

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН  
НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЦЕНТР  
ТРАНСФУЗИОЛОГИИ

С.А. Абдрахманова, Д.М. Имашпаев, Ш.Д. Мусабекова,  
Н.А. Тарасова

**ОРГАНИЗАЦИЯ И ПРОВЕДЕНИЕ  
ИММУНОСЕРОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ  
БЕРЕМЕННЫХ И НОВОРОЖДЕННЫХ**

Методические рекомендации

Методические рекомендации по организации и проведению иммunoсерологических исследований беременных и новорожденных разработаны в соответствии с нормативно-правовыми актами в области здравоохранения, а также с учетом научных данных по проблеме, опыта практической работы и рекомендаций международных организаций.

Рекомендации направлены на повышение качества и безопасности медицинской помощи, основанной на иммunoсерологических методах диагностики и лечения, что способствует снижению риска для здоровья матери и новорожденного.

Рекомендации распространяются на медицинские учреждения, осуществляющие диагностику и лечение в соответствии с установленными стандартами и правилами.

Рекомендации включают в себя:

- Общие принципы организации и проведения иммunoсерологических исследований;
- Методы диагностики и терапии, используемые в практике медицины;
- Правила выполнения иммunoсерологических исследований;
- Меры по обеспечению безопасности пациентов;
- Меры по предотвращению ошибок и неправильных результатов.

Нур-Султан  
2019

**УДК 618**  
**ББК 57.16**  
**О64**

Абдрахманова С.А., Имашпаев Д.М., Мусабекова Ш.Ж., Тарасова Н.А.  
Организация и проведение иммуносерологических исследований беременных и  
новорожденных. Методические рекомендации/НПЦТ., - Нур-Султан, 2019, 26 с.

**ISBN 978-601-7606-02-2**

**Авторы:**

- Абдрахманова С.А. - кандидат медицинских наук, директор РГП на ПХВ «Научно-производственный центр трансфузиологии»  
Имашпаев Д.М. - магистр общественного здравоохранения, первый заместитель директора РГП на ПХВ «Научно-производственный центр трансфузиологии»  
Мусабекова Ш.Д. - Заместитель директора по медицинской части РГП на ПХВ «Научно-производственный центр трансфузиологии»  
Тарасова Н.А. - Руководитель Управления контроля качества и работы с регионами РГП на ПХВ «Научно-производственный центр трансфузиологии»

**Рецензенты:**

- Тургамбаева А.К. - кандидат медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общественного здравоохранения НАО «Медицинский университет Астана»  
Ибраева Ж.Н. - кандидат медицинских наук, врач-гинеколог отдела гинекологии Департамента женского здоровья РДЦ КФ «University Medical Center»

Настоящие методические рекомендации описывают общие требования к организации иммуносерологических исследований беременных и новорожденных, требования к лабораториям и подготовке персонала, выполняющего забор образцов крови.

Методические рекомендации предназначены для специалистов службы крови, врачей и иных специалистов, занимающихся вопросами планирования семьи, ведения беременности, родовспоможения.

Утверждено и разрешено к изданию типографическим способом РГП «Республиканский центр развития здравоохранения» (Заключение научно-медицинской экспертизы № 194 от 09 декабря 2019 года)

**Содержание**

Перечень сокращений.....	4
Введение.....	5
1 Общие требования к организации иммуносерологических исследований крови беременных и новорожденных.....	6
1.1 Требования к персоналу, выполняющему забор образцов крови или лабораторные исследования .....	6
1.2 Требования к забору образцов, маркировке и хранению.....	7
2. Этапы иммуносерологических исследований.....	7
3. Порядок иммуносерологических исследований и интерпретация результатов.....	8
4. Алгоритм иммуносерологических исследований.....	11
5. Выявление факторов риска и контроль состояния аллоиммунизации.....	12
6. Иммуносерологическое обследование новорожденных....	15
7. Лабораторное подтверждение диагноза ГБН, обусловленной иммунологическим конфликтом по системе АВО.....	17
8. Лабораторное подтверждение диагноза ГБН, обусловленной иммунологическим конфликтом по системе Резус и другим групповым системам.....	17
9. Подбор эритроцит с содержащих гемотрансфузионных сред.....	18
9.1 Подбор гемотрансфузионных сред новорожденному.....	18
9.2 Подбор гемотрансфузионных сред для трансфузий сенсибилизованным женщинам.....	19
Заключение .....	20
Список использованных источников .....	21
Список рекомендуемой литературы .....	23
Приложение 1 - Алгоритм иммуногематологических исследований беременных.....	24
Приложение 2 - Алгоритм установления диагноза ГБ плода/новорожденного, обусловленной АВО антителами.....	25
Приложение 3- Алгоритма постановки диагноза ГБН, обусловленной антителами к антигенам эритроцитов системы Резус.....	26

## Перечень сокращений

НАГТ	- Непрямой антиглобулиновый тест
АГТ	- Антиглобулиновый тест
ГБН	- Гемолитическая болезнь новорожденного
ГБП	- Гемолитическая болезнь плода
D partial	- Частичный (парциальный, вариантный) антитела D. D partial - отличается от антитела D отсутствием одного или нескольких из известных 36-ти эпигенов
РНИС	- Раствор низкой ионной силы
Агглютинация	- (Agglutinatio-лат.) - приклеивание, склеивание и выпадение в осадок из однородной взвеси эритроцитов и др. клеток, несущих антигены, под действием специфических веществ - агглютининов
Аликвотирование	- Аликвота (aliquot) - точно измеренная кратная часть образца раствора, взятая для анализа

## Введение

Обеспечение иммунологической безопасности является приоритетным направлением развития клинической трансфузиологии, требующей разработки новых подходов, учитывающих иммуногематологические параметры донора и реципиента и позволяющих предотвращать как посттрансфузионные осложнения, так и алло иммунизацию больных [1,2].

Около 85% людей имеют резус-положительный фактор крови, т.е. содержанием резус-фактор белка, находящиеся на поверхности эритроцитов. Его наличие наследуется генетически. У небольшой части популяции этот белок отсутствует и, называется резус-отрицательной [3].

Вопросы аутосенсибилизации, приводящие к развитию самостоятельного заболевания или сопровождающей другие патологии, являются предметом исследования ученых мира [Масчан А.Г., 2010; Птушкин В.В., 2011; Neunert C., 2011; Hoffman R., 2017] [4-6].

