

**Гемотрансфузія. Визначення груп крові
за системами АВ0 та Rh-фактор.
Проби на індивідуальну сумісність
за системами АВ0 та Rh-фактор,
біологічна проба**

***Методичні вказівки
до практичних занять та самостійної роботи
студентів 3-го курсу II та IV медичних факультетів
з дисципліни "Загальна хірургія"***

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Харківський національний медичний університет

**Гемотрансфузія. Визначення груп крові
за системами АВ0 та Rh-фактор.
Проби на індивідуальну сумісність
за системами АВ0 та Rh-фактор,
біологічна проба**

***Методичні вказівки
до практичних занять та самостійної роботи
студентів 3-го курсу II та IV медичних факультетів
з дисципліни "Загальна хірургія"***

Затверджено
Вченою радою ХНМУ.
Протокол № 3 від 20.05.2020.

**Харків
ХНМУ
2020**

Гемотрансфузія. Визначення груп крові за системами АВ0 та Rh-фактор. Проби на індивідуальну сумісність за системами АВ0 та Rh-фактор, біологічна проба : метод. вказ. до практ. занять та самост. роботи студентів 3-го курсу II та IV мед. фак-тів з дисципліни "Загальна хірургія" / упоряд. В. О. Сипливий, В. В. Доценко, В. О. Курбатов та ін. – Харків : ХНМУ, 2020. – 32 с.

Упорядники В. О. Сипливий
 В. В. Доценко
 В. О. Курбатов
 Г. Д. Петренко
 А. Г. Гузь
 О. Г. Петюнін
 С. В. Грінченко
 В. І. Робак
 Д. В. Євтушенко
 О. В. Євтушенко

Кількість годин – 2.

Обґрунтування теми

Гемотрансфузія – лікувальний метод, пов'язаний зі введенням в кров'яне русло хворого (реципієнта) цільної крові чи її компонентів, взятих від іншої людини (донора), або від самого реципієнта (аутогемотрансфузія), а також крові, що вилілася в порожнини тіла при травмах і операціях (реінфузія).

Переливання крові та її компонентів (гемотрансфузії) застосовують для заміщення гострих крововтрат, а також для поповнення тих складників крові, яких бракує у хворому організмі і нестачу яких не можна компенсувати іншими способами лікування.

Периферична кров є складною морфологічною системою. До її складу входить наступне: клітинна маса, яка включає еритроцити, що виконують кисневотранспортну функцію; лейкоцити – клітини імунного захисту; тромбоцити – важлива ланка гемостазу; рідка основа – плазма, яка виконує важливі гуморальні функції. Сучасна біотехнологія володіє широкими можливостями розділяти кров на лікувальні компоненти – еритроцити, тромбоцити і плазму, та фракціонувати останню на високоцінні білкові препарати – альбумін, імуноглобуліни, фактори згортання крові, ензими та інші білки, які знайшли широке лікувальне застосування і необхідні в сучасній медицині.

З імунологічної точки зору кров є неоднорідною антигенною фізіологічною системою. Антигенні детермінанти еритроцитів, лейкоцитів і тромбоцитів, білків плазми відносяться до різних систем тканинних та білкових антигенів. При переливаннях донорської крові, сумісної за еритроцитарними антигенами А, В, резус-фактором, решта клітин і білки плазми практично є імунологічно несумісними і тому в організмі реципієнта секвеструються та метаболізуються. Це створює додаткове навантаження на системи гомеостазу і викликає імунологічну відповідь з негативними наслідками.

Переливання цільної консервованої крові в історичному аспекті відіграло важливу роль у медицині, поки ще не були введені компонентна терапія і плазмозамінники. Сьогодні цільна кров, в основному, зберігає своє значення як сировина для виготовлення компонентів, зокрема концентрату кріоконсервованих еритроцитів.

З позиції сучасних знань переливання крові треба трактувати як трансплантацію периферичної крові, при якій проявляються всі закономірності трансплантаційного імунітету. Переливання цільної крові, особливо у великих кількостях і від багатьох донорів, пов'язане з підвищеним ризиком розвитку таких небезпечних ускладнень, як сповільнений гемоліз, гострі негемолітичні реакції несумісності, синдром масивних гемотрансфузій, ускладнення вагітності, нетолерантність до повторних трансфузій та ін. Небезпека такого ризику спадає майже до нуля, якщо застосовують компоненти і препарати донорської крові.

Не можна залишати поза увагою те, що з переливаннями нативних компонентів крові хворому можуть бути перенесені збудники трансмісійних інфекцій (віруси гепатитів, збудник СНІДу та ін., яких стає відомо щораз більше. В даний час акцент ставиться на ґрунтовне превентивне обстеження донорів. Повинно стати принципом, що для переливань компонентів крові і препаратів є тільки одне показання – замісна (субституційна) терапія.

Цільну донорську кров можна застосовувати виключно в екстремальних умовах, коли відсутні необхідні компоненти. Показань до планових переливань цільної крові в наш час не існує.

Безумовно, незамінним компонентом крові надзвичайно широкого застосування є еритроконцентрат. Необхідно мати на увазі, що принципи і методики підбору для трансфузій сумісних еритроцитів такі ж самі, як і при тестуванні цільної крові.

Мета заняття

Знати (теоретичні питання):

1. Історію розвитку переливання крові.
2. Аспекти вчення про групи крові.
3. Способи визначення групи крові за системами АВ0 та Rh-фактор.
4. Спосіб визначення індивідуальної сумісності за системою АВ0, варіанти визначення індивідуальної сумісності за системою Rh-фактор.
5. Проведення проби на біологічну сумісність.

Вміти:

1. Оцінити стан пацієнта і передбачити наслідки.
2. Оцінити придатність компонентів крові до переливання.
3. Визначити групу крові за системою АВ0 та Rh за допомогою стандартних сироваток.
4. Визначити групу крові за системою АВ0 та Rh за допомогою моноклональних антитіл.
5. Провести тести на індивідуальну сумісність крові реципієнта та донора за системою АВ0 та Rh.
6. Вибрати тести на сумісність при трансфузії компонентів донорської крові.

Базові знання, вміння, навички, необхідні для вивчення теми (міждисциплінарна інтеграція)

Назва дисципліни	Отримані знання
Нормальна анатомія	Будова серцево-судинної системи
Нормальна фізіологія	Фізіологія гемостазу
Гістологія	Особливості будови судинної стінки
Патологічна фізіологія	Поняття крововтрати, шоку
Патологічна анатомія	Макро- та- мікроознаки аглютинації, прояви порушень системи гемостазу
Фармакологія	Препарати, що впливають на гемостаз (антикоагулянти, гемостатики)

ЗМІСТ ТЕМИ ГРУПИ КРОВІ

Ізосерологія вивчає антигенні структури крові. Система антигенів АВ0 була відкрита в 1900 р. австрійським вченим К. Ландштейнером. Наявність групових специфічних антигенів-аглютиногенів в еритроцитах і антитіл-аглютининів у плазмі крові визначає групу крові людини. При взаємодії однойменних аглютиногенів еритроцитів однієї людини і аглютининів плазми іншої відбувається аглютинація еритроцитів, тобто реакція ізогемаглютинації. В даний час у людини виявлено більше 500 різних аглютиногенів, які, подібно до мозаїки, покривають клітини крові. Найбільше значення мають ті, які можуть викликати посттрансфузійне ускладнення. Ці аглютиногени розподілені по 9 системах: АВ0, Rh-Hr, MNSS, P, Келл-Челано, Даффі, Кидд, Люіс, Лютеран. За кожною з них розрізняють декілька груп крові, у кожної людини є близько 30 варіантів поєднань.

Антигени (аглютиногени) – речовини білкової природи, розташовані на поверхні формених елементів крові, переважно еритроцитів. Основні властивості антигенів: імуногенність, тобто здатність викликати в організмі утворення антитіл і вступати з ними в реакцію, специфічність – взаємодіють тільки з однойменними антитілами. Температурний оптимум реакції +15 – +25 °С.

Антигени лейкоцитів ідентичні антигенам у тканинах людини, мають значення в трансплантології при пересадці органів і тканин. Відомо близько 200 антигенів лейкоцитів, проте найбільш вивченими є HLA антигени, які називаються антигенами гістосумісності. **Антигени тромбоцитів** аналогічні антигенам еритроцитів і лейкоцитів, проте менш активні. У даний час відомо 4 види: PI, ZVS, WAX, Ко.

Антигени плазми – α , β , γ -глобуліни, викликають синдром гомологічної крові.

Антитіла (аглютиніни) – плазмові глобуліни, що володіють властивостями поєднуватися з однойменними аглютиногенами клітин крові, викликати їх склеювання (аглютиніни) і руйнування (гемолізину). Аглютиніни можуть бути холодовими – діють при температурі від +4 до +18 °С, тепловими – активні при +37 °С. Стосовно середовища, в якому діють аглютиніни, розрізняють повні, які активні у фізіологічному розчині, і неповні, які діють у колоїдному середовищі. **Реакція аглютинації** можлива тільки за наявності високомолекулярного середовища: людська сироватка, альбумін, желатин, декстран, поліглюкін. Саме тому при визначенні резус-фактора стандартними сироватками з неповними аглютинінами необхідно брати досліджувані еритроцити у власній сироватці або додавати желатин.

У плазмі людини є аглютиніни, які з'єднуються або тільки з аглютиногенами еритроцитів (антиеритроцитарні антитіла), або з аглютиногенами лейкоцитів (антилейкоцитарні антитіла), або з антигенами тромбоцитів (антитромбоцитарні антитіла).

Частина аглютининів передається людині спадково і існує впродовж усього життя – це природні аглютиніни. Інші з'являються в будь-який період життя в результаті імунізації аглютинінами, наприклад, при переливанні резус-позитивної крові резус-негативній людині – це імунні аглютиніни.

