

ПОРЯДОК ПРОВЕДЕНИЯ ИММУНОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ У БЕРЕМЕННЫХ, РОЖЕНИЦ, ПЛОДОВ И НОВОРОЖДЕННЫХ

МЕТОДИЧЕСКОЕ ПИСЬМО

Предложена система методических и организационных требований к проведению иммуногематологических исследований у беременных женщин, плодов и новорожденных, применение которой повышает достоверность диагностики иммунологических конфликтов мать-плод, обусловленных несовместимостью по антигенам эритроцитов, а также обеспечивает подбор крови для заменных трансфузий новорожденным с учетом специфичности антител матери.

Настоящее методическое письмо подготовили специалисты Федерального государственного учреждения «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии» Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи (г. Санкт-Петербург) Минеева Н.В., Бодрова Н.Н., Солдатенков В.Е., Гематологического научного центра (г. Москва) Башлай А.Г., Государственного учреждения НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН (г. Санкт-Петербург) Айламазян Э.К., Павлова Н.Г., Государственного учреждения здравоохранения «Краевая клиническая больница №1 им. С.В. Очаповского» (г. Краснодар) Пашкова И.А.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГТ	— антиглобулиновый тест (реакция Кумбса)
ГБ	— гемолитическая болезнь
ГБН	— гемолитическая болезнь новорожденного
ГБП	— гемолитическая болезнь плода
НАГТ	— непрямой антиглобулиновый тест
ПАГТ	— прямой антиглобулиновый тест
СЗП	— свежезамороженная плазма
НИИ	— научно-исследовательский институт
СПК	— станция переливания крови
ОПК	— отделение переливания крови

ВВЕДЕНИЕ

Основное значение в развитии гемолитической болезни у плода (ГБП) и, последующем, у новорожденного (ГБН) имеют антитела матери — иммуноглобулины класса G, которые легко проникают через плацентарный барьер и попадают в кровотоки плода. Аллоантитела матери, имеющие специфичность к антигенам эритроцитов плода, разрушают его эритроциты или угнетают гемопоэз. Уровень гемолиза эритроцитов плода и новорожденного зависит от специфичности антител, их концентрации, а также от выраженности антигенов на эритроцитах.

Несмотря на достижения в перинатальной диагностике, профилактике и лечении, полностью предупредить заболеваемость и смертность детей от гемолитической болезни (ГБ) не удастся. Иммуногематологические исследования у матери, плода и новорожденного помогают прогнозировать возможность развития и тяжесть ГБ, оптимизировать проведение гемотрансфузионной терапии плодов и новорожденных, а также осуществить подбор гемотрансфузионных сред женщине.

А. Организационные требования

А.1. Иммуногематологические исследования проводят:

- в кабинетах, отделениях переливания крови, клинко-диагностических лабораториях родовспомогательных учреждений, лечебных учреждений гинекологического и педиатрического профиля;
- в централизованных лабораториях (городских, областных, региональных), организованных на базе ОПК, СПК или НИИ гематологии и трансфузиологии.

Перечень иммуногематологических исследований приведен в Приложении 1.

А.1.1. В женских консультациях исследование АВ0 и резус-принадлежности крови проводит врач-лаборант клинко-диагностической лаборатории дважды разными сериями реактивов или разными методами (допускается первое исследование проводить специалистам со средним образованием). Исследование антител проводит врач-лаборант.

В родовспомогательных учреждениях, а также при стационарном (или амбулаторном) лечении взрослых или детей, первичное исследование группы крови АВ0 проводит врач клинического отделения. Подтверждающие исследования (определение группы крови по системе АВ0, определение резус-принадлежности), а также исследование аллоантител и индивидуальный подбор крови проводятся централизованно в лаборатории.

А.1.2. Централизованные лаборатории и иммуногематологические отделы СПК консультируют ЛПУ по вопросам определения специфичности аллоантител, сложнодиагностируемых групп крови, проводят индивидуальные подборы крови

сенсibilизированным беременным и роженицам, а также плодам и новорожденным.

А.1.3. Лаборатории, осуществляющие иммуногематологические исследования, должны принимать участие в Федеральной системе внешней оценки качества (ФСВОК) по разделу «Иммуногематология».

А.2. Требования к оборудованию, реактивам и методам исследования.

Все применяемые методики и реактивы должны быть разрешены к применению Министерством здравоохранения и социального развития Российской Федерации. Подробный перечень оборудования, реактивов и методик приведен в приказе МЗ РФ №2 от 09.01.98г. и инструкциях по применению, прилагаемых к реактивам.

Минимальный набор оборудования для выполнения иммуногематологических исследований: термостаты на $+37^{\circ}\text{C}$ и на $+46^{\circ} - 48^{\circ}\text{C}$ (или водяная баня), лабораторная центрифуга для пробирок, микроскоп, сушильный шкаф, рефрижератор $+4^{\circ} - 8^{\circ}\text{C}$, тарелки или планшеты, пробирки и штативы для них, таймер, пипетки, предметные стекла, термометры, лупа пяти- или восьми-кратного увеличения.

А.3. Порядок документирования исследований приведен в Приложении 1. Необходимая документация:

- журнал регистрации иммуногематологических исследований у беременных, рожениц и новорожденных (Приложение 2);
- бланки «Направления на исследование и результаты исследования в лаборатории», а также бланки ответов о результатах исследования антител, выдаваемые на руки женщинам (Приложение 3);
- журнал регистрации учебных занятий с медперсоналом по вопросам иммуногематологии.

А.4. Требования к персоналу. Врачебный и средний медперсонал, осуществляющий иммуногематологические исследования, должны иметь специальную подготовку по вопросам иммуногематологии. Подготовка специалистов проводится на рабочем месте и на специализированных циклах обучения в институтах постдипломного образования или профильных НИИ.

ПОРЯДОК ПРОВЕДЕНИЯ ИММУНОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Б. Иммуногематологические исследования у беременных

Б.1. Требования к образцам крови, взятым для исследования.

Кровь на исследование берут из вены в сухую пробирку без консерванта в количестве 8-10 мл. Пробирку с кровью маркируют в присутствии пациентки [указывают фамилию, имя, отчество (полностью), дату рождения, дату взятия крови, номер обменной карты или истории родов, наименование лечебного учреждения и отделения]. Одновременно оформляют направление на исследование. Кровь годна для проведения исследования в течение 3 дней при условии хранения при $+4^{\circ} - 8^{\circ}\text{C}$.

