



Заготовка плазмы-сырья для анти-RhD иммуноглобулина: обзор алгоритмов

Евгений Борисович Жибурт

заведующий кафедрой трансфузиологии Института усовершенствования врачей, д. м. н., профессор,

Роза Рамильевна Тураева

врач, Республиканская клиническая больница, Казань,

Рамиль Галинурович Хамитов

главный врач Республиканской станции переливания крови, Уфа,

Николай Семенович Кузьмин

доцент кафедры трансфузиологии, д. м. н.,

Сергей Русланович Мадзаев

доцент, профессор кафедры трансфузиологии, д. м. н.,

Леонид Дмитриевич Шалыгин

заведующий кафедрой сестринского дела Института усовершенствования врачей, д. м. н., профессор,

Евгений Андреевич Шестаков

доцент, профессор кафедры трансфузиологии, д. м. н.,

Институт усовершенствования врачей, Национальный медико-хирургический центр имени Н.И. Пирогова, Москва

Статья посвящена вопросу анти-D-иммунопрофилактики для предотвращения гемолитической болезни плода и новорожденного. Авторы представляют обзор мероприятий, в том числе опыт заготовки анти-D-плазмы в развитых странах, для проведения профилактики заболевания. Представленные сведения особенно актуальны с учетом дефицита RhIg и необходимости увеличения производства отечественного препарата.

Развитие RhD-иммунизации

Гемолитическая болезнь плода и новорожденного (ГБПН) впервые описана в 1609 году. До появления анти-D-иммунопрофилактики* RhD-конфликт был основной причиной перинатальной смертности [1, 2].

Современный этап профилактики ГБПН наступил в середине 1960-х годов, когда D-отрицательные добровольцы мужского пола получали D-положительные эритроциты с последующим введением анти-D-антител (анти-D) в виде плазмы с высоким титром или иммуноглобулина (RhIg). Во всех этих экспериментах RhD-иммунизация предотвращалась введением анти-D. Затем эти центры провели клинические испытания, в ходе которых иммунизированным D-отрицательным женщинам вводили анти-D после рождения D-положительных детей. Эти клинические испытания показали, что анти-D успешно предотвращают D-иммунизацию, если их вводят в течение 72 часов после рождения D-положительного ребенка.

Анти-D-иммуноглобулин (RhIg) лицензирован в Северной Америке и Европе с 1968 года [3].

Доноры могут быть привлечены к программе донаций анти-D, если они соответствуют следующим критериям отбора: являются RhD-отрицательными и уже имеют анти-D антитела в крови (из-за иммунизации в результате предыдущего переливания крови или во время беременности), или они RhD-отрицательны и соответствуют критериям преднамеренной иммунизации путем введения Rh-положительных эритроцитов. Всем донорам вводят Rh-положительные эритроциты для «повышения» их титра анти-D. Затем анти-D собирают путем афереза с определенным интервалом (в Европе – 1 раз в две недели, в США – 2 раза в неделю). Кроме того, иммунизированным донорам, которым требуется переливание крови, необходимо получить RhD-отрицательные эритроциты. В разных странах анти-D-плазму получают различными способами. В Нидерландах – от иммунизированных RhD доноров и импортных продуктов, в США – от оплачиваемых доноров плазмы. В Великобритании большая часть анти-D импортируется из США [4].

* Здесь и далее антиген D системы группы крови Rh равнозначно обозначается: D или RhD.

Практика донорского плазмафереза в разных странах весьма вариабельна (таблица).

С учетом дефицита RhIg и необходимости увеличения производства отечественного препарата [5] важно изучить опыт заготовки анти-D-плазмы в развитых странах.