Наиболее распространёнными в природе являются группоспецифические вещества ABO, реже - Lewis, MNS, Kell. В связи с этим довольно часто выявляются полные или неполные спонтанные антитела анти-A, анти-B, анти-Le<sub>a</sub>, анти-Le<sub>b</sub>, анти-Le<sub>y</sub>, анти-M, анти-N, анти-S и анти-K. Они не являются по своему происхождению алло иммунными в прямом смысле, так как образовались в ответ не на аллоантитела, а на гетероантитела подобной специфичности [7-10].

Адекватные профилактика и лечение данных патологических состояний невозможны без своевременной диагностики иммуноконфликта матери и плода, установления специфичности и титра аллоантител. Известно, что клиническое значение в развитии гемолитических осложнений имеют антитела матери, принадлежащие к классу IgG. Антитела данного класса имеют 4 подтипа, легко проникающие через плацентарный барьер [11-12]. Несмотря на достижения в перинатальной диагностике, профилактике и лечении гемолитической болезни, связанной с изоиммунизацией матери, полностью предупредить заболеваемость, смертность или инвалидизацию детей не удается [13-14].

Вопросы гемотрансфузий актуальны во многих областях медицины.

Проведение иммуносерологических исследований беременных и новорожденных регламентированы нормативно-правовыми актами в деятельности службы крови Республики Казахстан [15-16]. Министерством здравоохранения республики утверждены клинические протоколы диагностики и лечения гемолитической болезни плода и новорожденного на амбулаторном и стационарном уровнях.

Проведение иммуносерологических исследований в соответствии с изложенными требованиями позволит обеспечить достоверность диагностики иммунологических конфликтов мать - плод, диагностику гемолитической болезни новорожденных.

## **1. Общие требования к организации иммуносерологических исследований беременных и новорожденных**

1. Иммуносерологические исследования крови беременных, рожениц, плода и новорожденных проводятся в:

1) лабораториях кабинетов (отделений) трансфузиологии и/или в клинико-диагностических лабораториях медицинских организаций, оказывающих амбулаторно-поликлиническую или стационарную медицинскую помощь;

2) специализированных лабораториях организаций здравоохранения, осуществляющих деятельность в сфере службы крови.

В лабораториях кабинетов (отделений) трансфузиологии и/или клинико-диагностических лабораториях медицинских организаций проводятся подтверждающие исследования групп крови, фенотипирование по клинически значимым антигенам эритроцитов, скрининг нерегулярных антиэритроцитарных алло антител.

В специализированных лабораториях организаций службы крови проводятся консультативные исследования сложных групп крови, фенотипирование, скрининг нерегулярных антиэритроцитарных алло антител и их идентификация (установление специфичности).

2. Для обеспечения качества и достоверности результатов иммуносерологических исследований в лаборатории организуется и поддерживается система контроля качества методов тестирования, включающая:

- входной контроль типирующих реагентов в тех же методах, в которых они будут применяться в дальнейшем;
- постоянное ежедневное или внутри тестовое использование контрольных реагентов;
- участие в программах проверки квалификации.

### **1.1 Требования к персоналу, выполняющему забор образцов крови или лабораторные исследования**

Медицинский персонал, осуществляющий забор, транспортировку, хранение образцов крови, инструктируется по вопросам иммуносерологии и требованиям лаборатории, выполняющей исследование к биологическому материалу, условиям его забора, хранения и транспортировки. Для проведения первого исследования групповой и резус принадлежности допускаются специалисты со средним специальным медицинским образованием [17].

К проведению централизованных подтверждающих исследований АВ0 и резус-принадлежности крови, а также исследования наличия алло антител допускаются врачи, имеющие подготовку по вопросам иммуносерологии.

Подготовка специалистов по вопросам подтверждающих исследований АВ0 и резус-принадлежности крови, а также исследования наличия алло

антител проводится на рабочем месте и (или) на специализированных циклах постдипломного образования.

### **1.2 Требования к забору образцов, маркировке и хранению**

Для проведения иммуносерологического исследования исследуется венозная кровь в объеме 8-10 мл в пробирку с антикоагулянтом или без него. Пробирки с образцом крови маркируются с применением установленного идентификатора. Идентификатор содержит персональные данные: фамилия, имя, отчество, число, месяц и год рождения, дата взятия крови и наименование медицинской организации и (или) отделения. Одновременно с маркировкой оформляется направление на исследование, которое заверяется разборчивой подписью врача [17].

**Важно:** В направлении указывается перечень заданий (определение группы крови по АВО и резус принадлежности, фенотипа, скрининг нерегулярных антиэритроцитарных антител и т.д.).

Доставка образца крови из пункта забора крови в лабораторию, а также хранение образца, который не может быть протестирован сразу, осуществляется в соответствии с условиями, установленными лабораторией с учетом используемого метода исследования.

Все исследуемые образцы крови рассматриваются как потенциально инфицированные.

## **2. Этапы иммуносерологических исследований**

Выделяют несколько этапов иммуносерологических исследований [18]:

1. Преаналитический этап;
2. Аналитический этап.

На преаналитическом этапе проводятся внелабораторные и внутрилабораторные процедуры.

### **1) Внелабораторные процедуры:**

- а) назначение исследования лечащим (дежурным) врачом;
- б) оформление бланка-направления для пациентов;
- в) подготовка пациента к исследованию;
- г) идентификация пациента;
- д) процедуры взятия и маркировки образца крови для исследования;
- е) первичное определение групповой (по системе АВО) и резус (D) принадлежности образца крови (если применяется);
- ж) запись результатов первичного определения АВО/Rh в бланке-направлении с подписью врача (если применяется);

3) хранение материала в отделении и его доставка в лабораторию в соответствии с условиями, установленными лабораторий в которой проводится окончательное исследование.

## **2) Внутрилабораторные процедуры:**

- а) регистрация и маркировка доставленного в лабораторию образца крови;
- б) пробоподготовка образца крови (центрифугирование, аликовтирование и маркировка, доставка биоматериала на рабочие места);
- в) хранение пробы с материалом до исследования (при необходимости) в течение до 72 часов при температуре +2° - +8°C.
- г) к исследованию допускаются образцы, не имеющие признаков видимого гемолиза.

На аналитическом этапе иммуносерологические исследования маркеров групп крови выполняются методами, основанными на реакции взаимодействия одноименных антигенов и антител и включают исследование антигенных свойств эритроцитов, ауто – и/или алло- антиэритроцитарных антител, в том числе при проверке индивидуальной совместимости крови реципиента и донора.

