

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации Кафедра детских болезней педиатрического факультета	Производственная практика по получению профессиональных умений и опыта профессиональной деятельности (помощник процедурной медицинской сестры, научно-исследовательская работа)
--	---

ОЦЕНКА 70 БАЛЛОВ
ВВ САМОХВАЛОВА



Научно-исследовательская работа на тему:
Методика определения группы крови

Выполнил:
Обучающийся 3 курса 5 группы
педиатрического факультета
Сычёв Сергей Александрович

Волгоград 2018г.

Оглавление

Введение	2
Цель научной работы	7
Задачи научно-исследовательской работы	7
Основные определения и понятия	8
Теоретическая часть научно-исследовательской работы	9
Роль медицинского персонала	14
Собственное исследование	15
Выводы	17
Список литературы	18

Введение

АНТИГЕННЫЕ СИСТЕМЫ КРОВИ И ИХ РОЛЬ В ТРАНСФУЗИОЛОГИИ

К настоящему времени известно около 500 антигенов форменных элементов и плазмы крови, из них более 250 - антигены эритроцитов. Антигены связаны в антигенные системы. Их более 40, причём половину составляют системы эритроцитов. В трансфузиологии играют роль клеточные системы. Плазменные системы практического значения не имеют.

В эритроцитах человека содержатся такие системы, как АВ0, Rh-фактор, Келл, Кидд, Лютеран и др. В трансфузиологии основную роль играют системы АВ0 и Rh-фактора. В систему АВ0 входят агглютиногены (антигены) А и В и агглютинины (антитела) α и β . Агглютиногены содержатся в эритроцитах, агглютинины - в сыворотке крови. Одновременное нахождение в крови одноимённых компонентов (А и α , В и β) невозможно, так как их встреча приводит к реакции изогемагглютинации.

Соотношение агглютиногенов А и В и агглютининов и определяет четыре группы крови.

Группа I - I(0): в эритроцитах нет агглютиногена, а имеются агглютинины α и β .

Группа II - II(A): в эритроцитах содержится агглютиноген А, в сыворотке - агглютинин β .

Группа III - III(B): в эритроцитах - агглютиноген В, в сыворотке - агглютинин α .

Группа IV - IV(AB): в эритроцитах содержатся агглютиногены А и В, в сыворотке агглютининов не содержится.

Известны разновидности агглютиногена А - A_1 и A_2 . Соответственно группа II (А) имеет подгруппы II(A_1), II(A_2), а группа IV(AB) - IV(A_1B) и IV(A_2B).

Система Rh-фактора представлена шестью антигенами (D, d, C, c, E, e). У 85% людей в эритроцитах содержится Rh-антиген D, и этих людей считают резус-положительными, 15% людей относятся к резус-отрицательным - в их эритроцитах этого антигена нет. Антиген D обладает наиболее выраженными антигенными свойствами. Если в кровь резусотрицательного человека попадает Rh-антиген (как это может быть при переливании резус-положительной крови или во время беременности резус-отрицательной женщины резус-положительным плодом), в его организме вырабатываются антитела к Rh-фактору. При повторном попадании Rh-антигена в кровь уже сенсibilизированного человека (переливание крови, повторная беременность) развивается иммунный конфликт. У реципиента это проявляется гемотрансфузионной реакцией, вплоть до шока, а у беременных может привести к смерти плода и выкидышу или рождению ребёнка, страдающего гемолитической болезнью.

В лейкоцитах человека, в мембране клеток содержатся те же системы, что и в эритроцитах, а также специфические антигенные комплексы. Всего обнаружено около 70 антигенов, объединённых в ряд систем (HLA, NA-NB и др.), которые в трансфузиологической практике особого значения не имеют. HLA-система лейкоцитов важна при трансплантации органов и тканей. При подборе доноров обязательно учитывают совместимость донора и реципиента по системе АВ0, Rh-фактору и HLA- генному комплексу.

В тромбоцитах человека содержатся те же антигены, что в эритроцитах и лейкоцитах (HLA), локализованные в мембране клеток. Известны также тромбоцитарные антигенные системы Zw, Ko, P1, но в практике трансфузиологии и трансплантологии они не имеют клинического значения.

