Приложение № 3

к приказу Минздрава РТ

№ 1557 от 26.07.2016 г.

**ТЕХНОЛОГИЯ**

**ВЫПОЛНЕНИЯ ПРОСТОЙ МЕДИЦИНСКОЙ УСЛУГИ**

**12.05.006 «Определение резус-принадлежности»**

Казань, 2016

**Сведения о разработчиках**

В разработке «Технологии выполнения простой медицинской услуги 12.05.006 «Определение резус - принадлежности» участвовали специалисты Министерства здравоохранения Республики Татарстан и Государственного автономного учреждения здравоохранения «Республиканский центр крови Министерства здравоохранения Республики Татарстан» (см. таблицу 1).

Таблица 1 - Сведения о разработчиках «Технологии выполнения простой медицинской услуги 12.05.006 «Определение резус-принадлежности»

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| ***ФИО***  ***разработчиков*** | ***Место работы, занимаемая, должность, степень, звание*** | ***Адрес места работы*** | ***Рабочий телефон*** |
| Фатихов Ильдар Разинович | Заместитель министра здравоохранения РТ | 4200111, г. Казань, ул. Островского, д.11/6 |  |
| Лысенко Галина Викторовна | Начальник управления контроля стандартов и качества медицинской деятельности министра здравоохранения РТ, к.м.н. | 4200111, г. Казань, ул. Островского, д.11/6 | (843) 231-79-73 |
| Бурыкин Игорь Михайлович | Начальник отдела внедрения и мониторинга стандартов министра здравоохранения РТ, к.м.н. | 4200111, г. Казань, ул. Островского, д.11/6 | (843) 231-79-74 |
| Тураев Рамиль Габдельхакович | Главный врач ГАУЗ «РЦК МЗ РТ», к.м.н., ассистент кафедры «Анестезиологии-реаниматологии и трансфузиологии» КГМА Минздрава России | г.Казань, проспект Победы д.85 | (843) 237-69-00 |
| Сибгатуллина Лилия Нагимзяновна | Заместитель главного врача по медицинской части ГАУЗ «РЦК МЗ РТ». | г.Казань, проспект Победы д.85 | (843)237-54-59 |
| Бельская Елена Евгеньевна | Заведующая клинико-диагностической лабораторией ГАУЗ «РЦК МЗ РТ», ассистент кафедры «Клиническая лабораторная диагностика» КГМА Минздрава России | г.Казань, проспект Победы д.85 | (843) 237-92-33 |

Рецензенты:

**Фаткуллин Ильдар Фаридович**, д.м.н., профессор, зав. кафедрой акушерства и гинекологии № 2 Казанского государственного медицинского университета, главный внештатный акушер-гинеколог МЗ РФ в Приволжском ФО, заслуженный деятель науки Республики Татарстан, заслуженный врач РТ, председатель Общества акушеров-гинекологов РТ.

**Анисимов** **Андрей Юрьевич**– главный внештатный хирург МЗ РТ, заместитель главного врача по хирургии ГАУЗ «Городская клиническая больница №7 г.Казани», д.м.н., профессор кафедры «Скорой медицинской помощи» КГМА Минздрава РФ, член ассоциации хирургов-гепатологов России и стран СНГ

**Галимова** **Ильмира Раисовна** - главный акушер-гинеколог МЗ РТ, заместитель главного врача по акушерско-гинекологической помощи ГАУЗ «Республиканская клиническая больница МЗ РТ»

**Сиразитдинов** **Дамир Талибович** – главный специалист эксперт МЗ РТ по клинической лабораторной диагностике МЗ РТ.

1. **ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ**

Настоящий стандарт устанавливает порядок определения резус-принадлежности крови.

Настоящий стандарт распространяется на учреждения здравоохранения Республики Татарстан.

Основанием для разработки "Технологии выполнения простой медицинской услуги 12.05.006 «Определение резус - принадлежности», является Отраслевой классификатор "Простые медицинские услуги" (ОК ПМУ N 91500.09.0001-2001), утвержденный приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 10 апреля 2001 г. N 113.

1. **ЦЕЛИ И ЗААДЧИ**

ТВ ПМУ «Определение резус - принадлежности» разработана с целью нормативного обеспечения и унификации процесса выполнения простой медицинской услуги 12.05.006 «Определение резус - принадлежности» в медицинских учреждениях на территории Республики Татарстан.

ТВ ПМУ разработана для решения следующих задач:

- нормативного обеспечения внедрения стандарта ТВ ПМУ «Определение резус - принадлежности»;

- установления единых требований к оказанию ПМУ «Определение резус - принадлежности»;

- унификации расчетов трудозатрат на выполнение ТВ ПМУ «Определение резус - принадлежности» в медицинских учреждениях на территории Республики Татарстан;

- контроля качества и безопасности, оказанной пациенту ПМУ «Определение резус - принадлежности» в медицинских учреждениях на территории Республики Татарстан;

- проверки на соответствие установленным требованиям при проведении процедуры лицензирования;

- защиты прав пациента и врача при разрешении спорных и конфликтных вопросов.