Ключові положення

- Група крові людини – це набір антигенів, які присутні в еритроцитах, лейкоцитах, тромбоцитах, плазмових білках.

- Група крові є незмінною впродовж всього життя людини.

- Групові властивості крові передаються за класичними законами генетики.

СИСТЕМА АВ0

Залежно від вмісту в еритроцитах антигенів (аглютиногенів) А і В розрізняють 4 групи крові.

У нашій країні прийняті буквені і цифрові позначення груп крові: O $\alpha\beta$ (I), A β (II), B α (III), AB₀ (IV).

I група не містить антигенів, у сироватці крові містяться аглютиніни α і β .

II група містить аглютиноген А на еритроцитах, у сироватці міститься аглютинін β .

III група містить аглютиноген В на еритроцитах, у сироватці міститься аглютинін α .

IV група містить аглютиногени А і В, у сироватці крові відсутні аглютиніни.

Відсоткове співвідношення осіб з різними групами крові в різних місцях земної кулі неоднакове. У країнах колишнього СНД воно приблизно таке:

O $\alpha\beta$ (I)	A β (II)	B α (III)	AB ₀ (IV)
32 %	40 %	20 %	8 %

При глибшому вивченні груп крові було встановлено, що аглютиноген А має три різновиди: A₁, A₂, A₃, які відрізняються один від одного здатністю склеювати еритроцити. Еритроцити, що містять аглютиногени A₁, дають швидко (до 1 хв) грубозернисту аглютинацію; еритроцити, що містять аглютиноген A₂, дають сповільнену (після 5 хв) дрібнозернисту аглютинацію; аглютиноген A₃ володіє слабкими аглютинуючими властивостями. У людини в 88 % випадків зустрічається аглютиноген A₁, в 12 % – аглютиноген A₂.

При визначенні груп крові необхідно враховувати особливі стани природженого або набутого характеру. До них відносяться:

- 1) кров'яні химери – коли в крові людини присутні еритроцити різних груп, наприклад, якщо хворому A β (II) групи перелили багато крові O $\alpha\beta$ (I) групи, або природжений химеризм (частіше у двояйцевих близнят);

2) бомбейська кров – кров, що не містить аглютиногенів А та В, Н-антигену, але в ній

присутні аглютиніни; людей з такою кров'ю вважають носіями $O\alpha\beta(I)$ групи, але переливати їм можна тільки бомбейську кров, оскільки вона містить анти-Н-антитіла, а в крові людей $O\alpha\beta(I)$ є Н-антиген;

3) дефектні групи крові – в крові не вистачає будь-якої ознаки, наприклад, O, O_1, A_0, B_0, O_{00} .

СИСТЕМА РЕЗУС

У 1937 р. Ландштейнер і Вінер відкрили резус-фактор (Rh-фактор). У ході дослідів з імунізації кролика еритроцитами мавпи макаки-резус (*Makakus rhesus*) була отримана сироватка, що аглютинуює 85 % зразків еритроцитів людини незалежно від групової приналежності. Так було встановлено наявність в еритроцитах людини речовини антигенної природи, аналогічної такій у макаки-резус. Вона отримала назву резус-фактор. Практичне значення мають 6 аглютиногенів системи резус: три з них є різновидом аглютиногену Rh, а три – різновидом аглютиногену Hg. Антиген системи резус міститься в еритроцитах у 81–85 % людей, вони є "резус-позитивними". У 16–19 % людей аглютиноген резус відсутній, вони є "резус-негативними". Для позначення антигенів резус використовується дві номенклатури. Одна запропонована Вінером і позначена символами $RH_0, rh, rh'', Hg_0, hg, hr''$. Інша номенклатура запропонована Фішером і Рейсом, використовується буквені позначення D, C, E, d, c, e. Антигени резус успадковуються від батьків і протягом життя не змінюються.

Фактор Rh є найсильнішим антигеном і найчастіше буває причиною імунізації при переливанні крові, резус-конфліктної вагітності, може викликати пострганфузійні ускладнення. При переливанні резус-позитивної крові резус-негативному хворому у нього можуть з'явитися імунні резус-антитіла. Вони також можуть з'явитися в крові резус-негативної вагітної жінки у відповідь на резус-позитивний плід. Резус-несумісність (резус-конфлікт) виникає у разі повторного контакту сенсibilізованої людини з резус-фактором (переливання крові, вагітність).

Необхідно знати, що резус-негативним можна вважати донора, у якого в крові немає Rh_0, rh, rh'' . Всі резус-негативні і більшість резус-позитивних людей є Hg-позитивними, тобто мають аглютиноген Hg. Імунізація і ускладнення за аглютиногенами Hg виникають рідко.

У крові існує безліч інших антигенів. Вони позначені як системи MNSS, Келл, Даффі, Кидд, Лютеран і ін., вкрай рідко викликають виражені пострганфузійні ускладнення і гемолітичну хворобу. В даний час антигени виявлені в лейкоцитах, тромбоцитах, інших білкових структурах загальною чисельністю близько 300 видів.

Ключові положення

- Система резус є однією з найбільш складних ізосерологічних систем.
- Антиген системи резус міститься в еритроцитах людини, успадковується від батьків і не змінюється впродовж життя.
- Природні антитіла до аглютиногенів Rh-Hr практично не зустрічаються, тому приналежність за системою Rh-Hr залежить від комбінації аглютиногенів.
- Фактор Rh – найсильніший антиген, який може викликати імунізацію.

ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ІЗОСЕРОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КРОВІ

З часу відкриття груп крові отримало широке використання правило *Отенберга*: "Еритроцити донора не повинні містити аглютиногени, од-нойменні природним аглютинінам реципієнта". Що це означає? Те, що кров донорів Oαβ(I) групи можна переливати реципієнтам всіх груп, оскільки еритроцити донора не містять аглютиногенів A і B. Тому особи Oαβ(I) групи були названі "універсальними донорами". Проте переливання великих доз крові "універсального донора" знекровленням хворим може призвести до гемолізу еритроцитів реципієнта надлишком донорських антитіл, що клінічно виявлятиметься картиною гемолітичного шоку. Тому в даний час дотримуються **строгих правил**:

- 1) переливати можна тільки одногрупну кров;
- 2) переливати можна тільки кров, сумісну за резус-фактором;
- 3) обов'язковим є проведення проб на сумісність.

Визначення груп крові за системою АВ0

Групу належності крові визначають реакцією аглютинації за допомогою стандартних ізогемаглютинуючих сироваток або моноклональних антитіл.

Визначення групи крові (еритроцитів) за системою АВ0 стандартними ізогемаглютинуючими сироватками

Стандартні ізогемаглютинуючі сироватки системи АВ0 двох різних серій кожної групи наносять на білу пластинку відповідно до позначок таким чином, щоб вийшло два ряди по три великі краплі (0,1 мл) у такому порядку зліва направо: 0α(альфа)b(бета)(I), Ab(бета)(II), Ba(альфа)(III). Кров, яку обстежують, наносять по одній маленькій краплі (0,01 мл) поруч з кожною краплею сироватки і перемішують скляною паличкою.

Спостереження за ходом реакції проводять при легкому погойдуванні пластинки протягом 5 хв при кімнатній температурі (22 ± 2) °С. З настанням аглютинації еритроцитів додають по одній краплі (0,05 мл) ізотонічного розчину натрію хлориду і продовжують спостерігати ще 5 хв.

Оцінка результатів: реакція в кожній краплі може бути позитивною (наявність аглютинації еритроцитів) або негативною (відсутність аглютинації).

Різні співвідношення позитивних і негативних результатів дають можливість зробити висновок щодо групової належності еритроцитів обстежуваної крові (табл. 1).

Таблиця 1

**Оцінка результатів визначення групи крові (еритроцитів)
за допомогою стандартних ізогемаглютинуючих сироваток**

Результат реакції з ізогемаглютинуючими сироватками групи				Обстежувана кров (еритроцити) належить до групи
0α (альфа) b (бета) (I) анти-A + B	Ab (бета) (II) анти-B	Bα (альфа) (III) анти-A	AB0(IV) контроль	
–	–	–	–	0 (I)
+	–	+	–	A (II)
+	+	–	–	B (III)
+	+	+	–	AB (IV)

Примітка. Знаком плюс (+) позначена наявність аглютинації;
Знаком мінус (–) – її відсутність.

Як видно з табл. 1, результат оцінюють залежно від реакції зі стандартними сироватками груп 0αβ(I), Aβ(II), Bα(III). У тих випадках, коли позитивний результат отримано із сироваткою всіх трьох груп, для виключення неспецифічної аглютинації проводять контрольне дослідження зі стандартною сироваткою групи AB0(IV), в якій відсутні групові аглютиніни.

Лише відсутність аглютинації в цій контрольній пробі дає підставу вважати, що позитивний результат з сироватками групи 0αβ(I), Aβ(II), Bα(III) є достовірним, тобто досліджувана кров належить до групи AB(IV).

**Визначення групи крові (еритроцитів) за системою AB0
за допомогою моноклональних антитіл**

Визначення групи крові (еритроцитів) за системою AB0 моноклональними реагентами (моноклони анти-A і анти-B, ціклони анти-A і анти-B) проводять за допомогою звичайних ізосерологічних методів виявлення антигенів еритроцитів: у разі масового визначення в установах служби крові – на планшетах або в автоматичних системах; у разі індивідуального – на білій порцеляновій або будь-якій іншій пластинці із змочуваною поверхнею. У хворих визначення групи крові можна проводити на карточках ідентифікації.