Б.2. Исследование групповой принадлежности крови по системе АВ0. Первичное определение группы крови проводят моноклональными антителами или стандартными изогемагглютинирующими сыворотками. Подтверждающее исследование группы крови АВ0 проводят в лаборатории перекрестным способом на плоскости или агглютинацией в геле. Для исследования используют стандартные эритроциты 0, А и В и реактивы на основе моноклональных антител или стандартные изогемагглютинирующие сыворотки анти-А, анти-В, анти-АВ. Заключение о групповой принадлежности делают на основании первичного и подтверждающего исследований группы крови женщины.

Б.3. Определение резус-принадлежности крови беременных.

Б.3.1. Резус-принадлежность крови беременных определяют двумя сериями реактивов анти-D следующими методами: методом в пробирках без подогрева с использованием универсального реагента анти-D, методом агглютинации на плоскости с применением моноклональных антител (реактив цоликлон анти-D супер), методом конглоутинации в пробирках с желатином или 33% полиглоукином, гелевым методом, антиглобулиновым тестом (АГТ) с использованием сыворотки анти-D. Для исключения ложноположительных и ложноотрицательных результатов используют соответствующие контроли. При использовании реагентов, приготовленных на основе моноклональных антител, необходимо учитывать, что реагенты типа «Цоликлон анти-D супер», содержащие антитела класса иммуноглобулинов М, не выявляют варианты антигена D (например, D^{VI}), а также некоторые образцы D слабого антигена. Поэтому все образцы крови беременных, показавшие отрицательный результат с реактивом «Цоликлон анти-D супер», дополнительно исследуют с реактивом анти-D, содержащим неполные антитела (иммуноглобулины класса G), желатиновым методом, экспресс-методом в пробирках с 33% полиглоукином, агглютинацией в геле или антиглобулиновым тестом (реакцией Кумбса).

Б.3.2. В труднодиагностируемых случаях определения резус-принадлежности крови (расхождение в результатах при использовании разных методов и реактивов) проводят непрямой антиглобулиновый тест (НАГТ).

Антиген D слабый обычно хорошо выявляется в АГТ (характер реакции агглютинации от 1+ до 3+). Резус-принадлежность крови беременных, имеющих антиген D слабый, считается положительной.

Б.3.3. Диагностика D вариантного (D partial) антигена проводят при необходимости, при этом используют специальную тест-систему DiaMed с применением гелевого метода. Если у беременной женщины выявлен D вариантный антиген, то резус-принадлежность считается отрицательной, так как лица, имеющие указанный антиген, при беременности плодом с резус-положительной принадлежностью эритроцитов могут выработать анти-D антитела.

Б.4. Определение аллоантител у беременных.

Сыворотки всех беременных исследуют на наличие антител к антигенам эритроцитов независимо от резус-принадлежности крови. Исследование аллоанти-

тел проводят в два этапа: скрининг антител и идентификация (определение специфичности) выявленных при скрининге антител.

Б.4.1. Тесты, применяемые для скрининга антител, должны выявлять клинически значимые антитела: метод с применением 10% желатина с микроскопированием результата, антиглобулиновый тест при +37°C либо его модификация (с раствором низкой ионной силы соли, гелевый тест). Наиболее чувствительным является метод агглютинации в геле.

Б.4.2. Для скрининга антител используют три образца эритроцитов группы 0 фенотипов: ccDEEK⁻, CCDeeK⁻, ccdeeK⁺. Эритроциты в панели должны также содержать антигены: Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, S, s (желательно гомозиготы по соответствующим генам).

Б.4.3. Определение специфичности антител, выявленных при скрининге (идентификация): для установления специфичности антител необходимо использовать панель эритроцитов, включающую не менее 10 образцов. Панель стандартных эритроцитов должна состоять из такого сочетания фенотипов, которое позволяет определить специфичности основных клинически значимых антител: моноспецифических и полиспецифических анти-D, -C, -c, -E, -e, -K, -k, -Fy^a, -Fy^b, -Jk^a, -Jk^b, -S, -s, -M.

Б.4.4. При установлении специфичности антител в сложно диагностируемых случаях целесообразно проводить типирование антигенов эритроцитов беременной и отца ребенка.

Б.4.5. Титрование антител. Определение титра и специфичности антител, наряду с данными об УЗ маркерах ГБП и акушерского анамнеза, помогает решить вопрос о необходимости и времени проведения инвазивных исследований.

Б.4.5.1. Титрование антител проводят одним из методов: АГТ в общепринятой постановке, гелевым тестом или методом с применением 10% желатина. Желатиновый метод обычно дает расхождение титров на две - три ступени, по сравнению с антиглобулиновым тестом. При использовании желатинового метода для титрования антител не нужно проводить микроскопирование результата. Метод агглютинации в геле дает более высокие титры антител, чем АГТ в обычной постановке.

Б.4.5.2. При исследованиях важно выявить возможное повышение титра антител. Величина титра антител, полученная при первом исследовании, рассматривается как базовая. Повышение титра антител на две и более ступеней разведения может являться признаком ГБН.

Б.4.5.3. Повторные исследования целесообразно проводить в одной лаборатории одним и тем же методом. Сыворотка крови беременной может сохраняться при +4° - 8°C (консервированная 0,1% раствором азиды натрия) или замораживанием при -10°-20°C. Вновь взятые и ранее заготовленные образцы сыворотки можно исследовать одновременно, что позволяет с большей степенью достоверности судить о динамике титра антител.

Б.5. Результаты исследования группы крови, резус-принадлежности и аллоантител беременной регистрируют в журнале результатов исследования,

вписывают в бланк ответа, который выдается беременной, а также в бланк ответа, который вклеивается в обменную карту беременной или историю родов. Данные о группе крови, резус-принадлежности и аллоантителах выносятся врачом на лицевую страницу обменной карты или истории родов.

В. Иммуногематологические исследования отца ребенка проводят:

1. При обнаружении у беременной группы крови 0.
2. При выявлении у беременной резус-отрицательной принадлежности крови.
3. При обнаружении у беременной аллоантител к антигенам эритроцитов.