На поверхности молекул белков плазмы крови обнаружено более 200 антигенов, которые объединены в 10 антигенных комплексов (Ym, Hp, Yc, Tf и т.д.). Для клинической практики имеет значение система Ym, связанная с иммуноглобулинами (Ig). Плазменные антигены в практической трансфузиологии не учитываются.

В крови человека имеются постоянные врождённые антитела (агглютинины α и β), все остальные антитела непостоянны - они могут быть приобретёнными, образовываться в организме в ответ на поступление разных антигенов (например, Rh-фактора) - это изоиммунные антитела. Антигены относятся к холодным антителам, их специфическое действие (агглютинация) проявляется при комнатной температуре; изоиммунные антитела (например, анти-резус)- тепловые, они проявляют своё действие при температуре тела.

Взаимодействие антиген-антитело проходит две стадии (фазы). В первую фазу антитела фиксируются на клетке крови и вызывают склеивание форменных элементов (агглютинация). Присоединение к антиген-антителу комплимента плазмы приводит к образованию комплекса антиген-антитело-комплимент, который лизирует мембрану клеток (эритроцитов), происходит гемолиз.

Антигены крови при трансфузии могут быть причиной её иммунологической несовместимости. Основную роль в этом играют антигены системы АВ0 и Rh-фактор. Если в крови реципиента, которому переливают кровь, встречаются одноимённые антиген, находящийся в

эритроцитах, и антитела, находящиеся в плазме, то происходит агглютинация эритроцитов. То же возможно при одноимённых антигенах и антителах (А и α , В и β), а также Rh-антигене и антирезусных антителах. Для такой реакции должно быть достаточное количество (титр) антител в сыворотке крови. На этом принципе основано **правило Оттенберга**, которое гласит, что агглютинируются эритроциты переливаемой донорской крови, так как агглютинины последней разводятся кровью реципиента и их концентрация не достигает уровня, при котором они могут агглютинировать эритроциты реципиента. По этому правилу всем реципиентам можно переливать кровь 0(I) группы, так как она не содержит агглютиногенов. Реципиентам АВ(IV) группы можно переливать кровь других групп, поскольку она не содержит агглютининов (универсальный реципиент). Однако при переливании большого количества крови (в частности, при массивной кровопотере) поступающие в организм агглютинины переливаемой иногруппной крови могут агглютинировать эритроциты крови хозяина. В связи с этим правило Оттенберга применимо при переливании до 500 мл донорской крови.

Первое переливание резус-положительной крови резус-отрицательному реципиенту, не сенсibilизированному ранее, может протекать без явлений несовместимости, но приведёт к образованию антител. Переливание резус-отрицательной женщине, сенсibilизированной во время беременности резус-положительным плодом, приведёт к резус-несовместимости. При переливании резус-отрицательной крови резусположительным реципиентам не исключается выработка антител на слабые антигены системы Rh-фактора, содержащиеся в переливаемой крови.

Лица с резус-отрицательной кровью одновременно являются положительными по Rh-антигену, это следует учитывать при переливании резус-отрицательной крови резус-положительному реципиенту, так как можно вызвать сенсibilизацию реципиента и создать опасность посттрансфузионных осложнений, если реципиент резус-отрицательный. В связи с этим для переливания следует использовать кровь, строго одноимённую по Rh-фактору, с учётом пробы на резус-совместимость крови донора и реципиента.

Переливание плазмы проводят с учётом групповой (ABO) принадлежности крови. В экстремальных ситуациях возможно переливание плазмы AB(IV) всем реципиентам, плазмы A(II) и B(III) - реципиентам 0(I) группы. Плазму 0(I) переливают реципиентам той же группы крови.

В соответствии с современным правилом трансфузиологии необходимо переливать только одногруппную (по системе ABO) и однорезусную кровь.

При экстремальных ситуациях можно перелить кровь универсального донора, воспользоваться правилом Оттенберга или перелить резус-положительную кровь в объёме не более 500 мл. Но это абсолютно недопустимо у детей.

Цель научной работы

Изучить методы определения групп крови.