Хоча моноклональні реагенти відзначаються високою активністю і авідністю, з метою уникнення непередбачених помилок при кожному визначенні групи крові використовують по дві серії реагентів анти-A і анти-B. Моноклональні антитіла анти-A і анти-B наносять на планшетку або пластинку по одній великій краплі (0,1 мл) під відповідними позначками: "анти-A" або "анти-B". Поряд з краплями антитіл наносять досліджувану кров по одній маленькій краплі (0,01 мл). Після змішування реагентів і крові спостерігають за реакцією аглютинації протягом 2,5 хв.

У сольовому середовищі реакцію аглютинації проводять у пробірках, змішуючи рівні об'єми (0,1 мл) антигін і 2,0 мл зависі обстежуваних еритроцитів. Результати реакції оцінюють за наявністю чи відсутністю аглютинації в пробірках після термінового центрифугування і струшування. На картках ідентифікації групу крові визначають відповідно до інструкції, яка до них додається.

Оцінку результатів реакції аглютинації з моноклональними антитілами анти-А і анти-В подано в *табл. 2*, в яку внесено також результати визначення аглютининів у сироватці (плазми) донорів за допомогою стандартних еритроцитів.

Таблиця 2

**Оцінка результатів визначення групи крові (еритроцитів)
за допомогою моноклональних антитіл та стандартних еритроцитів**

№ пор.	Реакція досліджуваних еритроцитів з моноклональними антитілами		Реакція дослідження сироватки (плазми) зі стандартними еритроцитами групи		Обстежувана кров (еритроцити) належить до групи
	анти-А	анти-В	А(II)	В(III)	
1	–	–	+	+	0(I)
2	+	–	–	+	А(II)
3	–	+	+	–	В(III)
4	+	+	–	–	АВ(IV)

1. Аглютинації немає (-) ні з моноклональними антитілами анти-А, ні з анти-В. Отже, обстежувані еритроцити не мають антигенів А і В, і кров належить до групи 0(I). Це підтверджується наявністю аглютининів α (альфа) і β (бета) в сироватці (плазмі), що обстежують за результатами позитивної реакції аглютинації зі стандартними еритроцитами груп А(II) і В(III).

2. Аглютинація (+) спостерігається тільки з моноклональними антитілами анти-А. Отже, такі еритроцити мають тільки антиген А, і кров належить до групи А(II). Це підтверджується наявністю аглютининів b (бета) в сироватці (плазми), що обстежують, за результатами позитивної реакції аглютинації зі стандартними еритроцитами групи В(III).

3. Аглютинація (+) спостерігається тільки з моноклональними антитілами анти-В. Отже, обстежувані еритроцити мають тільки антиген В, і кров належить до групи В(III). Це підтверджується наявністю аглютининів a (альфа) в сироватці (плазмі), що обстежують, за результатами позитивної реакції аглютинації зі стандартними еритроцитами групи А(II).

4. Аглютинація (+) спостерігається як з моноклональними антитілами анти-А, так і з моноклональними антитілами анти-В. Отже, обстежувані еритроцити мають обидва антигени (А і В), і кров належить до групи АВ(IV). Це підтверджується відсутністю аглютининів a (альфа) і b (бета) в сироватці (плазмі), що обстежують, за результатами від'ємної реакції аглютинації зі стандартними еритроцитами групи А(II) і В(III).

З метою виключення аутоаглютинації, котра може спостерігатися у деяких хворих (мієломна хвороба, опікова хвороба), а також у пуловинній крові новонароджених, у випадку встановлення групи крові АВ(IV) необхідно провести контрольне дослідження: одну краплю (0,1 мл) ізотонічного розчину натрію хлориду змішати з маленькою краплею (0,01 мл) досліджуваної крові. Реакція аглютинації повинна бути відсутня.

Визначення резус-належності крові (еритроцитів)

Система резус включає 3 пари антигенів еритроцитів: $D(Rh_0)$ і $d(Hr_0)$, $C(rh')$ і $c(hr')$, $E(rh'')$ і $e(hr'')$, які генетично зумовлені і представлені трьома парами алеломорфних генів на парі хромосом. Різні комбінації антигенів системи Rh на поверхні еритроцитів створюють 18 теоретично можливих фенотипів, тобто груп крові за системою Rh.

У трансфузіологічній практиці підлягають обліку, в першу чергу, три антигени – $D(Rh_0)$, $C(rh')$ і $E(rh'')$. Особливе значення має антиген D, який є сильним імуногеном. Ці антигени можуть знаходитися на еритроцитах людей разом або окремо, утворюючи сім різних співвідношень, а також можуть бути взагалі відсутніми (генотип $ccddee$). Ці відмінності дозволяють умовно розділити еритроцити людей на 8 груп: 4 групи, в яких знаходиться антиген $D(Rh_0)$, є резус-позитивними ($Rh+$), а 4 групи, які не мають антигену $D(Rh_0)$, – резус-негативними ($Rh-$).

На відміну від системи АВ0, у сироватці крові людей практично не буває природних антитіл до антигенів системи Rh. Антитіла системи Rh мають виключно імунний характер і утворюються в результаті Rh-несумісної трансфузії чи вагітності.

Врахування груп крові за системою Rh є важливим для практики трансфузійної медицини.

Визначення резус-належності за допомогою стандартних сироваток Загальні положення

Визначення резус-належності проводить спеціально підготовлений лікар або лікар-лаборант, який має посвідчення встановленого зразка, видане спеціалізованою установою або закладом (профільним НДІ, центром крові).

Визначення резус-належності проводять у реакції аглютинації за допомогою алоімунних сироваток або моноклональних реагентів.

Особи, які мають $D(Rh_0)$ -антиген, умовно називаються резус-позитивними (їх 85 % серед білого населення Європи), а ті, які його не мають – резус-негативними ($Rh-$).

Визначення резус-належності крові донорів проводять у два етапи: спочатку кров донорів досліджують стандартною сироваткою анти- $D(Rh_0)$ або моноклональними реагентами анти-D-супер, а потім кров тих донорів, які дали негативну реакцію з сироваткою анти- $D(Rh_0)$, досліджують додатково зі стандартними сироватками антирезус, що містять, крім анти- $D(Rh_0)$, антитіла анти- $C(rh')$ і анти- $E(rh'')$. Антитіла анти- $C(rh')$ і анти-

E(rh⁺) можуть знаходитись у сироватці як у чистому вигляді, так і в суміші з антитілами D(Rh₀), наприклад: анти-D(Rh₀) + C(rh⁺), анти-D(Rh₀) + E(rh⁺) або анти-D(Rh₀) + C(rh⁺) + E(rh⁺).

У відсотках представлено частоту поширення резус-позитивних і резус-негативних варіантів, які зустрічаються серед населення європейського регіону.

Дослідження фенотипу резус необхідно проводити у жінок з підозрою на ізоsensibilізацію та у вагітних жінок з підозрою на резус-конфліктну вагітність.

Результат визначення резус-належності крові донорів фіксують в особовому журналі та на титульній сторінці донорської картки зі вказуванням дати і за підписом осіб, які проводили визначення.

Результат визначення резус-належності крові хворих та інших осіб записують у спеціальний журнал та на бланк зі вказуванням дати та за підписом особи, яка проводила визначення. Цей бланк підклеюють до історії хвороби і, крім того, результат, який вказаний на цьому бланку, лікуючий лікар фіксує на титульній сторінці історії хвороби і скріплює підписом з зазначенням дати.

Облік групової належності сироватки антирезус

Сироватку антирезус виготовляють звичайно у вигляді універсальних, тобто позбавлених групових антитіл. Такі сироватки придатні для визначення резус-належності крові людей будь-якої групи за системою АВ0. Однак за певних обставин сироватки антирезус виготовляють з крові різних груп за системою АВ0. У цих випадках у разі визначення резус-фактора необхідно враховувати групову специфічність сироватки. Сироваткою антирезус групи 0(I) визначається резус-фактор тільки в еритроцитах групи 0(I); сироваткою антирезус групи А(II) визначається резус-фактор тільки в еритроцитах 0(I) і А(II); сироваткою антирезус групи В(III) визначається резус фактор тільки в еритроцитах груп 0(I) і В(III); сироваткою антирезус групи АВ(IV) і спеціально виготовленою – універсальною, визначається резус-фактор в еритроцитах групи АВ(IV) і будь-якої іншої групи крові.

Контрольні дослідження

Під час кожного дослідження для перевірки специфічності і активності сироватки антирезус необхідно ставити контроль.

Для контролю застосовують стандартні резус-позитивні еритроцити групи 0(I) або тієї ж групи, що і досліджувана кров, і стандартні резус-негативні еритроцити обов'язково тієї ж групи, що і досліджувана кров.

Особливості стандартних сироваток антирезус

Стандартні сироватки для визначення резус-належності можуть мати різні за формою резус-антитіла – повні і неповні. Кожні з цих антитіл активні тільки в особливих умовах, тому методика визначення резус-фактора залежить від того, які резус-антитіла знаходяться в стандартній сироватці.

Застосування двох серій стандартних сироваток

Визначення резус-фактора обов'язково треба проводити двома серіями стандартних сироваток антирезус. Якщо стандартні сироватки активні в різних умовах (наприклад, одна з них містить повні антитіла і тому активна в сольовому середовищі, а інша містить неповні антитіла і активна в колоїдному середовищі – желатині або поліглюкіні), то визначення резус-належності слід проводити різними методами, як вказано в супровідній інструкції для кожної серії сироватки.

Різні методи визначення резус-фактора за допомогою стандартних сироваток

Таким чином, метод визначення резус-фактора залежить від форми резус-антитіл у стандартній сироватці та способу її виготовлення.

Видаючи сироватку антирезус, до неї прикладають коротку супровідну інструкцію з описанням того методу, для якого призначена ця сироватка.