В.1. Кровь отца ребенка исследуют на группу крови, резус-принадлежность и наличие антигенов эритроцитов, к которым у беременной найдены антитела. Определение фенотипа антигенов эритроцитов отца позволяет прогнозировать вероятность иммунологического конфликта «мать-плод» по антигенам эритроцитов и начать раннюю профилактику гемолитической болезни плода (если мать не сенсибилизирована к антигену D).

Г. Алгоритм иммуногематологических исследований у женщин во время беременности.

Перед проведением иммуногематологических исследований собирают акушерский и трансфузионный анамнез. Наличие предшествующих беременностей, их неблагоприятный исход (выкидыши, мертворождение, рождение детей с ГБН), а также наличие в анамнезе гемотрансфузий, выделяет данную категорию женщин в группу риска в отношении развития ГБП. Данные об акушерском и трансфузионном анамнезе вносят в карту иммуногематологического обследования беременной, обменную карту и в историю родов.

Г.1. При первом обращении беременных в консультацию у них исследуют группу и резус-принадлежность крови. Для исключения ошибок в определении группы крови и резус-принадлежности всем беременным повторяют исследования в 28-30 недель беременности. При несовпадении результатов первого и повторного исследования кровь направляют на исследование в централизованную лабораторию или на станцию переливания крови.

Г.2. Одновременно с определением групповой и резус-принадлежности крови проводят исследование антител к антигенам эритроцитов системы Резус и другим клинически значимым системам антигенов эритроцитов (скрининг антител). Исследование проводят независимо от резус-принадлежности крови беременной: как у лиц с резус-отрицательной, так и резус-положительной принадлежностью крови. Беременным с D-положительной принадлежностью крови, у которых антитела не выявились при первом обращении в консультацию, проводят повторное исследование в 28-30 недель.

Г.2.1. Если скрининг антител дал положительный результат, то проводят идентификацию антител. Клиническое значение в развитии ГБП имеют только IgG антитела. IgM антитела не вызывают ГБ плода и новорожденного, так как они имеют большую молекулярную массу и не проходят через плаценту. Если у беременной выявлены IgM антитела и специфичность антител направлена к

антигенам, которые могут вызывать ГБ, необходимо в последующем проводить выявление антител в динамике, так как с увеличением срока беременности, дополнительно к IgM могут выработаться IgG антитела (особенно при наличии акушерских и экстрагенитальных заболеваний у беременной).

Г.2.2. При необходимости исследуют принадлежность антител матери к субклассам IgG с использованием диагностической системы DiaMed (Швейцария). Если в сыворотке присутствуют только IgG1 антитела, то интенсивность гемолиза эритроцитов у плода и новорожденного будет зависеть от титра антител. Если присутствуют только IgG3 антитела – гемолиз не будет зависеть от титра антител.

В таблице 1 перечислены антитела к антигенам эритроцитов, вызывающие и не вызывающие развитие ГБП и ГБН.

Таблица 1

Система антигенов эритроцитов	Антитела часто вызывают ГБН	Антитела могут вызывать ГБН	Антитела не вызывают ГБН
ABO	анти-A, -B		анти-A ₁
MNS	анти-S,-s,-U	анти-M	анти-N
P			анти-P1
Резус	анти-D,-с,-С,-С ^w ,-Е,-е,-G		
Лютеран		анти-Lu ^a ,-Lu ^b	
Келл	анти-K,-k	анти-Kp ^b	
Левис			анти-Le ^a ,-Le ^b
Даффи	анти-Fy ^a	анти-Fy ^b	
Кидд		анти-Jk ^a ,-Jk ^b	

Г.3. Беременным с группой крови 0, А, В, имеющим супруга с иной группой крови, проводят выявление IgG антител системы АВ0. Для исследования используют метод с применением унитиола (Приложение 4).

Г.4. Сроки исследования антител. Исследование сывороток крови женщин на наличие антител проводят несколько раз в течение беременности. Первое исследование проводят при первичном обращении в женскую консультацию. Последующие исследования приведены на схеме 1.

Все беременные после первичного исследования на антитела распределяют на две группы: сенсibilизированные и несенсibilизированные.

Г.4.1. Сроки исследования антител у сенсibilизированных женщин зависят от специфичности выявленных антител.

Г.4.1.1. Женщинам, сенсibilизированным к антигенам эритроцитов системы Резус или имеющих клинически значимые антитела к антигенам других систем, контроль титра антител до 32 недель беременности проводят 1 раз в 4 недели. После 32 недель контроль титра проводят один раз в 2 недели.

Г.4.1.2. Контроль титра антител к антигенам эритроцитов системы АВ0 проводят при первичном обращении и в 36 недель беременности. Тяжесть ГБ плода и новорожденного, обусловленной АВ0 несовместимостью не коррели-

рует с титром, поэтому нет необходимости часто исследовать титр антител системы АВ0, как это предусмотрено для антител к антигенам эритроцитов системы Резус.

Г.4.1.3. Женщинам, у которых выявлены антитела, не имеющие клинического значения, контроль титра антител повторяют в 28-30 недель беременности, для исключения возможной выработки клинически значимых антител.

Г.4.2. Несенсибилизированные женщины распределяются на группы риска (имеющие возможность сенсибилизации при беременности) и остальных женщин, не имеющих антител. Несенсибилизированным женщинам, не входящим в группу риска, исследование антител проводят повторно в 28-32 недели.

Г.4.2.1. Женщинам, группа крови которых не совпадает с группой крови мужа, контроль титра антител проводят в 36 недель.

Г.4.2.2. Несенсибилизированным Rh (-) женщинам, имеющим Rh(+) мужа исследование антител проводят в 28 недель беременности. При наличии клинических показаний скрининг антител проводят ежемесячно.

Г.4.2.3. Несенсибилизированным женщинам, имеющим в анамнезе выкидыши и мертворождения, исследования антител повторяют в 28-30 недель.

Г.4.2.4. При появлении аллоантител в процессе наблюдения дальнейшие исследования женщине проводятся так же, как и сенсибилизированным беременным.

Г.4.3. Беременным с вариантами антигена D (например D^{VI}) исследования аллоантител проводят также как беременным с резус-отрицательной принадлежностью крови.