ТВ ПМУ представляет собой систематизированный свод медицинских правил и условий, технического обеспечения, определяющий порядок и последовательность действий, выполняемых медицинским персоналом.

При разработке ТВ ПМУ «Определение резус - принадлежности» использовались нормативные документы (приказы, инструкции, методические указания МЗ РФ и МЗ РТ), учитывались результаты научных исследований, практический опыт службы крови Республики Татарстан.

1. **НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ**

Постановления Правительства Российской Федерации от 26.01.2010 г. №29 «Технический регламент о требованиях безопасности крови, ее продуктов, кровезамещающих растворов и технических средств, используемых в трансфузионно-инфузионной терапии

Приказ МЗ СССР № 700 от 23.05.1985 г. «О мерах по дальнейшему предупреждению осложнений при переливании крови, ее компонентов, препаратов и кровезаменителей»

Приказ МЗ РФ от 25.12.1997 г. №380 «О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения Российской Федерации».

Приказ МЗ РФ № 2 от 09.01.1998 г. «Об утверждении инструкций по иммуносерологии»;

Приказ МЗ РТ № 367 от 13.05.1999 г. «О мерах по предупреждению осложнений при переливании компонентов, препаратов крови, кровезаменителей»

Приказ МЗ РФ № 363 от 25.11.2002 г. «Об утверждении Инструкции по применению компонентов крови»;

Приказ МЗ РТ № 1135 от 05.08.2004 г. «О совершенствовании работы по профилактике посттрансфузионных осложнений в учреждениях здравоохранения Республики Татарстан»

Приказ МЗ РФ от 28 марта 2012 г. n 278н «Об утверждении требований к организациям здравоохранения (структурным подразделениям), осуществляющим заготовку, переработку, хранение и обеспечение безопасности донорской крови и ее компонентов, и перечня оборудования для их оснащения

Приказ МЗ РФ от 01.11.2012 г № 572 «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи по профилю «Акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)»

Приказ МЗ РФ от 2 апреля 2013 г. № 183н «Об утверждении правил клинического использования донорской крови и (или) ее компонентов»

Приказ МЗ РТ от 27.04.2004 г. № 691 «О совершенствовании преконцепционной, пренатальной и постнатальной профилактики иммуноконфликтной беременности в Республике Татарстан»

Приказ МЗ РТ от 16.07.2004 г. № 1047 «О порядке получения, учета и хранения компонентов крови»

Приказ МЗ РТ от 15.07.2010 г. № 908 «Об установлении стандартов технологий исследования функции органов и тканей с использованием специальных процедур»

Методические указания № 52001- 109 МЗРФ, РНИИ гематологии и трансфузиологии «Требования к проведению иммуногематологических исследований доноров и реципиентов на СПК и в ЛПУ», Санкт- Петербург, 2002 г.

Методические рекомендации МЗ РФ «Алгоритмы исследования антигенов эритроцитов и антиэритроцитарных антител в сложнодиагностируемых случаях», Санкт- Петербург, 2000 г.

СанПиН 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность»

СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами»

1. **ТЕРМИНЫ, ОПРЕДЕЛЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ**

4.1 В настоящем стандарте применены следующие термины и определения:

**Система Резус** – одна из наиболее полиморфных антигенных систем эритроцитов человека. Она включает около 50 серологически различных антигенов, не считая слабых, переходных и парциальных форм. На эритроцитах человека имеются 5 основных антигенов системы Резус (D, C, c, E, e). Наибольшее клиническое значение имеет антиген D. Обладая выраженными иммуногенными свойствами, антиген D в 95% является причиной гемолитической болезни новорожденного, а также причиной тяжёлых посттрансфузионных осложнений. Лиц, имеющих антиген D, относят к Rh+, не имеющих антиген D относят к Rh-.

Антиген D имеет слабые варианты, объединяемые в группу Du, частота которой в популяции составляет около 1%. Эти эритроциты слабо или вообще не агглютинируются полными анти-Rh-антителами (Ig М) в реакции прямой агглютинации.

Реципиенты, содержащие антиген Du, должны быть отнесены к резус-отрицательным и им должна быть перелита только резус-отрицательная кровь, так как нормальный антиген D может вызвать у таких лиц иммунный ответ. Поэтому кровь реципиентов необязательно тестировать на присутствие Du.

Иммуногенность других (минорных) антигенов системы Резус значительно ниже и убывает в ряду: с>Е>С>е. Определение минорных антигенов системы Резус, как правило, производится при необходимости многократных трансфузий, в тех случаях, когда в сыворотке реципиента обнаружены иммунные антитела к антигенам системы Резус, в том числе при индивидуальном подборе крови.

