

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ
БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневич



20 19 г.

Регистрационный № 254-1218

**МЕТОД МЕДИЦИНСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ
ПОСТТРАНСФУЗИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ
ГЕМОЛИТИЧЕСКОГО ТИПА
И АЛЛОСЕНСИБИЛИЗАЦИИ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК:

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический
центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий»

АВТОРЫ: Дворина Е.М., к.м.н. Пешняк Ж.В., к.м.н. Дашкевич Э.В.,
Бондарук О.Н., к.м.н. Карпенко Ф.Н.

Минск, 2019

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ
Первый заместитель министра

_____ Д. Л. Пиневич
25.04.2019
Регистрационный № 254-1218

**МЕТОД МЕДИЦИНСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ПОСТТРАНСФУЗИОННЫХ
ОСЛОЖНЕНИЙ ГЕМОЛИТИЧЕСКОГО ТИПА
И АЛЛОСЕНСИБИЛИЗАЦИИ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: ГУ «Республиканский научно-практический
центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий»

АВТОРЫ: Е. М. Дворина, канд. мед. наук Ж. В. Пешняк, канд. мед. наук
Э. В. Дашкевич, О. Н. Бондарук, канд. мед. наук Ф. Н. Карпенко

Минск 2019

Настоящая инструкция по применению (далее — инструкция) предназначена для медицинской профилактики посттрансфузионных осложнений гемолитического типа у пациентов и аллосенсибилизации при беременности на основе иммуногематологического определения антиэритроцитарных антител.

Данный метод основан на выявлении антиэритроцитарных антител в гелевом тесте к антигенам эритроцитов различных групповых систем Rh-hr (D, C, c, E, e, C^w), Kell (K, k, Kp^a, Kp^b), Duffy (Fy^a, Fy^b), Kidd (Jk^a, Jk^b), Lewis (Le^a, Le^b), P (P₁), MNS (M, N, S, s), Lutheran (Lu^a, Lu^b) с целью предотвращения посттрансфузионных осложнений гемолитического типа у пациентов, получающих эритроцитные компоненты крови, подбора пар «донор-реципиент», а также для профилактики аллосенсибилизации беременных, прогнозирования течения конфликтной по групповым эритроцитарным антигенам беременности.

Метод, изложенный в настоящей инструкции, предназначен для врачей лабораторной диагностики, врачей-трансфузиологов, врачей-акушеров-гинекологов, врачей-педиатров, врачей-неонатологов, иных специалистов организаций здравоохранения, оказывающих трансфузиологическую помощь.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

1. Пробирки для образцов крови с К2ЭДТА объемом на 5 мл или без стабилизатора на 10 мл.
2. Штативы для пробирок.
3. Центрифуга на 1500–3000 об/мин.
4. Инкубатор для идентификационных карт 37 °С.
5. Центрифуга с фиксированным временем и скоростью на 6, 12 или 24 идентификационные карты.
6. Пипетка полуавтоматическая одноканальная объемом 20–200 мкл.
7. Наконечники для дозаторов до 200 мкл.
8. Перчатки медицинские.
9. Дезинфицирующие средства.
10. Раствор натрия хлорида 9 мг/мл (физиологический).
11. Моноклональные реагенты для определения антигенов D, C, C^w, c, E, e, K, k на плоскости в эритроцитах.
12. Идентификационные карты, содержащие 6 микропробирок, заполненных гелем, в котором суспендирована полиспецифическая антиглобулиновая сыворотка (или реагент LISS/Coombs для скрининга и идентификации антител).
13. Тест-эритроциты фенотипа CCC^wDee, ccDEE, ccdee с антигенным профилем I-II-III (P₁, Le^a, Le^b, Lu^a, Lu^b, K, Kp^a, Kp^b, Jk^a, Jk^b, M, N, S, s, Fy^a, Fy^b) для выявления (скрининга) антиэритроцитарных антител в гелевом тесте.
14. Изделие медицинского назначения «Панель тест-эритроцитов для определения специфичности антиэритроцитарных антител»; регистрационное удостоверение № ИМ-7.107191 от 20.12.2018 ТУ ВУ 190572781.044-2018 (далее — панель тест-эритроцитов) либо аналог.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Определение аллоиммунных антител вне зависимости от групповой и резус-принадлежности:

у пациентов перед каждой трансфузией эритроцитарных компонентов крови;

у беременных для выявления аллосенсибилизации.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Отсутствуют.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Метод, изложенный в настоящей инструкции, выполняется в 2 этапа:

Этап 1. Скрининг аллоиммунных антиэритроцитарных антител необходимо проводить в гелевом тесте с использованием трех образцов тест-эритроцитов O(I) группы крови фенотипа CCC^wDee, ccDDEE, ccdee, содержащих в совокупности клинически значимые антигены антигенного профиля I-II-III (P₁, Le^a, Le^b, Lu^a, Lu^b, K, K_p^a, K_p^b, Jk^a, Jk^b, M, N, S, s, Fy^a, Fy^b).