Г.5. По результатам исследования для каждой сенсибилизированной беременной или беременной группы повышенного риска аллоиммунизации оформляют карту иммунологического обследования (вклеивают в обменную карту беременной).

Г.6. Несенсибилизированным женщинам, имеющим резус-отрицательную принадлежность крови, вводят иммуноглобулин анти- Rh₀(D) для профилактики последующей иммунизации при условии, если отец ребенка и ребенок имеет резус-положительную принадлежность (двухкратная пре- и постнатальная профилактика). Если ребенок имеет резус-отрицательную принадлежность, постнатальная профилактика не проводится. Если пренатальная профилактика не проводилась, а ребенок имеет резус-положительную принадлежность крови, проводят однократную послеродовую профилактику.

Сроки введения и дозы препарата определяются в соответствии с инструкциями производителей. При наличии акушерских осложнений профилактика проводится по показаниям.

Исследование анти- D антител после проведения профилактики проводится отсроченно и только по клиническим показаниям. В 36-38 недель целесообразно провести у женщин, получавших иммуноглобулин анти- Rh₀(D), исследование антител к антигенам эритроцитов другой специфичности для обеспечения женщин в случае необходимости совместимыми гемотрансфузиями.

Г.7. Иммуногематологические исследования у беременных, обратившихся для искусственного прерывания беременности. Перед искусственным прерыванием беременности женщинам проводят определение: группы крови АВ0, резус-принадлежности, антител к антигенам эритроцитов. Требования к проведению исследований такие же, как и для остальных беременных. Если у женщины выявлена резус-отрицательная принадлежность крови, при этом антитела анти-D отсутствуют, а резус-принадлежность отца ребенка положительная или неизвестна, проводят профилактику сенсибилизации иммуноглобулином анти-Rh₀D сразу после искусственного прерывания беременности (не позднее 48-72 часов после прерывания беременности в зависимости от рекомендаций производителя).

Д. Иммуногематологические исследования у плода.

Проводят в специализированных стационарах.

Е. Иммуногематологическое обследование новорожденного для диагностики конфликта мать-ребенок по антигенам эритроцитов.

Е.1. Определение группы и резус-принадлежности крови новорожденного позволяет исключить или установить возможность иммунологического конфликта матери и новорожденного. Исследование группы крови проводят изогемагглютинирующими сыворотками или моноклональными антителами. Исследование резус-принадлежности крови новорожденных проводят двумя сериями реактивов анти-D. Необходимо учитывать, что новорожденные, которым проводили внутрипуповинные трансфузии Rh-отрицательных эритроцитов, могут иметь в циркуляции до 90% эритроцитов доноров. Это может приводить к ошибочному заключению о резус-принадлежности их крови (как D-отрицательной или слабоположительной).

Е.2. Прямой антиглобулиновый тест новорожденным проводят при клинических признаках ГБН, а также родившимся от сенсибилизированных женщин и женщин повышенной группы риска. Для проведения исследования целесообразно использовать моноспецифический анти-IgG реактив взамен полиспецифической антиглобулиновой сыворотки. Положительный результат теста свидетельствует о присутствии на эритроцитах новорожденного фиксированных аллоантител. Прямой антиглобулиновый тест обычно положительный при ГБН, обусловленной анти-D антителами. При ГБН, вызванной АВ0-антителами, ПАГТ может быть слабоположительным или даже отрицательным. У новорожденных, получавших внутриутробные трансфузии, не исключен слабоположительный ПАГТ.

Е.3. Выявление IgG антител к антигенам эритроцитов в сыворотке матери и новорожденного. Положительный результат свидетельствует о возможном иммунологическом конфликте мать-новорожденный по антигенам эритроцитов.

Карта иммуногематологического обследования беременных

1. Наименование учреждения, проводившего исследования
2. Ф.И.О. беременной:
3. Дата рождения:
4. Домашний адрес, тел.:
5. Какое учреждение направило на исследование:
6. Акушерский анамнез: К-во беременностей –
Кол-во выкидышей – Кол-во мертворождений –
Кол-во родов – Кол-во детей с ГБН – Аборт –
7. Трансфузионный анамнез:
Наличие трансфузий: эритроцит содержащих сред Да Нет
СЗП Да Нет
Гемолитические реакции: Да Нет
Температурные реакции: Да Нет
Негемолитические реакции: Да Нет
8. АВ0 и резус-принадлежность беременной –
9. Фенотип антигенов эритроцитов беременной –
10. Антитела к антигенам эритроцитов в сыворотке беременной:

Дата исследования	Срок беременности (недели)	Специфичность антител	Титр антител	Учреждение, проводившее исследование
1.				
2.				
3.				
4.				
5.				
6.				

11. Исследование крови отца:

АВ0 и резус-принадлежность –

Фенотип антигенов эритроцитов –

12. Исследование крови плода (при необходимости)

АВ0 и Резус-принадлежность –

ПАГТ –

13. Исследование крови новорожденного:

АВ0 и резус-принадлежность –

Прямой антиглобулиновый тест –

Специфичность антител в элюате –

Наличие ГБН: Да Нет

Заменные трансфузии: Да Нет

Е.4. Выявление IgG антител анти-А, анти-В в сыворотке крови матери при разногруппности матери и плода по системе АВ0. Положительный результат свидетельствует о возможном иммунологическом конфликте мать - новорожденный по антигенам эритроцитов системы АВ0.

Е.5. Исследование элюата, полученного с эритроцитов новорожденного, позволяет установить специфичность антител, вызвавших разрушение эритроцитов, а также подобрать эритроциты совместимого донора для заменных трансфузий.

Е.6. О степени выраженности гемолиза эритроцитов ребенка на момент рождения судят по повышенному содержанию непрямого билирубина в пуповинной крови. Почасовой прирост билирубина позволяет обосновать необходимость проведения заменных переливаний новорожденному.