Задачи научно-исследовательской работы

1. Разработать алгоритм определения группы крови.
2. Провести сравнительный анализ существующих техник.

Основные определения и понятия

Группа крови — описание индивидуальных антигенных характеристик эритроцитов, определяемое с помощью методов идентификации специфических групп углеводов и белков, включённых в мембраны эритроцитов.

Резус-фактор — это врожденное групповое свойство эритроцитов человека, обусловленное присутствием в них антигенов резус.

Правило Оттенберга - можно переливать кровь, эритроциты которой не могут быть агглютинированы сывороткой реципиента.

Теоретическая часть научно-исследовательской работы

Для определения групповой принадлежности крови необходимо следующее оснащение: два комплекта стандартных гемагглютинирующих сывороток I(0), II(A), III (B) групп двух различных серий и одна ампула сыворотки IV(AB) (в каждую ампулу с сывороткой опускают сухую чистую пипетку), флакон с изотоническим раствором хлорида натрия с пипеткой, чисто вымытая сухая тарелка, предметные стекла, стерильные копьевидные иглы для прокола кожи пальца, стерильные марлевые шарики, спирт.

Определение проводят в помещении с хорошим освещением, при температуре от 15 до 25 ° С.

Каждая ампула стандартной сыворотки должна иметь паспорт-этикетку с указанием группы крови, номера серии, титра, срока годности, места изготовления. Ампулой без этикетки пользоваться запрещается.

Стандартные сыворотки для определения группы крови по системе АВ0 выпускают с определённой цветовой маркировкой: I(0) - бесцветная, II (A) - голубая, III (B) - красная, IV(AB) - жёлтая. Маркировка имеется на этикетке в виде цветных полос: на этикетке сыворотки I(0) полос нет, сыворотки II (A) - две полосы синего цвета, сыворотки III (B) - три полосы красного цвета и сыворотки IV(AB) - четыре полосы жёлтого цвета. Сыворотки хранят при температуре 4-10 ° С. Сыворотка должна быть светлой и прозрачной, ампула - сохранной. Наличие хлопьев, осадка, помутнения являются признаками непригодности сыворотки. Титр сыворотки должен быть не менее 1:32, активность - высокая: первые признаки агглютинации должны появляться не позднее чем через 30 с. Сыворотки с истекшим сроком хранения к использованию непригодны.

Тарелку делят цветным карандашом на четыре квадрата и в направлении по часовой стрелке обозначают квадраты I(0), II (A), III (B). В соответствующий квадрат тарелки пипеткой наносят крупную каплю сыворотки двух серий I(0), II (A), III (B) групп. Подушечку пальца обрабатывают спиртом и делают прокол кожи иглой-копьем. Первую каплю крови снимают марлевым шариком, последующие капли разными уголками предметного стекла вносят последовательно в капли сыворотки и тщательно размешивают. Капля вносимой крови должна быть в 5-10 раз меньше капли сыворотки.

Затем путём покачивания тарелки тщательно перемешивают кровь с сывороткой. Предварительные результаты оценивают через 3 мин, после чего добавляют каплю изотонического раствора хлорида натрия, вновь смешивают путём покачивания тарелки и через 5 мин проводят окончательную оценку реакции агглютинации.

При положительной реакции изогемагглютинации хлопья и зёрнышки из склеившихся эритроцитов не расходятся при добавлении изотонического раствора хлорида натрия и перемешивании. При отрицательной реакции капли сыворотки на тарелке прозрачные, равномерно розового цвета, не содержат хлопьев и зёрен.

Возможны следующие четыре комбинации реакций агглютинации со стандартными сыворотками I(0), II(A), III(B) групп.

1. Все три сыворотки в обеих сериях не дают агглютинации. Исследуемая кровь - I(0) группы.
2. Реакция изогемагглютинации отрицательная с сывороткой II(A) группы обеих серий и положительная с сыворотками I(0) и III(B) групп. Исследуемая кровь - II(A) группы.
3. Реакция изогемагглютинации отрицательная с сывороткой III(B) группы в обеих сериях и положительная с сывороткой I(0) и III(A) групп. Исследуемая кровь - III(B) группы.
4. Сыворотки I(0), II(A), III(B) групп дают положительную реакцию в обеих сериях. Кровь принадлежит к IV(AB) группе. Но прежде чем дать такое заключение, необходимо провести реакцию изогемагглютинации со стандартной сывороткой IV(AB) группы по той же методике. Отрицательная реакция изогемагглютинации позволяет окончательно отнести исследуемую кровь к IV(AB) группе.