Иммуносерологические исследования проводятся с использованием оборудования и реагентов, зарегистрированных и разрешенных к применению на территории Республики Казахстан в соответствии с инструкцией производителя.

### **3. Порядок иммуносерологических исследований и интерпретация результатов**

Исследование групповой принадлежности крови по системе АВО проводится в два этапа [4,16,17,18,19]:

- 1) первичное определение группы крови;
- 2) подтверждающее с использованием техники на плоскости или микро колоночной агглютинации, сериями реагентов отличных от используемых на разных этапах.

Исследование проводится реагентами, содержащими моноклональные антитела анти-А, анти-В, анти AB и панели стандартных эритроцитов A, B, O.

Для исключения ложноположительных или ложноотрицательных результатов используют контрольные образцы с известными групповыми маркерами.

Первичное определение группы крови проводится во время забора крови прямой реакцией (исследование наличия антигенов).

Подтверждающее исследование группы крови по системе АВО проводится перекрестным способом (выявление антигенов и естественных антител), с использованием реагентов, содержащих моноклональные антитела анти-А, анти-В, анти AB и панели стандартных эритроцитов A, B, O.

Групповая принадлежность человека обозначается по антигену присутствующему на эритроцитах - О, А, В, AB. Заключение о групповой принадлежности выносится на основании сравнения результатов первичного и подтверждающего тестов.

**Важно:** При несовпадении результатов исследований проводится повторный забор крови, для исключения перепутывания пробирок, исследование повторяется.

Резус-принадлежность крови определяется по наличию (резус-положительная принадлежность) или отсутствию (резус-отрицательная принадлежность) антигена D системы Резус.

Исследование проводится с использованием реагента «анти-D супер», содержащим антитела класса иммуноглобулинов M, с использованием техники на плоскости или микро колоночной агглютинации.

**Важно:** Для исключения ложноположительных или ложноотрицательных результатов используют образцы крови группы О резус-положительные и резус-отрицательные.

Реагентом, содержащим антитела класса иммуноглобулинов M, не выявляются варианты формы антигена D (например, D<sup>vI</sup>), а также некоторые образцы D слабого антигена.

**Важно:** В трудно диагностируемых случаях определения резус-принадлежности крови, а также при расхождении результатов разных методов исследования, проводится посредством НАГТ с сывороткой с IgG анти-D. Антиген D слабый обычно хорошо выявляется в НАГТ (характер реакции агглютинации от 1+ до 3+).

Диагностика D partial антигена проводится в образцах крови, показавших отрицательный результат с реагентом «анти-D супер». Исследование проводится с использованием реагента с IgG анти-D.

#### **Примечание:**

Если специальная диагностика по установлению наличия слабых и вариантов форм антигенов не проводится, применяется, принятное во всем мире, понятие: выявленный слабый антиген считается формой Du, при этом:

- 1) донор с наличием в фенотипе антигена Du считается резус – положительным;
- 2) реципиент с наличием в фенотипе антигена Du считается резус – отрицательным.

Фенотип-антителы присутствующие или отсутствующие на эритроцитах. Фенотип определяются по взаимодействию исследуемых эритроцитов с антисыворотками. При установлении фенотипа исследуются антигены не менее 3 групповых систем человека. Как правило это групповые системы - АВО, Резус, Келл, при этом исследуется наличие /отсутствие антигенов A, B, D, C, c, E, e, K. Исследование неполных антиэритроцитарных алло антител проводится в два этапа вне зависимости от групповой и резус-принадлежности крови:

- а) скрининг (поиск);
- б) при обнаружении антител проводится идентификация (определение специфичности).

Все реакции с применением усилителей реакции являются неспецифическими, считаются недостоверными и не обладающими достаточной чувствительностью. Кроме этого, в части случаев, при очень

высокой степени иммунизации организма, наблюдается феномен зоны, связанный с содержанием большого количества антител, которые сплошь покрывают эритроциты и препятствуют их агглютинации. Такая сыворотка, будучи взятой неразведенной или в небольшом разведении (1:2) может не дать или дать очень слабую положительную реакцию при исследовании с резус - положительными эритроцитами.

При разведении сыворотки, чаще 1:8-1:16, а иногда и более, количество антител снижается, и они становятся более активными и дают более выраженную положительную реакцию.

Достоверным методом большинства клинически значимых неполных алло антител является АГТ.

АГТ - специфический тест, основанный на взаимодействии антител против иммуноглобулинов человека. Метод является предпочтительным для выявления большинства разновидностей клинически значимых неполных антител.

В случае использованные методы, включая АГТ, не выявляют в сыворотке антител, а в анамнезе есть указание на сенсибилизацию, то для исключения феномена зоны требуется проведение исследования сыворотки, взятой в разведениях. Если при исследовании в каких-то разведениях выявляется положительная реакция, то наличие антител считается доказанным.

При скрининге антител используются три образца эритроцитов группы 0 с фенотипами: *ccDEEK<sup>-</sup>*, *CCDeeK<sup>-</sup>*, *ccdeeK<sup>+</sup>*, которые, также, должны содержать антигены *Fy<sup>a</sup>*, *Fy<sup>b</sup>*, *Jk<sup>a</sup>*, *Jk<sup>b</sup>*, *S*, *s* (желательно в гомозиготном варианте).

Клиническое значение выявленных антиэритроцитарных алло антител устанавливается в соответствии с таблицей 1.

**Таблица 1 - Антитела к антигенам эритроцитов, вызывающие и не вызывающие развитие гемолитическую болезнь новорожденного**

Система антигенов эритроцитов	Антитела часто вызывают ГБН	Антитела могут вызывать ГБН	Антитела не вызывают ГБН
ABO	анти-А, -В		анти- <i>A<sub>I</sub></i>
MNS	анти- <i>S</i> , - <i>s</i> , - <i>U</i>	анти- <i>M</i>	анти- <i>N</i>
P			анти- <i>P1</i>
Резус	анти- <i>D</i> , - <i>c</i> , - <i>C</i> , - <i>C<sup>w</sup></i> , - <i>E</i> , - <i>e</i> , -		
Лютеран		анти- <i>Lu<sup>a</sup></i> , - <i>Lu<sup>b</sup></i>	
Келл	анти- <i>K</i> , - <i>k</i>	анти- <i>Kp<sup>b</sup></i>	
Левис			анти- <i>Le<sup>a</sup></i> , - <i>Le<sup>b</sup></i>
Дафи	анти- <i>Fy<sup>a</sup></i>	анти- <i>Fy<sup>b</sup></i>	
Кидд		анти- <i>Jk<sup>a</sup></i> , - <i>Jk<sup>b</sup></i>	

Идентификация, т.е. определение специфичности, выявленных антиэритроцитарных алло антител, выполняется с использованием панелей эритроцитов, включающих от 10 до 20 образцов.

