

# Пример десорбции антиэритроцитарных антител в длительно хранящемся образце

Р. Г. Хамитов, Р. Ф. Аюпова, Р. Ф. Иксанова, Е. Б. Жибурт

Республиканская станция переливания крови, Уфа  
Национальный медико-хирургический центр имени Н. И. Пирогова, Москва

**Резюме.** Исследовали воспроизводимость результатов иммуногематологических исследований образцов крови пациентов, хранящихся в течение 2 недель. Для оценки сохранности реактоспособности для каждого из пяти образцов крови пациента подобрали по шесть образцов донорской крови: два одноклассных образца, два совместимых образца группы О, два образца несовместимых фенотипов АВ0. Пробы на совместимость ставили в непрямом антиглобулиновом тесте (НАГТ) трижды: в день 1, день 7 и день 16. В образце крови новорожденного с положительным прямым антиглобулиновым тестом (ПАГТ) на 7-й и 16-й день хранения наблюдали изменение иммуногематологических свойств, проявляющихся агглютинацией аллогенных эритроцитов, совместимых в 1-й день хранения. Таким образом, при обследовании длительно хранящихся образцов цельной крови пациентов с ПАГТ нужно учитывать возможность десорбции антиэритроцитарных антител.

**Ключевые слова:** кровь, ПАГТ, агглютинация, антитела, совместимость.

## Введение

Лабораторный контроль совместимости крови донора и реципиента — ключевое условие эффективной гемотрансфузионной терапии [1, 2].

Важно обеспечить сохранность в образце крови реципиента как антител системы группы крови АВ0, так и нерегулярных антител: для проведения проб как на плоскости, так и в непрямом антиглобулиновом тесте [3–10].

Путь образца крови реципиента в России строго регламентирован и состоит из двух этапов:

1. До переливания крови. Врач, прошедший обучение по вопросам трансфузиологии, направляет образец крови реципиента в лабораторию для подтверждающего исследования. При этом пробы крови реципиента для определения совместимости и проведения индивидуального подбора берутся не ранее чем за 24 часа до

трансфузии. Транспортировка в лабораторию проб с образцами крови реципиента осуществляется в специальных контейнерах при температуре от +2 до +24 °С при условии недопущения прямого воздействия света.

- После переливания крови. Пробирка с кровью реципиента, использованная для проведения проб на индивидуальную совместимость, единица компонента донорской крови с остаточным объемом не менее 5 мл, образец крови реципиента, использованный для индивидуального подбора (при наличии), хранятся в отделении, осуществившем трансфузию, в течение 48 часов при температуре от +2 до +6 °С для возможного определения причин реакций и осложнений, связанных с трансфузией.

Зарубежный опыт – установить рабочие пределы времени хранения образца, позволяя изменить их в зависимости от местной оценки риска (табл. 1) [11].

В других развитых странах после переливания крови образцы, использованные в пробе на совместимость, хранят в течение 7 дней [12].

Руководство Совета Европы (2020) содержит следующие стандарты:

«8.5.1.2. Должны быть определены правила валидности образца для определения приемлемого срока хранения образца перед переливанием, который можно использовать для целей тестирования на совместимость и выпуска компонентов эритроцитов для переливания.

8.5.1.3. Исследование совместимости должно проводиться на образце, взятом не более чем за 3 дня до предполагаемой трансфузии, у пациентов, которым проводилось переливание крови или которые забеременели в течение последних 3 месяцев» [13].

У 189 реципиентов множественных трансфузий во французском Бресте развились антиэритроцитарные аллоантитела. У 16 пациентов (8,5 %) аллоантитела развились в первые 72 часа после переливания,

**Таблица 1**

**Рабочие пределы использования хранящейся цельной крови и плазмы для предтрансфузионного тестирования в Великобритании**

Тип пациента	Тип образца		
	Цельная кровь при комнатной температуре	Цельная кровь при 2–8 °С	Плазма при -30 °С
Переливание крови или беременность в течение последних 3 месяцев	До 48 часов	До 3 дней*	Не применяется
Не было переливания крови или беременности в течение последних 3 месяцев	До 48 часов	До 7 дней	До 3 месяцев

Примечание. \* – это время между отбором образца и последующей трансфузией.