Выявление других комбинаций свидетельствует о неправильном определении групповой принадлежности крови больного.

Сведения о группе крови больного вносят в историю болезни, делают соответствующую отметку на титульном листе за подписью врача, проводившего исследование, с указанием даты исследования.

Ошибки при определении групповой принадлежности крови возможны в ситуациях, когда при фактическом наличии агглютинации она не выявляется или, наоборот, выявляется агглютинация при её фактическом отсутствии.

Невыявленная агглютинация может быть обусловлена: 1) слабой активностью стандартной сыворотки или низкой агглютинабельностью эритроцитов; 2) избыточным количеством исследуемой крови, добавляемой к стандартной сыворотке; 3) замедленной реакцией агглютинации при высокой температуре окружающей среды.

Чтобы избежать ошибок, необходимо использовать активные, с достаточно высоким титром сыворотки при соотношении объёма исследуемой крови и стандартной сыворотки 1:5, 1:10. Исследование проводят при температуре не выше 25 ° С, оценивать результаты следует не ранее чем через 5 мин от начала исследования.

Выявление агглютинации при её фактическом отсутствии может быть обусловлено подсыханием капли сыворотки и образованием «монетных» столбиков эритроцитов или проявлением холодовой агглютинации, если исследование проводят при температуре окружающей среды ниже 15 ° С. Добавление капли изотонического раствора хлорида натрия к исследуемой крови и сыворотке и проведение исследований при температуре выше 15 ° С позволяют избежать указанных ошибок.

Определение группы крови системы АВ0 по стандартным отмытым эритроцитам с известной групповой принадлежностью

Из вены больного берут 3-4 мл крови в пробирку и центрифугируют. На тарелку, разделённую на секторы, наносят соответственно надписям по капле сыворотки, к которой добавляют каплю стандартных эритроцитов в 5 раз меньше капли исследуемой сыворотки, перемешивают капли углом предметного стекла, покачивают тарелку в течение 3 мин, затем добавляют по капле изотонического раствора хлорида натрия, продолжают смешивать покачиванием и через 5 мин оценивают результаты.

Возможны четыре варианта реакции агглютинации.

1. Агглютинация отсутствует с эритроцитами I(0) группы и определяется с эритроцитами II(A) и III(B) групп - исследуемая кровь I(0) группы.
2. Агглютинация отсутствует с эритроцитами I(0) и II(A) групп и определяется с эритроцитами III(B) группы - исследуемая кровь II(A) группы.
3. Агглютинация отсутствует с эритроцитами I(0) и III(B) групп и определяется с эритроцитами II (A) группы - исследуемая кровь III(B) группы.
4. Агглютинация отсутствует с эритроцитами I(0), II(A), III(B) групп - исследуемая кровь I V(AB) группы.

Определение Rh-фактора

Исследование крови на резус-принадлежность методом конглютинации проводят с помощью специальных сывороток анти-Rh в лабораторных условиях. Предварительно определяют групповую принадлежность (по системе АВ0).

Оснащение: две различные серии стандартных сывороток анти-Rh, соответствующих групповой принадлежности определяемой крови, или совместимые в групповом отношении стандартные отмытые одноклеточные резус-положительные и резус-отрицательные эритроциты, чашка Петри, водяная баня, пипетки для сывороток, предметные стёкла или стеклянные палочки.

На чашку Петри наносят подряд три большие капли сыворотки анти- Rh одной серии и параллельно - три капли сыворотки другой серии, получая два горизонтальных ряда сывороток. Затем в первый вертикальный ряд сывороток обеих серий вносят по небольшой капле исследуемой крови (соотношение сыворотки и крови 10:1 или 5:1), в средний ряд - по такой же капле стандартных резус-положительных эритроцитов (контроль активности), в третий ряд - резус-отрицательные стандартные эритроциты (контроль специфичности). Отдельной для каждой капли стеклянной палочкой или углом предметного стекла тщательно перемешивают сыворотку и эритроциты, чашки закрывают крышкой и помещают на водяную баню при температуре 46-48 °С.