Панель стандартных эритроцитов составляется из такого сочетания фенотипов, которое позволяет определить специфичность основных клинически значимых антител: моноспецифических и полиспецифических анти-*D*, -*C*, -*c*, -*E*, -*e*, -*K*, -*k*, -*Fy<sup>a</sup>*, -*Fy<sup>b</sup>*, -*Jk<sup>a</sup>*, -*Jk<sup>b</sup>*, -*S*, -*s*, -*M*.

**Важно:** С целью контроля состояния аллоиммунизации проводится определение титра антирезусных антител.

Титр антител соответствует наибольшему разведению сыворотки, при котором она еще способна агглютинировать резус-положительные эритроциты.

Для повторных исследований, которые целесообразно проводить в одной лаборатории одним и тем же методом, сыворотка крови сохраняется в консервированном виде с применением 0,1% раствора азота натрия или в замороженном состоянии при -10°-20°C.

Вновь взятые и ранее заготовленные образцы сыворотки исследуются одновременно, что позволяет с большей степенью достоверности судить о динамике титра антител.

#### 4. Алгоритм иммunoсерологических исследований

Объем и сроки иммunoсерологических исследований при планировании и во время беременности представлен в Приложении 1.

Во время беременности имеется предпосылка к ослаблению активности антигенов АBO и Резус, при этом снижение экспрессии напрямую связано со сроком беременности, поэтому исследование групповой и резус принадлежности проводится дважды [20-24].

Первое исследование группы крови по системе АBO проводится на ранних сроках беременности в период с 16-й по 20-ю неделю.

Второе исследование в период 28-30 недель беременности.

Если результаты первого и второго исследований группы крови по системе АBO не совпадают, проводится консультативное исследование в специализированной лаборатории организации службы крови.

Дополнительно проводится диагностика D partial антигена для решения вопроса о необходимости проведения профилактической иммунизации женщины.

На исследование направляются образцы крови беременных, а также плодов/новорожденных, показавших отрицательный результат с реагентом «анти-D супер», которые дополнительно тестируются с использованием реактива с IgG анти-*D*.

В случае выявления у беременной женщины вариантной формы D антигена, то резус-принадлежность считается отрицательной, поскольку при беременности резус-положительным плодом могут вырабатываться анти-*D*

антитела, однако факт наличия антигена D в фенотипе является противопоказанием к проведению иммунопрофилактики.

Аналогичный подход к определению резус принадлежности сохраняется и в отношении новорожденных. Если на эритроцитах новорожденного выявляется вариантная форма антигена D, он считается резус отрицательным реципиентом, при этом, если у его матери выявляется резус отрицательная принадлежность крови, то при отсутствии анти - резус антител, ей проводится иммунопрофилактика анти-резус иммуноглобулином.

Беременные, имеющие в фенотипе антиген Du, имеют риск возникновения аллоиммунизации, поэтому наблюдаются как резус отрицательные, при этом иммунопрофилактика резус конфликта им не проводится.

Новорожденный, имеющий в фенотипе вариантную форму антигена Du, считается резус отрицательным реципиентом, при этом, его мать с резус-отрицательной принадлежностью и отсутствием антирезус антител, подвергается иммунопрофилактике резус конфликта.

## 5. Выявление факторов риска и контроль состояния аллоиммунизации

Выявление факторов риска по ГБ и контроль состояния аллоиммунизации осуществляется при первичном обращении для постановки на учет.

Для каждой сенсибилизированной беременной или беременной из группы повышенного риска аллоиммунизации оформляется карта иммунологического обследования, которая вклеивается в обменную карту беременной.

При сборе акушерского и трансфузионного анамнеза уточняются следующие данные:

- а) имелись ли: самопроизвольные прерывания беременности;
- б) антенатальная смерть плода при предыдущих беременностях;
- в) рождение ребенка с гемолитической анемией и т.д. в соответствии с возможными причинами иммунизации;
- г) были ли гемотрансfusionи, гемотрансfusionи без учета резус-принадлежности, в том числе без учета резус-принадлежности и т.д. в соответствии с возможными причинами иммунизации.

При выявлении особенностей в акушерском и трансфузионном анамнезах, обследуемая относится к группе риска в отношении развития ГБ и данные вносятся в обменную карту.

Алгоритм исследований алло антител классов IgM и IgG к антигенам эритроцитов (скрининг антител) в течение всего периода беременности зависит от результатов текущего скрининга. IgM антитела не вызывают ГБ плода и новорожденного, так как они имеют большую молекулярную массу и не проходят через плаценту.

Если у беременной выявляются IgM антитела и специфичность антител направлена к антигенам, которые могут вызывать ГБ, в последующем проводится выявление антител в динамике, так как с увеличением срока беременности, дополнительно к IgM могут выработать IgG антитела (особенно при наличии акушерских и экстрагенитальных заболеваний у беременной).

Поэтому у беременных, с группой крови по системе АВО, отличной от группы крови отца ребенка, проводится исследование на выявление IgG антител системы АВО для возможности выявления рисков иммунного конфликта, связанного с несовместимостью по антигенам системы АВО.

Контроль титра IgG антител к антигенам эритроцитов системы АВО проводится при первичном обращении и в 36 недель беременности, поскольку тяжесть ГБ плода и новорожденного, обусловленной АВО несовместимостью, также не коррелирует с колебаниями титра, нет необходимости часто исследовать титр антител системы АВО, как это предусмотрено для антител другой специфичности.

Первое исследование сыворотки крови всех беременных на наличие IgG (неполных) алло антител к антигенам эритроцитов проводится при первичном обращении, независимо от резус - принадлежности.

По результатам первичного исследования на IgG алло антитела проводится разделение на две группы: сенсибилизованные (алло иммунные антитела выявлены) и несенсибилизованные (алло иммунные антитела не выявлены).

