

**Об утверждении правил определения иммунологической совместимости тканей при трансплантации органов (части органа) и(или) тканей (части ткани) и положения о деятельности HLA-лаборатории**

Приказ и.о. Министра здравоохранения Республики Казахстан от 27 октября 2020 года № ҚР ДСМ-159/2020. Зарегистрирован в Министерстве юстиции Республики Казахстан 29 октября 2020 года № 21528.

      В соответствии с пунктом 2 статьи 211 Кодекса Республики Казахстан от 7 июля 2020 года "О здоровье народа и системе здравоохранения" ПРИКАЗЫВАЮ:

      1. Утвердить:

      1) правила определения иммунологической совместимости тканей при трансплантации органов (части органа) и(или) тканей (части ткани) согласно приложению 1 к настоящему приказу;

      2) положение о деятельности HLA-лаборатории согласно приложению 2 к настоящему приказу.

      2. Признать утратившим силу Приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан от 8 апреля 2019 года № ҚР ДСМ-21 "Об утверждении Положения об HLA-лаборатории" (зарегистрирован в Реестре государственной регистрации нормативных правовых актов под № 18479, опубликован 16 апреля 2019 в Эталонном контрольном банке нормативных правовых актов Республики Казахстан в электронном виде).

      3. Департаменту организации медицинской помощи Министерства здравоохранения Республики Казахстан в установленном законодательством Республики Казахстан порядке обеспечить:

      1) государственную регистрацию настоящего приказа в Министерстве юстиции Республики Казахстан;

      2) размещение настоящего приказа на интернет-ресурсе Министерства здравоохранения Республики Казахстан;

      3) в течение десяти рабочих дней со дня государственной регистрации настоящего приказа в Юридический департамент Министерства здравоохранения Республики Казахстан сведений об исполнении мероприятий, предусмотренных подпунктами 1) и 2) настоящего пункта.

      4. Контроль за исполнением настоящего приказа возложить на вице-министра здравоохранения Республики Казахстан Гиният А.

      5. Настоящий приказ вводится в действие по истечении десяти календарных дней после дня его первого официального опубликования.

|  |  |
| --- | --- |
| *Исполняющий обязанности Министра здравоохранения*  *Республики Казахстан* | *М. Шоранов* |

|  |  |
| --- | --- |
|  | Приложение 1 к приказу Исполняющего обязанности Министра здравоохранения Республики Казахстан от 27 октября 2020 года № ҚР ДСМ-159/2020 |

**Правила определения иммунологической совместимости тканей при трансплантации органов (части органа) и(или) тканей (части ткани)**

**Глава 1. Общие положения**

      1. Настоящие Правила определения иммунологической совместимости тканей при трансплантации органов (части органа) и(или) тканей (части ткани) (далее – Правила) разработаны в соответствии с пунктом 2 статьи 211 Кодекса Республики Казахстан от 7 июля 2020 года "О здоровье народа и системе здравоохранения" (далее – Кодекс) и определяют порядок определения иммунологической совместимости тканей при трансплантации органов (части органа) и(или) тканей (части ткани).

      2. В настоящих Правилах используются следующие понятия:

      1) аллель – различные формы одного и того же гена, расположенные в одинаковых участках (локусах) парных хромосом;

      2) антигены – молекулы гликопротеинов, расположенные на поверхности клеточной мембраны лейкоцитов, отвечающие за распознавание чужеродных агентов;

      3) гемопоэтические стволовые клетки – кроветворные клетки костного мозга человека, обладающие полипотентностью и находящиеся в процессе жизни в костном мозге, периферической крови и пуповинной крови;

      4) регистр доноров гемопоэтических стволовых клеток (костного мозга) – перечень лиц, согласных на безвозмездное донорство гемопоэтических стволовых клеток (костного мозга) и типированных по системе-НLА;

      5) гены – участки хромосом, кодирующие структуру и функции антигенов;