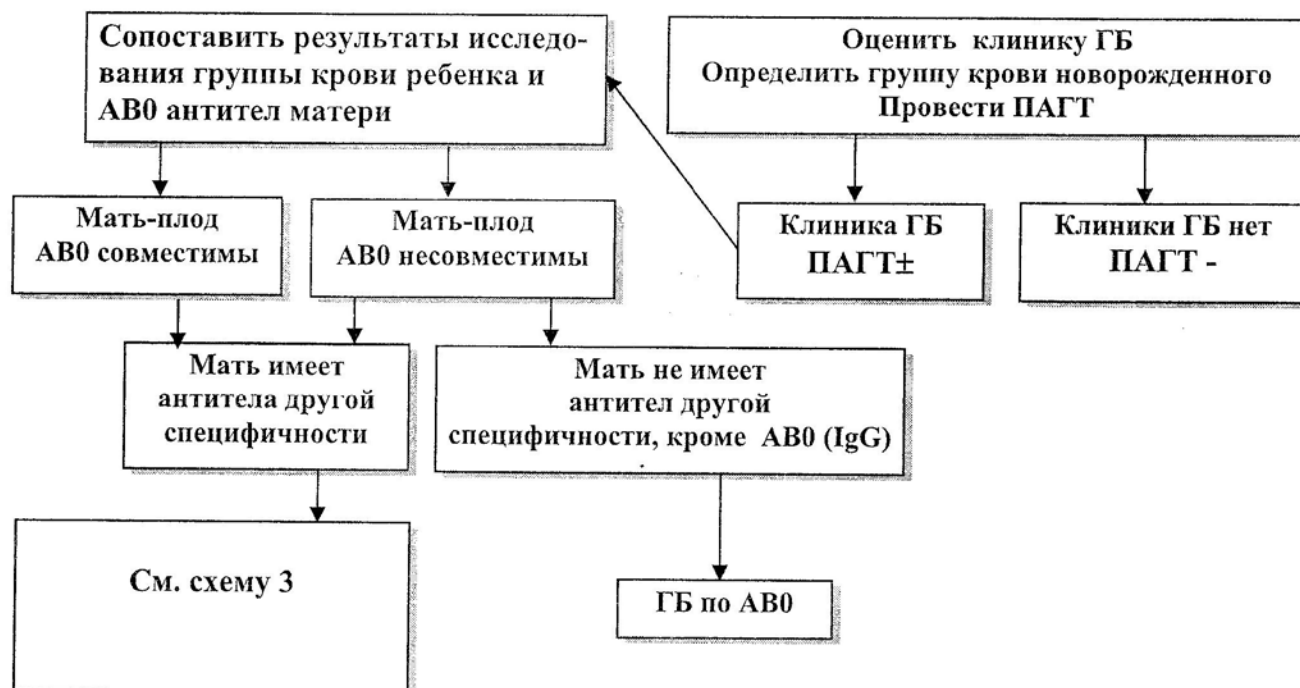
Е.7. Лабораторное подтверждение диагноза ГБН, обусловленной антителами АВ0. Необходимо доказать наличие антител, фиксированных на эритроцитах, а также установить их направленность против антигенов А/В.

Для установления диагноза ГБН, обусловленной несовместимостью по антигенам АВ0, используются следующие критерии:

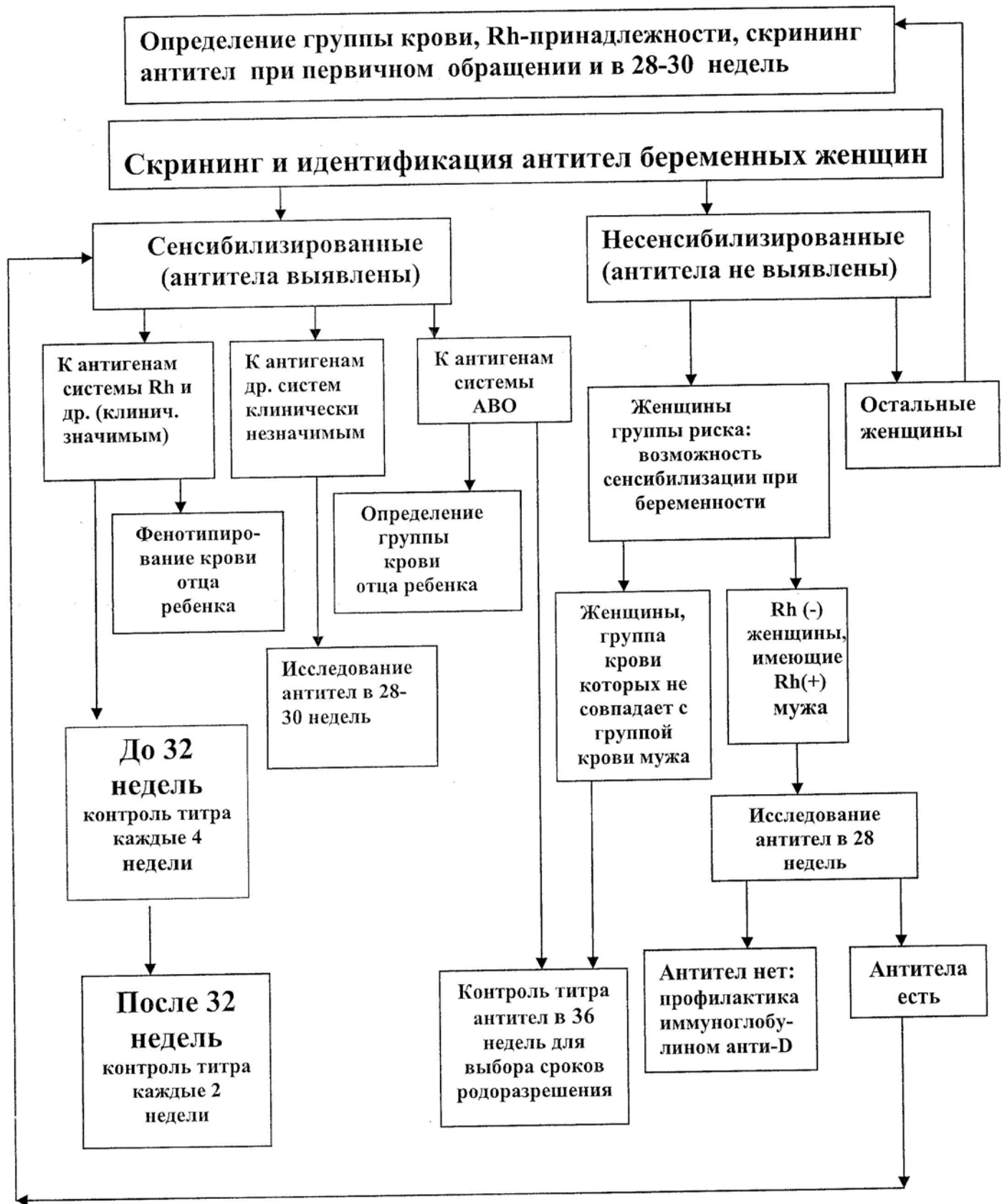
1. Наличие клинических признаков гемолитического заболевания.
2. Исследования показывают, что сыворотка матери содержит АВ0 IgG антитела, направленные против антигенов, присутствующих на эритроцитах плода или новорожденного, и не содержит антител другой специфичности (непрямой антиглобулиновый тест отрицательный).
3. Прямой антиглобулиновый тест с эритроцитами плода или новорожденного слабоположительный или отрицательный.
4. В сыворотке или элюате плода или новорожденного имеются анти-А или анти-В антитела.