Аферез донорской плазмы в разных странах и регионах

Показатель	Россия	США	ЕС	Германия	Великобритания
Максимальная частота донаций в год	24	104	33	45	24
Максимальная частота донаций в неделю	Интервал между донациями – 14 дней	2	1	1	1
Максимальный объем донации, мл	750	800	750	850	1050
Максимальный объем заготовки в год, л	16	83	25	38	15

Россия

Разработан алгоритм отбора доноров плазмы для производства отечественного стандартного образца содержания анти-RhD-антител IgG. Для этого проанализированы данные информационной системы трансфузиологии за период с января 2015 года по декабрь 2020 года о 510 донорах с выявленными антиэритроцитарными антителами. В качестве субстанции для производства стандартного образца предложено использование плазмы крови естественно иммунизированных к D-антигену лиц. В результате анализа требований к аналитическому диапазону методик определения специфической активности антирезусного иммуноглобулина человека установлено, что содержание анти-RhD-антител IgG в производственном пуле плазмы для получения стандартного образца должно составлять не менее 3,75 МЕ/мл. Отбор доноров начинают с формирования из информационной системы трансфузиологии списка лиц с отрицательной резус-принадлежностью и выявленными антиэритроцитарными антителами по результатам медицинского обследования. Потенциальных доноров антирезусной плазмы направляют на иммуногематологическое обследование для определения специфичности антиэритроцитарных и содержания анти-

RhD антител IgG. Наличие специфических антител к D-антигену является основанием для включения информации о доноре в формирующуюся базу данных. С помощью сформулированных принципов отбора создана донорская база, в которую включены 22 женщины (по состоянию на декабрь 2020 г.), в плазме крови которых содержание антирезус Rho(D) антител составляет от 0,1 до 28,5 МЕ/мл [6].

Нидерланды

Для обеспечения программы анти-D-профилактики в Нидерландах (население около 17 млн человек) RhIg частично получали из плазмы доноров, иммунизированных против RhD, а частично импортируют из-за рубежа. В Нидерландах большинство доноров анти-D-плазмы – RhD-отрицательные женщины в возрасте от 45 до 70 лет, которые естественным образом иммунизируются после беременности и рождения RhD-положительного ребенка. Некоторых доноров намеренно иммунизируют, вводя небольшое количество D-положительных эритроцитов. Для удовлетворения национального спроса на анти-D-препараты необходимо около 32 000 флаконов, что соответствует 3200 донорам в год. При условии, что в среднем донор делает 5 донаций в год, для достижения самодостаточности в Нидерландах потребуется 640 доноров. Однако за последние годы группа активных доноров анти-D-плазмы сократилась с 501 человека в декабре 2010 года до 406 человек в декабре 2015 года, поскольку отток доноров превышает приток новых доноров в результате успешной программы профилактики. Важной причиной отказа от донорства является наличие анти-D-антител у доноров, которые были иммунизированы во время беременности и родов до введения анти-D-профилактики

Внимание

Моноклональные препараты анти-D не показали клинической эффективности и в практику развитых стран не внедрены. Единственным источником анти-D остается плазма иммунных доноров.

в 1969 году и достигли максимального возраста для донорства – 70 лет. Доля доноров старшего возраста, которые отказались от донорства, достигла своего пика в 2014 году и к 2018 году стабилизировалась на уровне от 2 до 7% в год.

Алгоритм работы в Нидерландах, если у женщины выявлены анти-D:

- ~ до 45 лет: без гипериммунизации, плазмаферез для низкого титра анти-D до > 45 лет;
- ~ > 45 лет: если женщины согласны => программа гипериммунизации;
- ~ выбор D+ эритроцитов, совместимых с другими антигенами эритроцитов;
- ~ гипериммунизация малыми объемами эритроцитов 3–4 раза.

Если титр > 1 : 512 => программа донорства с высоким титром, если титр < 1 : 512 => программа донорства с низким титром. Если титр падает на 2 ступени или каждый год – реиммунизация теми же эритроцитами.

Моделирование показало, что в Нидерландах для поддержания пула доноров требуется 27 новых доноров в год или (с учетом неэффективной иммунизации) 57 новых иммунизаций в год.

Поскольку все меньше женщин получают новую дозу иммуноглобулина во время беременности и родов, становится все более важным привлекать большее количество недавно получивших дозу иммуноглобулина женщин в качестве доноров анти-D-антител, чтобы увеличить и стабилизировать донорскую базу.

Привлечение женщин с естественным иммунитетом имеет некоторые преимущества по сравнению с привлечением мужчин с искусственным иммунитетом. Во-первых, привлечение женщин предотвращает проблемы в будущем у доноров с искусственным иммунитетом, когда им самим потребуется переливание крови. Наличие антител к RhD может замедлить процесс подготовки подходящей донорской крови, особенно когда люди едут в Азию, где RhD-отрицательных людей меньше, чем в западных странах. Во-вторых, добровольное безвозмездное донорство крови рекомендуется всеми международными организациями (Всемирной организацией здравоохранения, Советом Европы, Международ-

ным обществом переливания крови, Европейским альянсом по переливанию крови), поскольку это лучший способ достичь самообеспечения всеми видами продуктов крови, сохраняя при этом оптимальный уровень качества и безопасности как для реципиентов, так и для доноров.