в том числе в первые 24 и 48 часов у 4 и 8 пациентов соответственно. Из-за возможности раннего образования аллогенных антител брестские коллеги установили срок годности результата скрининга антител у реципиентов множественных трансфузий 24 часа [14].

Образцы цельной крови со временем портятся. Проблемы, связанные с хранением, включают лизис эритроцитов, бактериальное загрязнение, снижение эффективности антител эритроцитов, особенно антител класса иммуноглобулин М (IgM), и потерю активности комплемента в образцах сыворотки [15].

Требование отбора образцов для проведения обязательных контрольных исследований и проб на совместимость не ранее чем за 24 часа до переливания увеличивает:

- количество исследований;
- трудозатраты;
- расход реагентов и загрузку оборудования;
- ятрогенную кровопотерю [16, 17].

Представляет интерес оценить пригодность для иммуногематологических исследований образцов крови пациентов, хранящихся более 24 часов.

**Цель работы:** оценка воспроизводимости результатов иммуногематологических исследований образцов крови пациентов, хранящихся в течение 2 недель.

### **Материалы и методы**

На Республиканскую станцию переливания крови (РСПК) образцы крови доноров и пациентов поступают в вакуумные пробирки с активатором свертывания и антикоагулянтом (К2ЭДТА, К3ЭДТА). Для референс-исследований образцы хранятся при +18–25 °С до 48 часов, для индивидуального подбора компонентов донорской крови – при +2–8 °С до 7 суток. Для последующего индивидуального подбора используется новый образец крови пациента. После переливания крови образцы донора и пациента, использованные в пробе на совместимость, хранятся в течение 7 дней.

Для исследования отобрали пять образцов крови реципиентов, поступивших подряд 30 апреля 2022 г. (табл. 2). Образцы цельной крови хранили в пробирках Vacuette (Greiner Bio-One, Австрия) с К2ЭДТА при +4 °С. Все пациенты женского пола, Келл-отрицательные.

Для оценки сохранности реактоспособности образцов крови пациента отобрали по шесть образцов донорской крови:

- 2 одноклассных образца;
- 2 совместимых образца группы O;
- 2 образца несовместимых фенотипов ABO (табл. 3).

Образцы донорских эритроцитов для проб на совместимость отбирали из сегмента трубки донорского контейнера. Пробы на совместимость ставили в непрямом антиглобулиновом тесте (НАГТ) трижды: в день 1, день 7 и день 16.

Группы крови системы ABO определяли перекрестным способом методом агглютинации в геле на ID-картах DG Gel ABO/Rh (Grifols, Испания), фенотип антигенов эритроцитов – методом агглютинации в геле с помощью неполных антител (IgG) анти-C, анти-c, анти-D, анти-E, анти-e, анти-K на ID-картах DG Gel Rh+/Kell (Grifols, Испания). Скрининг

**Таблица 2**  
**Характеристики пациентов, включенных в исследование**

№	Инициалы	Возраст	Диагноз	ABO	Rh	ПАГТ	Нерегулярные антитела
1	Калитова Ф. Ф.	2 суток	ГБН	A	CcD <sup>ue</sup> e	++++	Анти-D
2	Мельникова Н. Н.	35 суток	Анемия	O	CCD <sup>ee</sup>	-	Нет
3	Харисова А. А.	4 суток	ГБН анти-D	O	ccD <sup>Ee</sup> e	+++	Анти-D
4	Мусина А. А.	15 суток	КНМТ, анемия	B	CcD <sup>Ee</sup> e	+++	Нет
5	Аюпова Ф. Х.	76 лет	Коронавирус, анемия	O	ccdee	НД	Нет

Примечание: ГБН – гемолитическая болезнь плода и новорожденного, КНМТ – крайне низкая масса тела, ПАГТ – прямой антиглобулиновый тест, НД – не делали.

