

3. Котельников В.П. Отморожения / В.П. Котельников – М. : Медицина, 1988. – 256 с.
 4. Новикова Р.И. Синдром системного воспалительного ответа с позиции теории общеадаптационных реакций / Р.И. Новикова, В.И. Черный, И.В. Кузнецова [и др.] // Біль, знеболювання та інтенсивна терапія. – 2000. – № 1(д). – С.73–75.
 5. Содержание цитокинов в крови больных при местной холодовой травме / К.Г. Шаповалов, Е.А. Томина, М.И. Михайличенко [и др.] // Медицинская иммунология. – 2008. – Т.10, № 1. – С. 89–92.
 6. Холодовая травма / А.В. Хапкин, Ю.В. Карасева, С.С. Киреева [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. Электронный журнал. – 2017. – № 1. – С. 153–161
 7. Чадаев А.П. Холодовая травма / А.П. Чадаев, С.В. Свиридов, А.Д. Климиашвили // Российский медицинский журнал. – 2005. – № 5. – С. 20–23.
 8. Interleukin-6 and the acute phase response / P.C. Heinrich, J.V. Castell, T. Andus // Biochem J. – 1990. – № 265. – P. 621–636.
 9. Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF / R. Schindler, J. Mancilla, S. Endres [et al] // Blood. – 1990. – № 75. – P. 40–47.
- Надійшла 20.10.2017 року.*

УДК 612.118.221.2:615.385

ЯКІСНЕ ОБСТЕЖЕННЯ ДОНОРСЬКОЇ КРОВІ – ЗАПОРУКА БЕЗПЕЧНОСТІ ТРАНСФУЗІЙНОЇ ТЕРАПІЇ

**Р.П. Павлюк, Г.А. Мироненко,
У.В. Тимошенко**

ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України», Київ

Резюме. Постійне поглиблення теоретичних знань та покращення практичних навичок є нагальним для персоналу імуногематологічних лабораторій служби крові. Акцентовано увагу на актуальних практичних питаннях: ідентифікації слабких та варіантних форм антигенів А та D, принципах виявлення алоїмунних антитіл у донорів. Описано необхідність впровадження в рутинну практику лабораторій служби крові непрямой проби Кумбса та розширення палітри досліджуваних еритроцитарних антигенів у донорів.

Ключові слова: антигени еритроцитів, антиеритроцитарні антитіла, імунологічна безпека.

HIGH-QUALITY EXAMINATION OF DONOR BLOOD IS A GUARANTEE OF SAFETY OF TRANSFUSION THERAPY

R.P. Pavlyuk, H.A. Myronenko,
U.V. Tymoshenko

SI «Institute of Haematology and Transfusiology of NAMS of Ukraine», Kiev

Resume. *Constant deepening of theoretical knowledge and improvement of practical skills is necessary for the staff of immunohematological blood service laboratories. Attention was pay to actual practical issues: identification of weak and variant forms of antigens A and D, principles of detection of aloimmune antibodies from donors. The necessity of introducing into the routine practice of Blood Laboratories of the indirect sample of Coumbs and expanding the palette of investigated erythrocytic antigens from donors was describe in this article.*

Key words: *erythrocyte antigens, anti erythrocyte antibodies, immunological safety.*

Трансфузійна терапія займає чільне місце в лікуванні багатьох хвороб та патологічних станів. Ефективність її проведення безпосередньо залежить від якості заготовлених та виготовлених продуктів крові. Зрозуміло, що без відповідного обстеження донорської крові не можуть бути отримані якісні компоненти крові або препарати. Тому інфекційна та імунологічна безпека, насамперед, стосуються донорської крові. Тобто, якісне обстеження крові донорів – запорука якості компонентів та препаратів крові і безпечності трансфузійної терапії.

Імунологічне обстеження донорської крові, на сьогоднішній день, не може обмежуватись визначенням її групової та резус-належності. Воно має включати встановлення ширшого спектру еритроцитарних антигенів систем АВ0, Резус та інших, з обов'язковим дослідженням як раптових, так і природних антитіл.

Обстеження крові донорів дещо відрізняється від обстеження крові реципієнтів. І це пов'язано з тим, що в разі виникнення проблем або помилок при виявленні антигенів еритроцитів А, В або D у реципієнта, його кров може буде віднесена до 0(I) групи і резус-негативного типу. І при необхідності застосування трансфузії еритроцитів йому будуть призначені еритроцити донора 0(I), rh-. Але, якщо подібне станеться з донорською кров'ю, то наслідки будуть фатальні. Тому хотілось би ще раз нагадати про необхідність ретельного обстеження донорської крові і зупинитись на особливостях її тестування.