**Цоликлон анти-D Супер** – это реагент, содержащий моноклональные анти-D антитела, которые продуцируются гетерогибридомой, полученной в результате слияния человеческой лимфобластной линии с миеломной клеточной линией мыши. Моноклональные антитела принадлежат к классу иммуноглобулинов Ig М, являются полными антителами и вызывают прямую агглютинацию эритроцитов, содержащих D антиген.

**Агглютинация** – это реакция взаимодействия антигена со специфическим антителом, проявляется в виде склеивания эритроцитов.

**Аутоантитела** - это антитела, имеющие специфичность к собственным антигенам индивида.

**Неспецифическая агглютинация** - это агглютинация неожиданная, атипичная, не свойственная конкретной групповой антигенной системе. В основе неспецифической агглютинации лежат определённые специфические механизмы. На появление неспецифической агглютинации влияют: белковый состав среды, солевой состав среды, состояние свёртывающей системы крови, гормонального фона.

**Гелевый тест** - это метод определения резус - принадлежности, основанный на комбинации методов агглютинации и гель-фильтрации. Проводится с помощью пластиковых диагностических карточек, которые состоят из микропробирок, заполненных полиакриламидным гелем и соответствующими реагентами.

* 1. **Классификация антигенов системы Резус.**

Существует несколько классификаций антигенов эритроцитов системы Резус.

Классификация Винера основана на предположении, что в Rh хромосоме имеется только одно место, которое может быть занято одним из восьми аллеломорфных генов. Каждый ген кодирует продукцию антигена, состоящего из комплекса антигенов. Антигены можно выявить с помощью антисывороток.

Обозначение антигенов по Винеру сложное и широко не используется в иммуногематологии. Исключение составляет обозначение специфичности антител в иммуноглобулине антирезус «Rh0(D)», которое применяется на практике.

Классификация Фишера-Рейса основана на предположении наличия в Rh хромосоме трех мест для трех генов.

В настоящее время обозначение антигенов по Фишеру-Рейсу рекомендовано экспертным комитетом по биологическим стандартам ВОЗ для широкого применения во всем мире. Эта номенклатура легко запоминается и позволяет сразу увидеть, как данный образец эритроцитов будет реагировать с моноспецифической антисывороткой.

Таблица 2 – Классификация систем групп крови Резус

|  |  |
| --- | --- |
| Классификация поВинеру Rh-Hr | Классификация Фишера-Рейса |
| Rh0(D), rh'(C), rh»(E), Hro(d), hr'(c), hr»(e) | Dd, Cc, Ее |

4.3 В настоящем стандарте применяют следующие сокращения:

ISBT – Международное общество переливания крови

МЗ РФ – Министерство здравоохранения Российской Федерации

МЗ РТ – Министерство здравоохранения Республики Татарстан

ГАУЗ РЦК МЗ РТ – Государственное автономное учреждение здравоохранения «Республиканский центр крови Министерства здравоохранения Республики Татарстан»

УЗ – учреждение здравоохранения

КЛД – клиническая лабораторная диагностика

ТВ ПМУ - технология выполнения простой медицинской услуги

ПМУ – простая медицинская услуга

РПГА – реакция прямой гемагглютинации

ГБН – гемолитическая болезнь новорожденных

ОПК – отделение переливания крови

КТТ – кабинет трансфузионной терапии

**5 Применяемое оборудование, инструменты и материалы**

5.1 Перечень применяемого оборудования указаны в таблице 3.

Таблица 3- Приборы, инструменты, изделия медицинского назначения, необходимые для определения резус - принадлежности, а также альтернативные приборы и изделия медицинской техники.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ***Наименование прибора, изделия медицинской техники и др.*** | ***Количество приборов, инструментов, изделий медицинской техники*** | ***Альтернативный прибор, изделие медицинской техники*** |
| **Определение резус – принадлежности**  **при помощи моноклонального реагента анти-D Супер** | | |
| Стол лабораторный | 1 шт. | Стол с покрытием из пластика |
| Стул | 1 шт. |  |
| Настольная лампа | 1 шт. | Настенная лампа |
| Планшеты для иммуногематоло-гических исследований | 1 шт. на 1 исследование | Тарелки фарфоровые или эмалированные |
| Пипетки Пастера | 1 шт. | Автоматические пипетки переменного объёма 20-200 мкл |
| Песочные часы на 3 минуты | 1 шт. | Секундомер |
| Лупа с 4-8-хкратным увеличением | 1 шт. |  |
| Штатив лабораторный на 10 гнёзд | 1 шт. |  |
| Центрифуга лабораторная  ОПН-3 | 1 шт. | Центрифуга лабораторная  СМ-6 М, ELMI |
| Стеклянные стаканы | 2 шт. | Стеклянные баночки |
| **Определение резус – принадлежности гелевой методикой** | | |
| Стол лабораторный | 1 шт. | Стол с покрытием из пластика |
| Стул | 1 шт. |  |
| Штатив лабораторный на 10 гнёзд | 1 шт. |  |
| Центрифуга лабораторная  ОПН-3 | 1 шт. | Центрифуга лабораторная  СМ-6 М, ELMI |
| Центрифуга для гелевых пластиковых карт | 1 шт. |  |
| Автоматическая пипетка переменного объёма | 5-40 мкл 1 шт.  100-1000 мкл 1 шт. |  |
| Штатив для автоматических пипеток переменного объема | 1 шт. |  |
| Пробирки центрифужные | 1 шт. |  |

