Министерство образования и науки Украины

НТУ «ХПИ»

Кафедра промышленной и биомедицинской электроники

Лабораторная работа

По дисциплине: «Медицинская диагностика»

«**Определение группы крови и резус-фактора**»

Подготовила:

студентка

группы ЭМС 47-в

Демидова Евгения

Приняла:

Бархоткина Т.М.

Харьков 2012

**Определение групп крови**

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

В мембране эритроцитов человека содержится более 300 различных антигенных детерминант, молекулярное строение которых закодировано соответствующими генными аллелями хромосомных локусов. Количество таких аллелей и локусов в настоящее время точно не установлено.

Термин «группа крови» характеризует системы эритроцитарных антигенов, контролируемых определенными локусами, содержащими различное число аллельных генов, таких, например, как A, B и 0 в системе AB0. Термин «тип крови» отражает её антигенный фенотип (полный антигенный «портрет», или антигенный профиль) - совокупность всех групповых антигенных характеристик крови, серологическое выражение всего комплекса наследуемых генов группы крови(смотри рисунок 1).

Группу крови можно назвать идентификатором личности, так как она не изменяется, как и отпечатки пальцев. Самым главным является то, что различие между всеми людьми нашей планеты состоит не в этническом происхождении, а в составе крови.



Рисунок 1 ‒ Графическое изображение групп крови человека

Две важнейшие классификации группы крови человека - это *система AB0* и *резус-система*.

Известно также 46 классов других антигенов, из которых большинство встречается гораздо реже, чем AB0 и резус-фактор.

Под группами крови АВО понимают различные сочетания антигенов (агглютиногенов), находящихся в эритроцитах, и антител по отношению к ним (агглютининов), находящихся в плазме крови.

Существуют два групповых агглютиногена - А и В и два агглютинина - ά и β. Разные сочетания данных антигенов и антител образуют четыре группы крови: Оάβ (I), Аβ (II), Вά (III), АВо (IV).

Для установления группы крови используют стандартные сыворотки, содержащие определенный титр агглютининов или цоликлоны.

***Использование стандартных сывороток***. Для работы необходимы: стандартные сыворотки крови групп О (I), А (II) и В (III), двух различных серий для каждой группы; изотонический раствор натрия хлорида; белая пластина со смачиваемой поверхностью; пипетки; стеклянные палочки.

Результаты реакций с сыворотками трех групп О (I), А (II), В (III) могут давать четыре различные комбинации положительных и отрицательных реакций (см.табл.1).

**Ход работы**

Под соответствующим обозначением группы крови на пластину нанести по одной капле стандартной сыворотки групп О,А,В. Стандартные сыворотки берут двух различных серий для каждой группы, поэтому всего получится шесть капель, которые образуют два ряда. Рядом с каждой каплей сыворотки нанести по капле крови. Затем перемешать сухой стеклянной палочкой сыворотку и кровь. Причем для каждой пары (капля сыворотки и капля крови) необходимо использовать свою палочку. После перемешивания пластину необходимо покачать и оставить на 1-2 минуты в покое. В течение 3-5 минут наблюдать за ходом реакции изогемагглютинации. После полного наступления агглютинации добавить к смеси эритроцитов с сывороткой по капле изотонического раствора и перемешайте. Реакция изогемагглютинации может быть положительной или отрицательной. Результаты реакций в каплях с сыворотками одной и той же группы, но разных серий должны совпадать. При наличии агглютинации с сыворотками всех трех групп провести дополнительное исследование с сывороткой группы АВ для исключения агглютинации, вызванной антиэритроцитарными аутоантителами. Результат должен быть отрицательный!



Рисунок 2 Графическое изображение реакции агглютинации в зависимости от группы крови

группа кровь резус агглютиноген агглютинин

Так как агглютинация произошла в двух местах: в емкостях с сывороткой О и сывороткой В. Из этого следует, что в данной крови отсутствует антиген А. Следовательно, при проведении опытов выяснилось, что кровь имеет вторую группу.

Таблица 1 ‒ Интерпритация результатов определения группы крови системы АВО с использованием стандартных сывороток

|  |  |
| --- | --- |
| Результат реакции с сывороткой группы | Исследуемая кровь принадлежит группе |
| О | А | В | - |  |
| - | - | - |  | О (I) |
| + | - | + |  | А (II) |
| + | + | - |  | В (III) |
| + | + | + |  | АВ (IV) |

**Использование цоликлонов**

В клинической практике определяют группы крови с помощью моноклональных антител. При этом эритроциты испытуемого смешивают на тарелке или белой пластинке с каплей стандартных моноклональных антител (цоликлоны анти-А и цоликлоны анти-B, а при нечеткой агглютинации и при AB(IV) группе исследуемой крови добавляют для контроля каплю изотонического раствора. Результат реакции оценивают через три минуты.

