

УДК 612.118.221.2.087

В. Ф. Мислицький**О. Г. Чернюх****М. В. Дікал****І. В. Лопушинська****М. Д. Перепелюк**

АНАЛІЗ МОЖЛИВИХ НЕДОЛІКІВ ПРИ ВИЗНАЧЕННІ ГРУП КРОВІ ЗА СИСТЕМОЮ АВ0

Буковинський державний медичний
університет, ¹ - міський клінічний
пологовий будинок №1, м. Чернівці

Ключові слова: АВ0, групові
цоліклони, аглютинація.

Резюме. Показано необхідність використання декількох методик щодо визначення груп крові за системою АВ0 із метою своєчасного виявлення помилок щодо підгруп та «дефектних» груп крові; чіткого виконання алгоритму процедури визначення за умов високої кваліфікації персоналу та комфортних умов у приміщенні лабораторії. Проаналізовано важливість співпраці лабораторій різних рангів та відомств.

Вступ

На сьогоднішній час встановлено, що антигенна структура людської крові складна, позаяк усі форменні елементи (еритроцитарні, лейкоцитарні, тромбоцитарні) та білки плазми крові різних людей відрізняються за складом антигенів. Відомо біля 500 антигенів крові, що утворюють близько 40 різноманітних антигенних систем [2,6].

Групи крові людини — це система еритроцитарних антигенів, які за хімічною природою є олігосахаридними структурами, пов'язаними з білками цитомембрани еритроцитів і здатні викликати не тільки утворення специфічних антитіл але й взаємодіяти з ними. Антигенна структура еритроцитів (фенотип) є генетично визначеною (генотип). Характерною властивістю групових антигенів є стимуляції ними продукування відповідних до них антитіл у людей, які їх не мають. У трансфузіологічній серології розрізняють два типи групових антитіл: природні та імунні [5, 3].

Відомо більше 250 еритроцитарних антигенів, які утворюють понад 20 антигенних систем. З них клінічне значення мають 13 систем: АВ0, резус-фактор (Rh-Hr), Келл (Kell), Даффі (Duffy), MNSs, Кідді (Kidd), Левіс (Lewis), Лютеран (Lutheran), Р, Дієго (Diego), Аубергер (Auberger), Домброк (Dombrock) і Ай (I) [2, 4]. Перші п'ять фенотипів, набрані курсивом, найчастіше зустрічаються у європеоїдів.

Визначення групи крові та резус-фактор є необхідною умовою обстеження пацієнта відділень, де проводяться оперативні втручання, гемотрансфузійні процедури, алотрансплантації. Проведення такого аналізу є особливо важливим для вагітних жінок із метою виключення та попередження ускладнень групового та резусного конфлікту між організмами матері та плоду, а також у разі рапто-

вої масової крововтрати в період фізіологічних пологів або кесаревого розтину [1, 6, 7].

У трансфузіології основне значення мають антигенні системи АВ0 і Rh-фактору. У залежності від комбінації антигенів А і В в еритроцитах і антитіл α і β у сироватці, кров усіх людей розподіляється на чотири групи. Роль Rh-фактору при гемотрансфузії дуже важлива, помилки при визначенні його призводять до розвитку резус-конфлікту, виникають тяжкі ускладнення, а іноді й смерть.

Мета дослідження

Показати необхідність використання трьох методичних підходів одночасно для визначення групової приналежності (стандартних сироваток, стандартних еритроцитів, моноклональних антитіл (МК) із метою завчасного виявлення підгруп крові, сумнівних та «дефектних» груп.

Матеріал і методи

Групова приналежність крові пацієнтів досліджувалася реакцією аглютинації за допомогою реактивів: 1) стандартними сироватками 0(I), А(II), В(III) двох різних серій кожної групи і стандартною сироваткою групи АВ(IV) однієї серії; 2) стандартними еритроцитами; 3) моноклональними антитілами (цоліклони анти-А, анти-В та анти-АВ).

Стандартні сироватки та еритроцити для визначення груп крові виготовляли в лабораторії при установі служби крові Чернівецького обласного центру служби крові (ЧОЦСК).

На всіх реагентах вказані серія, термін придатності та зазначено титр антитіл (для сироваток, що ізогомаглютинують). Стандартні еритроцити готували з крові донорів (згідно інструкції щодо забору і обліку крові, яку отримують від донорів, малими дозами, для приготування стандартних еритро-

цитів). Моноклональні антитіла – еритротест-цоліклони виробництва Російської Федерації, м. Москва «Гематолог», які сертифіковані на території України.

Визначення Rh-фактору проводилось анти-Rh₀(D) IgM моно-клональним реагентом фірми «Гематолог».