По результатам анкетирования установлено, что основным препятствием для анти-D донорства было отсутствие знаний. Банк крови должен разработать целевые стратегии рекрутирования доноров с акцентом на распространение знаний об анти-D донорстве среди женщин, иммунизированных RhD [7]. С 2020 года в Нидерландах решили прекратить сбор анти-D плазмы, поскольку Sanquin Plasma Products прекратил выпуск специфических IgG: дополнительные расходы на оптимизацию программы показали избыточными [8, 9].

Великобритания

Известен опыт иммунизации 28 RhD-отрицательных добровольцев мужского пола с использованием индивидуально подобранных RhD-положительных замороженных/размороженных эритроцитов. Схема иммунизации включала введение одной дозы (200 мл) замороженных/размороженных эритроцитов, а затем шесть ежемесячных повторных инъекций (от 0,5 до 1,0 мл) после шестимесячного периода отдыха. В итоге 93% (26 из 28) добровольцев выработали иммунитет. У всех участников исследования выработались анти-D-антитела до второй иммунизации (среднее время обнаружения 4,25 месяца). Ретроспективный анализ показал, что окончательную частоту реакции и уровень анти-D-реакции можно было предсказать уже через 7–8 месяцев после начала иммунизации. Эти результаты имеют значение для принятия решения о прекращении иммунизации. Резус-генотип иммунизирующих клеток, по-видимому, не был важным фактором в определении анти-D-ответа. Преимущество использования замороженных/размороженных эритроцитов для иммунизации заключается в обеспечении оптимального подбора желательных антигенов эритроцитов и минимизации риска передачи заболевания реципиентам [10].

Австралия

В 1966 году в Австралии начали программу сбора анти-D-плазмы. Тщательно отбирали доноров эритроцитов, опасаясь вируса гепатита В. Для доказательства безопасности иммунизации донорами стали сотрудники СПК Нового Южного Уэльса. К 1969 году Австралия стала первой в мире страной, достигшей самообеспечения RhIg. RhIg получали фракционированием по Кону. Плазму заготавливали методом ручного плазмафереза от 356 доноров, в начале 1980-х перешли на аппаратный плазмаферез [11].

Программа Rh. В службе крови Австралии существует «Программа Rh». Участвующие в ней доноры опрашиваются в двух отдельных случаях.

Первое собеседование – информирование донора о программе Rh и знакомство с донором:

- ~ объяснение цели программы Rh;
- ~ предоставление донору письменной информации, которую можно взять с собой и рассмотреть;
- ~ информация об эритроцитах, которые используют для инфузии, и о необходимости носить медицинский браслет;
- ~ информация о потенциальном риске: передача инфекционного заболевания, реакция из-за несовместимости донора и введенных эритроцитов, лихорадка и аллергическая реакция, местный эффект в месте инфузии, развитие антител к эритроцитам и переливание крови.

До первичной дозы иммунизации / первой бустерной дозы производят фенотипирование двух отдельных донаций и архивирование образца.

При втором интервью подтверждают понимание донором программы Rh – обсудил ли он с семьей и лечащим врачом – и если донор решает продолжить, подписывает форму согласия.

Тестирование перед каждой инфузией: должно быть проведено в течение 3 месяцев после инфузии эритроцитов, в него входит:

- ~ определение ABO/Rh;
- ~ скрининг и идентификация нерегулярных антител;
- ~ количественное определение анти-D;

~ обязательный скрининг на инфекционные заболевания, общий анализ крови (ОАК), Ig, общий белок.

Тестирование через 1, 2, 3 месяца: скрининг и идентификация нерегулярных антител, количественное определение анти-D, обязательный скрининг инфекций.

Тестирование через 6 месяцев: как указано выше и дополнительно – общий белок, IgG, IgM, IgA, ОАК.