Звичайно, визначення групи крові АВ0 проводиться у перехресній пробі, тобто з обов'язковим визначенням антигенів А і В на еритроцитах і природних анти-А і анти-В антитіл у сироватці крові.

Антигени можуть визначатись за допомогою МКА на площині, в пробірках, в планшетах, в гелевому середовищі. Головне застосовувати такі реагенти, якість яких дозволяє виявити антигени А і В та їх слабкі варіанти.

Серед європейців 80% індивідів, що належать до групи крові А, мають підгрупу А₁, інші 20% належать до підгрупи А₂. Існує ще кілька підгруп антигену А: А_m, А_x, А_{end}, А_{del} [2,3].

Для диференційної діагностики А₂ і А₁ існують цоліклони анти-А₁ і анти-А₂: еритроцити А₂ і А₂В не дають реакції з анти-А₁ і чітко реагують з анти-А₂. Цоліклони анти-А_{сл} дозволяють виявити і інші слабкі варіанти антигену А. Після змішування реагенту анти-А_{сл} і досліджуваних еритроцитів в перші 10 секунд настає аглютинація з антигенами А₁ і А₂, а при подовженні часу спостереження до 5 хвилин, як зазначено в інструкції, аглютинація, що виникає, обумовлена іншими слабкими формами антигену А: А_x, А_m або іншими. В таблиці показані реакції, які характеризують МКА виробництва ООО «Гематолог».

Таблиця – Специфічність МКА по відношенню до антигенів А

Цоліклони	Сила аглютинації із варіантами антигену А				
	А ₁	А ₂	А ₃	А _x	
Анти-А	++++	++++	+ +/+ + + + +	++/+	-
Анти-А ₁	++++	-	-	-	
Анти-А _{сл}	++++	++++	+ +/+ + + + +	++/+	

Примітка: (++++) – сильна аглютинація; (++/++++) – варіабельна аглютинація; (+/+) – слабка аглютинація; (-) – негативна аглютинація.

Слабкі варіанти антигену В притаманні монголоїдним популяціям і в нашій популяції зустрічаються рідко [1].

Для визначення анти-А і анти-В антитіл у сироватці крові донорів застосовують стандартні еритроцити 0, А (А₁), В, які виготовляють центри крові або фірми, такі як BioRad для гелевого тесту. І тут слід запам'ятати, що не можна використовувати випадково взяті зразки еритроцитів в якості стандартних еритроцитів 0, А, В.

Для виготовлення стандартних еритроцитів залучаються спеціально відібрані зразки еритроцитів, не тільки з відповідно встановленою групою крові, але й більш активніші, з хорошою авідністю, які вступають в реакцію аглютинації вже на перших секундах дослідження. В іншому випадку, еритроцити, що застосовані для перехресної проби, можуть не виявити антитіла при низькій концентрації та/або слабкій авідності анти-А і анти-В антитіл.

У деяких випадках інструкція не забороняє використовувати «універсальну» донорську кров реципієнту без урахування його групової

належності. Вважається, що анти-А і анти-В антитіла донора «розчиняться» (розведуться) у крові реципієнта і не вступають в реакцію з А чи В антигеном. Щоб не допустити реакції зворотної аглютинації, слід пам'ятати кілька умов (обставин), що кількість універсальної крові, яка планується для переливання, повинна бути обмежена, також треба враховувати ступінь знекровлення реципієнта і знати титр природних антитіл у крові донора. Донорська кров з високим титром анти-А та анти-В антитіл небезпечна для трансфузії.

Таким чином, обстеження донорської крові за антигенами системи АВО передбачає: визначення групи крові за антигенами еритроцитів і за антитілами сироватки з застосуванням реагентів, що виявляють не тільки нормальний антиген А (В), а і його слабкі форми, вилучення зразків крові з високими титрами анти-А і анти-В антитіл для виготовлення імунологічних стандартів. Донорська кров або еритроцити з проблемними групами не може видаватись для трансфузії і має утилізуватись.