Спустя 10 мин учитывают результат, просматривая чашку в проходящем свете. В капле со стандартными резус-положительными эритроцитами должна быть агглютинация, с резус-отрицательными она отсутствует. Если в каплях обеих серий сывороток с исследуемыми эритроцитами определяется агглютинация - кровь резус-положительная, если она отсутствует - кровь резус-отрицательная.

Следует помнить о том, что добавлять изотонический раствор хлорида натрия в каплю сыворотки, как это принято при определении групповой принадлежности крови по системе АВ0 с помощью стандартных сывороток, категорически запрещено, так как это может нарушить реакцию агглютинации.

Ошибки при определении Rh-фактора могут быть обусловлены снижением активности стандартных сывороток анти-Rh, нарушением пропорции сыворотка / кровь, несоблюдением температурного режима при исследовании, уменьшением времени экспозиции (менее 10 мин), добавлением изотонического раствора хлорида натрия, отсутствием контрольных проб на активность и специфичность сыворотки, групповыми несоответствиями стандартных сывороток и исследуемых и стандартных эритроцитов.

Для **экспресс-метода** определения Rh-фактора используют специальный реагент - сыворотку анти-Rh IV(AB) группы, разведённую 20-30% раствором альбумина человека или 30-33% раствором декстрана [ср. мол. масса 50 000-70 000], используемого как вещество, способствующее агрегации эритроцитов при комнатной температуре.

Каплю стандартной сыворотки анти-Rh IV(AB) группы наносят на предметное стекло или чашку Петри и параллельно наносят каплю резус-отрицательной сыворотки I V(AB) группы, не содержащей антител. К ним добавляют в 2-3 раза меньшего объёма каплю исследуемой крови, перемешивают углом предметного стекла, стеклянной палочкой или путём покачивания в течение 3-4 мин, после чего добавляют по 1 капле изотонического раствора хлорида натрия и по истечении 5 мин учитывают реакцию. При наличии агглютинации эритроцитов с сывороткой анти-Rh и отсутствии её с контрольной сывороткой кровь резус-положительная, при отсутствии агглютинации с обеими сыворотками - резус-отрицательная.

Роль медицинского персонала при определении группы крови

1. У реципиента определяют группу крови и Rh-принадлежность. Определение группы крови производится в процедурном кабинете, это врачебная процедура. Медицинская сестра готовит набор для определения группы крови: 2 серии стандартных сывороток трёх групп или цоликлоны. Роль медицинской сестры в профилактике ошибочного определения группы крови – потенциально опасной для жизни больного ситуации.

Группа крови определяется из пальца, при температуре = $15 - 25^{\circ}$, ждут результат в течении 5 минут, к концу 5 минуты добавляют физиологический раствор для предотвращения ложной гемагглютинации.

1. Определяют группу крови и Rh-фактор у донора во флаконе.
2. Врач проводит индивидуальную и резус - совместимость
3. Медицинская сестра в присутствии врача проводит биологическую пробу.

Собственное исследование

Находясь на практике в Детская клиническая поликлиника № 15 забор крови осуществляются медицинской сестрой в процедурном кабинете и отправляется в лабораторию.

Техника определения групп крови:

1. Наносят на пластину или планшет индивидуальными пипетками цоликлоны анти-А, анти-В и анти-АВ по одной большой капле (0,1 мл) под соответствующими надписями.
2. Рядом с каплями антител наносят по одной маленькой капле исследуемой крови (0,01 — 0,03 мл).
3. Смешивают кровь с реагентом, покачивая планшет.
4. Наблюдают за ходом реакции с цоликлонами визуально при легком покачивании планшета в течение 3 минут. Агглютинация эритроцитов с цоликлонами обычно наступает в первые 3 — 5 секунд, но наблюдение следует вести 3 минуты ввиду более позднего появления агглютинации с эритроцитами, содержащими слабые разновидности антигенов А или В.
5. Результат реакции в каждой капле может быть положительным или отрицательным. Положительный результат выражается в агглютинации (склеивании) эритроцитов. Агглютинаты видны в виде мелких красных агрегатов, быстро смешивающихся в крупные хлопья. При отрицательной реакции капля остается равномерно окрашенной в красный цвет, агглютинаты в ней не обнаруживаются.
6. Интерпретация результатов реакции агглютинации с цоликлонами представлена :

