыми стеклянными палочками каждую каплю крови (эритроцитов) с соответствующим реагентом.

Определение групп крови с использованием цоликлонов. Порядок проведения исследования.

5. Мягко покачивать пластинку. Несмотря на то, что при использовании стандартных реагентов четкая агглютинация наступает уже в первые секунды, результаты реакции учитывают через 3 минуты после окончания смешивания, чтобы не пропустить слабые варианты антигенов.
6. Записать результаты реакции немедленно после определения

Определение групп крови с использованием цоликлонов.

Интерпретация результатов

Интерпретация результатов реакции агглютинации эритроцитов моноклональными антителами

Результат* реакции с реагентом			Исследуемая кровь принадлежит к группе
Анти-А	Анти-В	Анти-АВ	
-	-	-	0
+	-	+	А
-	+	+	В
+	+	+	АВ

**Знаком плюс обозначено наличие агглютинации, знаком минус- отсутствие.*

Определение групп крови с использованием цоликлонов. Исключение неспецифической агглютинации.

При наличии агглютинации со всеми тремя цоликлонами анти-А, анти-В, анти-АВ необходимо исключить неспецифическую агглютинацию исследуемых эритроцитов. Для чего смешивают на плоскости одну каплю исследуемой крови или эритроцитов с каплей физиологического раствора натрия хлорида. Заключение о принадлежности исследуемой крови к АВ группе крови делают при отсутствии агглютинации эритроцитов в физиологическом растворе.

Определение анти-А, анти-В антител в сыворотке со стандартными эритроцитами. Оснащение.

- стандартные эритроциты 0, А, В;
- раствор натрия хлорида 0,9%;
- пластинки со смачиваемой поверхностью;
- пипетки;
- стеклянные или пластмассовые палочки.

Определение анти-А, анти-В антител в сыворотке со стандартными эритроцитами. Проведение исследования.

1. Приготовить 5% взвесь стандартных эритроцитов в физиологическом растворе.
2. Промаркировать две пробирки, написав Ф.И.О. исследуемого лица. Поместить в пробирки 1 и 2 по две капли исследуемой сыворотки. Исследование можно проводить и на плоскости, описание методики смотри выше в разделе «Определение групповой принадлежности крови с помощью изогемагглютинирующих сывороток перекрестным способом со стандартными эритроцитами».
3. Добавить одну каплю стандартных эритроцитов группы А в пробирку 1 и каплю эритроцитов группы крови В в пробирку 2, тщательно смешать и выдержать при комнатной температуре в течение 5 минут.

Определение анти-А, анти-В антител в сыворотке со стандартными эритроцитами. Проведение исследования.

4. Центрифугировать пробирки при 1500 оборотов в течение 30 секунд.
5. Взболтать мягко содержимое пробирки и оценить результат. Наличие агглютинации определить, просматривая пробирку на свет.
6. Записать результат исследования и сопоставить с результатами определения группы крови по цоликлонам

Определение анти-А, анти-В антител в сыворотке со стандартными эритроцитами. Интерпретация теста.

Интерпретация результатов выявления анти-А, анти-В антител

Результат реакции исследуемой сыворотки с эритроцитами			Сыворотка содержит антитела	Исследуемая кровь принадлежит к группе
А	В	0		
+	+	-	Анти-А и анти-В	0
-	+	-	Анти-В	А
+	-	-	Анти-А	В
-	-	-	нет	AB

**Определение групп крови
перекрестным методом (со
стандартными
изогемагглютинирующими
сыворотками и стандартными
эритроцитами)**

Определение групп крови перекрестным методом. Принцип реакции.

Заклучение о групповой принадлежности делают на основании наличия или отсутствия антигенов А и В на эритроцитах, а также присутствия анти-А и анти-В антител в исследуемой крови. Для исследования используют стандартные изогемагглютинирующие сыворотки групп 0, А, В, АВ, а также стандартные эритроциты групп крови 0, А и В.

Определение групп крови перекрестным методом. Оснащение.

- стандартные изогемагглютинирующие сыворотки групп крови 0 (анти-А, анти-В); А (анти-В); В (анти-А); АВ;
- раствор натрия хлорида 0,9%;
- пластинки со смачиваемой поверхностью;
- пипетки;
- стеклянные или пластмассовые палочки;
- стандартные эритроциты А, В, 0.

Определение групп крови перекрестным методом. Проведение исследования.

1. Промаркировать пластинку, для чего указать Ф.И.О. лица, у которого определяют группу крови, а также надписать специфичность изогемагглютинирующих сывороток в порядке их нанесения: 0 (анти-А+В), А (анти-В), В (анти-А).
2. Нанести по одной большой капле (0,1 мл) стандартной сыворотки соответствующей группы. Для исследования используют по две серии сывороток каждой группы.
3. На нижнюю часть пластинки под соответствующим обозначением нанести по одной маленькой капле (0,01 мл) стандартных эритроцитов 0, А, В.

Определение групп крови перекрестным методом. Проведение исследования.

4. Из пробирки с исследуемой кровью осторожно взять пипеткой сыворотку и поместить по одной большой капле на подготовленные стандартные эритроциты.
5. Этой же пипеткой из пробирки взять исследуемые эритроциты и поместить рядом с каждой каплей стандартных сывороток маленькие капли (0,01 мл) исследуемой крови.

Определение групп крови перекрестным методом. Учет реакции.

Капли перемешать, наблюдать за ходом реакции, покачивая пластину. Агглютинация обычно наступает на первой минуте наблюдения, однако, результат реакции оценивают через пять минут. Перед чтением результатов в капли, где наступила агглютинация, добавить по 0,05 мл раствора натрия хлорида.

Определение групп крови перекрестным методом. Варианты заключений.

**Оценка результатов определения групп крови при помощи
изогемагглютинирующих сывороток и стандартных
эритроцитов**

Сыворотка 0 (анти-A+B)	Сыворотка A (анти-B)	Сыворотка B (анти-A)	Стандартные эритроциты			Исследуемая кровь принадлежит к группе
			0	A	B	
-	-	-	-	+	+	0 (анти-A+B)
+	-	+	-	-	+	A(анти-B)
+	+	-	-	+	-	B(анти-A)
+	+	+	-	-	-	A+B

** Знаком плюс обозначено наличие агглютинации, знаком минус- отсутствие.*



Вопросы?