Визначення резус-фактора D(Rh₀) за допомогою реакції конглютинації із застосуванням желатину (в пробірці з підігрівом до 46–48 °С)

Спеціальне обладнання

Стандартні сироватки антирезус з неповними антитілами. Стандартні еритроцити для контролю. Центрифужні або будь-які інші тонкостінні пробірки ємністю 10–15 мл. Водяна баня при температурі від 46 до 48 °С або сухоповітряний термостат при температурі від 46 до 48 °С, 10 % розчин желатину. Желатин можна зберігати з консервантами: натрію сульфацилом (альбуцидом) з розрахунку 100 мг альбуциду на 10 мл 10 % розчину желатину або з натрію азидом з розрахунку 10 мг на 10 мл 10 % розчину желатину.

Попередня обробка досліджуваної крові і стандартних еритроцитів

Кров для дослідження слід брати кількістю 2–5 мл у пробірку без стабілізатора. На пробірці підписати прізвище, ініціали і групу крові особи, від якої взято кров.

Звичайно після згортання крові на дні пробірки лишається невелика кількість вільних еритроцитів, які слід використовувати для дослідження. Якщо цих еритроцитів недостатньо, слід струснути згусток для відділення більшої кількості еритроцитів.

Якщо брати кров з 3,8–5,0 % розчином натрію цитрату (0,25 мл натрію цитрату на 1 мл крові), гепарином або іншим стабілізатором, ерит-

роцити необхідно відмити, для чого в пробірку доливають до верху 0,9 % розчин натрію хлориду, зміст її перемішують і центрифугують при 1 500 об/хв протягом 5 хв при кімнатній температурі. Для дослідження потрібно використовувати відмиті еритроцити.

Для визначення резус-належності кров можна брати з місця проколу пальця скляною паличкою і негайно вводити в пробірку з сироваткою антирезус, змішаною з желатином у співвідношенні 1:2.

Для визначення резус-належності кров можна зберігати в холодильнику протягом трьох діб при температурі $+(6\pm 2)^\circ\text{C}$.

Техніка визначення

У разі використання двох серій сироватки антирезус у штативі розмішують три ряди центрифужних або будь-яких інших пробірок (об'ємом не менше 10 мл) у кожному ряді за числом досліджуваних зразків еритроцитів і по дві пробірки для стандартних резус-позитивних і резус-негативних еритроцитів. На кожній з трьох пробірок надписують прізвище та ініціали особи, кров якої буде досліджено. В однаково позначені пробірки (три ряди) вводять по одній краплі (0,05 мл) досліджуваних еритроцитів, а в контрольні – по одній краплі (0,05 мл) стандартних (Rh_0^+) і (Rh_0^-) еритроцитів.

У всі пробірки додають по дві краплі (0,1 мл) 10 % розчину желатину, попередньо підігрітого до розчинення на водяній бані при температурі від 46 до 48 $^\circ\text{C}$.

У всі пробірки першого ряду додають по одній краплі (0,05 мл) сироватки антирезус однієї серії, у всі пробірки другого ряду – по 1 краплі (0,05 мл) сироватки антирезус другої серії. Третій ряд є контролем для виключення можливого неспецифічного склеювання досліджуваних еритроцитів, наприклад, за рахунок ауто-, теплових або холодних антигін, і туди сироватку антирезус не додають.

Зміст пробірок перемішують струшуванням, і штатив з пробірками ставлять на водяну баню при температурі від 46 до 48 $^\circ\text{C}$ на 5–10 хв або в сухоповітряний термостат при тій же температурі на 30 хв.

Після виймання пробірок з водяної бані або з термостату до них додають 5–8 мл 0,9 % розчину натрію хлориду і перемішують зміст шляхом 1–2-кратного перевертання пробірок.

Оцінка результатів

Пробірки переглядають на світлі неозброєним оком або через лупу з двократним збільшенням. Результат оцінюють за наявністю або відсутністю аглютинації еритроцитів.

За умови позитивного результату аглютинати мають вигляд червоних грудочок на прозорому, майже знебарвленому, тлі рідини.

За умови негативного результату в пробірці видно рівномірно забарвлену в світло-червоний колір, дещо опалесціючу, рідину.

Зразки еритроцитів, що дали аглютинацію з сироваткою анти-D(Rh₀), є резус-позитивними (Rh₀+).

Зразки еритроцитів, що не дали аглютинації з сироваткою анти-D(Rh₀) – резус-негативні (Rh₀).

Однак результати враховують як вірогідні за умови збігу в обох серіях сироватки антирезус і після перевірки контрольних зразків, які підтверджують специфічність і активність сироватки антирезус, тобто за відсутності аглютинації зі стандартними резус-негативними еритроцитами однойменної групи і наявності аглютинації зі стандартними резус-позитивними еритроцитами однойменної групи і групи 0(I). У пробірках третього (контрольного) ряду аглютинації не повинно бути.

Наявність аглютинації в будь-якій пробірці контрольного ряду свідчить про неспецифічність реакції. За цих умов позитивний результат із сироваткою антирезус не може бути врахований як вірогідний. У таких випадках для визначення резус-належності слід використовувати сироватку антирезус з повними антигенами або попередньо відмити еритроцити теплим 0,9 % розчином натрію хлориду для вимивання з них аутоантитіл. За сумнівного результату необхідно проводити мікроскопічне дослідження.

Визначення резус-фактора D(Rh₀) за допомогою стандартного універсального реагенту (в пробірках без підігріву)

Спеціальні реагенти та обладнання

- стандартний універсальний реагент антирезус – анти-Rh₀(D);
- стандартні еритроцити для контролю;
- центрифужні або інші пробірки місткістю 8–10 мл.

Попередня обробка досліджуваної крові

Попередня обробка досліджуваної крові не потрібна. Може бути використана кров, яка взята безпосередньо перед дослідженням з місця уколу пальця, консервована кров і осад еритроцитів у пробірці після утворення згустка крові, взятої без стабілізатора.

Дозволяється зберігати кров протягом 3 діб при температурі +(6±2) °С.

Техніка виконання реакції

У штатив ставлять 2 ряди пробірок за кількістю досліджуваних зразків еритроцитів у кожному ряді і по 2 пробірки для контрольних досліджень – стандартних резус-позитивних і резус-негативних еритроцитів. На пробірках надписують прізвище і ініціали особи, кров якої досліджують. Відповідно позначають і контрольні пробірки.

У всі пробірки 1-го ряду вносять по 2 краплі (0,1 мл) стандартного універсального реагенту антирезус.

У всі пробірки 2-го ряду вносять по 2 краплі (0,1 мл) 0,9 % розчину натрію хлориду і по одній краплі (0,05 мл) 33 % розчину поліглюкіну.

У кожену пару пробірок вносять відповідно до позначення по 1 краплі (0,05 мл) досліджуваної крові, стандартних резус-позитивних і резус-негативних еритроцитів.

Вміст пробірок перемішують струшуванням і потім поволі повертають по осі, нахилиючи майже до горизонтального положення так, щоб вміст розпливався по стінках. Таке розпливання крові по стінках пробірок робить реакцію більш вираженою. Як правило, аглютинація настає вже протягом 1-ї хвилини, але для утворення стійкого комплексу антиген–антитіло і чітко вираженої реакції, а також зважаючи на можливість сповільненої реакції у разі слабкої аглютинабельності еритроцитів, контакт еритроцитів з реагентом при повертанні пробірок має тривати не менше 3 хв.

Через 3 хв у пробірки додають по 2–3 мл 0,9 % розчину натрію хлориду і перемішують вміст 2–3-кратним повертанням пробірок (не струшувати!).

Оцінка результатів

Пробірки переглядають на світлі неозброєним оком або через лупу з 2-кратним збільшенням. Результат оцінюють за наявністю або відсутністю аглютинації еритроцитів.

За наявності аглютинації у вигляді великих грудочок або пластівців зі склеєних еритроцитів на тлі освітленої рідини досліджувану кров можна вважати резус-позитивною (Rh+). У разі відсутності аглютинації (в пробірці зберігається гомогенне забарвлення) досліджувану кров можна вважати резус-негативною (Rh-). Однак ці результати слід вважати вірогідними тільки після перевірки контрольних зразків, тобто у разі позитивної реакції зі стандартними резус-позитивними еритроцитами і негативної – з резус-негативними, а також після перегляду результатів у 2-му контрольному ряді.

У всіх пробірках 2-го контрольного ряду аглютинації не повинно бути.

Наявність аглютинації в будь-якій пробірці контрольного ряду вказує на неспецифічне склеювання еритроцитів і не дозволяє враховувати результат дослідження як вірогідний.

У таких випадках для визначення резус-належності слід застосовувати іншу сироватку антирезус, включаючи сироватку з повними антитілами, або відмити еритроцити теплим 0,9 % розчином натрію хлориду для вимивання з них аутоантитіл.

Визначення резус-фактора D(Rh₀) за допомогою реакції аглютинації в сольовому середовищі в маленьких пробірках або в планшетах для імунологічних реакцій (реакція придатна для роботи тільки з сироваткою, що має повні резус-антитіла)

Спеціальні реагенти та обладнання:

- стандартні сироватки антирезус з повними антитілами;
- стандартні еритроцити для контролю;
- пробірки 2–2,5 см заввишки і 0,5–0,6 см у діаметрі з гладким дном заокругленої форми або планшети з заглибинами такої ж конфігурації;

- лупа з 6–8-кратним збільшенням;
- термостат (37 °С).

Попередня обробка досліджуваної крові і стандартних еритроцитів

Кров для дослідження беруть у кількості 2–3 мл у звичайні пробірки, в яких знаходиться 0,25 мл (5 крапель) 3,8–5,0 % розчину натрію цитрату або іншого стабілізатора. На пробірці надписують прізвище, ініціали та групу крові особи, від якої взято кров.

Еритроцити необхідно відмити, для чого в пробірки доливають доверху 0,9 % розчин натрію хлориду, вміст їх перемішують і центрифугують при швидкості обертання ротора 1 500 об/хв протягом 5 хв.