**5.2 Расходные материалы**

Таблица 4 - Иммунологические стандарты, используемые для определения резус–принадлежности.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| ***Наименование реактива*** | ***Количество реактива, необходимое для выполнения 1-го исследования*** | ***Сроки и особенности хранения реактива, работы с ним\**** | ***Документ, регламентирующий использование реактива*** |
| ***Определение резус – принадлежности при помощи цоликлона анти-D Супер*** | | | |
| Моноклональный реагент анти-D | 2 капли  (100 мкл) | Хранить при  t+2…+8 0С.  Срок годности –  1 год с даты изготовления.  После вскрытия годен в течение 1 месяца. | Приказ МЗ РФ от 09.01.1998 №2 «Об утверждении инструкций по иммуносерологии» |
| ***Определение резус–принадлежности гелевой методикой*** | | | |
| Диагностические карты для определения резус- принадлежности | В зависимости от используемой диагностической карты. | Условия хранения в зависимости от требований производителя | Инструкции, прилагаемые к соответствующим диагностическим картам |
| Раствор для приготовления суспензии исследуемых эритроцитов | в зависимости от производителя | Условия хранения в зависимости от требований производителя | Инструкция, прилагаемая к раствору |

*\* -* Температура внутри холодильной камеры, где хранятся реактивы, контролируется средним медработником дважды в день. Показания термометра регистрируются в «Журнале регистрации температурного режима холодильника» (приложение 2).

5.3 **Прочий расходуемый материал**

Для выполнения ПМУ «Определение резус - принадлежности» используются прочий расходуемый материал (см. таблицу 5).

Таблица 5 - Прочий расходуемый материал, необходимый для определения резус–принадлежности

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ***Наименование*** | ***Количество*** | ***Примечание*** |
| Медицинские перчатки одноразовые | 1 пара на каждые 3 часа работы | Заменить немедленно при нарушении целостности или сильном загрязнении. |
| Раствор натрия хлорида, 0,9% | 0,5 л | Для промывания пипеток и палочек |
| Спирт этиловый медицинский, 70,0% | 10,0 гр. на 1 обработку | Для обработки гелевой центрифуги |
| Дезинфицирующий раствор | В соответствии с методическими указаниями по применению дез. средств, разрешённых к использованию в РФ и РТ | Для дезинфекции биологического материала, лабораторной посуды и рабочего места. |

**6. Ответственность**

Исполнители:

Определение резус-принадлежности должны проводить специалисты, имеющие подготовку по вопросам иммуногематологии на специализированных циклах усовершенствования на базе учреждений дополнительного профессионального образования и/или на базе учреждений службы крови РТ (см. таблицу 6).

Должностные лица, несущие ответственность – руководители структурными подразделениями (заведующие отделениями) учреждения здравоохранения.

Таблица 6 - Требования к специалистам для выполнения ПМУ «Определение резус–принадлежности».

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| ***Медицинское учреждение*** | ***Выполнение ПМУ «Определение резус-принадлежности»*** | ***Медицинский персонал*** | ***Дополнительные требования к медицинскому персоналу*** |
| Стационар | Первично и перед каждым переливанием крови и её компонентов | Лечащий или дежурный врач  Врач-трансфузиолог | Должны иметь специальную подготовку по вопросам иммуногематологии на специализированных циклах усовершенствования на базе учреждений дополнительного профессионального образования и/или на базе учреждений службы крови РТ не реже одного раза в 5 лет |
| Централизованное переопределение | Врач КЛД или биолог КЛД |
| Другие УЗ | Для амбулаторных пациентов | Врач КЛД или биолог КЛД |

**Требования безопасности**

К работе допускаются лица, прошедшие инструктаж по технике безопасности и получившие доступ к самостоятельной работе.

Все манипуляции ответственным исполнителям проводить в медицинской одежде с использованием индивидуальных средств защиты (медицинские перчатки, защитные очки или щитки). С любыми образцами крови пациента следует обращаться как с потенциальными переносчиками инфекционных заболеваний.

**7. Процедуры выполнения**

**7.1 Подготовительные работы**

**7.1.1 Требования к помещению**

Для выполнения ПМУ «Определение резус-принадлежности» должно быть оснащено отдельное место (или специальное помещение), которое оборудуется согласно требованиям приказа от 28 марта 2012 г. N 278н «Об утверждении требований к организациям здравоохранения (структурным подразделениям), осуществляющим заготовку, переработку, хранение и обеспечение безопасности донорской крови и ее компонентов, и перечня оборудования для их оснащения» (приложение № 5 приказа).