Схема 2

Алгоритм установления диагноза ГБ плода/новорожденного, обусловленной АВ0 антителами



Иммуногематологические исследования у беременных

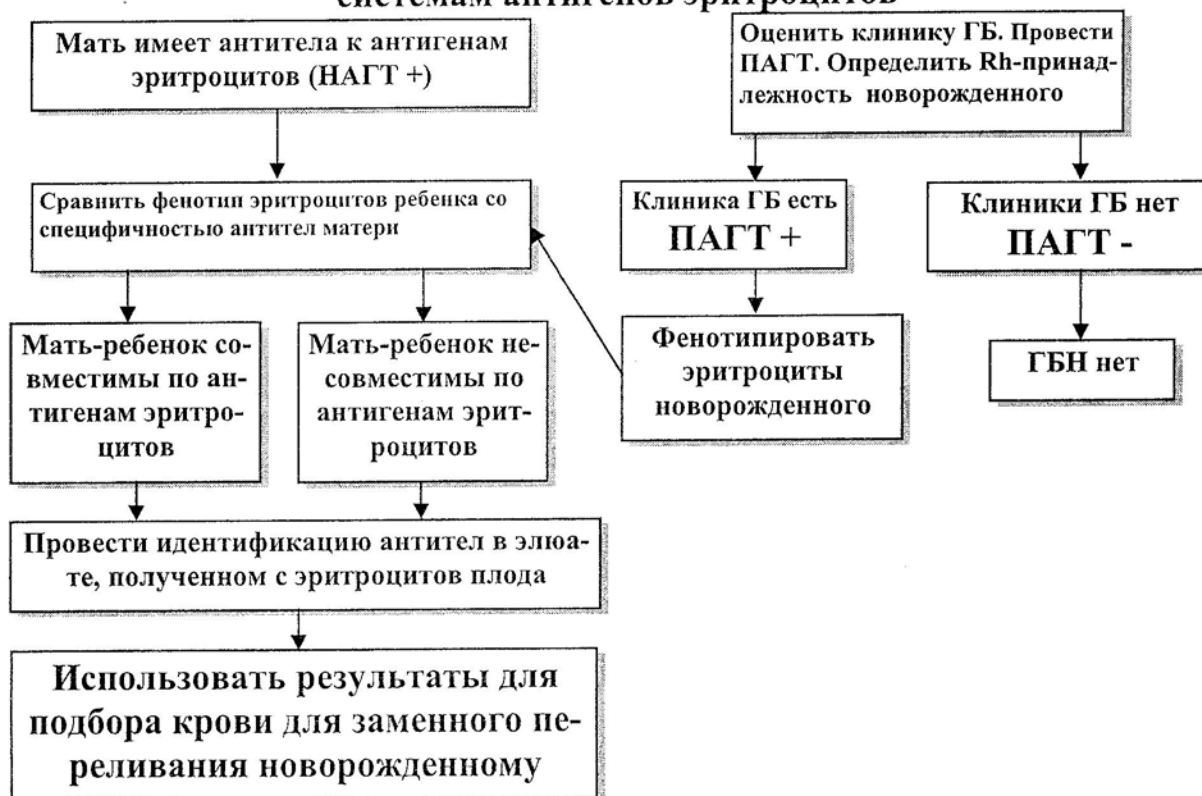


Е.8. Лабораторное подтверждение диагноза ГБН, обусловленной антителами к антигенам системы Резус и другим системам антигенов эритроцитов. Используются критерии:

1. Имеются клинические доказательства наличия заболевания у плода/новорожденного.
2. Исследования показывают, что сыворотка матери содержит аллоантитела, специфичность которых установлена.
3. Доказано, что новорожденный имеет антиген эритроцитов, против которого у матери есть антитела (по результатам фенотипирования эритроцитов).
4. Прямой антиглобулиновый тест у новорожденного положительный – аллоантитела на эритроцитах присутствуют. Результаты исследования элюата с эритроцитов новорожденного показывают, что специфичность их соответствует специфичности аллоантител матери. См.схему 3.

Схема 3

Алгоритм постановки диагноза ГБН, обусловленной антителами к антигенам эритроцитов системы Резус и другим клинически значимым системам антигенов эритроцитов



Ж. Подбор гемотрансфузионных сред новорожденному и плоду.

Ж.1. При подборе эритроцитов для заменной трансфузии исходят из того, что у плода и до 3-х месяцев жизни у новорожденного все антитела являются материнскими. Поэтому подбор совместимых компонентов крови должен производиться с учетом специфичности антител матери.

Ж.1.1. Схема подбора компонентов крови для заменных трансфузий, ко-

гда группа крови АВ0 матери и новорожденного не совпадает, приведена в приказе Минздрава России № 363 от 25.11.2002г.

Эритроцитарная масса донора не должна содержать IgG антител системы АВ0 (предпочтительнее использовать трансфузии отмывтых эритроцитов).

Ж.1.2. При несовместимости матери и ребенка по антигену D системы антигенов эритроцитов Резус переливают эритроциты группы крови 0 резус-отрицательные. Если мать и ребенок имеют одинаковую группу крови АВ0, допускаются трансфузии эритроцитов доноров одноименной группы крови резус-отрицательной принадлежности.

Ж.1.3 При несовместимости мать-плод по антигенам эритроцитов других систем, индивидуальный подбор крови доноров проводят среди образцов, не имеющих антигена, к которому найдены антитела, явившиеся причиной заболевания, с учетом АВ0 совместимости.