Можна брати кров без стабілізатора. У такому разі після зсідання в пробірці залишається деяка кількість вільних еритроцитів. Одержані за такою методикою еритроцити відмивають, як вказано вище.

З відмитих еритроцитів готують 2 % завись, для чого одну краплю еритроцитів переносять у відповідно позначену пробірку, в якій знаходиться 49 крапель 0,9 % розчину натрію хлориду.

Припустимо зберігати кров у холодильнику протягом 3 діб при температурі $+(6\pm 2)$ °С.

Техніка визначення

У штатив встановлюють два ряди маленьких пробірок, у кожному ряді за кількістю досліджуваних зразків еритроцитів і дві – для контролю. Попередньо штатив накривають аркушем паперу. На ньому злегка наколюють отвори, крізь які встановлюють пробірки.

Проти кожної пари пробірок на папері надписують прізвище, ініціали особи, кров якої будуть досліджувати.

У всі пробірки першого ряду вносять по 1 краплі (0,05 мл) сироватки антирезус однієї серії, у всі пробірки другого ряду – по 1 краплі (0,05 мл) сироватки антирезус другої серії, у всі пробірки обох рядів – по 1 краплі 0,9 % розчину натрію хлориду.

У відповідно позначені пари пробірок додають по 1 краплі (0,05 мл) 2 % зависі досліджуваних еритроцитів, а в контрольні пробірки – по 1 краплі (0,05 мл) 2 % зависі контрольних (стандартних резус-позитивних і резус-негативних) еритроцитів.

Вміст пробірок ретельно перемішують струшуванням, і штатив з ними ставлять у термостат за температури 37 °С на 1 год. За цей час еритроцити осідають на дно, попередньо увійшовши в контакт з сироваткою антирезус.

Оцінка результатів

Пробірки слід розглядати по повздовжній осі над джерелом світла, закритим матовим склом. Результат оцінюють за наявністю або відсутністю аглютинації еритроцитів, що проявляється різною формою їх осаду на дні пробірки. У разі позитивного результату осад еритроцитів розташовується на дні пробірки нерівномірним шаром. Видно шорсткість, губчастість або

зернистість його структури. Контури осаду ніколи не бувають рівними, вони зігнуті, іноді згорнуті до середини. У деяких випадках еритроцити розташовуються у вигляді хвилястого віночка навколо більш світлої центральної частини.

У разі негативного результату осад еритроцитів розташовується рівномірним шаром без шорсткостей, інколи з невеликим просвітленням у центрі. Межі його являють собою правильно окреслене коло.

Діаметр осаду при негативному результаті завжди менший, ніж при позитивному.

Зразки еритроцитів, що дають аглютинацію із сироваткою анти-D(Rh₀), є резус позитивними (Rh+); зразки еритроцитів, що не дають аглютинації з сироваткою анти-D(Rh₀) – резус-негативні (Rh-). Однак результат враховують як вірогідний за умови збігання їх в обох серіях сироватки антирезус і після перевірки контрольних зразків, які підтверджують специфічність і активність сироватки антирезус, тобто за відсутності аглютинації зі стандартними резус-негативними еритроцитами однойменної групи і наявності аглютинації зі стандартними резус-позитивними еритроцитами однойменної групи або групи 0(I).

Примітка. Повні антитіла не виявляють слабкий різновид фактора D^U.

Оцінка результатів визначення резус-належності стандартними сироватками

Під час визначення резус-належності двома серіями стандартних сироваток у тих випадках, коли вони використовуються різними методами, результат враховують як вірогідний за умови збігання його в обох серіях досліджень після перевірки контрольних зразків, які підтверджують специфічність і активність кожної серії сироватки антирезус, тобто за відсутності аглютинації зі стандартними резус-негативними еритроцитами однойменної групи і наявності аглютинації зі стандартними резус-позитивними еритроцитами однойменної або групи 0(I) і в контрольних пробах без сироватки (реагенту) антирезус.

Якщо під час визначення резус-належності спостерігається слабка або сумнівна реакція, то слід повторно досліджувати кров даної особи тими ж та іншими серіями сироватки антирезус або моноклональними реагентами, а також використовувати сироватку, що вміщує повні антитіла.

Якщо за таких умов усі серії сироваток, що містять неповні антитіла, дадуть також слабку або сумнівну реакцію, а з повними антитілами реакція буде негативною, це означає, що еритроцити мають слабку різновидність антигену резус, так званий фактор D^U, який зустрічається в популяції з частотою близько 1 %. У цих випадках резус-належність крові хворого або вагітної жінки оцінюють, як резус-негативну (Rh-), а резус-належність крові донора – як резус-позитивну (Rh+), не допускаючи, таким чином, переливання його крові резус-негативним реципієнтам.

Інколи зустрічаються зразки еритроцитів, що дають слабо виражену реакцію. У цих випадках слід повторно досліджувати їх кількома серіями сироваток антирезус високої активності або моноклональними антитілами (реагенти анти-D-супер).

Для визначення резус-належності крові донорів недостатньо розділення їх тільки на резус-позитивних і резус-негативних за сироваткою анти-D(Rh₀), а необхідно додаткове дослідження сироватками, що мають антитіла анти-C(rh') і анти-E(rh''), або моноклональними антитілами.

До числа резус-негативних донорів зараховують тільки тих осіб, кров яких не має жодного зі вказаних антигенів.

Визначення антигенів резус-C(rh'), E(rh''), c(hr') і e(hr'') проводять сироватками, що мають антитіла відповідної специфічності, або моноклональними реагентами. Ці антитіла можуть бути в сироватці як у чистому вигляді, так і в різних співвідношеннях.

Ці дослідження проводять тими ж методами, що і визначення резус-фактора – D(Rh₀). Як позитивний контроль використовують стандартні еритроцити, що мають відповідний антиген.

Визначення антигенів системи резус за допомогою моноклональних антитіл

Характеристика моноклональних тест-реагентів, призначених для виявлення антигенів системи резус у людей.

Моноклональні реагенти (антитіла) призначені для виявлення окремих антигенів системи резус на еритроцитах людини. Їх можна застосовувати замість ізоімуних сироваток або паралельно з ними.

Моноклональні тест-реагенти – це моноклональні антитіла, які виробляються гетерогібридомною. Одержують моноклональні антитіла з культуральної рідини гібридомних клітин-продуцентів. Технологія виготовлення тест-реагентів виключає можливість їх контамінації патогенними для людини вірусами.

Моноклональні антитіла анти-D-супер призначені для виявлення на еритроцитах людини антигену D(Rh₀) і використовуються в серологічних тестах замість або паралельно з імунною анти-D-сироваткою.

Моноклональні анти-D-антитіла випускають у вигляді повних (IgM) та неповних (IgG) антитіл.

Оскільки IgM-антитіла не аглютинують деякі зразки еритроцитів зі слабким варіантом D (зокрема, D^U), необхідно такі "негативні" еритроцити додатково досліджувати в желатиновому тесті або непрямій пробі Кумбса з використанням анти-D-реагентів, що мають IgG-антитіла. Такими реагентами є поліклональні сироватки або моноклональні анти-D-IgG-реагенти.

Анти-D-IgM-антитіла викликають пряму аглютинацію еритроцитів, які мають D-антиген, і можуть використовуватись у будь-якій модифікації прямої аглютинації: в пробірках, на площині, в мікроплатах.

Моноклональні антитіла анти-С-супер вміщують антитіла, здатні викликати пряму аглютинацію еритроцитів, що несуть на собі С(rh')-антиген системи резус. Даний реагент не має антитіл іншої специфічності і тому придатний для виявлення С-антигену в еритроцитах будь-якої групи крові за системою АВ0.

Моноклональні анти-С-антитіла можуть бути використані в реакціях прямої аглютинації в пробірках, на площині, в мікроплатах. У разі застосування тесту на площині, скло необхідно попередньо дещо підігріти.

Моноклональні анти-CDE антитіла виготовляють із моноклональних антитіл (IgM та IgG) для виявлення в еритроцитах антигену С (один IgM-клон), D-антигену (один IgM-клон та один IgG-клон) і антигену Е (один IgM-клон) шляхом прямої аглютинації в пробірках, на площині та в мікроплатах.

Слід підкреслити, що D^U-позитивні еритроцити також аглютинуються цим реагентом. Проте в разі негативної реакції слабкий D^U фенотип можна виявити в непрямому тесті Кумбса з використанням IgG-компонентів анти-CDE моноклональних антитіл.

Реакцію з моноклональними анти-резус-тест-реагентами можна ставити в пробірках, на площині та в мікроплатах.

Тест в пробірках

Одну краплю 3–5 % зависі еритроцитів сполучають з краплею моноклонального рідкого тест-реагенту.

Пробірки струшують до повного перемішування реагентів, після чого центрифугують при швидкості ротора 1 000 об/хв протягом 1 хв. Допускається попередня (перед центрифугуванням) інкубація при кімнатній температурі або при температурі 37 °С протягом 30 хв.

Обережно струшують осад у пробірках.

У разі негативного результату осад еритроцитів легко розбивається, створюючи гомогенну непрозору суспензію.

Якщо результат позитивний, осад не розбивається, залишаючись у вигляді одного або декількох великих аглютинатів на тлі прозорої рідини.

Реакція аглютинації на площині (найбільш прийнятна в лабораторній практиці)

На скляну площину зі змочуваною поверхнею наносять дві краплі тест-реагенту анти-резус (0,1 мл), 1 краплю досліджуваної крові (0,05 мл) і ретельно змішують.

Через 20–30 с починають погойдувати площину. Чітка аглютинація починається і спостерігається досить чітко за 60 с. Результат реакції слід враховувати через три хвилини, уникаючи висихання крапліни.