Забір крові для дослідження виконували в спеціалізованих маніпуляційних кабінетах. Цільну венозну кров на дослідження групової та резусної приналежності доставляли в лабораторію в пробірках із вказаним на них прізвищем та ініціалами пацієнта з супровідним направленням.

Дослідження проведено на базі лабораторії відділення анестезіології, і з ліжками для палат інтенсивної терапії, міського клінічного пологового будинку №1. Штат лабораторії проводив указані обстеження щодо визначення групи та резус-фактору з наступним записом результатів у спеціальний журнал та видачею результату на бланку, але без занесення їх у вигляді штамп. Згідно функціональних обов'язків лабораторія існує для підтвердження групи крові, а не для її первинного визначення.

Визначення групи крові та Rh-фактору проводилося кваліфікованим персоналом: лікарями-лаборантами та лаборантами з середнім спеціальним рівнем освіти, які пройшли стажування на базі лабораторії ЧОЦСК.

Дослідження щодо визначення групи та Rh-фактору проводилося згідно наказу №164, Міністерства охорони здоров'я України від 05.07.1999 р. «Про затвердження інструкцій, регламентуючих діяльність закладів служби крові України», а саме «Інструкція з визначення груп крові за системами АВ0 та резус» [8].

Після видачі результатів кров пацієнтів зберігалася у холодильнику, при температурі +2° – +8°С, впродовж трьох діб.

Обговорення результатів дослідження

Специфіка роботи пологового будинку та гінекологічних відділень вимагає від лабораторії не тільки таких першочергових аналізів як рівень життєво необхідних показників пацієнта (загального білка крові, гемоглобіну, глюкози та ін.), а й визначення групи крові та резус-фактору у зв'язку з високою частотою проведення гемотрансфузій.

Але вже декілька років поспіль лабораторія перевизначає всі групи крові, дублює аналізи навіть у пацієнтів, які мають цей аналіз у вигляді штамп у облікових медичних документах. Це проводиться для того, щоб виключити можливі «форс-мажорні» обставини при оперативних втручаннях та гемотрансфузійних процедурах, у разі раптової масивної кровотечі.

Співвідношення загальної кількості аналізів та аналізів щодо визначення групи крові та резус-фактору представлена в таблиці 1.

Як видно з таблиці 1 впродовж останніх двох років кількість груп та резус обстежень сягала більше трьох тисяч одиниць, тобто біля дев'яти обстежень у середньому, в розрахунку на одну добу.

За період 2012 року було виявлено 32 випадки невідповідності групи крові та два випадки невідповідності Rh-фактору в пацієнток МКПБ №1. Усі ці сумнівні аналізи направлялися для уточнення до ЧОЦСК в ургентному чи плановому порядку.

Згідно таблиці 2 кількість таких сумнівних груп (група видається без права занесення в історію хвороби) є досить незначною. Але за кожним таким показником стоїть життя матері та майбутньої дитини.

Аналіз таких груп показав, що в більшості випадків (94%) сумніви виникають при диференціації А(II), В (III) та АВ (IV) груп крові і лише в 6% стосуються 0 (I) групи.

Як правило плутанина між 0(I) та іншими групами – це результат використання лише однієї методики, прострочених реагентів і навіть звичайна неуважність, що призводить інколи до небажаних результатів.

Так, на обліку в жіночій консультації перших два триместри вагітності була жінка з А(II) групою крові; при плановому обстеженні жінки у відділенні патології вагітних міського клінічного пологового будинку №1: біохімічні аналізи, показники згортальної системи та групова і резус приналежність, без сумніву було виявлено 0(I) групу крові і підтверджено лабораторією ЧОЦСК. Небезпека полягала в зростанні титру гемолізину, які не корегувалися. Дитина в матері з псевдо А(II) групою крові народилася з показником загального білірубину значно вище норми (120 мкмоль/л при нормі до 70 мкмоль/л), тому було проведено заміне переливання крові немовляті. Цим ускладненням можна було запобігти, якби при первинному визначенні групи крові не було допущено помилки.

До речі, було виявлено три групи, які на станції переливання крові були підтверджені як «дефектні», з вимогою повторної здачі крові пацієнтом із перервою в місячний термін.

Помилки щодо інших групових варіантів у більшості випадків можна пояснити використанням лише групових реагентів та нехтуванням методик із використанням стандартних сироваток та еритроцитів.