Ж.1.4. Эритроциты доноров для заменных трансфузий должны быть совместимы с сывороткой новорожденных.

Ж.1.5. Для заменных трансфузий используют эритроцитсодержащие среды малых сроков хранения.

Ж.1.6. При использовании для заменных трансфузий цельной консервированной крови, целесообразно предварительно удалять из нее лейкоциты лейкофильтрацией, а также применять радиационное облучение.

Ж.1.7. Возможно использование для проведения иммуногематологических исследований (скрининг и идентификация антител к антигенам эритроцитов) сыворотки новорожденного. При подозрении на ГБН одновременно исследуют элюат, полученный с эритроцитов новорожденного. Исследование антител проводят антиглобулиновым тестом.

Ж.1.8. Для внутриутробных трансфузий используют эритроциты доноров 0 резус-отрицательной принадлежности крови, не содержащие антиген К и антигены к которым у матери имеются антитела.

3. Подбор гемотрансфузионных сред для трансфузий сенсibilизированным женщинам.

Для трансфузий подбираются АВ0 совместимые эритроциты доноров, не имеющих антигены, соответствующие специфичности антителам женщины. Подбор крови проводится в лаборатории с использованием антиглобулинового теста.

Перечень документов:

1. Приказ МЗ РФ № 2 от 09.01.98. «Об утверждении инструкций по иммуносерологии».
2. Приказ Минздрава РФ №363 от 25 ноября 2002г. «Об утверждении Инструкции по применению компонентов крови».
3. Приказ МЗ РФ №50 от 10.02.2003 «О совершенствовании акушерско-гинекологической помощи в амбулаторно-поликлинических учреждениях».
4. Методические рекомендации МЗ РФ № 99/181. Утв. 17.05.2000г. «Алгоритмы исследования антигенов эритроцитов и антиэритроцитарных антител в сложнодиагностируемых случаях»
5. Методические указания МЗ РФ № 2001/109, утв.11.04.2002. «Требования к проведению иммуногематологических исследований доноров и реципиентов на СПК и в ЛПУ».

Приложение 1

Перечень иммуногематологических исследований и документации

Тип ЛПУ	Перечень исследований	Документы учреждения	Документирование результатов исследования	Ответы о результатах исследования
Женская консультация	<p>Определение группы крови АВО, резус-принадлежности. Исследование наличия антител к антигенам эритроцитов.</p>	<p>1. Обменная карта беременной. 2. Карта иммуногематологического обследования беременных (для женщин с антителами и лиц группы риска сенсбилизации) - вклеивается в обменную карту беременной. 3. Журнал регистрации иммуногематологических исследований.</p>		<p>1. Бланк ответа о результатах исследования группы крови АВО, резус-принадлежности, антител. Выписывается в двух экземплярах: - вклеивается в карту беременной; - хранится у женщины пожизненно. 2. Справка о сенсбилизации к антигенам эритроцитов – хранится у женщины пожизненно, предьявляется при каждой госпитализации.</p>
Родовспомогательное учреждение	<p>Определение группы крови АВО, резус-принадлежности. Исследование наличия антител к антигенам эритроцитов. Прямая проба Кумбса. Исследование аллоантител в элюате. Подбор крови для трансфузий женщинам, новорожденным, плодам. Постановка проб на совместимость перед гемотрансфузией.</p>	<p>1. История родов. 2. Карта новорожденного. 3. Журнал регистрации иммуногематологических исследований. 4. Журнал проведения индивидуального подбора крови. 5. Журнал проведения проб на совместимость перед трансфузией.</p>		<p>1. Бланк ответа о результатах исследования группы крови АВО, резус-принадлежности, антител. Вклеивается в историю родов. 2. Бланк ответа о результатах исследования крови новорожденного - вклеивается в историю развития новорожденного. 3. Справка о сенсбилизации к антигенам эритроцитов (если антитела не были выявлены ранее).</p>

<p>Стационар взрослый или детский</p>	<p>Определение группы крови АВО, резус-принадлежности. Исследование наличия антител к антигенам эритроцитов. Прямая проба Кумбса новорожденным. Подбор крови для трансфузий женщинам и новорожденным. Постановка проб на совместимость перед гемотрансфузией.</p>	<p>1. История болезни. 2. Амбулаторная карта больного 3. Журнал регистрации иммуногематологических исследований. 4. Журнал проведения индивидуального подбора крови. 5. Журнал проведения проб на совместимость перед гемотрансфузией.</p>	<p>1. Бланк ответа о результатах исследования группы крови АВО, резус-принадлежности, антител. Вклеивается в историю болезни или амбулаторную карту больного. 2. Ответ о результатах индивидуального подбора крови. Вклеивается в историю болезни или амбулаторную карту больного. 3. Справка о сенсибилизации к антигенам эритроцитов</p>
<p>Централизованная лаборатория</p>	<p>Определение группы крови АВО, резус-принадлежности. Определение антител к антигенам эритроцитов. Определение специфичности антител. Исследование антител в динамике наблюдения. Подбор крови донора, совместимого с антителами реципиента по антигенам эритроцитов. Исследование крови отца.</p>	<p>1. Журнал регистрации крови, поступившей на исследование. 2. Журнал регистрации иммуногематологических исследований. 3. Журнал проведения индивидуального подбора крови.</p>	<p>1. Бланк ответа о результатах исследования группы крови АВО, резус-принадлежности, антител. Выписывается в двух экземплярах: -вклеивается в обменную карту беременной, -выдается на руки беременной. 2. Справка о сенсибилизации к антигенам эритроцитов – хранится у женщины пожизненно, предъявляется при каждой госпитализации. 3. Ответ о результатах индивидуального подбора крови. Вклеивается в историю болезни или амбулаторную карту больного.</p>

ЖУРНАЛ

регистрации результатов иммуногематологических исследований
у беременных женщин

Начат “ ” 20 г.

Окончен “ ” 20 г.

1. Заполняется лицом, выполняющим исследование.
2. В реквизиты вписываются результаты реакций, которые оцениваются по выраженности (в плюсах).
3. Страницы журнала должны быть пронумерованы, прошнурованы и скреплены печатью и подписью главного врача.