При дальнейшем исследовании алло антител у сенсибилизованных женщин наблюдаются сроки, зависящие от специфики выявленных антител.

При выявлении IgG алло антител проводится их идентификация. По результатам идентификациидается следующее заключение:

- 1) выявленные антитела имеют клиническое значение для развития ГБ;
- 2) клинически относительно значимые.

Оценка клинической значимости выявленных антител проводится в соответствии с данными таблицы 1 настоящих методических рекомендаций.

При установлении специфики антител в сложно диагностируемых случаях проводится фенотипирование антигенов эритроцитов беременной и отца ребенка.

При установлении наличия клинически значимых антител, в целях контроля состояния аллоиммунизации в динамике проводится исследование титра антител.

В течение беременности титр антител может нарастать, оставаться без изменений или снижаться, а также быть «скачущим», когда отмечается смена подъемов и спадов. Вероятность заболевания плода в этом случае увеличивается.

В целом величина титра антител имеет относительное значение, как для прогноза исхода беременности, так и для вынесения заключения о наличии иммунного конфликта.

**Важно:** В отдельных случаях тяжелая форма ГБ встречается при низких и снижающихся величинах титра антител, и, наоборот, при высоком и нарастающем титре может родиться резус-положительный ребенок. Причинами могут быть с одной стороны, возможностью связывания и высвобождения антител клетками ретикуло-эндотелиальной системы, с другой - неодинаковой способностью плаценты осуществлять барьерную функцию.

Контроль титра антител до 32 недели беременности проводится 1 раз в 4 недели, после этого контроль титра проводится один раз в 2 недели.

**Важно:** Женщинам, у которых выявлены антитела, не имеющие клинического значения, контроль титра антител проводится в 28-30 недель беременности, для исключения возможной выработки клинически значимых антител.

Среди несенсибилизованных женщин выделяют группу риска (имеющие возможность сенсибилизации при беременности).

В группу риска включаются беременные, если:

- 1) группы крови матери и отца по системе АВО не совпадают;
- 2) мать резус отрицательная отец резус положительный.

У несенсибилизованных женщин, не входящих в группу риска, повторное скрининговое исследование IgG алло антител проводится в 28-32 недели беременности.

У несенсибилизованных женщин, входящих в группу риска проводится скрининг антител при следующих условиях и в сроки:

- a) при несовпадении группы крови женщины по системе АВО с группой крови отца ребенка, скрининг антител в 36 недель беременности;
- b) при наличии у женщины отрицательной D-принадлежности крови, а у отца ребенка положительной резус-принадлежности, скрининг антител в 28 недель беременности, а при наличии клинических показаний скрининг проводится ежемесячно;
- b) при наличии в анамнезе выкидышей и/или мертворождений, скрининг антител в 28-30 недель.

В случае появления алло антител в процессе динамического наблюдения дальнейшие исследования проводятся так же, как и у сенсибилизованных беременных.

Результаты иммуносерологических исследований документируются с указанием методов исследования и использованных реагентов.

Интерпретированные результаты исследования разъясняются беременной и выдаются на бланках установленного образца. Бланки с результатами исследований вклеиваются в обменную карту беременной.

Перед искусственным прерыванием беременности женщинам проводится определение:

- группы крови АВО, резус-принадлежность, наличия антител к антигенам эритроцитов.

Если у женщины выявлена резус-отрицательная принадлежность крови, при этом антитела анти-D отсутствуют, а резус-принадлежность отца ребенка положительный или неизвестно, проводится профилактика алло сенсибилизации иммуноглобулином анти- Rh<sub>o</sub>D сразу после искусственного прерывания беременности (не позднее 48-72 часов после прерывания беременности в зависимости от рекомендаций производителя).

Иммуногематологическое исследование отца ребенка проводится:

- a) при выявлении групп риска по АВО и резус конфликтам;
- b) при расхождении в паре мать-плод по группе крови по системе АВО;
- c) при обнаружении у беременной антиэритроцитарных алло антител к антигенам эритроцитов.

Кровь отца ребенка исследуется на групповую принадлежность по системе АВО, резус-принадлежность, а также проводится фенотипирование для исследования наличия антигенов эритроцитов, к которым у беременной найдены антитела.

Определение фенотипа антигенов эритроцитов отца позволяет прогнозировать вероятность иммунологического конфликта «мать-плод» по антигенам эритроцитов и может помочь при решении вопроса о необходимости ранней профилактики ГБ, если мать не сенсибилизована к антигену D.

Несенсибилизованным женщинам, имеющим резус-отрицательную принадлежность крови, проводится иммунопрофилактика последующей иммунизации иммуноглобулином анти- Rh<sub>o</sub>(D) при условии, если отец ребенка и ребенок имеют резус-положительную принадлежность (двукратная 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 инструкции производителя. При наличии акушерских осложнений профилактика проводится по показаниям.

Исследование анти-D антител после проведения профилактики проводится отсрочено и только по клиническим показаниям.

**Важно:** В сроки 36-38 недель беременности целесообразно провести у женщин, получавших иммуноглобулин анти- Rh<sub>o</sub>(D), исследование антител к антигенам эритроцитов другой специфичности для обеспечения женщин в случае необходимости совместными гемотрансфузиями.

## **6. Иммуносерологическое обследование новорожденных**

Исследование группы крови новорожденного по системе АВО и резус принадлежности его крови осуществляется в соответствии с требованиями, установленными настоящими методическими рекомендациями.

При исследовании группы крови по АВО и резус принадлежности крови новорожденных, перенесших внутри пуповинные трансфузии эритроцитов группы О резус-отрицательных, учитывается давность проведения переливаний, поскольку в циркуляции может находиться до 90% донорских эритроцитов, что может приводить к ошибочному заключению о резус-принадлежности крови новорожденного как D-отрицательного или слабоположительного.

Дополнительное иммуносерологическое обследование новорожденных проводится при необходимости дифференциальной диагностики в случае подозрения на иммунологический конфликт мать-ребенок по антигенам эритроцитов, а также при наличии симптомов гемолитической анемии у новорожденного.

Вероятность иммунологического конфликта матери и новорожденного по антигенам эритроцитов устанавливается по наличию следующих условий:

- а) расхождения групп крови по АВО у матери и у плода/новорожденного;
- б) выявлении IgG алло антител к антигенам эритроцитов в сыворотке матери и новорожденного;
- в) выявлении IgG антител анти-А или анти-В в сыворотке крови матери при разногруппности матери и ребенка по системе АВО.