Группа исследуемой крови	Стандартные эритроциты		
	Анти-А	Анти-В	Анти-АВ
0(I)	-	-	-
A(II)	+	-	+
B(III)	-	+	+
AB(IV)	+	+	+

Примечание: знаком (+) обозначено наличие агглютинации, знаком (-) — ее отсутствие

При положительном результате реакции агглютинации со всеми тремя цоликлонами необходимо исключить спонтанную неспецифическую агглютинацию исследуемых эритроцитов. Для этого смешивают на плоскости 1 каплю исследуемых эритроцитов с каплей физиологического раствора. Кровь можно отнести к группе АВ(IV) только при отсутствии агглютинации эритроцитов в физиологическом растворе.

Вывод

Широкое применение групп крови в различных областях медицины и биологии обусловлено:

- а) простым и легко воспроизводимым способом получения материала для обследования отдельных лиц, семей;
- б) стабильностью (за редким исключением) групповых факторов;
- в) относительно простым способом установления порядка наследования групповых антигенов;
- г) воспроизводимостью результатов исследования независимо от субъективных критериев в их оценке.

В долгой истории развития генетической науки едва ли найдется еще одно открытие, равное по своему научному и практическому значению открытию в крови человека групп крови системы резус. Области биологии и медицины, в которых уже сейчас практически используются научные данные об этой чрезвычайно сложной и полиморфной генетической системе, весьма широки и разнообразны. С этой точки зрения, система резус представляет интерес не только для генетиков, но и для иммунологов и серологов, акушеров-гинекологов и педиатров, гемотрансфузиологов, антропологов и судебных медиков.

Список литературы

1. Аббясов И.Х., Двойников С.И., Карасева Л.А. и др. Основы сестринского дела. Под редакцией Двойникова С.И. М.: Академия, 2013. – 336 с.
2. Мещанкина Е.В. Медсестра в профилактике ВБИ. Сестринское дело № 3, 2013. с. 38-39.
3. О. Прокоп, В. Гелер. Группы крови человека. М.: Медицина, 2007
4. Медицинская сестра: Практическое руководство по сестринскому делу. - М.: Гиорд, 2016.
5. Тоблер, Р. Основные медсестринские процедуры / Р. Тоблер. - М.: Медицина, 2015

Рецензия

на научно-исследовательскую работу, предусмотренная программой практики «Производственная практика по получению профессиональных умений и опыта профессиональной деятельности (помощник процедурной медицинской сестры, научно-исследовательская работа)» обучающегося 3 курса по специальности 31.05.02 Педиатрия

Сытев Сергей Александрович 5 группы

Работа выполнена на соответствующем требованиям программы практики методологическом уровне. Автором поставлена конкретная, достижимая к выполнению цель исследования. Задачи позволяют полностью достичь поставленной цели. Автором проанализированы основные источники литературы по данной теме.

В ходе проведённого анализа выявлены не принципиальные недостатки.

Все разделы отражают вопросы по решению задач, поставленных в работе.

Автор демонстрирует низкое знание современного состояния изучаемой проблемы.

Обзор литературы основан на анализе нескольких литературных источников, отражает актуальные проблемы изучаемой области медицины.

Объем и глубина литературного обзора указывают на низкий уровень знаний автора об исследуемой проблеме.

Последовательность изложения соответствует поставленным задачам. В обсуждении результатов исследования подведены итоги работы. Сформулированные выводы вытекают из имеющихся данных. Работа написана простым языком, материалы изложены несвязно. В целом работа заслуживает положительной оценки.

Фактический материал недостаточно обширен.

Выводы соответствуют полученным результатам, анализ недостаточно глубокий.

Работа представляет собой завершённое научное исследование.

Руководитель практики:



В.В. Самохвалова