**Таблица 3**  
**Характеристики образцов донорской крови для проб на совместимость (фенотип, дата заготовки)**

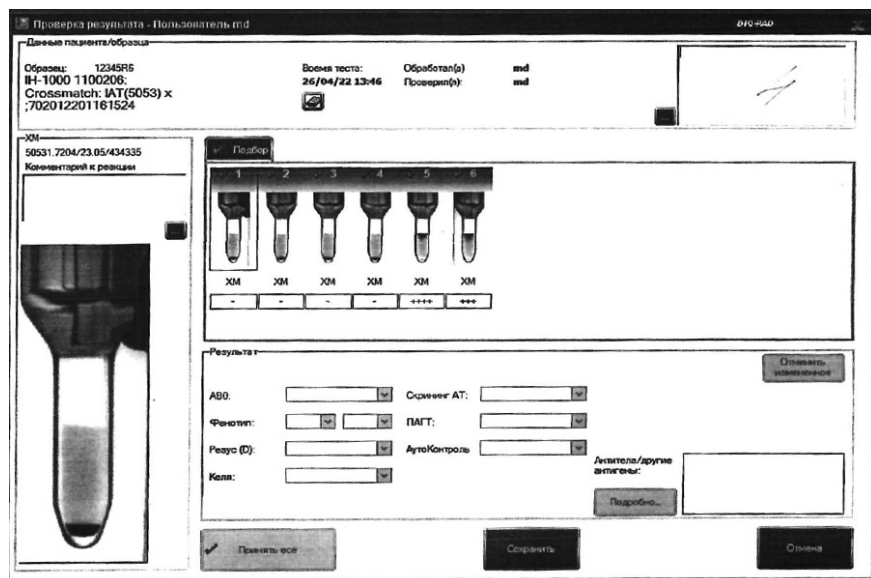
№ образца пациента	Группа крови, фенотип пациента	Однотипная кровь	Совместимая кровь	Несовместимая кровь
1	A, CcD <sup>ue</sup> e	A, ccdeeK-, 20.04.22	O, ccdeeK-, 20.04.22	B, ccdeeK-, 22.04.22
		A, ccdeeK-, 20.04.22	O, ccdeeK-, 20.04.22	AB, ccdeeK-, 22.04.22
2	O, CCD <sup>ee</sup>	O, CCD <sup>ee</sup> K-, 20.04.22	O, CCD <sup>ee</sup> K-, 20.04.22	B, CCD <sup>ee</sup> K-, 22.04.22
		O, CCD <sup>ee</sup> K, 20.04.22	O, CCD <sup>ee</sup> K-, 20.04.22	AB, CCD <sup>ee</sup> K, 22.04.22
3	O, ccD <sup>Ee</sup> e	O, ccdeeK-, 20.04.22	O, ccdeeK-, 20.04.22	B, ccdeeK-, 22.04.22
		O, ccdeeK-, 20.04.22	O, ccdeeK-, 20.04.22	AB, ccdeeK-, 22.04.22
4	B, CcD <sup>Ee</sup> e	B, CcD <sup>Ee</sup> eK-, 22.04.22	O, CcD <sup>Ee</sup> eK-, 22.04.22	A, CcD <sup>Ee</sup> eK-, 22.04.22
		B, CcD <sup>Ee</sup> eK-, 22.04.22	O, CcD <sup>Ee</sup> eK-, 22.04.22	AB, CcD <sup>Ee</sup> eK-, 22.04.22
5	O, ccdee	O, ccdeeK-, 22.04.22	O, ccdeeK-, 22.04.22	A, ccdeeK-, 22.04.22
		O, ccdeeK-, 22.04.22	O, ccdeeK-, 22.04.22	2. B, ccdeeK-, 22.04.22

антиэритроцитарных антител в НАГТ, прямой антиглобулиновый тест (ПАГТ) проведены на ID-картах DG Gel Coombs (Grifols, Испания) в геле с использованием 4-клеточной панели тест-эритроцитов Serascan Diana 4. Пробы на совместимость выполняли в гелевом тесте на ID-картах Liss Coombs, IH-1000 (Bio-Rad, Швейцария).