Иммуногематологические исследования проводить в помещении с естественным освещением, температура воздуха в помещении должна быть в пределах +150С …+250С. Показатели микроклимата фиксировать в «Журнале учёта микроклимата помещения» (приложение 3).

**7.1.2. Требования к образцам крови.**

Перед процедурой забора крови на исследование у пациента уточнить его фамилию, имя и отчество. Если состояние реципиента не позволяет провести опрос, идентификация проводится путем сверки данных медицинской документации.

У новорожденных детей указывается пол и номер на идентификационном ручном браслете. У новорожденных первых часов жизни указываются фамилия и инициалы матери.

Предпочтительнее использовать пробирку вакутейнер, на которую нанести следующую информацию о пациенте: Ф.И.О., дату забора крови, для стационарных больных - номер медицинской карты. Кровь пациента забрать из вены в количестве 3-5 мл и перенести в подписанную пробирку.

Использовать для исследования кровь пациента не более двухдневного срока хранения при t+2ºС…+8ºС.

Допускается наличие незначительного гемолиза у пациентов с аутоиммунной гемолитической анемией.

**Образцы крови, маркировка которых не соответствует требованиям настоящего документа, запрещается направлять и принимать для исследования в клинико-диагностической лаборатории**.

**7.1.3. Требования безопасности**

Все манипуляции проводить в медицинской одежде с использованием индивидуальных средств защиты (медицинские перчатки, защитные очки или щитки). С любыми образцами крови пациента следует обращаться как с потенциальными переносчиками инфекционных заболеваний.

**7.1.4 Требования к объемам исследований в зависимости от медицинского учреждения**

**7.1.4.1 Стационар**

При поступлении в стационар резус–принадлежность пациенту определяет дежурный или лечащий врач цоликлоном анти-D Супер.

Во избежание ошибки процедуру взятия крови и определения резус–принадлежности повторяют. Повторное определение резус–принадлежности крови осуществляется централизованно цоликлоном анти-D Супер (другой серии) или гелевой методикой в лаборатории УЗ, кабинете переливания крови или в отделении переливания крови. При направлении на централизованное переопределение образец крови пациента сопровождается направлением (см. приложение 4).

Для первичного определения при поступлении пациента и переопределения резус–принадлежности используются диагностические стандарты различных серий.

Результат переопределения вклеивается в медицинскую карту стационарного больного. При совпадении результатов первичного и централизованного переопределения резус–принадлежность крови пациента выносится на титульный лист медицинской карты, скрепляется подписью врача, проводившего первичное определение.

**Категорически запрещается переносить сведения о резус - принадлежности крови пациента с любого другого документа**!

Перед переливанием крови и её компонентов определение резус - принадлежности крови реципиента проводится с использованием цоликлона анти-D Супер. Предтрансфузионный образец крови реципиента хранить при температуре t+20С…+80С в течение 5 суток для дальнейшего исследования крови реципиента в специализированной лаборатории службы крови при возникновении посттрансфузионного осложнения.

Определение резус - принадлежности донорской крови из сегмента трубки контейнера перед трансфузией не проводится.

**7.1.4.2. Женская консультация.**

При постановке на учет по беременности резус–принадлежность определяют цоликлоном анти-D Супер.

Повторное определение резус–принадлежности производят в 28-30 недель беременности при помощи цоликлона анти-D Супер другой серии, или гелевой методикой.

Так же необходимо провести контрольное определение резус-принадлежности перед введением антирезусного иммуноглобуллина (**вводиться только резус-отрицательным беременным (родильницам) при отсутствие антиэритроцитарных антител**).

Результат определения резус–принадлежности, полученный в лаборатории женской консультации заносится в «Журнал регистрации результатов иммуногематологического исследования крови» (см. приложение 5).

**Категорически запрещается переносить сведения о резус-принадлежности крови пациента с любого другого документа!**

При несовпадении результатов первичного и повторного исследования образец крови беременной женщины направить в специализированную лабораторию СПК или ОПК для дальнейшего исследования.

**7.1.4.3. Поликлиника.**

Для амбулаторно-поликлинических пациентов определение резус–принадлежности производится цоликлоном анти-D Супер или гелевой методикой в клинико-диагностической лаборатории.

Результат определения резус–принадлежности, полученный в лаборатории поликлиники заносится в «Журнал регистрации результатов иммуногематологического исследования крови» (см. приложение 5).

**Категорически запрещается переносить сведения о резус-принадлежности крови пациента с любого другого документа!**

**7.2** **Методы определения резус–принадлежности.**

Резус-принадлежность определяется в реакции агглютинации с помощью моноклональных реагентов в реакции прямой агглютинации на плоскости или в непрямом антиглобулиновом тесте (непрямая проба Кумбса).