Если через 6 месяцев у донора нет анти-D, то спустя 12 месяцев после первичной иммунизации проводится скрининг и идентификация нерегулярных антител, а также количественное определение анти-D.

Каждому донору плазмы подбираются два донора эритроцитов. Группа доноров эритроцитов насчитывает 45 человек по всей стране. Они сдают плазму каждые 3 месяца, проходят дополнительное тестирование для аккредитации замороженных донаций. Для обеспечения совместимости с расширенным фенотипом следует учесть, что донор плазмы может подходить только нескольким или всем доступным донорам клеток. Необходимо убедиться, что не образуются дополнительные антитела.

Особое внимание уделяют донору эритроцитов для иммунизации: проводится двукратное исследование для поиска необходимого фенотипа, проверяется соответствие определенным критериям для донора эритроцитов, используются только аккредитованные донации (после 12 месяцев или более). Все обязательные инфекционные скрининговые тесты должны быть отрицательные.

Критерии для прохождения первичной иммунизации: донор без анти-D, согласие на участие, взятие 20–40 мл эритроцитов, стандартный минимальный интервал между инфузиями 3 месяца,

Последующая доза первичной иммунизации 2,5–5,0 мл эритроцитов, бустерная доза 0,5–2,5 мл эритроцитов (для доноров первичной иммунизации и предварительно сформированных доноров). Цель – уровень анти-D > 45 МЕ/мл. Предусмотрено максимум 5 инфузий в течение 12 месяцев и только для достижения личного пикового уровня антител. После достиже-

ния пика – бустер каждые 6 месяцев, индивидуально для этого донора. Если у первичного донора не развились анти-D после 2 инфузий – маловероятно, что это произойдет впоследствии.

Проблемы программы Rh: очень мало доноров с предварительно сформированным анти-D (соответствующих критериям), по критериям отбора подходит небольшой процент доноров, стареющие доноры, длительный процесс реиммунизации и тестирования, удаленность от доноров центров реиммунизации, ~50% уровень сероконверсии [12].

США

В настоящее время США – основной поставщик анти-D плазмы в мире.

Компания Кедрион (Италия) имеет 70 коммерческих плазмоцентров в США (KEDPLASMA), 5 из которых заготавливают плазму с анти-D и еще 3 – приступают к заготовке. Из полученной плазмы компания готовит 2 препарата: RhoGAM – на заводе в США и IMMUNORHO* – на заводе в Италии.

При поддержании спроса на поставки анти-D программа столкнулась с несколькими проблемами:

- ~ Covid-19 ударил по базе доноров анти-D, сократив ее более чем на 25%;
- ~ включение субъектов в программу иммунизации возможно только при соблюдении нескольких требований: RhD-отрицательный фенотип, а это около 15% населения; возраст от 18 до 66 лет (людям старше 66 лет требуется одобрение врача); женщины должны быть уже не в детородном возрасте или быть хирургически неспособными рожать детей;
- ~ ответ на иммунизацию – индивидуальная характеристика. Некоторые реципиенты эритроцитов вырабатывают высокие уровни антител без чрезмерной иммунизации, а другие могут вообще не вырабатывать антитела. Исторический коэффициент конверсии – 30–35%;

* Именно этот препарат чаще других применяли в России до 2024 года.

~ после конверсии процесс стабилизации потенции донора может занять до 12 месяцев.

Регулирование FDA процесса иммунизации. Предлагается тест для потенциальных реципиентов: группы крови ABO; RhD и фенотипы для 13 антигенов эритроцитов. Эритроциты, используемые для иммунизации, должны быть совместимы с эритроцитами реципиента, насколько это возможно, за исключением антигена (D), необходимого для вызова предполагаемого ответа антител. Антигены, считающиеся необходимыми для совместимости, это A, B, D, C, E, c, e, K и Fya.

Для иммунизации человека без антител к анти-D (DENOVO) максимальный объем эритроцитов, который будет использоваться для D-иммунизации, не должен превышать 50 мл в течение четырех месяцев. Лицу с уже существующими антителами максимальный объем эритроцитов, который может быть введен, составляет 4,0 мл за одну инъекцию. Этот объем может быть введен до 5 раз в течение одного месяца, но НЕ может превышать 40 мл эритроцитов в течение любого 6-месячного периода.