Групові цоліклони анти-А і анти-В містять специфічні імуноглобуліни (Ig M), які спрямовані проти групоспецифічних антигенів А або В. Таким чином, вони не містять антитіл іншої специфі-

Таблиця 1

Порівняльний аналіз кількості проведених обстежень визначення групи крові та Rh-фактору впродовж останніх п'яти років

Рік	Загальна кількість аналізів	Аналіз щодо визначення групи крові*	Аналіз щодо визначення Rh-фактору*	% аналізів щодо групи крові та Rh-фактору від загальної кількості
2008	100657	2946	2946	5,85
2009	110880	3149	3149	5,77
2010	131875	3014	3014	4,57
2011	138629	3292	3292	4,78
2012	156909	3299	3299	4,20

Примітка. * - у вказану кількість аналізів не включені показники груп крові з пуповини та крові немовлят перших днів життя.

Таблиця 2

Аналіз груп крові, які були направлені для уточнення до обласної станції переливання крові за 2012 рік

Загальна кількість груп	Група, вказана у направленні	Група, виявлена в лабораторії	Результат ЧОЦСК
3	0 (I)	B(III) - 2	B(III) -2
		A(II) -1	A(II) -1
7	A(II)	0(I) - 1	0(I) - 1
		B(III) - 4	B(III)-4
		AB(IV)-2	AB(IV)-2
11	B(III)	A(II) -2	A(II) -2
		*за сир. B(II) за Ер AB(IV)-5	підгрупи -2 AB(IV)-3
8	AB(IV)	AB(IV)-4	AB(IV)-4
		A(II) -7	A(II) -27
		B(III)-1	B(III)-1

Примітка. * - за сир. – визначення за стандартними сироватками за Ер – визначення за стандартними еритроцитами та груповими реагентами.

ічності і не здатні викликати неспецифічну реакцію поліаглютинації еритроцитів. При визначенні груп крові виключно моноклональними антитілами ми наражаємося на небезпеку щодо підгруп крові. Адже відомо, що, наприклад, A(II) група крові може бути представлена двома варіантами антигену A (A₁ або A₂). Так серед європейців, 80% індивідів, що належать до A(II) групи крові, мають підгрупу A₁, інші 20% – підгрупу A₂. Це важлива інформація, адже люди з однією підгрупою можуть мати антитіла до антигенів другої підгрупи, і в таких випадках необхідний індивідуальний підбір донорів.

Згідно наказу МОЗ, із метою уникнення непередбачуваних помилок для визначення груп крові, використовуються дві серії моноклональних антитіл.

Практичний досвід показує, що необхідно використовувати перехресні методи: стандартні сироватки і еритроцити, а в разі необхідності – моноклональні антитіла. Кожна з методик дозволяє підтвердити результати іншої, а це гарантує їх абсолютну доброякісність.

Минулого літа 2012 року у нас було два цікавих випадки, де ми сумнівалися в достовірності визначеної групи крові. Тобто, за сироватками ми константували B(III), а за стандартними еритроцитами та цоліклонами AB(IV). Аглютинація з сироватками третьої групи спостерігалась аж після 20-ї хвилини (при нормативному часі інкубації 5-7 хв.). Крім того було помічено, що аглютинація з сироватками B(III) групи і в багатьох інших визначеннях відбувалася дещо пізніше, ніж необхідно згідно методики (5хв.).

Можливі недоліки полягали в наступному: 1) низька здатність до аглютинації сироваток (про що ми повідомили на станцію і нам було проведено заміну сироваток B(III) групи; 2) температурний режим у приміщенні вище 25° C, що різко уповільнює реакцію аглютинації.

Ці два фактори стали причиною видачі сумнівного результату нашої лабораторією двох груп, які раніше не викликали запитань при їх визначенні, з наступним їх перевизначенням у лабораторії ЧОЦСК. Крім того на один аналіз приблизно впро-

довж тижня (у період найсильнішої спеки) витрача-лося набагато більше часу, ніж в інші сезони року (лабораторія не оснащена кондиціонером). Відомо, що підвищена температура різко уповільнює аглютинацію, на що ми вже вказували вище.

Отже до основних помилок, на які необхідно звернути увагу при визначенні груп крові належать: а) недотримання методичних норм та інструкцій; б) якість реактивів; в) технічні помилки (температурний режим, освітлення, неправильне проведення реакції та ін.)

У Чернівецькій області на базі державних медичних установ відсутні сучасні гелеві технології для визначення групи крові. Всесвітньо визнаний стандарт імуногематологічних досліджень поки що не по кишені навіть ЧОЦСК. Дослідження повного фенотипу крові можна провести лише на базі платних лабораторій, але дане обстеження не завжди спроможний оплатити пересічний громадянин зі своєї кишені.

Висновки

1. Наведені загальні дані та окремі випадки з практики, ще раз засвідчують необхідність ретельного проведення аналізу щодо визначення групової та резус приналежності, з використанням усіх загальноприйнятих методик, із метою попередження видачі хибного результату.