Реакція аглютинації в мікроплатах

У комірку мікроплати капають одну краплину тест-реагенту анти-резус і додають до неї одну краплю 3–5 % зависі еритроцитів. Ретельно перемішують вручну або вібратором для мікроплат.

Центрифугують при швидкості обертання ротора 1000 об/хв протягом 1 хв або попередньо інкубують 30 хв при кімнатній (від 20 до 27 °С) температурі.

Злегка струшують мікроплату. Якщо результат негативний, осад розбивається у вигляді рівномірного забарвлення рідини.

У разі позитивного результату осад залишається у вигляді великих аглютинатів.

Відчитування результатів необхідно проводити у прохідному світлі з дзеркалом або з використанням спеціального обладнання, наприклад, апарату автоматичного обліку мікроплат.

Непрямий тест Кумбса для визначення D^U-антигену

Готують 3–5 % суспензію досліджуваних еритроцитів в 0,9 % розчині натрію хлориду.

У пробірці сполучають 1 краплю суспензії еритроцитів з 1 краплею моноклональних анти-CDE-антитіл і ретельно перемішують реагенти.

Ставлять на водяну баню при температурі 37°С на 15 хв.

Після інкубації еритроцити тричі відмивають 0,9 % розчином натрію хлориду. Для цього в пробірці доливають до верху 0,9 % розчин натрію хлориду, вміст їх перемішують і центрифугують при швидкості 1 500 об/хв протягом 5 хв.

Додають до осаду еритроцитів 2 краплі антиглобулінової сироватки Кумбса, ретельно перемішують.

Центрифугують протягом 1 хв при швидкості обертання ротора 1 000 об/хв при кімнатній температурі.

Струшують пробірку та враховують аглютинацію.

Аглютинація еритроцитів свідчить про наявність антигену D^U.

У разі негативного результату реакції ставлять паралельний контроль з D-позитивними та D-негативними еритроцитами в пробі Кумбса.

Примітка. Інші антигени за системою резус, такі, наприклад, як C(rh'), c(rh'), E(rh''), e(hr''), а також антигени інших систем (Келл) виявляються ізоімунними сироватками, що мають відповідну специфічність. У перспективі розвитку біотехнології можлива заміна ізоімунних сироваток повністю моноклональними реагентами, переваги яких на сьогодні цілком очевидні.

Помилки при визначенні Rh-фактора

Помилки організаційно-технічного характеру:

- неправильний вибір антирезусних сироваток за груповою належністю;
- помилковий порядок розміщення сироваток, реагентів або дослідної крові у штативах;
 - неправильне співвідношення між сироваткою і еритроцитами (еритроцитів повинно бути приблизно в 10 разів менше ніж сироватки);
 - недотримання необхідної температури у водяній бані (при температурі нижче 42 °С аглютинація може не настати, при вищій від 48 °С краплини швидко висохнуть);
 - недотримання часу, необхідного для проведення реакції;
 - висновок робиться з висохлої краплі;
 - використання для визначення резус-фактора старої, гемолізованої або інфікованої крові;
 - визначення резус-належності за допомогою однієї серії антирезусної сироватки.

Помилки, пов'язані з використанням недоброякісних сироваток:

- використання протермінованих сироваток;
- використання малоактивних сироваток;
- використання забруднених, інфікованих сироваток.

Помилки, зумовлені біологічними особливостями дослідної крові:

- феномен поліаглютинабельності еритроцитів: поліаглютинацію вдається усунути за допомогою відмивання еритроцитів, хоч і не завжди;
- наявність антигену D^U (слабка різновидність антигену D): еритроцити з цим аглютиногеном дають дуже нечітку аглютинацію зі стандартними антирезусними сироватками та з МКА; реципієнтів з антигеном D^U вважають резус-негативними, донорів – резус-позитивними;
- зниження рівня резус-аглютиногенів при деяких захворюваннях (хвороби системи крові, печінки, нирок, імунної системи).

Лабораторні проби на сумісність крові реципієнта і донора

Проби на індивідуальну сумісність групи крові (еритроцитів) за системою АВ0

Усі проби виконують з сироваткою крові хворого, яку одержують шляхом центрифугування чи відстою. Сироватка придатна для проби у разі зберігання у холодильнику протягом 2 діб.

На білу пластинку наносять 2–3 краплі сироватки крові хворого, до якої додають у 5 разів меншу краплю концентрату еритроцитів (крові) донора. Кров перемішують з сироваткою хворого, потім пластинку періодично погойдують протягом 5 хв і одночасно спостерігають за результатом реакції. Відсутність аглютинації еритроцитів донора свідчить про сумісність групи крові донора і реципієнта за системою АВ0.

Наявність аглютинації вказує на їх несумісність і на неможливість переливання еритроцитарного концентрату (крові).

Проба на сумісність крові (еритроцитів) за резус-фактором Rh0(D)

Під час проведення проби на сумісність крові (еритроцитів за резус-фактором Rh0(D) використовують 33,0 % розчин декстрану.

Пробу проводять у пробірці без підігріву протягом 5 хв. На дно пробірки, на яку попередньо нанесені відповідні позначки, вносять 2 краплі сироватки хворого, краплю донорських еритроцитів (крові) і 1 краплю 33,0 % розчину декстрану, спеціально приготованого для лабораторних цілей.

Вміст пробірки змішують шляхом струшування, потім пробірку нахилиють майже до горизонтального рівня і повільно повертають таким чином, щоб вміст розтікався по стінках пробірки. Процедуру продовжують 5 хв. Після цього в пробірку доливають 3–4 мл ізотонічного розчину натрію хлориду, перемішують вміст шляхом 2–3 разового перевертання пробірки (не збовтувати!) і оглядають на світло неозброєним оком.

Оцінка результатів: наявність аглютинації еритроцитів на фоні просвітленої або повністю прозорої рідини вказує на те, що еритроцити (кров) донора не сумісні з кров'ю хворого і не можуть бути йому перелиті. Якщо вміст пробірки залишається рівномірно забарвленим, без ознак аглютинації, еритроцити (кров) донора сумісна з кров'ю хворого відносно резус-фактора Rh0(D).

Проба на сумісність з використанням 10,0 % розчину желатину. Пробу проводять у пробірках при температурі від 46 до 48°C протягом 10 хв. На дно відповідно позначеної пробірки вносять 1 краплю еритроцитів донора, попередньо відмитих 10-кратним об'ємом ізотонічного розчину натрію хлориду, потім додають 2 краплі підігрітого (до розрідження) 10,0 % розчину желатину і 2–3 краплі сироватки хворого.

Примітка. Розчин желатину перед вживанням необхідно ретельно оглянути. Якщо розчин каламутний або з'явилися пластівці, желатин до використання непридатний.

Вміст пробірки перемішують шляхом струшування і ставлять на водяну баню при температурі від 46 до 48 °C на (10±1) хв. Потім пробірку виймають із водяної бані, додають до неї 5,0–8,0 мл ізотонічного розчину натрію хлориду, перемішують вміст шляхом 1–2 разового перевертання пробірки і оглядають на світло неозброєним оком або через лупу.

Оцінка результатів: наявність аглютинації у вигляді зависі маленьких, рідше великих, клубочків на фоні освітленої або повністю прозорої рідини означає, що еритроцити (кров) донора несумісні з кров'ю хворого і їх не можна переливати хворому.

Якщо вміст пробірки залишається рівномірно забарвленим, трохи опалесцентним і в ньому не спостерігається аглютинації, еритроцити (кров) донора сумісні з кров'ю хворого за резус-фактором Rh0(D).

Клініко-біологічна проба на сумісність

Перед переливанням пластикатний контейнер (флакон) з еритроцитним концентратом (кров'ю, плазмою) витримують після виймання з холодильника при кімнатній температурі протягом 30–40 хв, а в екстрених випадках підігрівають до температури $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ на водяній бані (під контролем термометра).

Біологічну пробу проводять незалежно від швидкості і способу введення (струминно або краплинно). Струминно переливають 10–15 мл еритроцитів (плазми, крові), потім протягом 3 хв спостерігають за станом хворого. При відсутності клінічних проявів реакції чи ускладнень (прискорення пульсу, дихання, поява задухи, затруднене дихання, гіперемія обличчя) знову вводять 10–15 мл еритроцитів (плазми, крові) і ще 3 хв спостерігають за хворим. Таку процедуру проводять тричі. Відсутність реакцій у хворого після 3-разової перевірки є підставою для продовження трансфузії.

У випадку розвитку клінічних ознак реакції чи ускладнення хворий стає неспокійним: з'являються відчуття холоду або жару, стиснення в грудях, біль у попереку, животі, головний біль. Можуть спостерігатися зниження артеріального тиску, прискорення частоти пульсу, дихання, блідість, а потім ціаноз обличчя. При появі будь-якої згаданої ознаки переливання еритроцитів (крові) треба припинити.

У разі переливання еритроцитарного концентрату (крові) під наркозом про виникнення реакції або ускладнення може свідчити немотивоване прискорення пульсу та зниження артеріального тиску. В такому випадку подальше переливання необхідно негайно припинити. Хірург повинен вирішити питання щодо причин гемодинамічних порушень. Якщо їх спричиняє трансфузія, то цей контейнер (флакон) з гемокомпонентами (кров'ю) необхідно відключити.

Забороняється переливати компоненти крові (кров) з одного пластикатного контейнера (флакона) декільком хворим, особливо дітям.

Після переливання ємності із залишками трансфузійного середника зберігають протягом 2 діб у холодильнику для ретроспективних досліджень.

Реципієнт після трансфузії протягом 2 год дотримується ліжкового режиму і знаходиться під наглядом лікуючого або чергового лікаря. У нього вимірюють температуру тіла та артеріальний тиск, через 1,2 та 3 год відповідно, фіксуючи ці дані в медичній карті стаціонарного хворого. Наступного дня після переливання обов'язково проводять клінічний аналіз сечі і крові та фіксують ці показники в медичній карті стаціонарного хворого.