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.

Выявление высокого титра антител у матери не всегда сопровождается развитием ГБ. Исследование периферической крови матери не дает достаточного представления о состоянии плода.

При дополнительном иммуносерологическом обследовании проводится исследование элюата, полученного с эритроцитов новорожденного, что позволяет установить специфичность антител, вызывающих разрушение эритроцитов и подобрать эритроциты совместимого донора для заменных трансфузий.

Образцы крови направляются на исследование, при наличии клинических признаков ГБ у новорожденных или родившихся от женщин сенсибилизованных и от женщин группы риска по ГБ.

Исследование проводится с применением моноспецифического анти-IgG реактива взамен полиспецифической антиглобулиновой сыворотки.

Положительный результат ПАГТ свидетельствует о сенсибилизации эритроцитов новорожденного, на которых фиксированы алло антитела матери.

ПАГТ бывает положительным при ГБН, обусловленной анти-D антителами и слабо положительный бывает у новорожденных, получавших внутриутробные трансфузии.

Результаты антиглобулинового теста могут быть слабоположительным или отрицательным при гемолитической болезни новорожденных, вызванной АВО-антителами.

## **7. Лабораторное подтверждение ГБН, обусловленное иммунологическим конфликтом по системе АВО**

При лабораторном подтверждении гемолитической болезни новорожденного, обусловленной антителами АВО проводится поиск антител, фиксированных на эритроцитах, а также устанавливается их направленность против антигенов А или В [17-20,21,22].

Для установления гемолитической болезни новорожденного, обусловленной несовместимостью по антигенам АВО, используются следующие критерии:

- 1) наличие клинических признаков гемолитического заболевания;
- 2) в сыворотке матери содержится АВО 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.

В приложении 2 представлен алгоритм установления диагноза ГБ плода/новорожденного, обусловленной АВО антителами.

## **8. Лабораторное подтверждение ГБН, обусловленной иммунологическим конфликтом по системе Резус и другим групповым системам**

При лабораторном подтверждении диагноза ГБН, обусловленной антителами Резус и других групп крови проводится поиск антител, фиксированных на эритроцитах или в сыворотке крови, а также устанавливается их направленность против антигенов Резус или других групп крови. Алгоритм представлен в Приложении 3.

Для установления диагноза ГБН, обусловленной несовместимостью по антигенам Резус и других групп крови, используются следующие 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 эритроцитов новорожденного показывают, что специфичность их соответствует специфичности аллоантител матери.

## 9. Подбор эритроцитсодержащих гемотрансфузионных сред

### 9.1 Подбор гемотрансфузионных сред новорожденному

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 производится с учетом специфичности антител матери [17,18,23,24,25].

Схема подбора компонентов крови при несовместимости матери и новорожденного по антигенам эритроцитов по системе АВО представлена в таблице 2.

**Таблица 2 - Подбор компонентов крови при несовместимости матери и новорожденного по антигенам эритроцитов по системе АВО**

Мать	Новорожденный	Эритроциты	Плазма
O	A	O	A
O	B	O	B
A	B	O	B
B	A	O	A
A	AB	A,O	AB
B	AB	B,O	AB

Для внутриутробных трансфузий применяются только универсальные эритроциты группы О резус-отрицательной принадлежности крови, не содержащие антиген К и антигены к которым у матери имеются антитела.

В эритроцитарной массе не должны содержаться IgG антитела системы АВО. Предпочтительно использовать трансфузии отмытых эритроцитов.

При несовместимости матери и ребенка по антигену D системы антигенов эритроцитов Резус переливают эритроциты группы крови 0 резус-отрицательные.

Допускаются трансфузии эритроцитов доноров одноименной группы крови резус-отрицательной принадлежности, в том случае если мать и ребенок имеют одинаковую группу крови АВО.

Схема подбора компонентов крови для заменных трансфузий, при несовместимости матери и новорожденного по антигенам эритроцитов системы Резус представлена в таблице 3.

**Таблица 3 - Подбор компонентов крови для заменных трансфузий, при несовместимости матери и новорожденного по антигенам эритроцитов системы Резус**

Мать	Антитела матери	Новорожденный	Эритроциты	Плазма
O Rh-	Анти-D	O,A,B, Rh+	O Rh-	Одногруппная с новорожденным или AB
A,B,O Rh-	Анти-D	O Rh+	O Rh-	
A Rh-	Анти-D	B Rh+	O Rh-	
B Rh-	Анти-D	A Rh+	O Rh-	

При несовместимости матери-плод по антигенам эритроцитов других систем, индивидуальный подбор крови доноров проводится среди образцов, не имеющих антигенов, к которому найдены антитела, явившиеся причиной заболевания, с учетом АВО совместимости.

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

Для заменных трансфузий используют эритроцитсодержащие среды малых сроков хранения.

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

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

### 9.2 Подбор гемотрансфузионных сред для трансфузии сенсибилизированным женщинам

Специальный подбор крови проводится в лаборатории с использованием антиглобулинового теста.

При выявлении клинически значимых антител для трансфузии выбираются эритроциты без соответствующего антигена.

В случае выявления клинически малозначимых антител – для трансфузии подбираются эритроциты, подобранных в teste на совместимость.

Медицинские организации, заготавливающие кровь, обязаны иметь резерв эритроцитов с гомозиготными фенотипами для подбора крови иммунизированному реципиентам.

## **Заключение**

Проведение иммуногематологических исследований в соответствии с изложенными требованиями позволит обеспечить достоверность диагностики иммунологических конфликтов мать - плод, диагностику гемолитической болезни у новорожденных, рациональный подбор крови заменой трансфузии, связанных с иммунным конфликтом, с учетом антител матери.

Эффективность применения указанных требований подтверждена опытом работы Научно-производственного центра трансфузиологии при выявлении группы крови и резус-принадлежности беременных и новорожденных, включая сложно диагностируемые варианты антигенов АBO и Резус.