Цоликлоны анти-А и анти-В предназначены для определения группы крови системы АВО человека вместо стандартных гемагглютинирующих сывороток. Определение группы крови при помощи цоликлонов анти-А и анти-В позволяет выявить наличие антигенов (агглютиногенов) А и В. Наличие антител (агглютининов) ά и β определяется в плазме исследуемой крови стандартными эритроцитами.

Цоликлоны анти-А анти-В являются продуктом гибридомных клеточных линий, полученных в результате слияния мышиных антителообразующих В-лимфоцитов с клетками мышиной миеломы. Цоликлоны не содержат антител иной специфичности и поэтому не вызывают неспецифической полиагглютинации эритроцитов. Время наступления реакции агглютинации и ее выраженность у цоликлонов выше, чем у гемагглютинирущих АВО-сывороток.

Для работы необходимы: цоликлоны анти-А, анти-В и анти-АВ; белая пластина (планшет) со смачиваемой поверхностью; пипетки; стеклянные палочки.

Таблица 2 ‒ Интерпретация результатов определения группы крови системы АВО с использованием цоликлонов

|  |  |
| --- | --- |
| Результат реакции с цоликлоном | Группа исследуемой крови |
| Анти-А  | Анти-В | Анти-АВ |  |
| - | - | - | О (I) |
| + | - | + | А (II) |
| - | + | + |  В (III) |
|  + | + | + | АВ (IV) |

**Определение резус-фактора**

**Резус-фактор**, или **резус**, **Rh** - одна из 30 систем групп крови, признаваемых в настоящее время Международным обществом переливания крови. После системы ABO она клинически наиболее важна. Система резуса на сегодняшний день состоит из 50 определяемых группой крови антигенов, среди которых наиболее важны 5 антигенов: D, C, c, E и e. Часто используемые термины «резус-фактор», «отрицательный резус-фактор» и «положительный резус-фактор» относятся только к антигену D.

Индивидуально в зависимости от человека на поверхности красных кровяных телец может присутствовать или отсутствовать «резус-фактор». Этот термин относится только к более имунногенному антигену D резус-фактора системы группы крови или к отрицательному резус-фактору системы группы крови. Как правило, статус обозначают суффиксом Rh+ для положительного резус-фактора (имеющий антиген D) или отрицательный резус-фактор (Rh-, не имеющий антигена D) после обозначения группы крови по системе ABO. Тем не менее, другие антигены этой системы группы крови также являются клинически значимыми. Эти антигены указаны в списке. В отличие от группы крови ABО, иммунизация против резуса в общем случае может иметь место только при переливании крови или плацентарном воздействии во время беременности.

Определение резус-фактора заключается в выявлении в эритроцитах крови человека наличия или отсутствия особого белка (антигена), названного резус-фактором. Наибольшей активностью обладает антиген D, поэтому именно его определение имеет важное значение. Группы крови, в которых содержится антиген Rh (D), условно принято считать резус-положительными (Rh+), а группы крови, не содержащие антигена Rh(D), - резус-отрицательными (Rh-). Для определения резус-фактора в настоящее время используют стандартную сыворотку, содержащую определенный титр агглютининов или цоликлон анти-D.

**Использование стандартных сывороток**

**Ход работы.**

На белую планшетку нанести по капле стандартной сыворотки двух разных серий и по капле крови. Смешать. Планшетку покачать в течение 3 минут. Затем добавить одну каплю изотонического раствора и через 2-3 минуты оценить реакцию. Она может быть положительной: появление агглютинатов говорит о том, что кровь содержит резус-фактор. В этом случае кровь называют резус-положительной. Если же агглютинаты отсутствуют, то кровь называют резус-отрицательной, так как в ней не содержится резус-фактор.

В данном опыте после смешивания реагентов произошла реакция, которая подтверждает, что кровь содержит резус-фактор. То есть иными словами, исследуемая кровь резус-положительная.

**Использование цоликлонов**

Действующим началом цоликлона анти-D являются антитела, принадлежащие к классу иммуноглобулинов М. Они вызывают прямую агглютинацию эритроцитов, содержащих резус-фактор. Оценка реакции производится аналогично оценки реакции со стандартными сыворотками.

**Выводы**

В данной лабораторной работе были сделаны исследования по определению группы крови. В данном случае группа крови определялась с помощью стандартных сывороток. В кровь были добавлены 3 сыворотки, и агглютинация произошла в двух местах: в емкостях с сывороткой 0 и сывороткой В. Из этого следует, что в данной крови отсутствует антиген А. Следовательно, при проведении опытов стало понятно, что кровь имеет вторую группу.

Далее был проделан опыт по определению резус-фактора. И после смешивания реагентов произошла реакция, которая подтверждает, что кровь содержит резус-фактор. То есть иными словами, исследуемая кровь резус-положительная.