Лікар, який переливає гемокомпоненти, зобов'язаний зробити про це запис в медичній карті стаціонарного хворого та оформити протокол, в якому слід відзначити:

- 1) обґрунтування та показання до трансфузії;
- 2) паспортні дані кожної ємності з компонентами крові (кров'ю): прізвище та ініціали донора, групу крові, резус-належність, номер ємності і дату заготівлі компонентів крові (крові);

- 3) результат контрольної перевірки групової належності крові та її компонентів реципієнта за системою АВ0;
- 4) результат контрольної перевірки групової належності компонентів крові (крові) донора за системою АВ0, взятої з ємності;
- 5) результат проби на сумісність компонентів крові (крові) донора і реципієнта за системою АВ0;
- 6) метод і результат проби на сумісність за резус-фактором;
- 7) результат біологічної проби;
- 8) після трансфузії лікар заповнює листок та реєстраційний журнал переливання трансфузійних середників.

Запитання для контролю знань

1. Знати історію вчення про кров.
2. Вчення про групи крові.
3. Вміти визначити групи крові по стандартним сироваткам.
4. Визначити групи крові за цоліклонами.
5. Визначити групи крові за стандартними еритроцитами.
6. Визначити Rh-фактор експрес-методом сироваткою анти-резус Д.
7. Визначити Rh-фактор цоліклоном анти-резус "Д" супер.
8. Визначити групову сумісність.
9. Визначити Rh-сумісність.
10. Провести біологічну пробу.

Система навчальних завдань

1. Укажіть вміст аглютиногенів в еритроцитах у хворого з групою крові А(II):
 - а) еритроцити містять аглютиноген В;
 - б) еритроцити містять аглютиноген А;*
 - в) еритроцити містять аглютиногени А та В;
 - г) еритроцити не містять аглютиногенів;
 - д) еритроцити містять аглютиноген О.
2. Укажіть вміст аглютиногенів в еритроцитах у хворого з групою крові 0(I):
 - а) еритроцити містять аглютиноген В;
 - б) еритроцити містять аглютиноген А;
 - в) еритроцити містять аглютиногени А та В;
 - г) еритроцити не містять аглютиногенів;*
 - д) еритроцити містять аглютиноген Rh.
3. Укажіть вміст аглютинінів у сироватці крові хворого з групою крові АВ(IV):
 - а) сироватка містить аглютинін А;
 - б) сироватка містить аглютинін В;
 - в) сироватка містить аглютинін А та В;
 - г) сироватка не містить аглютинінів;*
 - д) сироватка містить холододивий аглютинін.

4. Визначте правильно написану групу крові В(III) за системою АВ0:
а) $A\beta$; б) $O\alpha\beta$; в) $B\alpha$; * г) $AB\ 0$; д) $AB\ \alpha$.
5. Визначте правильно написану групу крові АВ(IV) за системою АВ0:
а) $A\beta$; б) $O\alpha\beta$; в) $B\ \alpha$; г) $AB\ 0$; * д) $AB\ \beta$.
6. Коли слід оцінювати придатність до переливання консервованої крові?
а) після збовтування; г) через 5 хв після збовтування;
б) до збовтування (+); д) через 10 хв після збовтування.
в) через 3 хв після збовтування;
7. Укажіть спосіб визначення біологічної сумісності крові:
а) після переливання 20 мл крові;
б) двократно після переливання по 15–20 мл крові з інтервалом 3 хв;
в) двічі після переливання 15–20 мл крові з інтервалом 5 хв;
г) тричі після переливання 15–20 мл крові з інтервалом 3 хв; *
д) тричі після переливання по 15–20 мл крові з інтервалом 5 хв.
8. Система АВ0 названа так завдяки:
а) аглютинінам; в) аглютиногенам (+); д) компонентам згортання.
б) резус-фактору; г) мікроагрегантам;
9. Який відсоток людей в світі мають II групу крові?
а) 25–30 %; б) 42–44 %; * в) 60–79 %; г) 5–10 %; д) 10–20 %.
10. Резус-фактор (Rh) був відкритий у 1940 р.:
а) Ландштейнером та Вінером; * г) Мохером;
б) В. Мосс–Янским; д) Спасокукоцьким.
в) Отенбергом;
11. Найпоширенішою групою крові в світі є:
а) $A(II)$; * в) $B(III)$; д) однаково часто зустрічаються.
б) $O(I)$; г) $AB(IV)$;
12. Хто повинен переливати кров хворому під час операції?
а) хірург;
б) анестезіолог;
в) хірург чи анестезіолог, які беруть участь в операції;
г) хірург чи анестезіолог, які не беруть участі в операції; *
д) медсестра.
13. У 30-річного хворого з $A(II)$ групою крові крововтрата до 800 мл. Кров необхідної групи в лікарні відсутня. Яка тактика лікаря доцільна в даному випадку?
а) переливати до 500 мл $O(I)\ Rh(+)$ крові;
б) переливати до 500 мл $O(I)\ Rh(-)$ крові;
в) відмовитись від гемотрансфузії і використовувати кровозамінники для поповнення ОЦК; *
г) переливати до 50 мл $B(III)\ Rh(+)$;
д) переливати до 500 мл $B(III)\ Rh(+)$.

14. При визначенні групи крові 2 серіями стандартних сироваток 0αβ (I), Aβ (II), Bα (III) відбулась аглютинація еритроцитів. Яка група крові у хворого?

- a) 0 αβ (I);
- б) AB (IV);
- в) визначення груп крові слід продовжити;*
- г) визначення групи крові необхідно повторити;
- д) AB.

15. При визначенні групи крові двома серіями стандартних сироваток I, II, III груп жодна не викликала аглютинацію еритроцитів. Яка група крові у хворого?

- a) αβ (I);* в) визначення груп крові слід продовжити; д) AB.
- б) ABO (IV); г) визначення груп крові слід повторити;

Правильні відповіді до завдань позначені *.

Задачі

1. В хірургічне відділення поступив хворий з виразковою хворобою 12-палої кишки, яка ускладнилась кровотечею. Дефіцит ОЦК складає 35 %. З метою відновлення крововтрати показане переливання крові. Який необхідний мінімум лабораторних досліджень та проб, без котрих гемотрансфузія неможлива?

2. Під наглядом лікаря в маніпуляційному кабінеті дві медсестри визначають групи крові чотирьох пацієнтів. Для цього вони на білі фаянсові пластинки з відповідними позначками нанесли по 2 серії стандартних сироваток. Досліджувану кров добре змішали з краплинами стандартних сироваток. Пластини погойдали і залишили на 1–2 хв, потім знову погойдали. Не раніше, ніж через 3 хв, у місця, де виникла аглютинація, внесли по 1 краплі ізотонічного розчину натрію хлориду. Через 5 хв від початку дослідження лікар провів оцінку результатів, записавши їх в історію хвороби. На що не звернув уваги лікар, порушивши тим самим вимоги "Інструкції щодо визначення груп крові за системою АВ0"?

3. Хворого з масивною внутрішньою кровотечею за життєвими показаннями направлено в операційну. Під інтубаційним наркозом виконується оперативне втручання, направлене на кінцеву зупинку кровотечі. З метою відновлення крововтрати під час операції виникла необхідність переливання крові. Як провести біологічну пробу на сумісність хворому, що знаходиться під наркозом?

4. При проведенні проби на групову сумісність отримана аглютинація. Що необхідно виконати і на що вказує ця реакція?

5. У реципієнта резус-фактор визначався експрес-методом. При проведенні проби на резус-сумісність отримана аглютинація. На що вказує ця реакція і що необхідно виконати?

6. Хворому з масивною шлунковою кровотечею (Hb – 48 г/л, еритроцити – $1,8 \times 10^{12}$ /л, Ht – 20) показано переливання еритроцитарної маси. Одногрупна однорезусна еритроцитарна маса доставлена зі станції переливання крові. Під час проведення проби на сумісність за системою АВ0 виникла аглютинація. На що вказує ця реакція? Що повинен зробити лікар?

7. Хворому, що готується до оперативного втручання з приводу шлунково-кишкової кровотечі, медсестра визначила групу крові сироватками однієї серії і показала лікарю. Аглютинація виникла із сироваткою першої та третьої групи. Яка група крові у хворого і чи допустила помилку медична сестра?

8. Визначення групи крові стандартними сироватками проводилось в планшетці при температурі 14 °С. При визначенні результату спостерігалась аглютинація зі всіма сироватками. Як можна трактувати результат дослідження?

9. Визначення групи крові стандартними сироватками проводилось у планшетці при температурі 35 °С. При визначенні результату аглютинація в сироватках не виникла. Чи можна трактувати результат дослідження як першу групу крові?

10. У хворого зі внутрішньочеревною кровотечею медсестра визначає групу крові за допомогою цоліклонів. Аглютинація виникла з цоліклонами анти А і анти В. Чи можна трактувати результат як група крові АВ(IV)?

11. При дослідженні групи крові двома серіями стандартних сироваток аглютинація не виникла через 3 хв. Результат трактований лікарем як перша група крові. Чи вірним є результат?

12. При дослідженні груп крові двома серіями стандартних сироваток результат дослідження оцінювався лікарем через 10 хв. Аглютинація трапилась в сироватках О (I), А (II), В (III). Результат трактований як четверта група крові. Чи вірно проведено дослідження?

13. При проведенні проби на групову сумісність за системою АВ0 змішати сироватку донора з еритроцитами реципієнта. Результат дослідження оцінили через 5 хв аглютинації не виявлено. Чи означає це, що кров донора і реципієнта сумісна за системою АВ0?