Прежде чем приступить к исследованию, необходимо произвести макроскопическую оценку реагентов: реагенты должны быть прозрачными, без осадка и других признаков загрязнения; ампулы (флаконы) после вскрытия должны быть закрытыми для предотвращения подсыхания реагентов. Проверить срок годности реагентов (сроки годности реагентов см. таблица 3).

Перед работой иммунологические стандарты выдержать при комнатной температуре около 1 часа.

**7.2.1. Определение резус–принадлежности при помощи цоликлона анти-D Супер**

Техника определения:

1. Промаркировать планшет, для чего указать Ф.И.О. пациента, кровь которого исследуют. На планшет нанести одну большую каплю (100 мкл) цоликлона анти-D Супер.

2. Радом нанести одну маленькую каплю (10 мкл) исследуемых эритроцитов.

3. Перемешать стеклянной палочкой. Через 10-20 секунд пластину мягко покачать. Наблюдать за реакцией три минуты. Через три минуты считать результат реакции.

Трактовка результатов производится по наличию или отсутствию агглютинации эритроцитов.

Положительный результат (+) выражается в агглютинации эритроцитов, агглютинаты видны невооруженным глазом в виде мелких или крупных агрегатов. Кровь относится к Rh0(D)+(полож.) (см. рисунок 5)

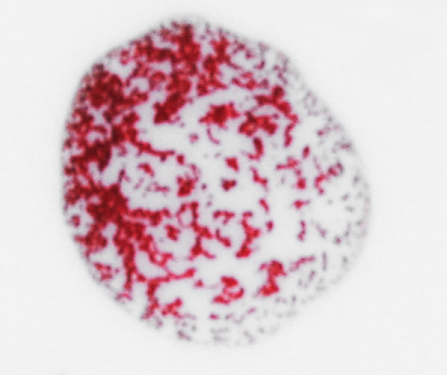


Рисунок 5. Исследуемая кровь Rh0(D)+ (положительная)

При отрицательном результате (-) капля остаётся равномерно окрашенной в красный цвет, агглютинации в ней не обнаруживается. Кровь Rh0(D)-(отр.) (см. рисунок 6)

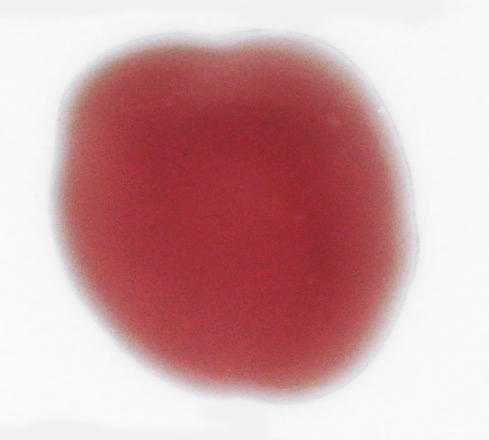


Рисунок 6. Исследуемая кровь Rh0(D)-(отрицательная)

**7.2.3. Определение резус–принадлежности при помощи гелевой методики.**

Для определения резус–принадлежности использовать диагностическую карту, содержащую микропробирки для идентификации антигена D системы Резус. Микропробирки имеют цветную (серую) и соответствующую буквенную маркировку (D).

В настоящее время существует множество модификаций карт для определения резус-принадлежности крови. К каждой карте прилагается инструкция по использованию. Перед работой необходимо внимательно ознакомиться с прилагаемой инструкцией.

Перед исследованием провести макроскопическую оценку диагностической карты. Не использовать карту, если в микропробирках наблюдается изменение цвета, в геле имеются взвешенные пузырьки, наблюдается уменьшение объёма геля или его растрескивание. Микропробирки должны содержать надосадочную жидкость. Если наблюдается рассредоточенное каплеобразование в верхней части микропробирки, рекомендуется центрифугировать карты перед использованием. Если капли не оседают, карту не использовать.

**7.3 Регистрация результатов исследования**

Результат исследования занести в медицинскую документацию:

- трансфузионную карту (раздел «Реципиент»)

- «Журнал регистрации результатов иммуногематологического исследования крови»

**8. Действия при обнаружении несоответствий**

8.1 При наличие значительных затруднений при определении резус-принадлежности крови пациента в клинико-диагностической лаборатории УЗ образец крови реципиента направить в клинико-диагностическую лабораторию ГАУЗ «Республиканский центр крови МЗ РТ» для дальнёйшего исследования (см. приложение 6). В направлении указать результаты исследования и характер затруднений.

8**.2 Дополнительные сведения об особенностях выполнения**

У некоторых категорий пациентов встречаются затруднения при определении резус–принадлежности. Индивидуальные особенности, характер затруднений и способы решения проблемы представлены в таблице 7.

Таблица 7 - Категории пациентов, у которых встречаются затруднения при определении резус–принадлежности.