Этап 2. При положительном результате скрининга определяется специфичность антиэритроцитарных антител в гелевом тесте с использованием 11-клеточной панели тест-эритроцитов O(I) группы крови резус-положительных и резус-отрицательных, содержащих до 23 клинически значимых антигенов групповых систем эритроцитов: Rh-hr (D, C, c, E, e, C^w), Kell (K, k, K_p^a, K_p^b), Duffy (Fy^a, Fy^b), Kidd (Jk^a, Jk^b), Lewis (Le^a, Le^b), P (P₁), MNS (M, N, S, s), Lutheran (Lu^a, Lu^b) (таблица).

Таблица — Этапы метода

Наименование этапа	Результат
Выявление антиэритроцитарных антител с помощью трех образцов тест-эритроцитов O(I) группы крови фенотипа CCC ^w Dee, ccDDEE, ccdee, содержащих в совокупности антигены антигенного профиля I-II-III в реакции агглютинации в гелевом тесте	Отсутствие или наличие (рисунок) четкой агглютинации с сыворотками, содержащими антитела против тест-эритроцитов антигенного профиля I-II-III (P ₁ , Le ^a , Le ^b , Lu ^a , Lu ^b , K, K _p ^a , K _p ^b , Jk ^a , Jk ^b , M, N, S, s, Fy ^a , Fy ^b)
Специфичность антиэритроцитарных антител с помощью 11-клеточной панели тест-эритроцитов O(I) группы крови резус-положительных и резус-отрицательных, содержащих до 23 антигенов 8 групповых систем эритроцитов Rh-hr (D, C, c, E, e, C ^w), Kell (K, k, K _p ^a , K _p ^b), Duffy (Fy ^a , Fy ^b), Kidd (Jk ^a , Jk ^b), Lewis (Le ^a , Le ^b), P (P ₁), MNS (M, N, S, s), Lutheran (Lu ^a , Lu ^b) определяют в реакции агглютинации в гелевом тесте	Отсутствие или наличие четкой агглютинации с сыворотками, содержащими антитела против соответствующего антигена тест-эритроцитов по системам Rh-hr (D, C, c, E, e, C ^w), Kell (K, k, K _p ^a , K _p ^b), Duffy (Fy ^a , Fy ^b), Kidd (Jk ^a , Jk ^b), Lewis (Le ^a , Le ^b), P (P ₁), MNS (M, N, S, s), Lutheran (Lu ^a , Lu ^b)

1. Наличие агглютинации свидетельствует о присутствии в исследуемой сыворотке соответствующих антител.

2. Специфичность антител устанавливают с помощью таблицы антигенного профиля, прилагаемой к панели тест-эритроцитов.

3. Результаты учитывают как истинные только после проверки микропробирки с аутоконтролем, в которой агглютинации быть не должно.

4. Отсутствие агглютинации — антител нет.

Оценка результатов реакции агглютинации в гелевом тесте



Рисунок — Оценка результатов в гелевом тесте

С помощью панели тест-эритроцитов можно определять титры выявленных антител. Для этого необходимо отдельно в пробирках (или микропланшете) произвести титрование сыворотки (плазмы) от 1:2, 1:4, 1:8 и т. д. до 1:2048 (при необходимости и более) с использованием физиологического раствора, затем внести в каждую микропробирку идентификационных карт LISS/Coombs (для скрининга и идентификации антител) по 50 мкл эритроцитов, с помощью которых была установлена специфичность выявленных антител, и по 25 мкл раститрованного образца.

За исходный титр принять последнюю микропробирку с положительным результатом (+) (рисунок).

АЛГОРИТМ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИЭРИТРОЦИТАРНЫХ АНТИТЕЛ ДЛЯ ПОДБОРА ЭРИТРОЦИТАРНЫХ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ ПАРАМ «ДОНОР–РЕЦИПИЕНТ»

Скрининг аллоиммунных антиэритроцитарных антител у пациентов проводить перед каждой трансфузией эритроцитарных компонентов крови (схема алгоритма – приложение 1). Результаты действительны в течение 3 дней.

Трактовка результатов

1. При положительном результате скрининга необходимы:
- определение специфичности антител;
- подбор совместимых эритроцитарных компонентов крови донора по антигенам систем ABO, Rh-Hr, Kell и другими системам эритроцитов, не имеющего антигены, к которым у пациента есть антитела.

2. При отрицательном результате скрининга следует осуществлять:

- при однократной трансфузии — подбор совместимого донора по антигенам А, В (системы АВО), D (системы Rh-Hr) и К (системы Kell);

- подбор совместимого донора по антигенам А, В (системы АВО), С, С^w, с, D, Е, е (системы Rh-Hr), К, к (системы Kell) в группах риска: при многократных трансфузиях (более 2); у иммунокомпрометированных пациентов (с первичным и вторичным иммунодефицитом, после трансплантации органов и тканей); у женщин детородного возраста; у детей до 18 лет.