№ Дата	Общие сведения					Определение группы крови, резус-принадлежности в лаборатории											Заключение о группе крови и резус- принадлежности (примечания)
	Фамилия, имя, отчество	Отделение (кто направил)	№ истории болезни	Группа крови первич.	Реактивы (Циклопы или сыворотки)	Стандартные эритроциты											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16		
					Анти-А серия	Анти-В серия	Анти-АВ серия	Контроль АВ или NaCl	Анти-Д серия	Анти-Д- серия	Контроль серия	О Серия	А Серия	В Серия			

Типирование антигенов с реактивами	Выявление антиэритроцитарных антител с тест-эритроцитами										Ауто- антитела		Заключение, рекомендации	ФИО, подпись проводившего исслед.	
	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Прямая проба Кумбса	Специфичность антител в элюате			
Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Заклю- чение о титре и специфичности антител				
Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Результаты идентификации антител (указать с какими эритроцитами)				
Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	ccdeeK+серия				
Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	CCDee K-серия				
Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	сDDEEK-серия				
Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	В серия				
Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	А серия				
Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	Анти-серия	ЗаклЮчение о фенотипе				

Наименование учреждения

НАПРАВЛЕНИЕ
на иммуногематологические исследования

Отделение _____

№ истории болезни _____

Фамилия, имя, отчество (полностью) _____

Дата и год рождения _____

Диагноз _____

Группа крови _____

Предыдущие трансфузии, беременности, аборт (подчеркнуть)

ФИО и подпись врача _____

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ В ЛАБОРАТОРИИ

Наименование лаборатории

Регистрационный № исследования _____

Группа крови _____ Резус-принадлежность _____

Фенотип антигенов эритроцитов _____

Аллоантитела к антигенам эритроцитов _____

Аутоантитела к антигенам эритроцитов _____

Примечания _____

Врач, проводивший исследование

ФИО, подпись

Дата

Министерство здравоохранения и социального развития
Российской Федерации

(город и название учреждения, исследовавшего кровь)

СПРАВКА

Фамилия, имя, отчество _____

Группа крови _____ Резус-принадлежность _____

Фенотип антигенов эритроцитов _____

Выявлены антиэритроцитные антитела: анти-

При необходимости трансфузий компонентов крови обязателен индивидуальный подбор донора совместимого по антигенам эритроцитов.

Фамилия, имя, отчество врача _____

телефон _____

дата _____

печать

Формат А5

---линия отрыва

Министерство здравоохранения и социального развития
Российской Федерации

(город и название учреждения, исследовавшего кровь)

СПРАВКА

Фамилия, имя, отчество _____

Группа крови _____ Резус-принадлежность _____

Фенотип антигенов эритроцитов _____

Выявлены антиэритроцитные антитела: анти-

При необходимости трансфузий компонентов крови _____
обязателен индивидуальный подбор донора совместимого по антигенам эритроцитов.

Фамилия, имя, отчество врача _____

телефон _____ Дата _____ печать _____

Выявление иммунных (IgG) анти-А, анти-В антител
с использованием унитиола

НАЗНАЧЕНИЕ МЕТОДА

Определение IgG антител к антигенам эритроцитов системы АВ0 проводится при иммуногематологическом обследовании доноров, беременных, новорожденных с признаками гемолитической болезни, а также при исследовании причин гемотрансфузионных осложнений гемолитического типа.

ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДА

Выявление IgG антител к антигенам эритроцитов системы АВ0 затруднено из-за одновременного присутствия в сыворотке естественных изогемагглютининов, относящихся к классу IgM. В данном методе иммунные IgG анти-А, анти-В антитела выявляются после полного разрушения унитиолом естественных IgM анти-А, анти-В антител.

Для инактивации IgM используют 5% раствор унитиола (2,3-димеркаптопропансульфоната Na), разрушающий дисульфидные связи в молекулах иммуноглобулинов М. Выявление IgG анти-А, анти-В затем проводится в антиглобулиновом тесте с эритроцитами А и В.*

Метод пригоден для дифференциальной диагностики IgG и IgM антител к антигенам эритроцитов любой специфичности в сыворотке крови человека, а также моноклональных антителах.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При проведении исследования необходимо надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАКТИВЫ

- 5% раствор унитиола,
- моноклональные антитела анти-D супер IgM,
- стандартные эритроциты групп крови А, В, а также эритроциты 0 резус-положительной принадлежности,
- раствор натрия хлорида 0,9%,
- термостат лабораторный на +37⁰С,
- пробирки вместимостью 5-10 мл,
- пипетки,
- таймер,
- перчатки резиновые хирургические.

* При выявлении IgG анти-А, анти-В у доноров допускается проводить исследование на плоскости без подогрева.

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

Техника реакции

1. В сухой чистой пробирке смешать равные объемы испытуемой сыворотки и 5% раствора унитиола - **опыт**.
2. Во второй пробирке смешать равные объемы моноклональных антител анти-D супер IgM и 5% раствора унитиола - **контроль**.
3. Все пробы инкубировать в термостате при $+37^{\circ}\text{C}$ в течение 30 мин.
4. Сыворотки после обработки раствором унитиола исследуют с эритроцитами А и/или В в непрямом антиглобулиновом или в гелевом тесте с анти-IgG реактивом. Контроль испытывают с эритроцитами группы крови 0 резус-положительной принадлежности.

Интерпретация результатов

Сыворотки, сохранившие способность агглютинировать эритроциты групп А и/или В после инкубации с раствором унитиола, содержат IgG анти-А или анти-В антитела - **положительный результат**.

Сыворотки, утратившие способность агглютинировать эритроциты групп А и/или В после инкубации с раствором унитиола, не содержат IgG анти-А или анти-В антител - **отрицательный результат**.

Результат в контрольной пробе должен быть всегда отрицательным, что свидетельствует о разрушении антител класса IgM в моноклональных антителах анти-D и эффективности действия унитиола.

Для установления титра IgG антител производят последовательное разведение сывороток, обработанных унитиолом. За титр принимают величину наибольшего разведения, в котором отчетливо видна агглютинация со стандартными эритроцитами групп А и/или В.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Срок хранения вскрытой ампулы 5% раствора унитиола (2,3-димеркаптопропансульфоната натрия) не должен превышать 5 дней при хранении в холодильнике ($+4 - 8^{\circ}\text{C}$).

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению.