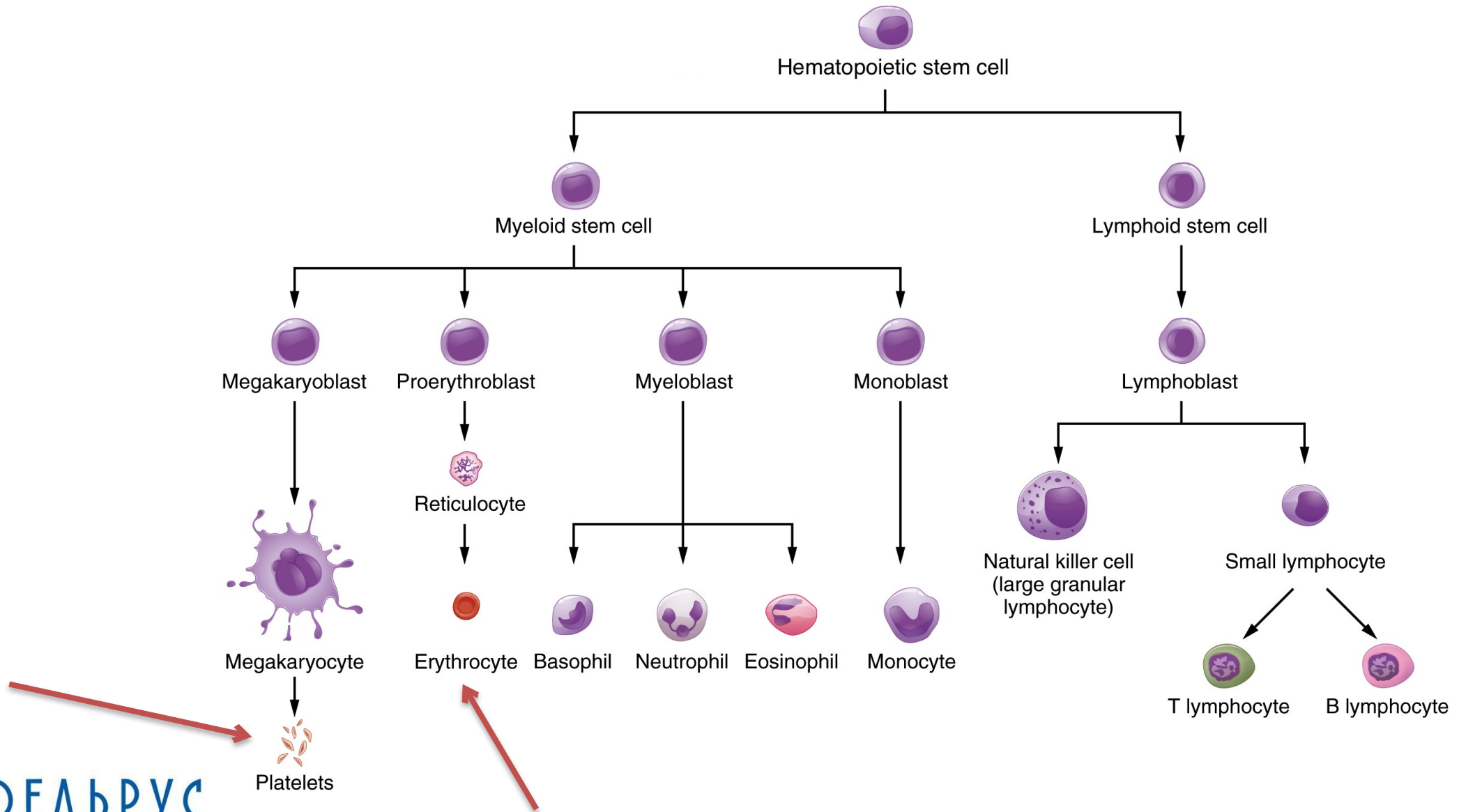


NATFORLAB **2025**

Современные решения при определении группы крови и антиэритроцитарных антител

**Руководитель направления
«Иммуногематология»
представительства компании
DiaPro в РФ и СНГ
Алексей Михайлович
Малахов**

Схема гемопоэза (кроветворения)



Что такое группы крови?

Группы крови — это генетически определённые сочетания антигенов эритроцитов, объединённых в системы.

Понятие «**группы крови**» имеет двойное толкование. Обычно под группами крови имеют в виду четыре группы системы АВО:

- первую – О(I),
- вторую – А(II),
- третью – В(III),
- четвертую – АВ(IV).*

Для групп крови идентифицированы:

1. Аллоантигены
2. Аллогены
3. Аллоантитела

В широком толковании понятие «**группы крови**» распространяется на все существующие антигенные различия клеточных и плазменных элементов крови человека *

* Группы крови человека: Руководство по иммуносерологии / С.И. Донсков, В.А. Мороков. – М.: ИП Скороходов В.А., 2011 ..

ГРУППЫ КРОВИ по номенклатуре ISBT

International Society of Blood Transfusion

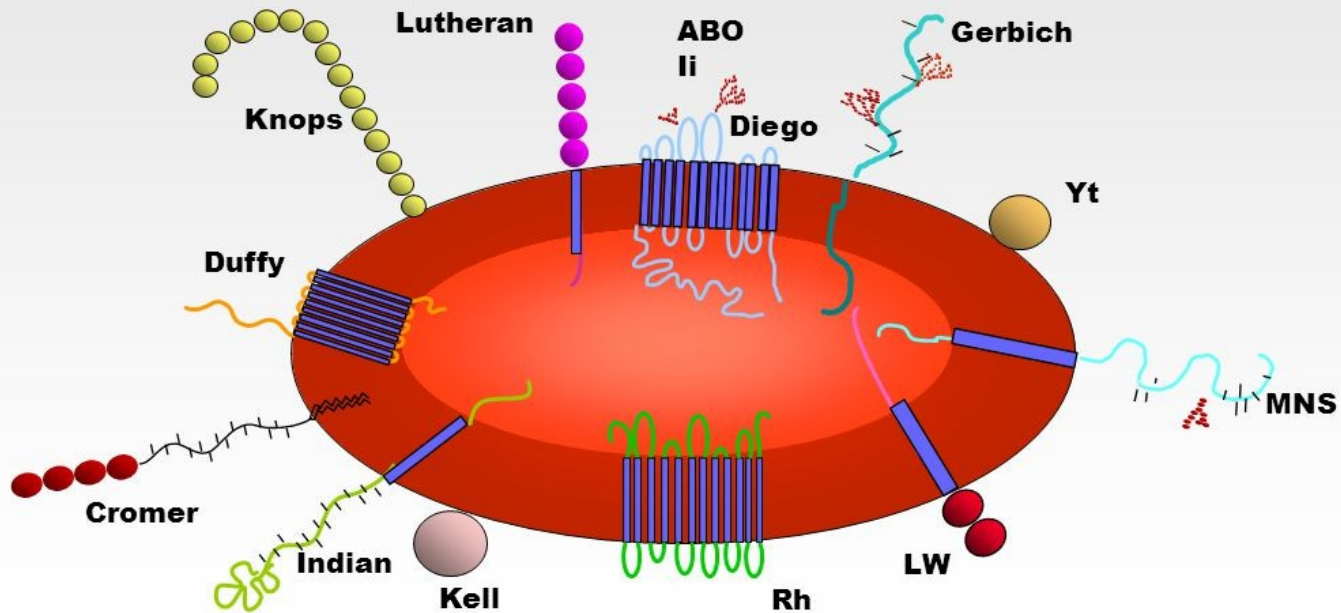
(Международное общество переливания крови)



На сегодняшний день известно 44 системы, а также свыше 350 антигенов эритроцитов

Нумерация (ISBT)	Название системы группы крови	Сокращённое обозначение	Год открытия	Хромосома	Количество групп крови в системе	Эпитоп или носитель, примечания
1	ABO	ABO	1900	9q34.2. А рхивиров ано 5 июня 2020 года.	4: 0 α β (I), A β (II), B α (III), AB α (IV)	Углеводы (N-ацетилгалактозамин, галактоза). Антигены A, B и H большей частью вызывают IgM-реакции антиген-антитело, хотя anti-H встречается редко, см. Hh antigen system (Бомбейский фенотип, ISBT #18)
2	MNSS _[англ.]	MNS	1927	4q31.21	9: MNSS, MNSs, MNss, MMSS, MMSs, MMss, NNSS, NNSs, NNss	GPA / GPB (гликофорины A и B). Основные антигены M, N, S, s
3	P1PK	P	1927	3q26.1, 22 q13.2	4: P ₁ , P ₂ , P ^k , p	Гликолипид
4	Резус-фактор	Rh	1940	1p36.11, 1 5q26.1	2 (по антигену Rh ₀ (D)): Rh+, Rh-	Белок. Антигены C, c, D, E, e (отсутствует антиген «d», символ «d» свидетельствует об отсутствии D)
5	Лютеран (англ. Lutheran)	LU	1946	19q13.22	Lu(a) и Lu(b)	Белок BCAM (относится к надсемейству иммуноглобулинов). Состоит из 21 антигенов
6	Келл-Челлано (англ. Kell-Cellano)	KELL	1946	7q34	3: K-K, K-k, k-k	Гликопротеин. K1 может вызвать гемолитическую желтуху новорожденных (anti-Kell), которая может быть серьёзной угрозой
7	Льюис (англ. Lewis)	LE	1946	19p13.3	Льюис a (Le-a) и Льюис b (Le-b)	Углевод (остаток фукозы). Главные антигены Le ^a и Le ^b — связанные с отделением ткани антигена ABH
8	Даффи (англ. Duffy)	Fy	1950	1q23.2	4: Fy (a+b+), Fy (a+b-), Fy (a-b+), Fy (a-b-)	Белок (рецептор хемокинов). Главные антигены Fy ^a и Fy ^b . Индивиды, у которых целиком отсутствуют антигены Duffy, имеют иммунитет против малярии, вызванной Plasmodium vivax и Plasmodium knowlesi

Blood groups on the RBC

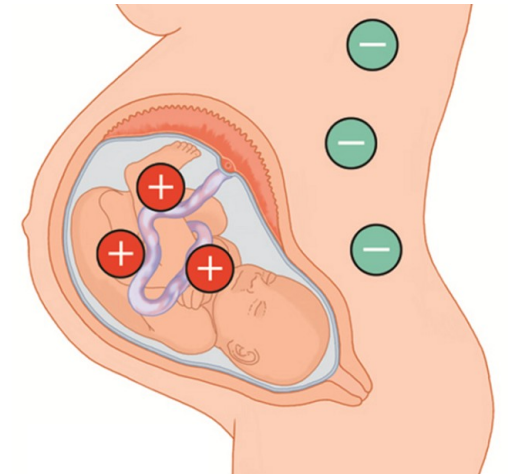


Slide courtesy of E. Sjöberg-Wester

Антигены главного комплекса гистосовместимости HLA не обнаруживаются на поверхности эритроцитов человека

Почему это важно иметь современные решения?

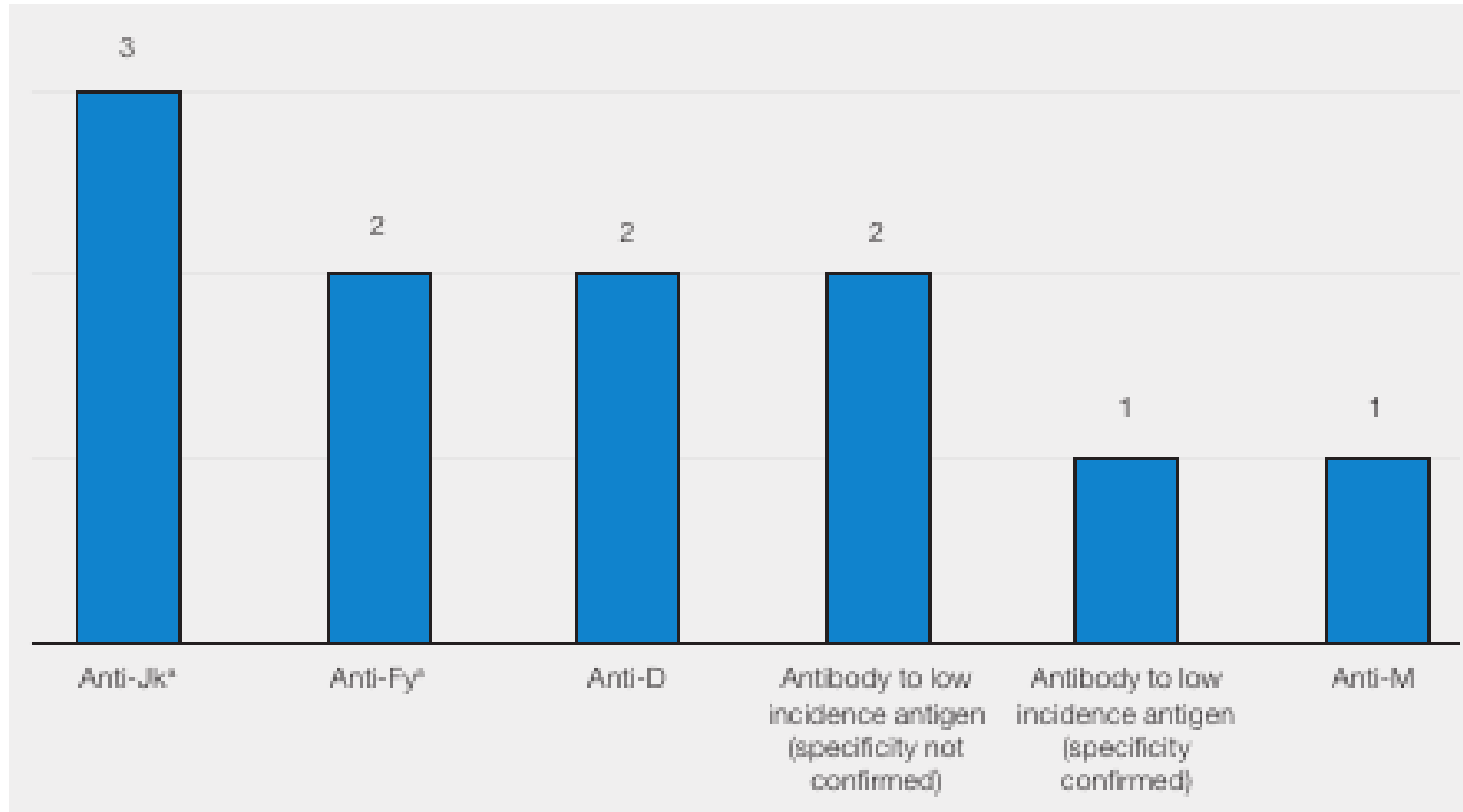
- **Гемотрансфузия** — жизненно важная процедура, но несущая риски.
- **Ошибки в определении группы крови** — одна из ведущих причин посттрансфузионных осложнений.
- **Аллоиммунизация** (выработка антиэритроцитарных антител) — ключевое препятствие для эффективной терапии.
- **Для хирургов/травматологов:** Скорость и точность при массивных кровопотерях.
- **Для гинекологов:** Профилактика гемолитической болезни новорожденных (ГБН).



Посттрансфузионные осложнения

- Посттрансфузионные осложнения и побочные реакции могут быть обусловлены самыми различными причинами и наблюдаются у 10% реципиентов крови и ее компонентов («Трансфузиология» Жибурт Е.Б.)
- Даже большой опыт врачей - иммуногематологов при использовании *классических** методов исследований не защищает от ряда объективных причин неправильного определения групп крови и антител, приводящих к посттрансфузионным осложнениям.

ОСТРЫЕ ПОСТТРАНСФУЗИОННЫЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ (Англия, 2022, MHRA)



Шкала иммуногенности трансфузионно опасных антигенов эритроцитов

D>C>E>c>K>Fya (J. Dausser, 1959)

D>C>c>E>K>Fya (М. А. Умнова, 1966)

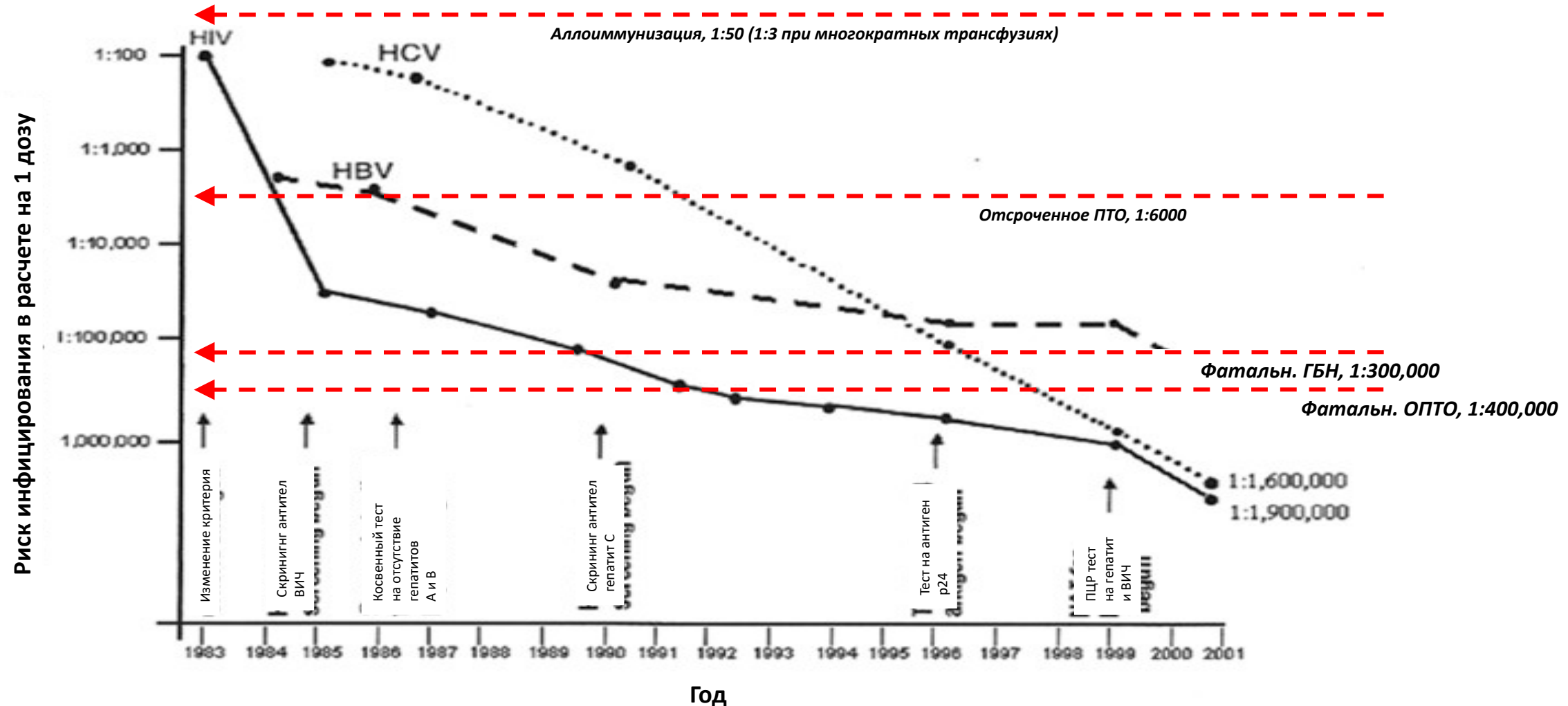
D>K>c>E>Fya>C (А. Г. Башлай, 1998)

D> K >c >E >Cw > C > e >Fy >Le >Jk>...

80> 6 >4 >3 > 2 > 0,5>0,4 >.....%

(Донсков С.И. и соавт., 2008)

Аллоиммунные риски трансфузии существенно выше рисков инфицирования



Источник: Hillyer, C. D. et al. Hematology 2003;2003:575-589

Клинический случай 1

Осложнение: из медицинской организации г. «Х» (терапевтическое отделение) доставлены 2 пробирки и остатки крови в гемаконе.

Направление: диагноз, группа крови $O\alpha\beta(I)$, резус положительный, фенотип $CcDEe$, отсутствие антител.

До г/т: Сыворотка светло-жёлтого цвета, прозрачная, без признаков гемолиза

Иммуногематологические исследования: $O\alpha\beta(I)$, резус положительный, фенотип $CcDEeK-k+Cw+$.

Выявлены **антиэритроцитарные антитела** в $T=1:512$. Специфичность $a-Fy a$. Прямая проба Кумбса отрицательная. Антигенный профиль: $Le a- Le b+ Kp a- Kp b+ Fy a- Fy b+$

В гемаконе: $O(I)$, резус положительный, фенотип $ccDEeK-k+Cw-$. Антигенный профиль: $Le a- Le b- Kp a- Kp b+ Fy a+ Fy b+$

После г/т: Сыворотка буро-зелёного цвета. $O\alpha\beta(I)$, резус положительный, фенотип $C+/-cDEeK-k+Cw+/-$. Выявлены антиэритроцитарные антитела в $T=1:128$. Прямая проба Кумбса положительная (1+)

Проба на индивидуальную совместимость: не совместима!

Вывод: ПГТО гемолитического типа вследствие переливания несовместимой донорской крови по антигену $Fy a$ (Duffy a).

**О ЗДОРОВЬЕ НАРОДА И СИСТЕМЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ (Кодекс Республики
Казахстан от 7 июля 2020 года № 360-VI ЗРК.04-09-2022**

Приказ Министра здравоохранения Республики
Казахстан от 21 июня 2022 года № ҚР ДСМ-55.

**Об утверждении Стандарта организации
оказания трансфузионной помощи
населению**

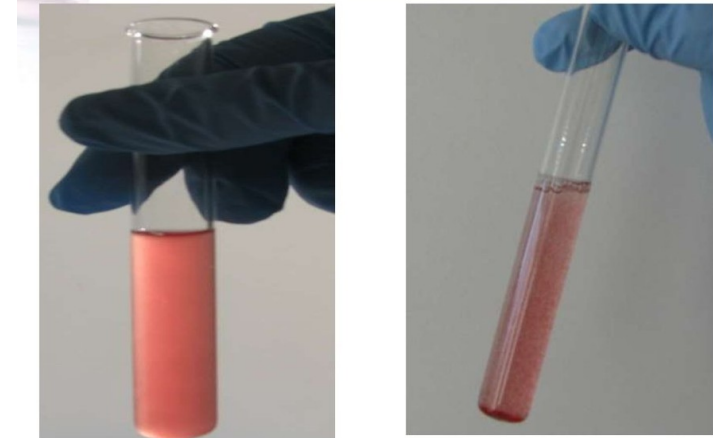
Приказ Министра здравоохранения
Республики Казахстан от 20 октября 2020 года
№ ҚР ДСМ - 140/2020.

**Об утверждении номенклатуры, правил
заготовки, переработки, контроля качества,
хранения, реализации крови, ее
компонентов, а также правил переливания
крови, ее компонентов**

"Золотой стандарт ?": что мы знаем и используем?



Определение группы крови на плоскости



Определение аллоантител в непрямом антиглобулиновом тесте (НАГТ)

Эти методы имеют ограничения:

- время,
- субъективность,
- низкая чувствительность к некоторым антителам

**Выявляет
только
анти-D
антитела** →

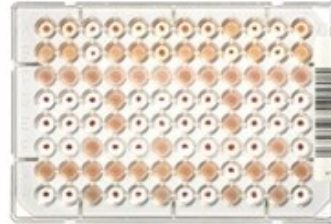


10% желатина и полигликина

Современные технологии в мировой практике

Автоматизация с помощью микропланшетных технологий

IMMUCOR



BIO-RAD Biotest



Выполнение исследований вручную, а также автоматизация (колоночная агглютинация)

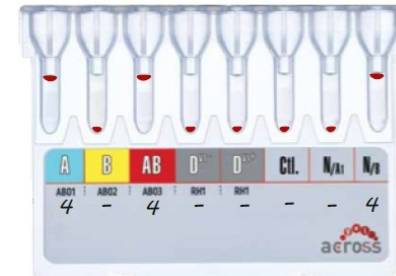
- в гелевых картах

GRIFOLS

BIO-RAD DiaMed

across

Dia Pro



- в кассетах с микросферами

Ortho Clinical Diagnostics

PART OF THE *johnson-johnson* FAMILY OF COMPANIES

Молекулярно-генетические методы

BAG DIAGNOSTICS

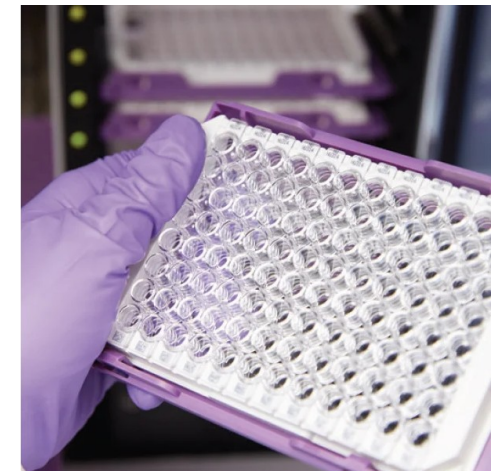
inno-train
DIAGNOSTIK

Автоматизация в микропланшетах

- группа крови по системе ABO прямой и обратной реакцией
- резус принадлежность, проверка на слабый и вариантный антиген D тест-сывороткой IgG
- определение подгрупп антигена A
- фенотипирование по антигенам эритроцитов C, c, E, e, C^w, K, k
- определение редких антигенов эритроцитов
- скрининг антиэритроцитарных антител
- идентификация антиэритроцитарных антител
- прямой антиглобулиновый тест IgG
- автоматическое определение титра IgG и IgM антител
- определение групповых IgG аллоантител по системе ABO без унитиола
- совместимость эритроцитов донора и реципиента
- скрининг антитромбоцитарных антител
- совместимость тромбоцитов донора и реципиента (HPA и HLA)



NEO Iris™



Автоматическое определение титра IgG и IgM антител

Определение групповых IgG аллоантител по системе ABO без унитиола

Титрование антиэритроцитарных антител (ABO антител) — метод используемый для определения концентрации (титра) антител.

Для чего необходимо титрование?

- Обследование беременных при резус конфликте
- Определение концентрации anti-D антител у иммунизированных доноров
- Трансплантация ABO несовместимой почки
- Трансплантация стволовых клеток

Скрининг антитромбоцитарных антител

Совместимость тромбоцитов донора и реципиента (HPA и HLA)

Для чего нужны эти тесты?

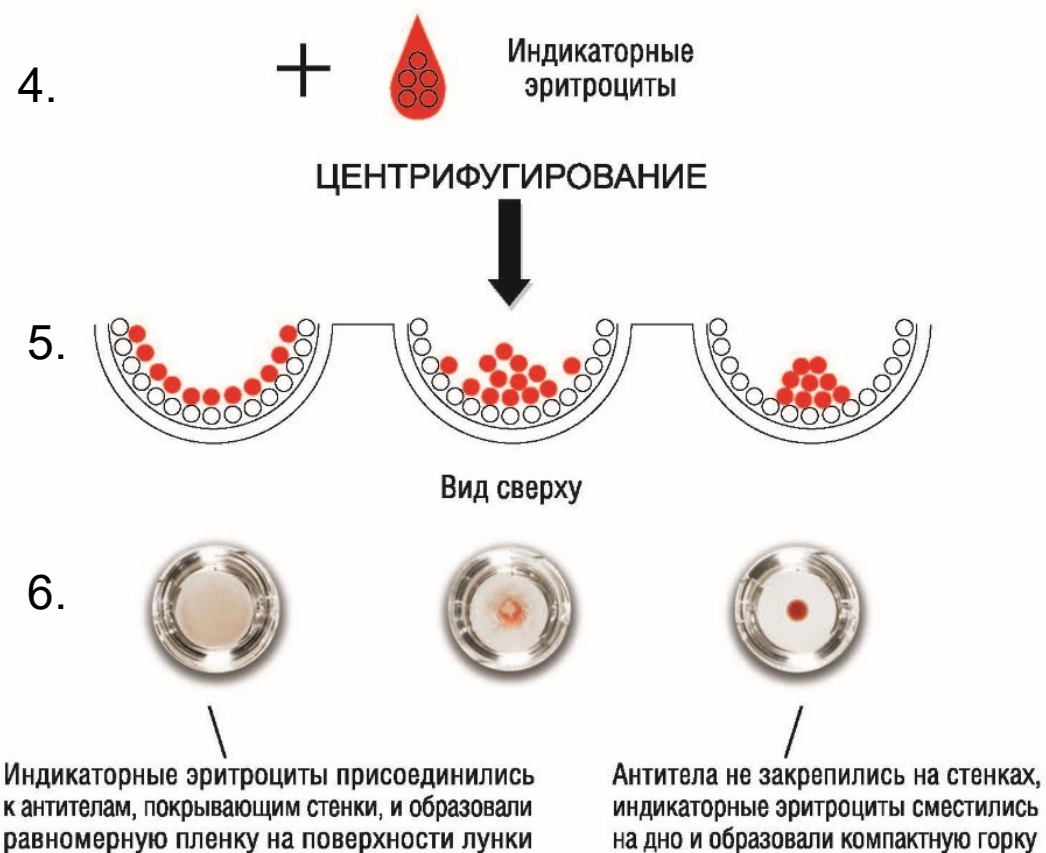
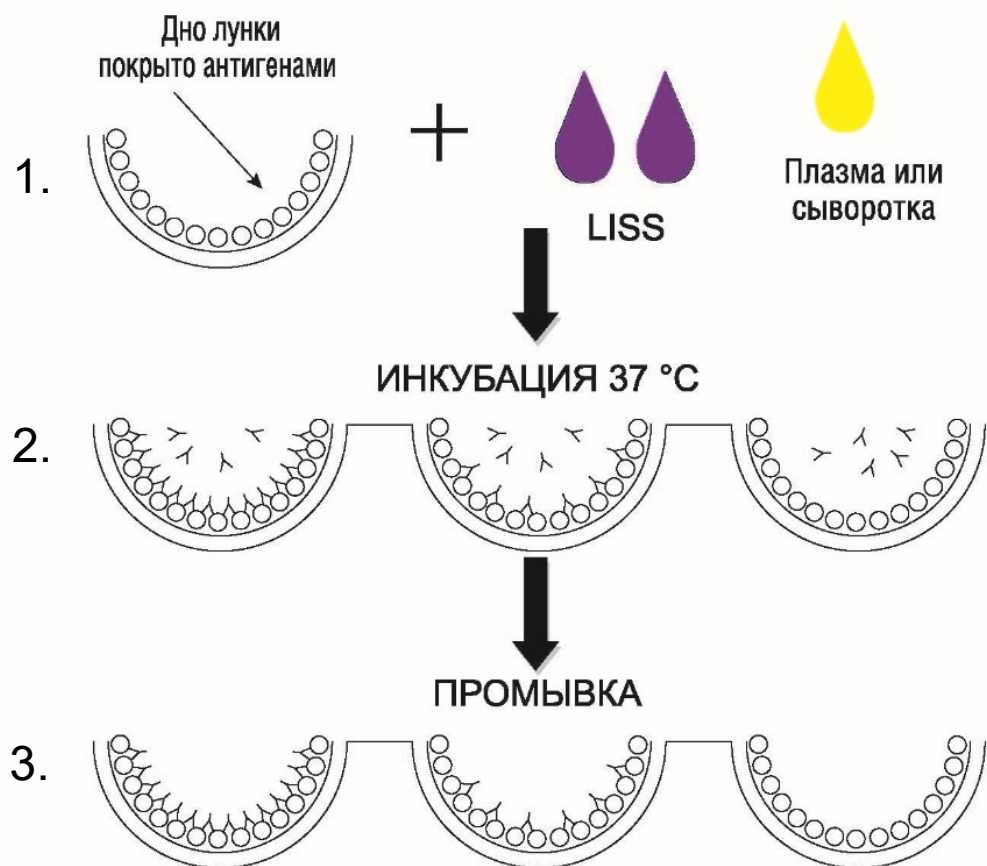
Рефрактерность тромбоцитов — это состояние, при котором организм пациента не реагирует на переливание донорских тромбоцитов.

Это может быть связано как с иммунными, так и с неиммунными механизмами.

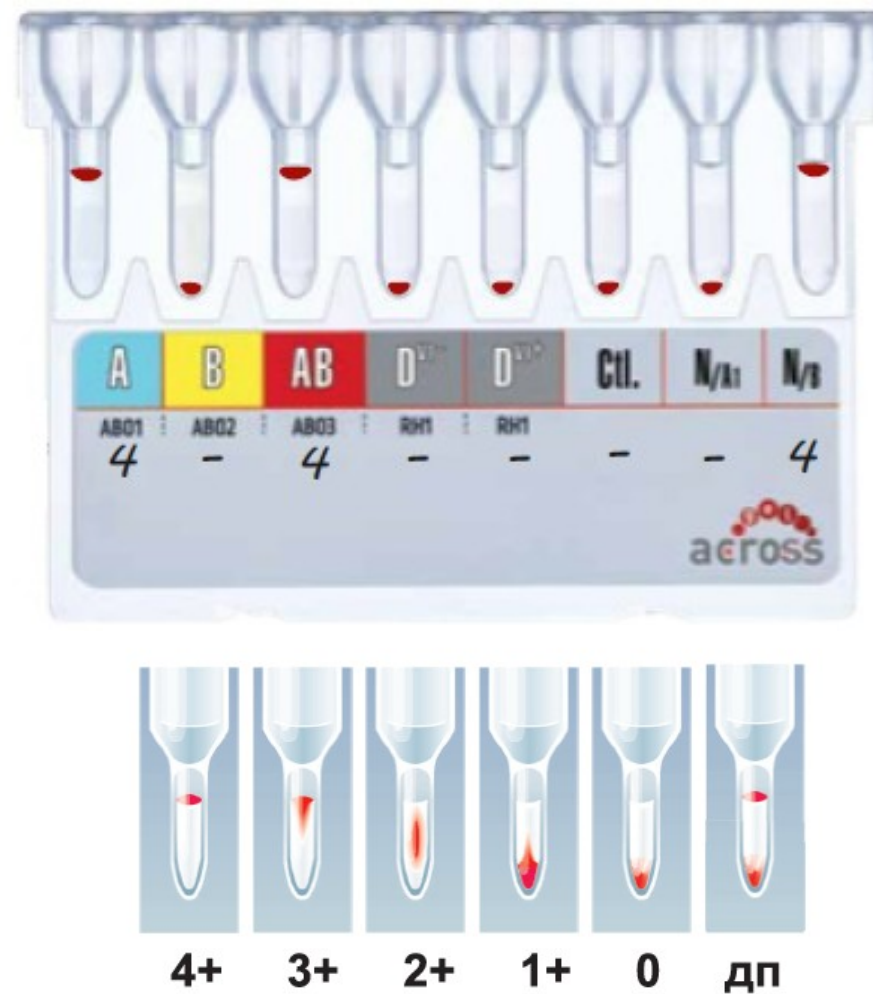


Твердофазная технология Capture®

Capture® — твердофазная микропланшетная технология Immucor, которой уже более 40 лет доверяют иммуногематологи по всему миру



Принцип гелевой технологии



4+ 3+ 2+ 1+ 0 дп

Сила агглютинации

Преимущества гелевой технологии

Принцип гель-фильтрации в сочетании с качеством моноклональных реагентов обеспечивает высокую чувствительность и специфичность метода, все реагенты имеют стандартную дозировку. Технология признана референсным методом при скрининге и идентификации антител.

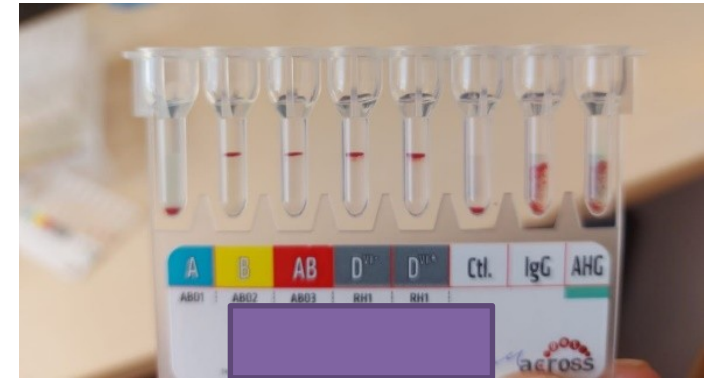
Безопасность, удобство и простота в использовании:

- сокращение времени исследования в 2 - 5 раз при определении антиэритроцитарных антител и постановки проб на совместимость
- отсутствует этап отмывания эритроцитов
- безопаснее для персонала, чем классические методы
- возможностью автоматизированной оценки и фотодокументирования результатов
- возможность полной автоматизации

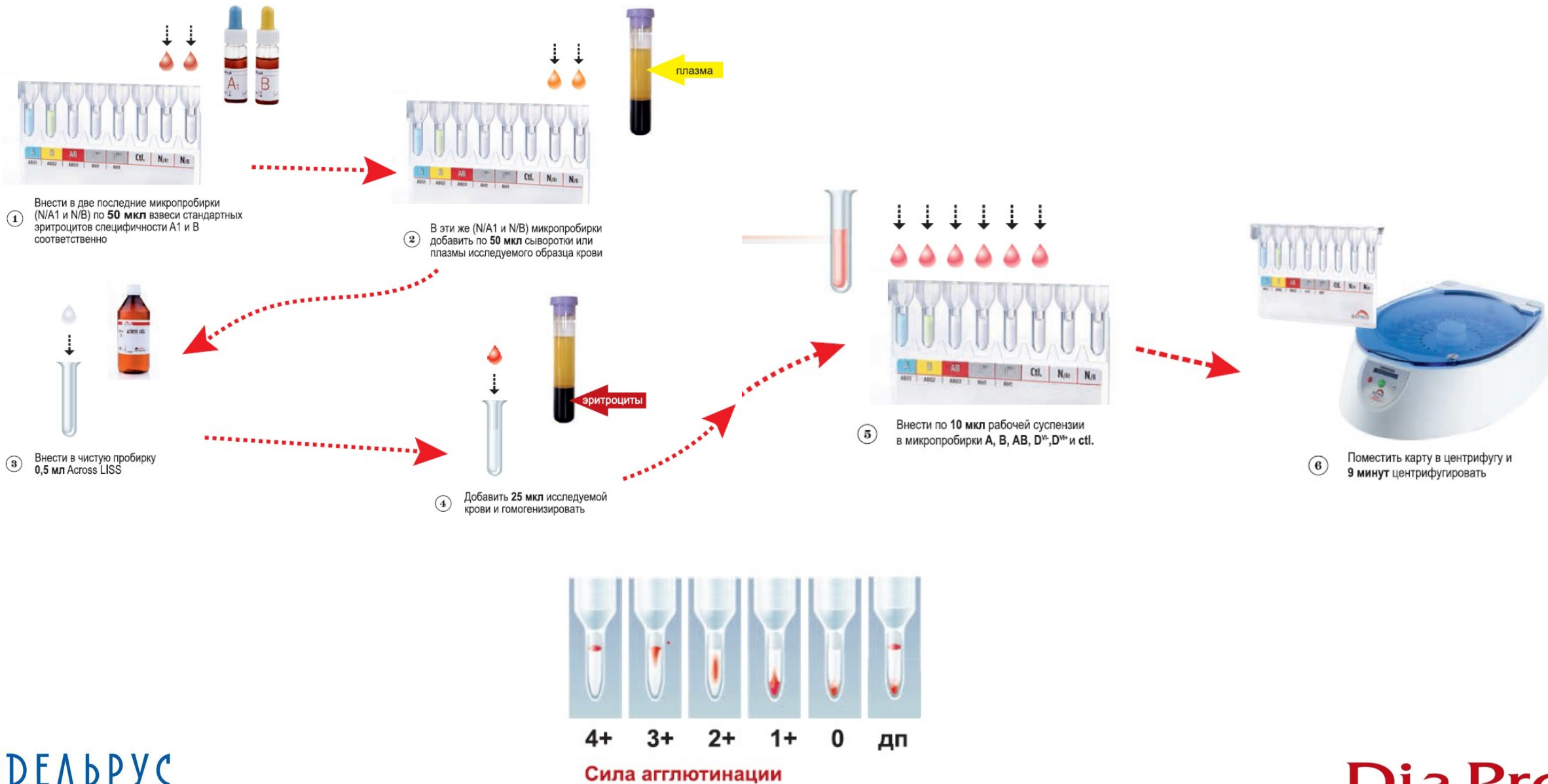


Гелевая технология незаменима в сложных случаях

- Трудноопределяемые группы крови (подгруппы A_2 , A_3 ... A_n);
- выявления посттрансфузионных химер;
- Патологическая агглютинабельность эритроцитов
- Пониженная экспрессия антигенов A и B при ряде онкологических и гематологических заболеваний
- Сложность определения групп крови у новорожденных



Определение группы крови на гелевых картах



Определение антиэритроцитарных аллоантител

- непрямой антиглобулиновый 80...85 %
тесте

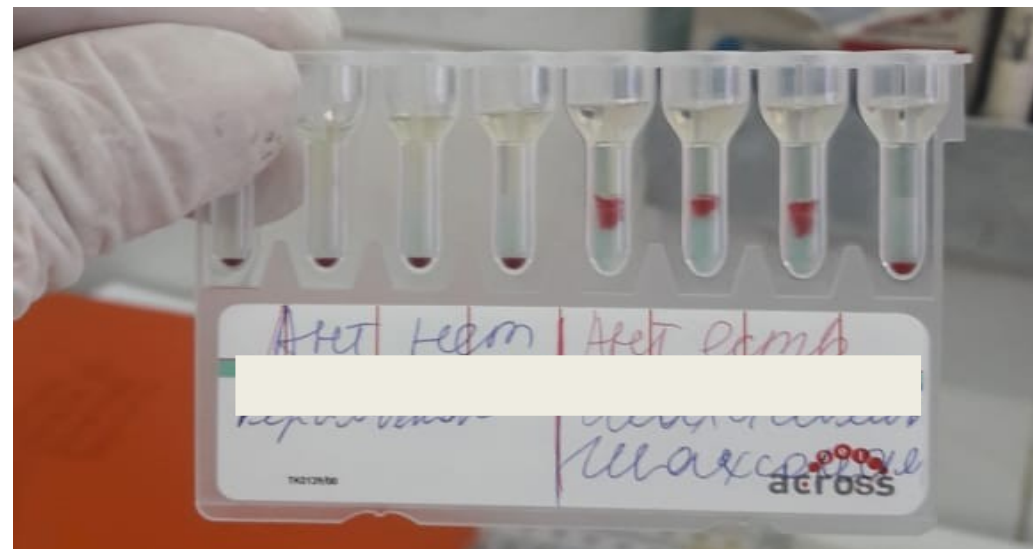
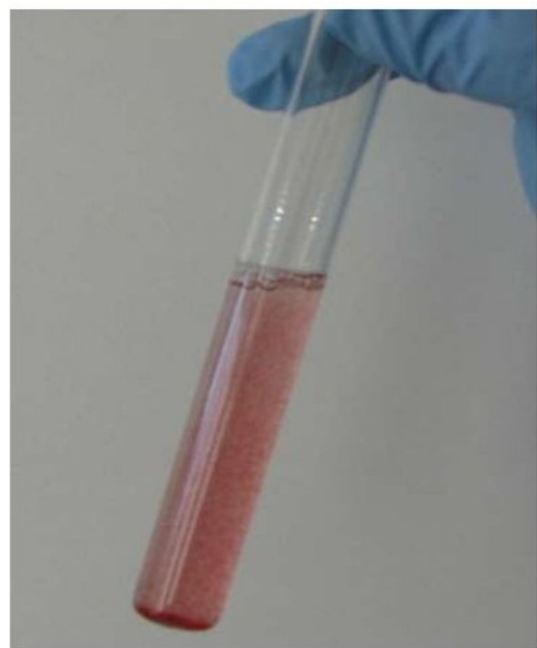
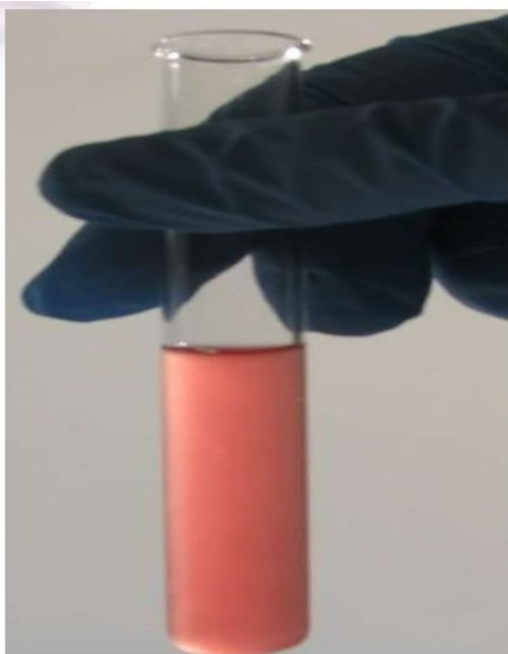
- тест с применением желатина < 55 %

в гелевой карте

94...95%

в твердофазной
технологии

95...99%



Гематол. и трансфузиол., 1998, т. 43, № 6

НОВЫЕ МЕТОДЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1998
УДК 616.15-078.33].001.8

СРАВНЕНИЕ DIAMED ГЕЛЕВОЙ ТЕХНОЛОГИИ И ЖЕЛАТИНОВОГО МЕТОДА
ПРИ СКРИНИНГЕ АНТИТЕЛ

Этиашвили*, Малле Эллаама**, Сильвия Лембер**, В. С. Мусатова***
Москва; **Государственная референс лаборатория иммуногематологии, Северо-эстонский центр
ин; ***Московская городская станция переливания крови, отделение индивидуального подбора

Transfusion Medicine, 2006, 16, 276–284

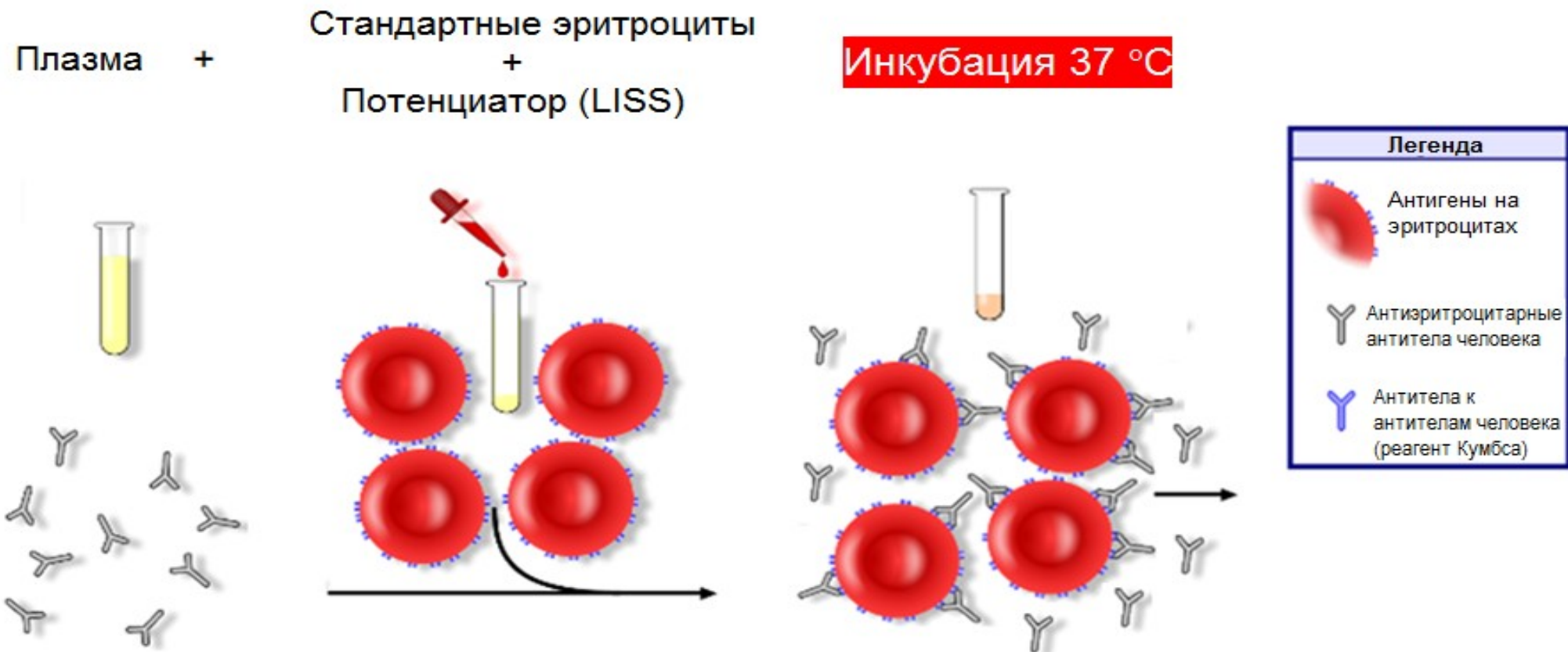
doi: 10.1111/j.1365-3148.2006.00674.x

ORIGINAL ARTICLE

Comparison of the performance of microtube column systems and solid-phase systems and the tube low-ionic-strength solution additive indirect antiglobulin test in the detection of red cell alloantibodies

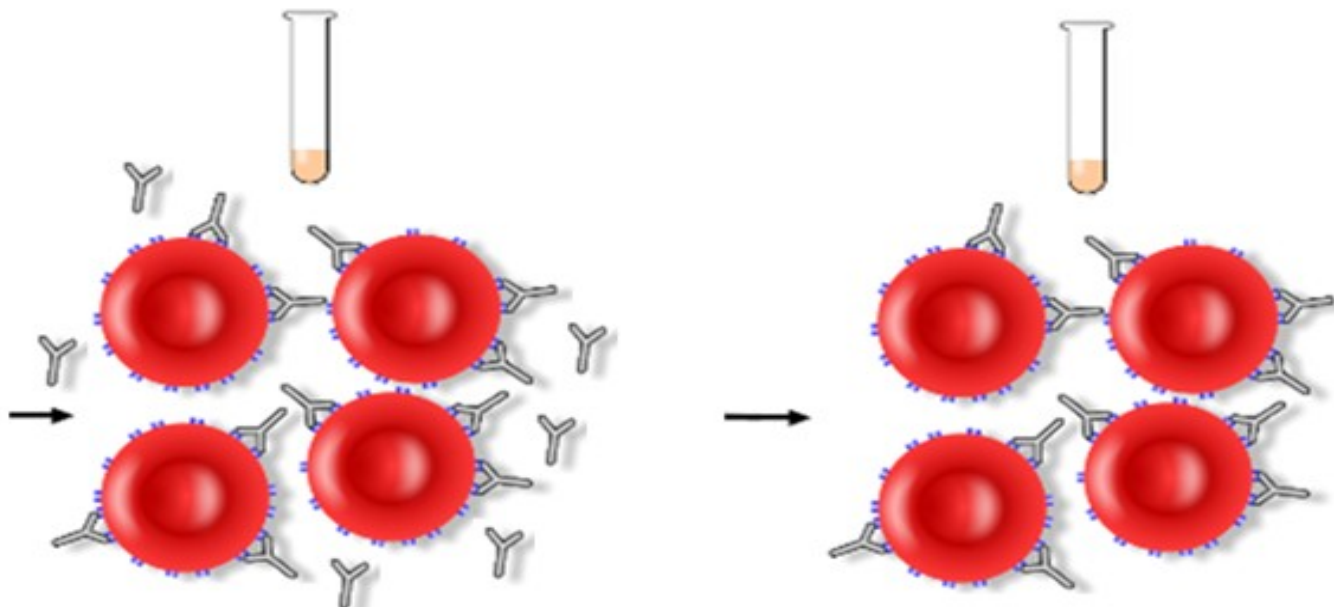
V. Weisbach, T. Kohnhäuser, R. Zimmermann, J. Ringwald, E. Strasser, J. Zingsem & R. Eckstein Department of Transfusion Medicine and Hemostaseology, Friedrich-Alexander-University Erlangen - Nürnberg, Erlangen, Federal Republic of Germany

Непрямой антиглобулиновый тест (1)



Непрямой антиглобулиновый тест (2)

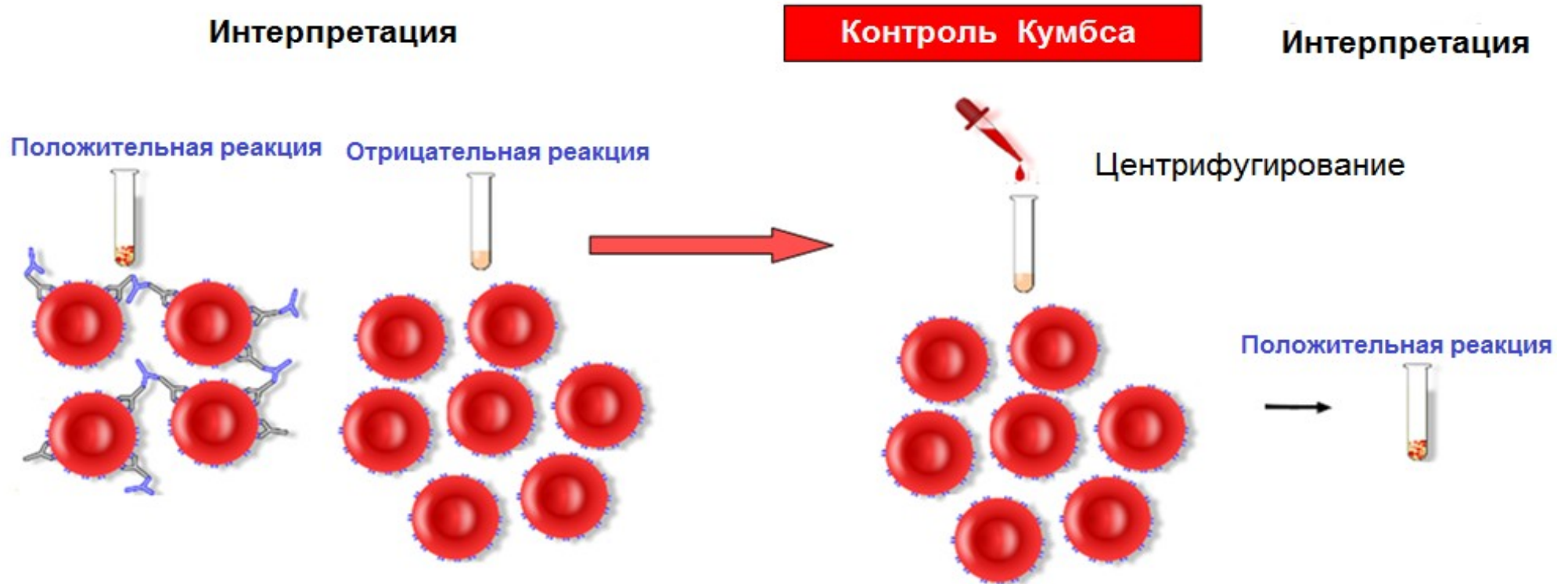
3 x ОТМЫВКА



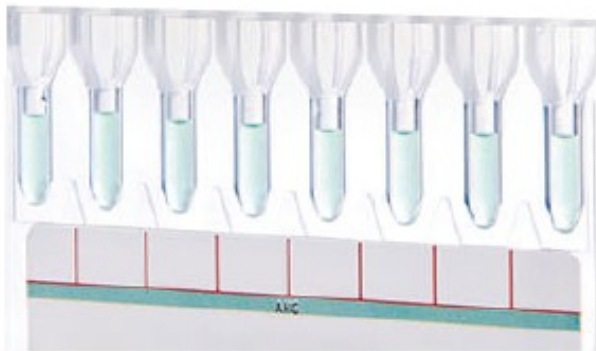
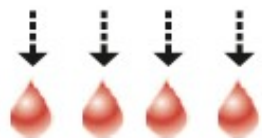
Античеловеческий
иммуноглобулин
Центрифугирование



Непрямой антиглобулиновый тест (3)



Скрининг антител в гелевых картах (1)



- ① Внести по **50 мкл** взвеси стандартных эритроцитов 1, 2, 3, 4 соответственно в четыре микропробирки диагностической карты



- ② В эти же микропробирки добавить по **25 мкл** сыворотки или плазмы исследуемого образца крови



плазма



Скрининг антител в гелевых картах (2)



③ Инкубировать 15 минут при 37 °C



④ Поместить карту в центрифугу и 9 минут центрифугировать

Интерпретация результатов



4+ 3+ 2+ 1+ 0

Сила агглютинации

- Полученную силу реакции указать на белом поле карты под соответствующей микропробиркой

К вопросу о четкости реакций в разных технологиях



Многопрофильная больница г. С.-Петербург

Приборы для работы вручную

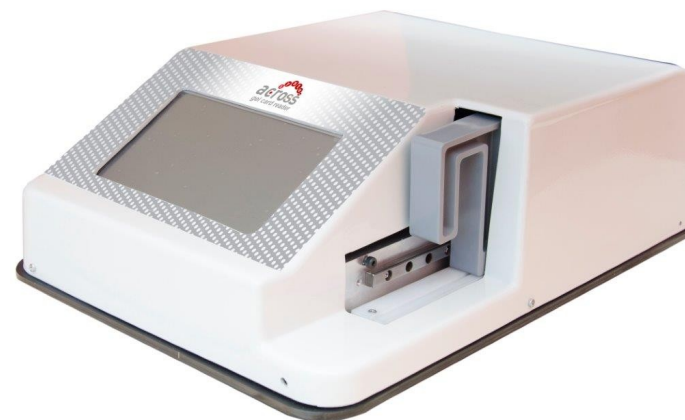
Центрифуга на 24 карты



Инкубатор на 24 карты



Считыватель



С ридером автоматическая оценка результатов стала доступной для небольших лабораторий

- Сохранение во встроенной базе данных до 300 000 исследований
- Печать результатов
- Передача в ЛИС




Автоматическая оценка результатов реакции в считывателе и пример распечатки

Штрих-код карты: 10.01.2017 НАЗАД

Штрих-код пациента / Ф.И.О.: Штрих-код донора / Ф.И.О.:

Тест: **Across Gel® Forward Reverse ABO with Dvi- / Dvi+**

Результат: **A Rh+ (positive)**




A	B	AB	Dvi-	Dvi+	CTL	A1	B
4+	-	4+	4+	4+	-	-	4+
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

СОХРАНИТЬ СЧИТАТЬ

Городская клиническая больница № 555 отд. трансфузиологии

Имя теста: Across Gel® Forward & Reverse ABO with Dvi-/Dvi+ Дата: 30.11.2021
Штрих-код пациента / Имя и фамилия: Иванов И.И. Время: 16:01
Штрих-код донора / Имя и фамилия:
Штрих-код карты: 82010442884288045
Имя пользователя: Across Reader

Результат



A	B	AB	Dvi-	Dvi+	CTL	A1	B
-	-	-	3+	4+	-	3+	4+

Заключение: Гр.кр. 0 (I), RhD+ (полож.)

Современный полностью автоматический анализатор для гелевых карт **octo-m**



- Оператор загружает образцы крови, гелевые карты и реагенты и вбирает задание из списка
- Прибор делает все рутинные процедуры, исключая влияние человеческого фактора
- Прибор автоматически интерпретирует результаты
- Врач проверяет результаты реакции по цветной увеличенной фотографии, при необходимости может внести свои коррективы в предложенный автоматически ответ
- Результаты с фотографиями сохраняются в архиве, к ним всегда можно будет обратиться в будущем

Молекулярно-генетические методы

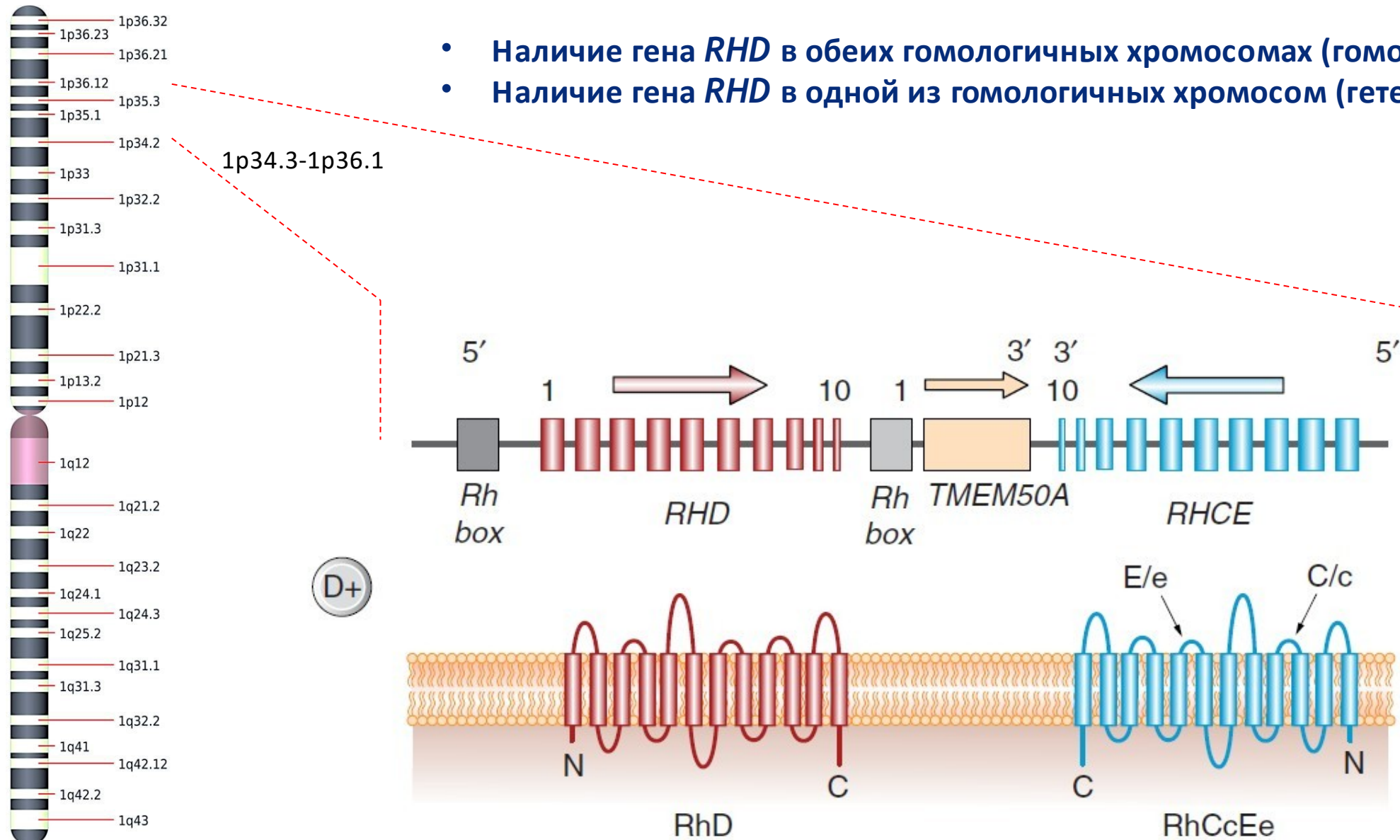
Генотипирование группы крови — это мощный инструмент современной трансфузиологии и иммуногематологии.

- Оно не заменяет полностью серологические методы, **а дополняет** их, позволяя решать сложные и спорные случаи, обеспечивая максимальную безопасность переливания крови и ведения беременности.
- Это особенно важно для пациентов из групп риска, где точное знание генетического профиля крови критически необходимо для предотвращения опасных осложнений.

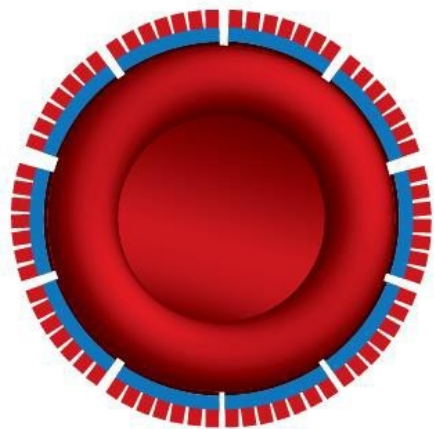


МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ D-ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО ФЕНОТИПА

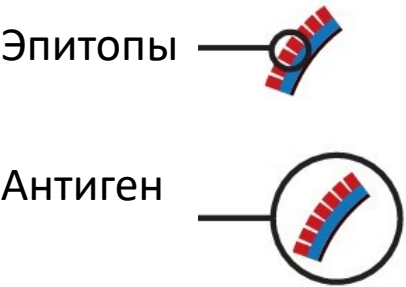
- Наличие гена *RHD* в обеих гомологичных хромосомах (гомозигота)
- Наличие гена *RHD* в одной из гомологичных хромосом (гетерозигота)



НОРМАЛЬНО ВЫРАЖЕННЫЙ АНТИГЕН D

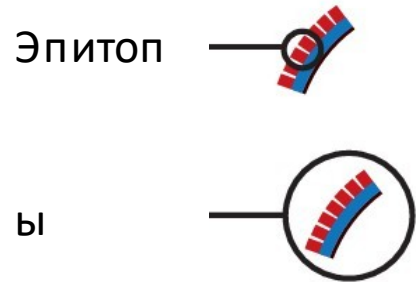


Нормально выраженный антиген D

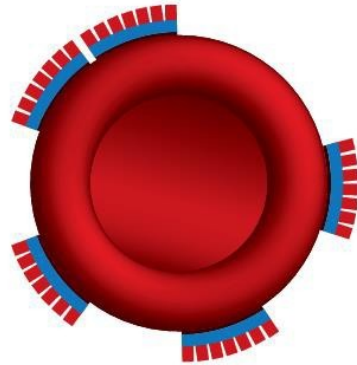


Rh-феноти	п	чество участков Колигена D на клетку анти
DCe/dce		9900-14600
DcE/dce		12000 -19700
Dce/dce	1	2000-23000
DCe/DCe		14500 -22800
DCe/DcE		23000 -31000
DcE/DcE		15800 -33300

РАЗЛИЧНЫЕ ВАРИАНТЫ АНТИГЕНА D



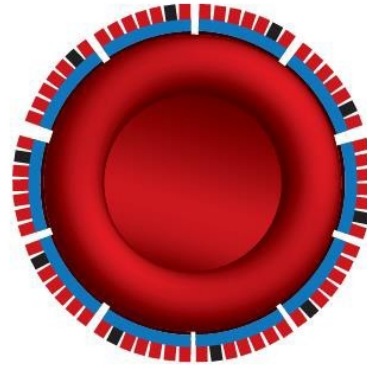
Антиген



Серологически
слабый антиген
D (Weak D)

Полный набор
эпитопов

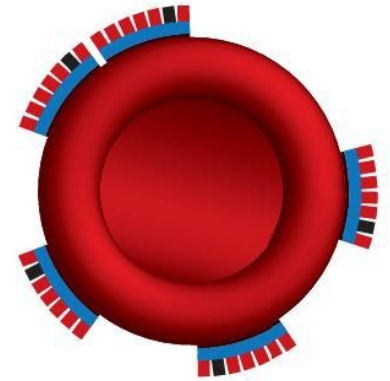
Слабая



Частичный (парциальный,
вариантный) антиген D
(Partial D)

Ограниченный набор
эпитопов

Нормальная



Слабый
парциальный антиген
D

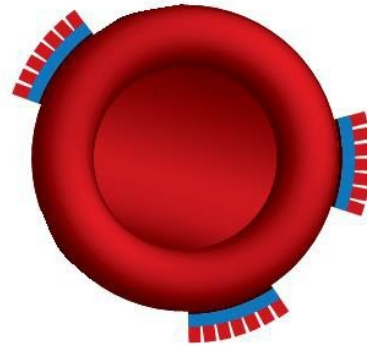
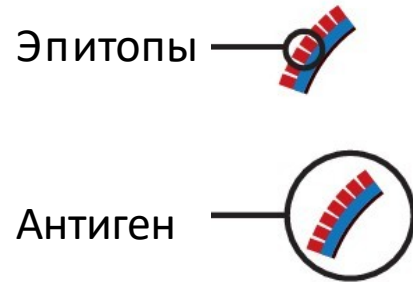
(Weak partial D)
Ограниченный набор
эпитопов

Слабая

Экзофациальные
эпитопы:

Экспрессия
антигена D:

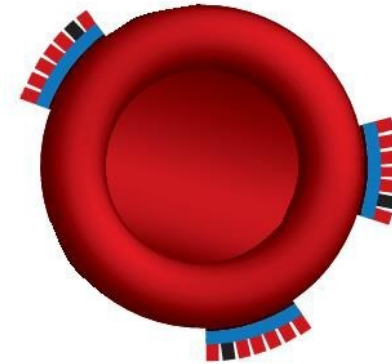
РАЗЛИЧНЫЕ ВАРИАНТЫ АНТИГЕНА D



Del

Полный набор
эпитопов

Сверхслабая



Парциальный Del
(Partial Del)

Ограниченный набор
эпитопов

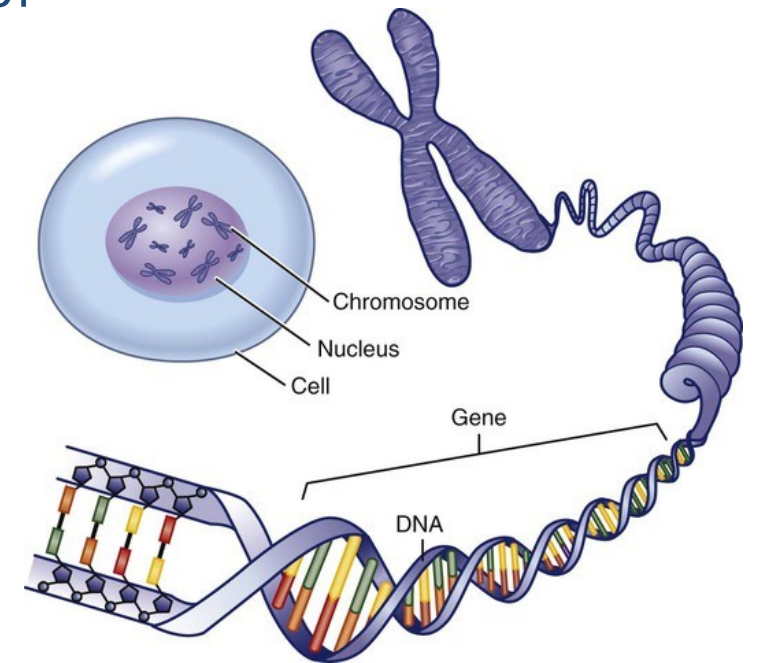
Сверхслабая

**Экзофациальные
эпитопы:**

**Экспрессия
антигена D:**

Зачем это нужно генотипирование , если есть классический метод?

- **Высокая точность и разрешение.** Позволяет определить не только основные антигены (D, C, c, E, e в системе Резус), но и **слабые варианты (вариации)** и **редкие фенотипы**, которые серологическими методами выявить сложно или невозможно.
Пример: Слабый вариант D (Dweak), частичный D (Dpartial). Серологически их можно принять за D-отрицательный, что может привести к риску аллоиммунизации у реципиента.
- **Разрешение неясных результатов серологии.**
- **Определение группы крови у новорожденных.**
- **Для пациентов после множественных гемотрансфузий.**
- **Для пациентов с аутоиммунной гемолитической анемией.**
- **Подбор идеально совместимой крови. .**
- **Определение статуса носителя.**



Молекулярно-генетические методы

Преимущества

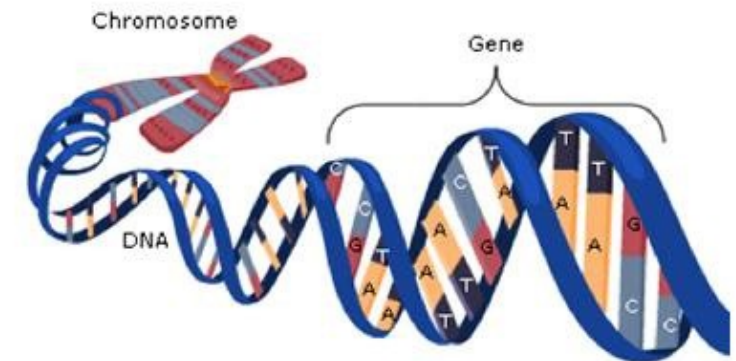
- Высокая точность и однозначность
- Возможность определить слабые и вариантные формы
- Не зависит от физиологического состояния пациента
- Можно использовать любой биоматериал (кровь, буккальный соскоб)
- Определение статуса носителя

Недостатки

- Более высокая стоимость
 - Больше время выполнения анализа (в некоторых случаях)
 - Требуется высокотехнологичное оборудование и квалифицированный персонал
-

Методом генотипирования можно определить практически любую систему групп крови, но чаще всего определяют:

- Система **ABO**: Гены *ABO*.
- Система **Резус (Rh)**: Гены *RHD* и *RHCE* (определяют антигены D, C, c, E, e).
- Система **Келл (Kell)**: Ген *KEL* (определяет антигены K и k).
- Система **Даффи (Duffy)**: Ген *FY* (важна для малярии и трансфузий).
- Система **Кидд (Kidd)**: Ген *JK* (часто вызывает отсроченные гемолитические реакции).
- Система **MNS**: Гены *GYPA*, *GYPB*.
- И многие другие (более 40 систем).



Резюме и ключевые выводы

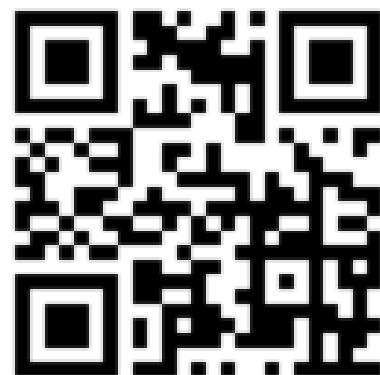
- Современные методы, автоматизация и стандартизация — основа современной иммуногематологии.
- Молекулярные методы (генотипирование) — мощный инструмент для решения сложных случаев при определении антигена.
- Выбор метода зависит от клинической ситуации (рутина vs. экстренный случай vs. сложный пациент).
- **Ни один метод не идеален, необходим комплексный подход.**
- **Эффективная коммуникация между всеми специалистами критически важна.**



Иммуногематология 2025: вызовы и перспективы



Ежегодная научно-практическая конференция с международным участием в области типирования крови
29-30 сентября 2025 года



Спасибо за внимание!



Diapro.kz