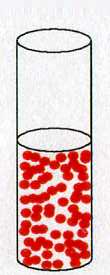
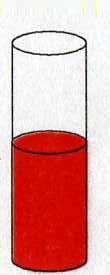
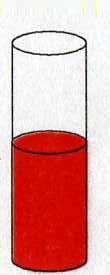
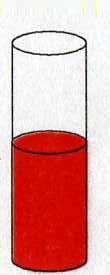
|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| ***№ п/п*** | ***Категория пациентов*** | ***Индивидуальные особенности*** | ***Характер затруднения*** | ***Способ решения проблемы*** |
| 1. | Беременные | Слабо выражена активность антигена D | Слабо выраженная агглютинация, почти не различимая глазом. Вероятность пропустить реакцию агглютинации | Использовать различные типы реагентов.  При необходимости гемотрансфузии эритроцитсодержащих компонентов крови образец крови больного направить в специализированную лабораторию службы крови для индивидуального подбора |
| 2. | Больные с гематологическими или онкологическими заболеваниями и другие | Ослабление активности или полная утрата антигена D | Слабо выраженная агглютинация или ее отсутствие. | Использовать различные типы реагентов.  При необходимости гемотрансфузии эритроцитсодержащих компонентов крови образец крови больного направить в специализированную лабораторию службы крови для индивидуального подбора |
| Наличие неспецифических алло- и/или аутоантител | Положительные результаты контроля | Использовать гелевую методику.  При необходимости гемотрансфузии эритроцитсодержащих компонентов крови образец крови больного направить в специализированную лабораторию службы крови для индивидуального подбора |
| 4. | У различных категорий пациентов | Слабые варианты антигена D | Несовпадение результатов исследования, полученных при исследовании и произведённых ранее | Использовать различные типы реагентов или гелевую методику.  При необходимости гемотрансфузии эритроцитсодержащих компонентов крови образец крови больного направить в специализированную лабораторию службы крови для индивидуального подбора |
| Гиперлипидемия | Возможна неспецифическая агглютинация | Исследуемые эритроциты отмыть.  При необходимости гемотрансфузии эритроцитсодержащих компонентов крови образец крови больного направить в специализированную лабораторию службы крови для индивидуального подбора |
| Массивная гемотрансфузия или трансфузия несовместимых переносчиков газов крови по системе Резус | Сомнительный результат исследования | Использовать гелевую методику.  При необходимости гемотрансфузии эритроцитсодержащих компонентов крови образец крови больного направить в специализированную лабораторию службы крови для индивидуального подбора |
|  |  | Внутривенное введение растворов декстранов или желатина. | Ложноположительные реакции агглютинации и (или) положительный результат контроля (в т.ч. аутоконтроля) | Исследуемые эритроциты отмыть.  При необходимости гемотрансфузии эритроцитсодержащих компонентов крови образец крови больного направить в специализированную лабораторию службы крови для индивидуального подбора |
| Двойная популяция при определении резус-принадлежности гелевым методом | Одновременное наличие и отсутствие агглютинации в одном микропробирке | При необходимости гемотрансфузии эритроцитсодержащих компонентов крови образец крови больного направить в специализированную лабораторию службы крови для индивидуального подбора |

**Приложение 1**

**ГРАФИЧЕСКОЕ, СХЕМАТИЧЕСКИЕ И ТАБЛИЧНОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ ТЕХНОЛОГИЙ ВЫПОЛНЕНИЯ ПМУ**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Вид  исследо-вания | Диагности-ческие стандарты для проведения исследования | Кровь  пациента | Метод  определения | Соотношение  диагностический стандарт/  исследуемая кровь | Экспозиция | Добавление  Раствора натрия хлорида 0,9% | Контроль |
| Опреде-ление Rh0(D) -принадлежности крови | Универ-сальный реагент антирезус Rh0(D) | Из вены | В пробирке без подогрева | 2:1 | 3 минуты | По 3-5 мл в каждую пробирку | С р-ром натрия хлорида 0,9% и 33% р-ром полиглюкина |
| Цоликлон анти-D Супер | Из вены или капил-лярная | На плоскости  РПГА | 10:1 | 3 минуты | Не добавлять | нет |

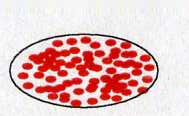
реактив контроль реактив контроль

**Исследуемая кровь** **Исследуемая кровь**

**Rh0(D)+(положительная) Rh0(D)-(отрицательная )**

Рисунок 7. Определение Rh0(D)–принадлежности крови при помощи универсального реагента антирезус Rh0(D) в пробирках без подогрева

****  ****

**Исследуемая кровь Исследуемая кровь**

**Rh0(D)+(положительная) Rh0(D)–(отрицательная)**

Рисунок 8. Определение Rh0(D)–принадлежности крови

при помощи моноклонального реагента «Цоликлон анти-D Супер»