## **Список использованных источников**

1. Донсков С.И., Мороков В.А. Группы крови человека: Руководство по иммunoсерологии.- М.: ИП Скороходов В.А., 2011.- 1016 с.
2. Сухих Г.Т., Ванько Л.В. Иммунные факторы в этиологии и патогенезе осложнений беременности. Акушерство и гинекология. - 2012. - № 1.- С.143-147.
3. Бутина Е.В., Зайцева Г.А., Удальцова В.Ф., Коряковцева Т.А., Караваева А.В., Шерстнев Ф.С. Аллосенсибилизация к антигенам эритроцитов у доноров компонентов крови и пациентов с заболеваниями системы крови. Вестник службы крови России 2012; № 3- С.18-21.
4. Жибурт Е.Б. Трансфузиология// Учебник.- СПб: Питер, 2002. - 736с.
5. Сидельникова В.М., Антонов А.Г. Гемолитическая болезнь плода и новорожденного.- М., Издательство «Триада-Х», -2004.-192с.
6. Deitzenbeck R., Grolle A., Just B. Supply of patients with allo-antibodies against high frequent red cell antigens. Vox Sangvinis 2010; 99: 1: 189.
7. Макагон А.В., Андрюшина И.В. Диагностика и лечение гемолитической болезни плода. Акушерство и гинекология. - 2012. -№ 1.- С. 43-48.
8. Донсков С.И., Уртаев Б.М., Дубинкин И.В. Новая тактика гемотрансфузионной терапии- от совместимости к идентичности. - Москва. - 2014. - 269 с.
9. Бутина Е.В., Зайцева Г.А. Диагностика иммунологического конфликта при беременности. Российский вестник акушера-гинеколога-2014.- №14(3).- С.16-19.
10. Кравченко Е.Н., Ожерельева М.А., Куклина Л.В. Неивазивный метод прогнозирования гемолитической болезни плода. Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2017. №62 (2).-С.39-44.
11. Волянюк Е.В., Кузнецова А.В. Тактика педиатра при неонатальной желтухе. Практ. Мед.- 2009. -№7.- С.13-15.
12. Шакирова Э.М., Сафина Л.З., Шакирова Л.З., Савинкова Т.И., Салманидина Д.Р. Структура отсроченных пролонгированных желтух новорожденных и тактика их лечения. Практическая медицина. - 2012.- №7 (62). - С. 97-100.
13. Минеева Н.В. Особенности исследования антител к антигенам эритроцитов у доноров. Трансфузиология.- 2012.-№ 3. С.14-20.
14. Савельева Г.М., Коноплянников А.Г., Курцер М.А. Резус-сенсибилизация: Старые проблемы: Новые решения. Вопросы гинекологии акушерства и перинатологии.- 2005. - № 4. - С. 89-93.
15. Кодекс Республики Казахстан от 18 сентября 2009 года №193-IV «О здоровье народа и системе здравоохранения»/ [www.zakon.kz](http://www.zakon.kz).
16. Приказ и.о. Министра здравоохранения Республики Казахстан от 6 ноября 2009 года № 666 «Об утверждении Номенклатуры, Правил заготовки,

переработки, хранения и реализации крови и ее компонентов, а также Правил хранения, переливания крови, ее компонентов и препаратов»/ [www.zakon.kz](http://www.zakon.kz).

17. Методическое письмо МЗ СР РФ от 10.10.2008 г. №15-4/3118-09 «Порядок проведения иммунологических исследований у беременных, плодов и новорожденных».

18. Организация преаналитического этапа в отделениях неотложной помощи: Методические рекомендации/ А.Г. Кочетов [и др.]. – М, 2016. -25с.

19. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению гемолитической болезни новорожденных /ФГБУ «ФНКЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачева» Минздрав России, Национальное общество детских гематологов, онкологов России. -2014. - 12с.

20. Трусов, Ю.В. Функциональные состояния плода / Ю.В. Трусов. М.: МЕДпресс-информ, 2003. 120 с.

21. Kennedy M.S. Perinatal Issues in transfusion practice // American Association of Blood Banks Technical Manual. 16 th ed. Bethesda: American Association of Blood Banks; 2008.- P. 626.

22. Литяева Л.А., Носырева С. Ю. Эпигенетические факторы риска внутриутробной сенсибилизации к аллергенам в системе «мать-плод-новорожденный». Детские инфекции. -2017. Том16. -№4.-С. 25- 29.