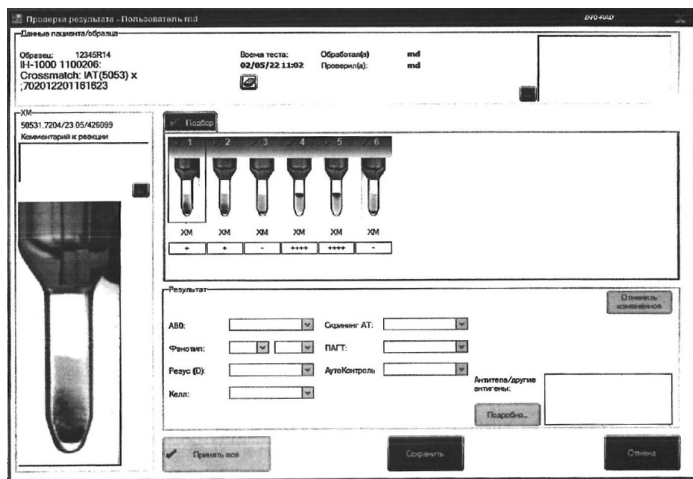
### Результаты и обсуждение

В образцах 1–3 и 5 все шесть постановок проб на совместимость дали предсказуемые результаты с высоким разрешением и простотой однозначного учета результата.

В образце 4 в постановках 2 и 3 (на 7-й и 16-й день хранения соответственно) зафиксирована конверсия результата проб на совместимость (зафиксирована агглютинация) с двумя образцами: одногруппным и совместимым, идентичными по фенотипам Rh и Келл: В, СсDEeK- и O, СсDEeK- соответственно. ПАГТ в этих образцах донорской крови отрицательный (рис. 1–3).

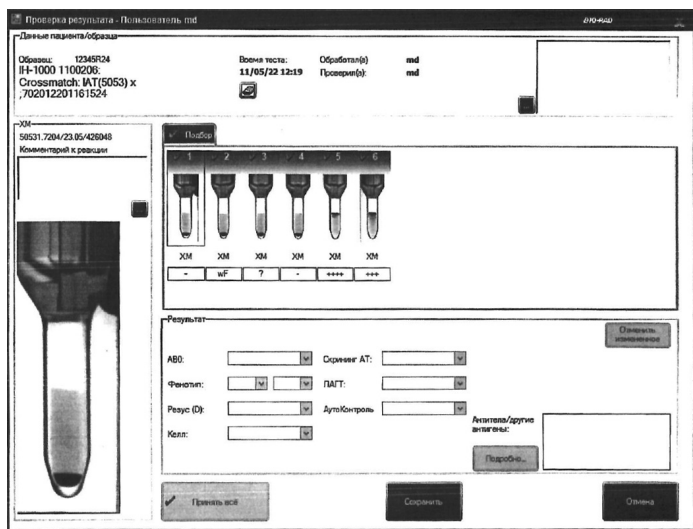


**Рис. 1. Пробы на совместимость пациента № 4 в 1-й день хранения. Нумерация колонок слева направо: 1 и 2 – группа В, 3 и 4 – группа О, 5 и 6 – группы А и АВ соответственно**



**Рис. 2. Пробы на совместимость пациента № 4 на 7-й день хранения  
 Нумерация колонок слева направо: 1 – группа В, 2 – группа О,  
 3 – группа О, 4 – группа А, 5 – группа АВ, 6 – группа В**

Образец крови новорожденного на 7-й день хранения несовместим с двумя образцами крови доноров: В и О (колодки 1 и 2). Наблюдается агглютинация на 1+.