14. При проведенні проби на резус-сумісність у пробірку помістили 1 краплю еритроцитів донора, які перед цим відмили фізрозчином, додали 2 краплини 10 % розчину желатину і 2–3 краплини сироватки реципієнта. Вміст пробірки змішали. Результат проби оцінили через 10 хв, додали в пробірку 5–8 мл ізотонічного розчину. Аглютинації в пробірці не виявлено. Чи свідчить це про те, що кров сумісна за Rh-фактором?

15. Хворому з ножовим пораненням у живіт і кровотечею перед операцією визначали групу крові двома серіями стандартних сироваток з титром антитіл 1:32, з терміном придатності, що закінчився 1 міс тому.

При оцінці аглютинації не виявлено в сироватках О (I), А (II), В (III) груп крові. Чи свідчить це про те, що у хворого перша група крові?

Відповіді до задач

1. Для виключення гемотрансфузійних ускладнень та реакцій необхідно:

а) визначити групу крові донора і реципієнта;

б) визначити резус-фактор донора і реципієнта;

в) провести пробу на групову сумісність донора і реципієнта за системою АВО;

г) провести пробу на резус-сумісність донора і реципієнта;

д) провести біологічну пробу.

2. Згідно з "Інструкцією" перед визначенням групи крові на пластинки наносять прізвище та ініціали хворого або номер флакону донора крові.

3. При проведенні біологічної проби під час хірургічної операції, коли хворий знаходиться під наркозом, зміна пульсу та артеріального тиску може залежати не тільки від переливання крові, але і від оперативного втручання, крововтрати, введення лікарських засобів і наркозу. Для цього після переливання перших 100 г препаратів крові в суху пробірку з декількома краплями гепарину набирають 5 мл крові із вени хворого та центрифугують. Наявність рожевого забарвлення плазми (частий пульс, зниження АТ) вказує на те, що перелита несумісна кров. Якщо плазма має звичайне забарвлення, то препарати крові сумісні і можна продовжувати гемотрансфузію.

4. Реакція вказує на відсутність сумісності крові донора і реципієнта за системою АВО. При змішуванні сироватки донора і еритроцитів реципієнта однієї групи така реакція неможлива. Реакція аглютинації при проведенні проби на групову сумісність вказує на те, що групи крові визначені невірно. Необхідно повернутись до визначення груп крові як у донора, так у реципієнта.

5. Реакція аглютинації при проведенні проби на резус-сумісність вказує на те, що кров несумісна за резус-фактором. Отже, при визначенні резус-фактора виникла помилка. Найчастіше помилка виникає у реципієнта, адже у донора вона визначається на станції переливання крові точнішими лабораторними методами, а у реципієнта – експрес-методом.

6. Ця проба вказує, що кров несумісна за групами АВО. Таку еритроцитарну масу переливати не можна. Аглютинація не проходить, якщо кров донора і реципієнта однієї групи. Таким чином, виникла помилка при визначенні групи крові у донора чи реципієнта. Потрібно повторити визначення групи крові.

7. Група крові за методом стандартних сироваток, згідно з інструкцією щодо переливання крові, визначається двома серіями стандартних сироваток. За даними дослідження однією серією у хворого А(II) група крові.

8. Тракувати результат дослідження в даному випадку не можна, адже можлива холодова неспецифічна аглютинація. Потрібно створити відповідний температурний режим для дослідження (18–20 °С).

9. Тракувати результат дослідження при такій температурі не можна, оскільки аглютинація може не виникнути. Потрібно створити відповідний температурний режим у кімнаті для дослідження (18–20 °С).

10. Результат дослідження тракувати не можна, адже можлива неспецифічна аглютинація, яку можна виключити шляхом додавання 0,9 % розчину хлориду натрію.

11. Результат можна тракувати лише через 5 хв після початку дослідження, адже наявний антиген A₂ дає реакцію аглютинації лише через 5 хв.

12. Результат дослідження трактований невірно, тому що в даному випадку трапилась псевдоаглютинація. Результат потрібно тракувати через 5 хв дослідження.

13. Проба на групову сумісність виконана невірно, необхідно сироватку реципієнта змішати з еритроцитами донора.

14. При проведенні проби на резус-сумісність з желатином допущена помилка. Пробірки потрібно помістити у водяну баню при температурі 46–48 °С на 10 хв і лише тоді оцінювати результат дослідження.

15. Слабкі стандартні сироватки з титром антитіл 1:32 і закінченим терміном придатності можуть викликати пізню і слабку аглютинацію і невірно тракування результатів визначення групи крові, котре потрібно повторити.

Технологічна карта заняття

№ пор	Основні етапи заняття, їх функції та зміст	Методи контролю і навчання	Матеріали методичного забезпечення	Розподіл часу (хв)
1 2 3	<p>Підготовчий етап</p> <p>Організаційні заходи</p> <p>Постановка навчальних цілей та мотивація</p> <p>Контроль вихідного рівня знань, навичок, умінь</p> <p>1. Актуальність теми. 2. Склад крові. Фізіологія крові. 3. Групи крові, Rh-фактор, інші фактори</p>	Індивідуальне опитування Тести II р.	<p>П. 1 "Актуальність теми" П. 2 "Навчальні цілі"</p> <p>Таблиці, слайди.</p>	20
4	<p>Основний етап</p> <p>1. Визначення групи крові: а) стандартними сироватками; б) моноклональними реагентами (цоліклонами); в) стандартними еритроцитами. 2. Техніка визначення Rh-фактора експрес-методом: а) стандартною сироваткою анти-резус Д;</p>	<p>Професійний тренінг у вирішенні нетипових клінічних задач.</p> <p>Практичний тренінг.</p>	Заняття проводиться в учбових кімнатах	45

№ пор	Основні етапи заняття, їх функції та зміст	Методи контролю і навчання	Матеріали методичного забезпечення	Розподіл часу (хв)
	б) моноклональними реагентами (цоліклони). 3. Проби на сумісність: а) групова за системою АВ0; б) за Rh-фактором з використанням 10 % желатину; в) біологічна			
5	Заключний етап Контроль та корекція рівня професійних вмінь та навичок	Індивідуальний контроль навичок.	Тести. Задачі.	25
6	Підведення підсумків заняття		Короткі методичні вказівки до роботи на практичному занятті	
7	Домашнє завдання (основна і додаткова література за темою)	Тести		

ЛІТЕРАТУРА

1. Общая хирургия: учебник / М. Д. Желиба, С. Д. Химич, И. Д. Герич и др.; под ред. М. Д. Желибы, С. Д. Химича. – Киев : ВСИ "Медицина", 2011. – 448 с.
2. Загальна хірургія : підручник / М. Д. Желіба, С. Д. Хіміч, І. Д. Герич та ін.; за ред. М. Д. Желіби, С. Д. Хіміча. – Київ : ВСВ "Медицина", 2010. – 488 с.
3. Пантьо В. В. Загальна хірургія: навч. посібник / В. І. Пантьо, В. М. Шимон, О. О. Болдіжар. –Ужгород : ІВА, 2010. – 464 с.
4. Гостищев В. К. Общая хирургия: учебник / В. К. Гостищев. – 5-е изд., перераб. и доп. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 728 с.
5. Хірургія: підручник / за ред. Л. Я. Ковальчука. – Тернопіль : ТДМУ, 2010. – 1056 с.
6. Курс лекцій з загальної хірургії / за ред. О. І. Дронова, В. О. Сипливого, І. О. Ковальської, О. А. Скомаровського, С. А. Крючиної. – Київ : МВЦ "Медінформ", 2011 – 487 с.
7. Хіміч С. Д. Довідник хірурга / С. Д. Хіміч. – Київ : Здоров'я, 2011. – 208 с.
8. Лисенко Б. П. Хірургія : підручник / Б. П. Лисенко, В. Д. Шейко, С. Д. Хіміч. – Київ : ВСВ "Медицина", 2010. – 712 с.
9. Хірургія / за ред. Я. С. Березницького, М. П. Захараша, В. Г. Мішалова, В. О. Шідловського. – Дніпропетровськ : РВА "Дніпро-VAL", 2008. – 445 с.
10. Догляд за хворими хірургічного профілю / В. П. Польовий, О. Й. Хомко, С. П. Польова, А. С. Паляниця, І. О. Вишньовський. – Чернівці : Медуніверситет, 2012. – 380 с.
11. Петров С. В. Общая хирургия : учебник [Электронный ресурс] / С. В. Петров. – 4-е изд., перераб. и доп. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 832 с.
12. Конспекти лекцій.

Навчальне видання

**Гемотрансфузія.
Визначення груп крові
за системами АВ0 та Rh-фактор.
Проби на індивідуальну сумісність
за системами АВ0 та Rh-фактор,
біологічна проба**

*Методичні вказівки до практичних занять
та самостійної роботи студентів 3-го курсу
II та IV медичних факультетів
з дисципліни "Загальна хірургія"*

Упорядники Сипливий Василь Олексійович
 Доценко Володимир Васильович
 Курбагов Вадим Олексійович
 Петренко Григорій Дмитрович
 Гузь Анатолій Гаврилович
 Петюнін Олексій Геннадійович
 Грінченко Сергій Володимирович
 Робак Всеволод Ігорович
 Євтушенко Дмитро Васильович
 Євтушенко Олександр Васильович

Відповідальний за випуск В. О. Сипливий



Редактор Є. В. Рубцова
Комп'ютерна верстка О. Ю. Лавриненко

Формат А5. Ум. друк. арк. 2,0. Зам. № 20-33919.

**Редакційно-видавничий відділ
ХНМУ, пр. Науки, 4, м. Харків, 61022
izdatknmurio@gmail.com**

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до Державного реєстру видавництв, виготівників і розповсюджувачів видавничої продукції серії ДК № 3242 від 18.07.2008 р.