АЛГОРИТМ ПРОФИЛАКТИКИ АЛЛОСЕНСИБИЛИЗАЦИИ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

Для профилактики аллосенсибилизации при беременности с помощью иммуногематологического скрининга антиэритроцитарных антител необходимо осуществлять (схема алгоритма — приложение 2):

1. Сбор акушерского анамнеза (количество беременностей, родов, абортов, информация о предшествующей сенсибилизации с указанием титров).

2. Сбор трансфузиологического анамнеза (переливание компонентов крови и лекарственных средств из плазмы крови, в т. ч. введение специфического иммуноглобулина анти-Rh(D)).

3. Определение фенотипа эритроцитов беременной по системам эритроцитов АВО, Резус, Kell.

4. Скрининг антиэритроцитарных антител: при постановке на учет беременной при первой явке; в 28–29 и 34–35 недель беременности.

Трактовка результатов

1. Наличие сенсибилизации по групповой системе эритроцитов АВО у беременной O(I) группы крови — обязательное фенотипирование крови биологического отца ребенка по системе АВО независимо от резус-принадлежности:

а) наличие иммунных анти-А и/или анти-В антител класса IgG свидетельствует об аллосенсибилизации антигенами А и/или В по системе АВО;

б) наличие высоких титров нормальных (естественных) полных антител класса IgM агглютининов α более 1:256 и/или β более 1:128 при отсутствии иммунных термостабильных антител анти-А и/или анти-В указывает на возможность предшествующей аллосенсибилизации по системе АВО.

При определении сенсибилизации (а, б) необходимо осуществлять:

- контроль титра антител к антигенам эритроцитов системы АВО в 36 недель беременности для выбора сроков родоразрешения;

- исследование крови новорожденного на антитела по системе АВО прямым антиглобулиновым тестом в первые 2 ч жизни.

в) отсутствие иммунных анти-А и/или анти-В антител при титре нормальных антител α не выше 1:256 и β не выше 1:128 — аллосенсибилизации антигенами А и В групповой системы эритроцитов АВО не выявлено.

2. Наличие сенсибилизации к другим эритроцитарным антигенам по системам Резус (Rh-Hr), Kell и т. д. — обязательное фенотипирование крови биологического отца ребенка по аналогичным системам эритроцитов:

а) при положительном результате скрининга у беременной определять специфичность и титр аллоиммунных антител с применением 11-клеточной панели тест-эритроцитов в динамике: 1 раз в 1 мес. до 38 недель беременности (в случае повышения/снижения титров антител более чем на 2 порядка необходима консультация врача-акушера-гинеколога, врача-неонатолога, врача-трансфузиолога);

б) у Rh-отрицательной беременной при Rh-положительном биологическом отце ребенка в случае положительного скрининга и выявления антител другой групповой специфичности эритроцитов кроме анти-Rh(D) антител — вводить иммуноглобулин анти-Rh(D) согласно инструкции по применению;

в) у Rh-отрицательной беременной и Rh-положительном отце ребенка при отрицательном скрининге, если анти-Rh(D) антитела не выявлены — вводить иммуноглобулин анти-Rh(D) согласно инструкции по применению.

*При необходимости трансфузии у матери и/или ребенка фенотипирование эритроцитов и установление специфичности антител помогает при подборе пар «донор–реципиент» с целью профилактики аллосенсибилизации.

**Профилактика аллосенсибилизации при беременности считается эффективной, если беременность доношена и у новорожденного отсутствуют признаки гемолиза.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

Этап выполнения	Ошибки	Пути устранения
Идентификация образцов донора и реципиента	Неправильная маркировка пробирок с образцами	Правильно указывать: № этикетки донора, № медицинской карты пациента, отделения, полностью Ф.И.О. пациента, дату взятия крови
	Неточность при внесении результатов исследований в медицинскую документацию	Соблюдать точность при оформлении медицинской документации
Лабораторные исследования	Погрешности техники выполнения методики	Точно выполнять соответствующие инструкции по соблюдению: сроков хранения образцов, температурных условий, объемного соотношения реагентов и исследуемых образцов (сыворотки/эритроцитов), времени реакции. Не использовать помутневшие реагенты и с истекшим сроком годности

Продолжение таблицы

	Использование низкочувствительных тестов при выявлении аллоиммунных антител в сыворотке крови в низкой концентрации	Использовать высокочувствительный метод агглютинации в геле
	Неправильная интерпретация результатов исследований без учета биологических особенностей образца крови	Использовать высокочувствительные методы и реагенты для выявления: - неспецифической агглютинации эритроцитов; - кровяных химер.

**Схема алгоритма определения антиэритроцитарных антител
для подбора эритроцитарных компонентов крови парам «донор–реципиент»**



Схема алгоритма профилактики аллосенсибилизации при беременности