Для визначення антигену D системи резус існують декілька реагентів різних фірм, які дозволяють якісно, безпомилково визначити, як правило, нормальний D на еритроцитах донора. Але існують слабоаглютинабельні форми антигену D: D_{weak} (слабкий), що характеризується меншою кількістю антигенних детермінант на мембрані еритроцита, і D_{partial} (частковий), у якого є змінений антиген D з відсутніми одним або декількома епітопами. Ці форми антигену D мають імуногенні властивості, і, якщо їх не виявити на еритроцитах донора і позначити такий зразок як резус-негативний, то при переливанні його резус-негативному реципієнту, останній буде сенсифікований і в нього можуть виникнути анти-D антитіла. За нашими даними (2011 р.), частота слабоаглютинабельних форм антигену D в Україні складає 0,8%, тобто майже кожен сотий донор при недосконалому обстеженні може бути потенційно небезпечним [4].

Тому правильне встановлення резус-належності донорської крові дуже важливе і проводиться у два етапи. На першому етапі використовують метод прямої аглютинації на площині, в пробірках, мікроплатах із застосуванням стандартних сироваток, МКА анти-D (Ig M) або гелевий тест. На другому етапі всі зразки крові донорів, які дали негативний результат, додатково досліджують за допомогою реагенту анти-D (IgG) у непрямому антиглобуліновому тесті (НАТ), гелевому тесті або желатиновим методом – це дозволяє виявити категорії антигену D (включаючи високоімуногенний D^{VI}).

Широкого застосування в Україні набули реагенти типу Blend (мікс), представлені сумішшю моноклональних антитіл класів IgM та IgG. Це має певні переваги, сприяє зручності діагностики та оптимізації процесу ідентифікації слабоаглютинабельних форм антигену D.

Тестування за допомогою реагентів такого типу відбувається в два етапи – на першому (реакція прямої аглютинації) антиген D визначається за допомогою IgM антитіл (в цій реакції можливе визначення деяких його слабких та варіантних форм, включаючи D^{VI}). За відсутності реакції слід переходити до другого етапу, де антитілами класу IgG в непрямому антиглобуліновому тесті (пробі Кумбса) виявляється більш широкий спектр слабких та варіантних форм антигену D.

Є неправильним обмежити обстеження донора реагентами типу мікс тільки першим етапом – можливе невиявлення деяких категорій антигену D та помилкова ідентифікація донора, як резус-негативного. Слід відмітити, що при використанні таких реагентів тільки в реакції прямої аглютинації може мати місце псевдонегативна реакція через те, що IgG антитіла в їх складі здатні конкурентно зв'язуватися із епітопами D антигену, особливо якщо вони представлені в невеликій кількості на поверхні еритроцита, і ці епітопи стають недоступними для моноклональних IgM антитіл. Як результат – зменшення сили аглютинації або повна її інгібіція. У зв'язку з цим, можливе помилкове визначення резус-належності як негативної у резус-позитивних осіб [11].

Таким чином, завданням служби крові є ідентифікувати максимальне число можливих слабких та варіантних форм антигену D для унеможливлення імунізації потенційного реципієнта. Якщо найменування клону антитіл та спектр категорій антигену D, які вони дозволяють виявити, вказуються виробником, це дає змогу споживачу раціонально підбирати реагент згідно своїх потреб. Впровадження методики Кумбса для обстеження донорів є найоптимальнішим способом ідентифікації слабоаглютинабельних форм антигену D, проте потребує спеціально підготовленого персоналу та значних трат часу. Використання гелевої методики значно спрощує процедуру проведення реакції і потребує мінімальних затрат часу.

Кров D-негативних донорів додатково досліджується на наявність антигенів C та E за допомоги МКА анти-C і анти-E або стандартних сироваток анти-C і анти-E. Більшість резус-негативних осіб має фенотип dce, проте 2–5% осіб, що не несуть на еритроцитах антигену D і резус-негативних за визначенням, мають фенотип dCe і dcE [1].

Отже, до числа резус-негативних донорів відносять тільки тих осіб, фенотип еритроцитів яких не містить ні одного із перелічених антигенів: D (включаючи D_{weak} та $D_{partial}$), C або E. Наявність будь-якого із цих антигенів дає підставу віднести донора до резус-позитивного типу [7, 9].

Крім антигену D при переливанні донорських еритроцитів (особливо коли мова йде про дітей та жінок фертильного віку), в ряді країн врахо-

вають і інші антигени системи резус: С, с, Е, е, іноді Сw, які теж мають імуногенні властивості. Трансфузія еритроцитів з урахуванням резус-фенотипу пари донор-реципієнт, підвищить імунологічну безпеку трансфузій [5, 6]. Маркування донорської крові, створення реєстру фенотипованих донорів спростить підбір сумісного донора в разі необхідності переливання еритроцитів сенсibilізованим реципієнтам, і, після фенотипування еритроцитів реципієнта, значно зменшить кількість донорів, відібраних для сумісництва, що значно підвищить економічний ефект.

Для визначення фенотипу еритроцитів за системою резус існують МКА різних фірм, їх використовують в реакціях на площині, в пробірках або в гелі.

І, нарешті, всю донорську кров необхідно тестувати за антигеном К системи Келл, який містять у своєму фенотипі в середньому 10% європейців, його імуногенність стоїть на другому місці після антигену D системи резус. К-позитивні еритроцити донора мають вилучатися і не видаватися в лікувальні заклади, або використовуватись цілеспрямовано для К-позитивних реципієнтів, або, в разі необхідності, переливатись тільки несенсibilізованим хворим, чоловікам, жінкам старше 50 років і ні в якому разі дітям, особливо дівчаткам, і жінкам фертильного віку [9, 12–14].

Визначатись антиген К може МКА різних фірм в реакціях на площині, пробірках, планшетах, в гелі.

Сироватка крові усіх донорів гемокомпонентів обов'язково повинна перевірятися на наявність антиеритроцитарних імунних антитіл, незалежно від групової чи резус-належності [7, 9, 10]. Типовою помилкою закладів служби крові є проведення скринінгу антитіл тільки у випадку резус-негативної належності донора. Дійсно, близько 80% серед виявлених алоімуних антитіл мають анти-D спрямування. Проте інші 20% мають наступні специфічності: анти-К, анти-с, анти-Е та проти інших мінорних антигенів. Такі антитіла зустрічаються у Rh+ осіб у 13 разів частіше, ніж у rh⁻. Це свідчить, що резус-позитивні особи є такі ж вразливі до алоімунізації антигенами еритроцитів, як і резус-негативні. Тобто у такому разі кожен п'ятий випадок наявності у донора антитіл ризикує бути невиявленим [6]. Згідно з отриманими нами результатами НДР «Розробити заходи профілактики імунологічних ускладнень при гемотрансфузійній терапії», виконаної у рамках міжгалузевої комплексної програми «Здоров'я нації», частка імунізованих донорів в Україні складає близько 4,3% [6]. Попередження несумісності, пов'язаної із присутністю антитіл у крові донора, можливе тільки одноразово, при проведенні скринінгу антитіл на етапі обстеження донора, оскільки всі проби на сумісність пари донор-реципієнт не передбачають залучення сироватки (плазми) донора. Виявлення клінічно значимих антитіл необхідно прово-

дити у непрямій пробі Кумбса (золотий стандарт) або, у випадку відсутності такої можливості, – у реакції конглоїтинації з додаванням желатину (застосування цієї реакції виправдано тільки на перехідному етапі реформування служби крові). Для скринінгу антитіл (виключно у донорів!) можна застосовувати тільки один різновид стандартних еритроцитів, який містить усі клінічно важливі антигени в одиничній дозі, або ж від двох донорів, зібраних в пул в рівних об'ємах [9]. За кордоном, в залежності від показника імунних антитіл, здійснюють чіткий диференційований підхід до застосування отриманого гемокомпоненту із врахуванням віку майбутнього реципієнта.

Задача закладів служби крові – виявити клінічно значимі антитіла у донорів, які можуть загрожувати безпеці реципієнта. Невиявлення слабкоаглютинабельних форм антитіл не має особливого значення для реципієнтів старших вікових категорій, оскільки в кровеносну систему реципієнта попаде їх невелика кількість, гемоліз буде мінімальний, навіть за умови наявності відповідного антигену, а імунізація неможлива.

Більш ретельний підхід до виявлення антитіл слід застосовувати у випадку заготівлі гемокомпонентів для новонароджених, адже навіть мінімальні кількості антитіл можуть спричинити важкі посттрансфузійні ускладнення, в такому випадку обстеження краще здійснювати за допомоги спеціальної панелі еритроцитів для скринінгу та в чутливій технології (НАГТ в пробірочному тесті, гелевій технології) [8]. У випадку самого факту присутності імунних антитіл у донора, консервована кров та її компоненти, заготовлені від нього, не використовуються для потреб новонароджених.

Первинних донорів слід перевіряти при кожній донації, активних (у разі попередньої відсутності антитіл) – 1 раз на рік. Якщо активний донор повідомляє про можливі фактори його сенсibiliзації (вагітність, пологи, гемотрансфузії) йому проводять додатковий скринінг. Багато закладів служби крові впровадили тактику обов'язкового постійного тестування всієї донорської крові. Якщо у донора виявлять імунні антитіла, його перевіряють при кожній донації. Заклад служби крові не видає таку плазму, кріопреципітат та концентрат тромбоцитів, допускається тільки приготування відмитих або розморожених еритроцитів. Плазму із виявленими антитілами використовують для виготовлення імунологічних стандартів, навчальних цілей, а чоловіки-донори можуть бути залучені для подальшої імунізації з метою виготовлення імуноглобуліну анти-D [7, 9].

Отже, впровадження сучасних методів імуногематологічних обстежень донорів, підвищення теоретичного та практичного рівня підготовки персоналу імуногематологічних лабораторій є необхідною запорукою підвищення якості роботи служби крові та забезпечення імунологічної безпеки трансфузій.

Література

1. Донсков С.И. Группы крови человека: руководство по иммуносерологии / С.И. Донсков, В.А. Мороков. – М. : ИП Скороходов, 2011. – 1015 с.
2. Минеева Н.В. Группы крови человека. Основы иммуногематологии / Н.В. Минеева– СПб., 2010. – 188 с.
3. Трансфузиология : национальное руководство / [под ред. проф. А.А. Рагинова]. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 1184 с.
4. Павлюк Р.П. Встановлення резус-належності у випадку слабких або варіантних форм антигена D та їхня частота серед населення Центрально-Українській генеографічної зони / Р.П. Павлюк, У.В. Тимошенко // Гематологія і переливання крові: міжвідомчий збірник. – 2010. – Вип. 35. – С. 222–230.
5. Павлюк Р.П. Фенотипування еритроцитів – шлях до підвищення імунологічної безпеки гемотрансфузій / Р.П. Павлюк // Гематологія і переливання крові: міжвідомчий збірник. – 2009. – Вип. 34 (додатковий). – С. 194–197.
6. Павлюк Р.П. Минимизация негативных иммунологических последствий гемотрансфузионной терапии / Р.П. Павлюк, Г.А. Мироненко, У.В. Тимошенко // Актуальні питання клінічної та виробничої трансфузіології : збірник матеріалів науково-практичної конференції з міжнародною участю (Харків, 5–6 червня 2014 р.). – Харків, 2014. – С. 185–187.
7. Порядок проведення імуногематологічних досліджень крові донорів і реципієнтів у закладах служби крові та в лікувально-профілактичних закладах: методичні рекомендації / П.М. Перехрестенко, А.М. Чугрійсв, Р.П. Павлюк [та ін.] – К., 2010. – 51 с.
8. Гелевая методика скрининга аллоиммунных антител как залог иммунологической безопасности гемотрансфузий / Л.Г. Медянцева, Н.Н. Левина, Э.С. Кадырбердеева [и др.] // Вестник гематологии. – 2011. – № 4., т. VII. – С. 60–61.
9. Національне керівництво з виробничої трансфузіології для закладів, підрозділів та лабораторій служби крові / ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України»; ХМАПО МОЗ України; Харків. Обл. центр служби крові. – Харків: Золоті сторінки, 2015. – 336 с.
10. Порядок медичного обстеження крові та (або) її компонентів (затверджено наказом МОЗ №385 від 16.08.2005). – К., 2006.
11. Rh Blood Group Antigens – Update / S. Von Kiparski, H. Northoff, W.A. Flegel, [et al.] // Clin.Lab. – 2000. – Vol. 46, Issue 17. – P. 17-22.
12. Standards for Blood Banks and Transfusion Services / AABB (American Association of Blood Banks). – [30th ed.]. – AM ASSN BLOOD, 2016. – 120 p.
13. Technical Manual / AABB (American Association of Blood Banks) [ed. by Mark K. Fung, Brenda J. Grossman, Christopher Hillyer et al.]. – [18th ed.]. – AM ASSN BLOOD, 2014. – 840 p.
14. Wintrobe's clinical hematology / [ed. by John P. Greer, Daniel A. Arber, Bertil Glader et al.]. – [13th ed.]. – Philadelphia : LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, 2014. – 2278 p.

Надійшла 10.10.2017 року.