**Рис. 3. Пробы на совместимость пациента № 4 на 16-й день хранения.  
 Нумерация колонок слева направо: 1 и 2 – группа В, 3 и 4 – группа О,  
 5 и 6 – группы А и АВ соответственно**

С несовместимыми на 16-й день хранения с двумя образцами крови доноров: В и О (колонки 2 и 3 соответственно) — зарегистрированы сомнительные результаты агглютинации: [wF] — сомнительная реакция, посторонние включения, [?] — сомнительная реакция.

Согласно заявке, кровь матери пациента № 4 — В, RhD-положительная. Образец крови матери недоступен. Положительный результат ПАГТ сохранялся весь период наблюдения. Элюцию антител не выполняли.

В образце крови новорожденного с положительным ПАГТ на 7-й и 16-й день хранения наблюдали изменение иммуногематологических свойств, проявляющихся агглютинацией аллогенных эритроцитов, совместимых в 1-й день хранения.

Можно предположить, что повышение агглютинирующих свойств сыворотки обусловлено десорбцией антител.

Представим ситуацию: нашему пациенту № 4 перелили бы кровь двух доноров, по результатам индивидуального подбора. Из холодильника извлекаются образцы доноров и реципиента, выполняется НАГТ — результат положительный. Образцы отправляют в удаленную экспертную лабораторию (судебно-медицинскую?) и подтверждают положительный результат НАГТ, чреватый оргвыводами.

### **Заключение**

Таким образом, при обследовании длительно хранящихся образцов цельной крови пациентов с ПАГТ нужно учитывать возможность десорбции антиэритроцитарных антител, а также бактериальную контаминацию.

При необходимости нужно отдельно хранить эритроциты и сыворотку таких пациентов.

Целесообразно продолжить изучение возможности увеличения срока хранения образцов для иммуногематологических исследований от пациентов, не подвергавшихся аллогенному воздействию.

### **Литература**

1. Шевченко Ю. Л., Карпов О. Э., Жибурт Е. Б. Переливание крови: история и современность (к 100-летию переливания крови в России) // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н. И. Пирогова. — 2019. — Т. 14, № 4. — С. 4–11.
2. Жибурт Е. Б., Чемоданов И. Г., Аверьянов Е. Г., Кожемяко О. В. Устойчивость служб крови // Бюллетень Национального научно-исследовательского института общественного здоровья имени Н. А. Семашко. — 2017. — № 7. — С. 17–24.
3. Султанбаев У. С., Стрельникова Е. В., Аюпова Р. Ф. и др. Совершенствование иммуногематологических исследований на республиканской станции переливания крови // Трансфузиология. — 2015. — Т. 16, № 3. — С. 25–35.
4. Кузнецов С. И., Аверьянов Е. Г., Шестаков Е. А., Жибурт Е. Б. Нерегулярные антитела к эритроцитам у пациентов многопрофильной клиники // Менеджер здравоохранения. — 2022. — № 1. — С. 35–42.

5. Жибурт Е. Б., Попова В. И., Иванова И. В., Рейзман П. В. Скрининг антиэритроцитарных антител и другие практические вопросы иммуносерологии // Трансфузиология. — 2004. — Т. 5, № 4. — С. 72–79.
6. Жибурт Е. Б. Имеет ли перинатальный центр право проводить иммуногематологические исследования? // Справочник заведующего КДЛ. — 2021. — № 6. — С. 72–75.
7. Тертышья О. В., Моор Ю. В., Белякова В. В. и др. Новое в иммуногематологии // Трансфузиология. — 2016. — Т. 17, № 3. — С. 90–93.
8. Чулкова Е. В., Гарипова З. Р., Колотвина Т. Б. и др. Новое на семинаре по иммуногематологии // Трансфузиология. — 2017. — Т. 18, № 4. — С. 76–82.
9. Садвакасова Д. Г., Бутина Е. А., Хегай Е. А. и др. На конференции по иммуногематологии // Трансфузиология. — 2018. — Т. 19, № 2. — С. 69–78.
10. Жибурт Е. Б., Баранова О. В., Ильин А. Б. Гемолитическая болезнь новорожденного // Трансфузиология. — 2002. — Т. 3, № 3. — С. 76–94.
11. British committee for standards in haematology, Milkins C., Berryman J., Cantwell C. et al. Guidelines for pre-transfusion compatibility procedures in blood transfusion laboratories // Transfusion Med. — 2013. — Vol. 23, № 1. — P. 3–35.
12. The Joint Commission. Blood Bank — Retention Of Crossmatch Samples / <https://www.joint-commission.org/standards/standard-faqs/laboratory/quality-system-assessment-for-non-waived-testing-qa/000001681/> [Доступно по состоянию на 09.06.2022].
13. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components, 20th edn. — Council of Europe Publishing, Strasbourg. — 2020. — 436 p. (<http://transfusion.ru/2020/05-27-2.pdf>).
14. Le Niger C., Andre C. What is the optimal pretransfusion testing interval for multi-transfused patients? The University Hospital of Brest experience // Transfus Clin Biol. — 2022. — Vol. 29, № 1. — P. 20–23.
15. Lippi G., von Meyer A., Cadamuro J., Simundic A. M. Blood sample quality. // Diagnosis (Berl). — 2019. — Vol. 6, № 1. — P. 25–31.
16. Губанова М. Н., Иванова В. Н., Копченко Т. Г., Жибурт Е. Б. Затраты на внутрилабораторный контроль качества иммуногематологических исследований // Трансфузиология. — 2017. — Т. 18, № 2. — С. 41–48.
17. Жибурт Е. Б., Аверьянов Е. Г., Кузнецов С. И. и др. Новое в трансфузиологии (на 31-м Региональном конгрессе Международного общества переливания крови в 2021 году) // Трансфузиология. — 2021. — Т. 22, № 4. — С. 374–385.

## **AN EXAMPLE OF DESORPTION OF ANTI-RBC ANTIBODIES IN A LONG-TERM STORED SAMPLE**

R. G. Khamitov, R. F. Ayupova, R. F. Iksanova, E. B. Zhiburt

Republican blood transfusion station, Ufa  
Pirogov National Medical Surgical Center, Moscow

We investigated the reproducibility of the results of immunohematological studies of blood samples stored for 2 weeks. To assess the preservation of reactivity for each of the 5 patient blood samples, 6 donor blood samples were selected for cross-matching: 2 same ABO group samples, 2 compatible samples of group O, 2 samples of incompatible ABO phenotypes. Compatibility tests were performed in the indirect antiglobulin test (IAT) three times: on day 1, day 7 and day 16. In the one blood sample of a newborn with a positive direct antiglobulin test (DAT) on the 7th and 16th days of storage, a change in immunohematological properties was observed, manifested by agglutination



of allogeneic red blood cells compatible on the 1st day of storage. Thus, when examining long-term stored whole blood samples from patients with DAT, the possibility of desorption of anti-erythrocyte antibodies should be taken into account.

**Key words:** *blood, sample, shelf life, agglutination, antibodies, compatibility, laboratory.*

### **Адрес для корреспонденции**

Евгений Борисович Жибурт,  
д. м. н., проф., зав. кафедрой трансфузиологии  
Национального медико-хирургического центра  
им. Н. И. Пирогова Минздрава России  
105203, г. Москва, ул. Нижняя Первомайская, 70,  
тел. +7 (495) 211-79-51,  
e-mail: ezhiburt@yandex.ru