2. Необхідно бути надзвичайно уважним, навіть при повторному визначенні групи крові у пацієнтів після гемотрансфузій, особливо впродовж перших семи діб, у хворих із гематологічними порушеннями, при бактеріальному ураженні крові.

3. Кожна лабораторія, яка проводить визначення групової та резус-приналежності пацієнта повинна співпрацювати з центрами крові в даному регіоні для виявлення помилок і їх попередження в подальшій роботі.

Перспективи подальших досліджень

Дослідження вагітних та матерів з А(II) Rh-негативною групою крові на питання несумісності з плодом за антигенами системи АВ0.

Зважаючи на те, що на початок 2013 року працівники пологового залу двічі знехтували забором пуповинної крові у породіль з А(II) Rh-негативною групою крові; необхідно відмітити, що такі жінки значно частіше мають несумісність з плодом за системою АВ0 у порівнянні з пацієнтками з 0(I) групою крові.

Література. 1. Донсков С.И. К 100-летию открытия групп крови / С.И. Донсков // Проблемы гематологии и переливания крови. – 2004. – №4. – С. 42-43. 2. Евсева И.В. Генетический полиморфизм групп крови и эритроцитарных ферментов в трех этно-территориальных группах севера и европейской части России / И.В. Евсева, В.А. Спичин, С.В. Макаров, Л.С. Быковская, Т.В. Пай // Генетика. – 2001. – Т.37. – №11. – С. 1571-1577. 3. Колодченко В.П. Взаемозв'язок соматотипів людини з фенотипами груп крові системи АВ0 / В.П. Колодченко // Український журнал гематології та трансфузіології. – 2008. – №4(8). – С. 31-36. 4. Зотиков Е. К столетию открытия групп крови / Е. Зотиков // Врач. – 2000. – №12. С. 42-43. 5. Перехрестенко П.М. Группоспецифические антигены системы АВ0 человека и современные методы их выявления (к 100-летию открытия групп крови) / П.М. Перехрестенко, Р.П. Павлюк, Л.М. Исакова // Український медичний часопис. – 2005. – №5. – С. 5-8. 6. Прокоп О. Группы крови человека / О.Прокоп, В.Геллер; пер с нем под ред. В.В. Томилина (5-е изд. перераб.) – М.: Медицина, 1991. – 512 с. 7. Чумаков С.П. Связь АВ0- и резус-фенотипов эритроцитов с выраженностью интраоперационного гемолиза у кардиохирургических больных / С.П. Чумаков, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, В.М. Шипулин, О.А. Хохлов, И.В. Мальцева, Т.В. Емельянова, М.В. Корчагина // Клиническая лабораторная диагностика. – 2013. – №1. – С. 40-42. 8. Інструкція з визначення груп крові за системою АВ0 та резус. Міністерство охорони здоров'я України. Наказ від 05.07.1999 №164 «Про затвердження інструкцій регламентуючих діяльність закладів служби крові України» – режим доступу: mozdocs.kiev.ua/view.php?id=565.

АНАЛИЗ ВОЗМОЖНЫХ ОШИБОК ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ПРИ ГРУПП КРОВИ ЗА СИСТЕМОЙ АВ0

В.Ф. Мыслицкий, О.Г. Чернюх, М.В. Дикал, И.В. Лопушинская, М.Д. Перепелюк

Резюме. Показано необходимость использования нескольких методик для определения групп крови за системой АВ0 с целью своевременного выявления ошибок касательно подгрупп и «дефектных» групп крови; четкого исполнения алгоритма процедуры определения при условиях высокой квалификации персонала и комфортного микроклимата в помещении лаборатории. Проанализировано важное значение сотрудничества лабораторий разных рангов и ведомств.

Ключевые слова: АВ0, групповые цоликлоны, агглютинация.

ANALYSIS OF POSSIBLE DRAWBACKS WHEN DETERMINING BLOOD GROUP ACCORDING TO АВ0 SYSTEM

V.F. Myslytsky, O.G. Cherniuk, M.V. Dikal, I.V. Lopushynska, M.D. Perepeluk

Abstract. A necessity of using several techniques in case of determining blood group according to АВ0 system will be the object of revealing mistakes as to the subgroups and “faulty” blood groups; accurate fulfilment of the algorithm for the procedure of determination under conditions of highly qualified personnel and comfortable conditions in the laboratory premises has been shown. The significance of a cooperation of laboratories of different classes and departments has been analyzed.

Key words: АВ0, group isoiclones, agglutination.

Bukovyna State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2013. - Vol.12, №2 (44). - P.126-129.

Надійшла до редакції 17.05.2013

Рецензент – проф. С. С. Ткачук

© В. Ф. Мыслицкий, О. Г. Чернюх, М. В. Дикал, И. В. Лопушинская, М. Д. Перепелюк, 2013