Более чем за 40 лет опыта KEDPLASMA разработала лучшие практики для адаптации иммунизации и процедуры усиления в зависимости от индивидуального ответа, соблюдая при этом все требования Регламента FDA [13].

Заключение

Во всем мире профилактику ГБПН инъекциями RhIg получают менее 50% нуждающихся женщин. «Бутылочное горлышко» в производстве достаточного количества RhIg – заготовка донорской плазмы с анти-D.

Анти-D плазму заготавливают от 6 категорий доноров:

А. Женщины:

1. Доноры, с выявленными анти-D при скрининге.
2. Беременные с нерегулярными анти-D.
3. Иммунизированные RhIg.
4. D-отрицательные добровольцы.

Б. Мужчины:

5. Доноры, с выявленными анти-D при скрининге.
6. D-отрицательные добровольцы.

Заготовка анти-D плазмы сложнее, чем сбор других видов плазмы. Требуется несколько месяцев, чтобы обеспечить доноров с адекватными титрами антител, при этом популяционный уровень аллоиммунизации анти-D неопределен. Очень немногие СПК и плазмоцентры специализируются на сборе анти-D плазмы.

Для заготовки анти-D плазмы требуется небольшое количество преданных своему делу добровольцев. Лояльные доноры анти-D плазмы – очень специфический и сокращающийся без поддерживающих мер контингент.

Из литра анти-D плазмы можно изготовить большее количество флаконов специфического иммуноглобулина, чем поливалентный иммуноглобулин или большинство других продуктов плазмы. Это связано с малой дозировкой, необходимой для профилактики ГБПН.

Относительно небольшой объем RhIg может удовлетворить потребности большой популяции.

Список использованной литературы

1. Жибурт Е.Б., Баранова О.В., Ильин А.Б. Гемолитическая болезнь новорожденного // Трансфузиология. 2002. Т. 3, № 3. С. 76–94.
2. Жибурт Е.Б. Детская трансфузиология. М.: Гэотар-Медиа, 2023. 344 с.
3. Bowman J. Thirty-five years of Rh prophylaxis // Transfusion. 2003. Vol. 43. P. 1661–1666. doi: 10.1111/j.0041-1132.2003.00632.x.
4. Thorpe R., Kruse S., Masser B. It is about who you know (and how you help them): Insights from staff and donors about how to recruit and retain a panel of committed anti-D donors // Vox Sang. 2022. Vol. 117. P. 664–670. doi: 10.1111/vox.13242.
5. Российский иммуноглобулин для беременных начнут производить в 2025 году. Российская газета. 07.11.2024.
6. Вильданова Н.С., Кормщикова Е.С., Бутина Е.В. и др. Разработка алгоритма формирования базы доноров плазмы для производства стандартного образца содержания антирезус Rho(D) антител IgG // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2021. Т. 24. № 8. С. 13–20. doi: 10.29296/25877313-2021-08-02.
7. Slootweg Y., Koelewijn J., de Kort W., de Haas M., Merz E. Facilitators and barriers for RhD-immunized women to become

and remain anti-D donors // *Transfusion*. 2018. Vol. 58. P. 960–968. doi: 10.1111/trf.14490.

8. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. Anti-D Immunoglobulin: Exploring collection, production and alternatives (2023).

9. Hyper immunisation of Anti D Donors: The Dutch Experience (2023). <https://www.edqm.eu/documents>.

10. Urbaniak S., Robertson A. A successful program of immunizing Rh-negative male volunteers for anti-D production using frozen/thawed blood // *Transfusion*. 1981. Vol. 21. P. 64–69. doi: 10.1046/j.1537-2995.1981.21181127486.x.

11. Thyer J., Wong J., Thomson A., Bell B., Hyland C., Challis D. Fifty years of RhD immunoglobulin (anti-D) therapy in Australia: celebrating a public health success story // *Med J Aust*. 2018. Vol. 209. P. 336–339. doi: 10.5694/mja17.01144.

12. Rh program in Australia (2023). [edqm.eu/documents/52006/1817818/02](https://www.edqm.eu/documents/52006/1817818/02).

13. The hyper immunization of anti D donors in the US – from Kedrion perspective. [edqm.eu/documents/52006/](https://www.edqm.eu/documents/52006/).



Не забыть
подписаться
8 (800) 511-98-62

«АКТИОН» Медицина

Реклама