**Приложение 2 (обязательное)**

|  |
| --- |
| \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  (наименование учреждения здравоохранения)  \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  (наименование структурного подразделения учреждения)  **ЖУРНАЛ РЕГИСТРАЦИИ ТЕМПЕРАТУРНОГО РЕЖИМА ХОЛОДИЛЬНИКОВ**  Начат «\_\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 20\_\_\_ г. Окончен «\_\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 20\_\_\_ г. |

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Дата контроля | Показания термометра | | | Подпись ответственного лица | Принятые меры |
| Утро | Вечер | |
|  |  |  |  | |  |
|  |  |  |  | |  |
|  |  |  |  | |  |
|  |  |  |  | |  |
|  |  |  |  | |  |
|  |  |  |  | |  |
|  |  |  |  | |  |
|  |  |  |  | |  |
|  |  |  |  | |  |
|  |  |  |  | |  |
|  |  |  |  | |  |
|  |  |  |  | |  |
|  |  |  |  | |  |
|  |  |  |  | |  |
|  |  |  |  | |  |
|  |  |  |  | |  |
|  |  |  |  | |  |
|  |  |  |  | |  |
|  |  |  |  | |  |

**Приложение 3 (обязательное)**

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

(наименование медицинского учреждения)

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

(наименование структурного подразделения учреждения)

**ЖУРНАЛ**

**учёта микроклимата помещения**

Начат «\_\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 201\_\_\_ г.

Окончен«\_\_\_\_»\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_201\_\_г.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| *Дата и время записи* | *Влажность воздуха в помещении (показание гигрометра психометрического)* | | Относительная влажность | Подпись ответственного лица |
| Показание сухого термометра | Показание влажного термометра |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |

**Приложение 4 (обязательное)**

**Направление в КДЛ УЗ (ОПК, КТТ)**

**на иммуногематологическое исследование крови**

Ф.И.О. пациента**\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

Дата рождения\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ № медицинской карты\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

(отделение)

**Результат первичного определения, полученное в отделении УЗ:**

|  |  |
| --- | --- |
| Группа крови АВО |  |
| Резус–принадлежность | Rh0(D) |

Использованы диагностические стандарты:

1) цоликлоны следующих серий:

Анти-А\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_годен до\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Анти-В\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_годен до\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Анти-АВ\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_годен до\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_годен до\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

1. Цоликлон анти-D Супер

серии: \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_годен до\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Дата исследования\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ Подпись врача\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

**Результат централизованного переопределения:**

|  |  |
| --- | --- |
| Группа крови АВО |  |
| Резус–принадлежность | Rh0(D) |
| Фенотип | С с D E e |
| Антиэритроцитарные антитела |  |

Дата \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ Подпись врача \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

**Примечание: пробирка с образцом крови должна быть промаркирована (Ф.И.О. пациента, дата взятия крови, № медицинской карты)**

|  |
| --- |
| **Приложение 5 (обязательное)**  \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  (наименование учреждения здравоохранения)  \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  (наименование структурного подразделения учреждения)  **ЖУРНАЛ РЕГИСТРАЦИИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИММУНОГЕМАТОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВИ**  Начат «\_\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 20\_\_\_ г. Окончен «\_\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 20\_\_\_ г.  **Страницы журнала должны быть пронумерованы, прошнурованы, скреплены печатью учреждения и подписью руководителя медицинского учреждения.** |

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Дата  централизо-ванного исследования | №  п/п | Ф.И.О.  пациента | Результат  первичного  исследования | | Результат централизованного переопределения | | | Результат скринингового  исследования  на антиэритроцитар-ные антитела | Диагностические стандарты, использованные для централизован-ного исследования (наименование, изготовитель, № серии, срок годности) | Отделение, направившее образец крови на исследование |
| Группа крови АВО | Резус-принадлежность | Группа  крови АВО | Резус-принадлежность | Фенотип |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

**Приложение 6 (обязательное)**

**Направление в РЦК (ОПК)**

**на определение групповой, резус–принадлежности, индивидуальный подбор**

**(**нужное подчеркнуть)

Наименование ЛПУ\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_отделение\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

**Ф.И.О. врача, направившего образец крови \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

**Контактный телефон\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

**Ф.И.О. пациента\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

**Дата и год рождения\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ № медицинской карты \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

**Диагноз: \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

Трансфузионный анамнез (кол-во трансфузий и реакции на них) \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Акушерский анамнез (кол-во беременностей, кол-во родов, ГБН детей, выкидыши, мертворождения, аборты \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Результаты иммуногематологического исследования крови, полученные в ЛПУ:

Группа крови по АВО \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Резус – принадлежность \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Фенотип C c D E e\_\_\_\_\_\_\_\_

Наличие антиэритроцитарных аллоантител\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Наименование компонентов крови необходимых для трансфузии\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Дата\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ Подпись врача\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

**Примечание: пробирка с образцом крови должна быть промаркирована (Ф.И.О. пациента, дата взятия крови, № медицинской карты).**