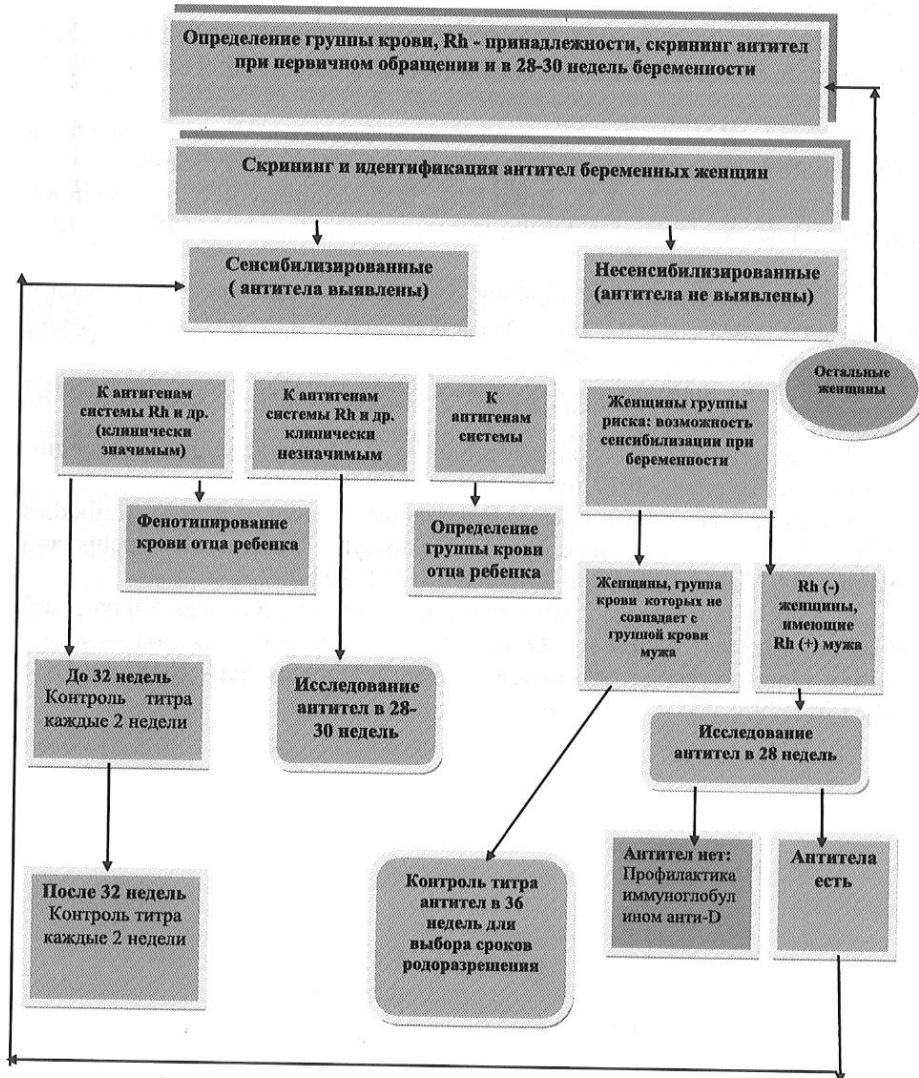
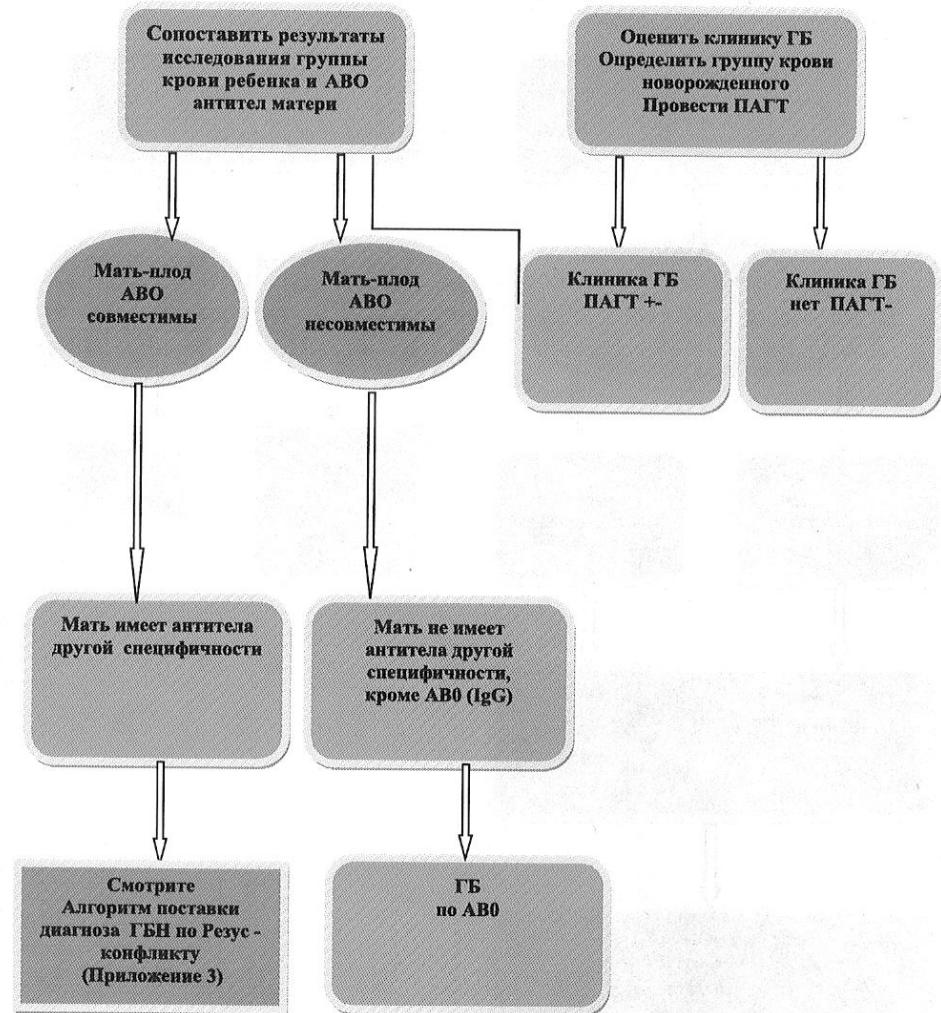
23. Практическая трансфузиология/под ред. Г.И.Козинца. - Москва: Практ. медицина,2005.-543с.

24. Абрамченко В.В., Шабалов Н.П. Клиническая перинатология. М. - 2004.-424 с.

25. White, J Qureshi, H Massey, E Needs, M Byrne, G Daniels, G Allard S & British Committee for Standards in Haematology/ Guideline for blood grouping and red cell antibody testing in pregnancyT ransfusion Medicine,2016.- №26. P. 246-26.

## Список рекомендуемой литературы

1. Nasseri F, Mamouri G.A., Babaei H. Intravenous immunoglobulin in ABO and Rh hemolytic diseases of the newborn // Saudi Med. J. - 2006. - Vol. 27. - P. 1827-1830.
2. Lee S.M., Im S.J., Park S.jl, et al. Acase of severe hemolytic disease ofthe newborn due to anti Difai antibody // Korean J. Lab. Med.- 2007. - Vol. 27. - P. 373-376.
3. BasuS., KaurR., KaurG., JainS. Severe hemolytic disease of newborn due to non Rh D antibody// Indian J. Pediatr.- 2011.- Vol. 78.- P. 366-367.
4. Prasad M.R., ICrugh D., Rossi K.Q., O'Shaughnessy R.W. Anti D in Rh positive pregnancies // Am. J. Obstet. Gynecol. - 2006. - Vol. 195.- P. 1158-1162.
5. Гемотрансфузионная терапия. Руководство для врачей, перевод с английского языка к.м.н. А.Б. Алимухамедова, под редакцией д.м.н., профессора Е.Б.Жибурта.-2004.-119с.
6. Сборник нормативных правовых актов службы крови Республики Казахстан. Астана. -2015.
7. Гематология и трансфузиология. Международный научно-практический журнал. -2017,том3. - №4.- С.937-938.
8. Emilia Velkova. Correlation between the Amount of Anti-D Antibodies and IgG Subclasses with Severity of Haemolytic Disease of Foetus and Newborn OA Maced J Med Sci. 2015 Jun 15; 3(2):293-297.
9. Ashish Jain Sheetal Malhotra,Neelam Marwaha,Praveen Kumar, and Ratti Ram Sharma Severe ABO hemolytic disease of fetus and newborn requiring blood exchange transfusion. Asian J Transfus Sci.- 2018, Jul-Dec; 12(2): 176–179.

**Алгоритм иммуногематологических исследований беременных****Алгоритм установления диагноза ГБ плода/новорожденного обусловленными АВО антителами**

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