      6) тканевая совместимость – сходство тканей донора и потенциального реципиента по специфическим антигенам системы-HLA, определяющее совместимость донора и реципиента при трансплантации органов (части органа) и(или) тканей (части ткани);

      7) локус – линейный участок хромосомы, занимаемый одним геном;

      8) секвенирование нуклеиновых кислот — определение их первичной аминокислотной или нуклеотидной последовательности;

      9) сенсибилизация – приобретение организмом специфической повышенной чувствительности к чужеродным антигенам;

      10) солидные органы – все плотные органы организма, такие как почки, сердце, легкие, печень, поджелудочная железа;

      11) HLA-исследования – комплекс лабораторных исследований проводимые для определения иммунологической совместимости тканей при трансплантации органов (части органа) и(или) тканей (части ткани);

      12) HLA-система – система антигенов, расположенная на лейкоцитах человека и определяющая тканевую совместимость донора и реципиента при трансплантации органов и тканей, а также гемопоэтических стволовых клеток;

      13) HLA-фенотип – индивидуальные иммунологические параметры человека, кодируемые генетически;

      14) фрагментный анализ – определение размера фрагментов ДНК и(или) интенсивности флуоресценции меченых фрагментов ДНК;

      15) STR-локусы – молекулярные маркеры в генетических и геномных исследованиях, которые являются варьирующими участками в ядерной ДНК, состоящие из повторяющихся мономеров;

      16) профильный специалист – медицинский работник с высшим медицинским образованием, имеющий сертификат по определенной специальности;

      17) республиканский трансплантационный координатор – врач, обеспечивающий координацию работы региональных трансплантационных координаторов и эффективное межведомственное взаимодействие медицинских организаций по вопросам службы трансплантации в Республике Казахстан, являющийся штатным сотрудником Координационного центра;

      18) региональный трансплантационный координатор – врач, обеспечивающий межведомственное взаимодействие медицинских организаций в области трансплантации органов (части органа) и (или) тканей (части ткани) в областных центрах, городах республиканского значения и столице, являющийся штатным сотрудником Координационного центра;

      19) стационарный трансплантационный координатор – врач, являющийся штатным сотрудником донорской организации и находящийся в подчинении регионального трансплантационного координатора по вопросам координации службы трансплантации в соответствующей области, городе республиканского значения, столице;

      20) регистр потенциальных реципиентов органов (части органа) и (или) тканей (части ткани) (далее – регистр) - база данных потенциальных реципиентов органов (части органа) и (или) тканей (части ткани);

      21) медицинская информационная система – информационная система, обеспечивающая ведение процессов субъектов здравоохранения в электронном формате;

      22) метод SSP – типирование методом полимеразно-цепной реакции с использованием сиквенс-специфических праймеров;

      23) метод SBT – типирование методом секвенирования нуклеиновых кислот путем определения нуклеотидной последовательности дезоксирибонуклеиновой кислоты;

      24) метод SSO – типирование методом полимеразно-цепной реакции, с использованием флуоресцентно-меченных микросфер, несущих на поверхности сиквенс-специфические олигонуклеидные зонды;

      25) метод NGS – это секвенирование следующего (или) нового поколения для определения нуклеотидной последовательности ДНК и РНК с целью получения описания еҰ первичной структуры;

      26) метод ИФА – определение лейкоцитарных антител постановкой иммуноферментного анализа;

      27) метод флуоресцентной цитометрии – определение лейкоцитарных антител с использованием флуоресцентно-меченых микросфер, несущих на поверхности лейкоцитарные антигены.

      Сноска. Пункт 2 с изменениями, внесенными приказом Министра здравоохранения РК от 30.09.2021 № КР ДСМ -101 (вводится в действие по истечении десяти календарных дней после дня его первого официального опубликования).

**Глава 2. Порядок определения иммунологической совместимости тканей при трансплантации органов (части органа) и(или) тканей (части ткани)**

      3. Определение иммунологической совместимости тканей при трансплантации органов (части органа) и(или) тканей (части ткани) проводится:

      1) для потенциальных реципиентов и их доноров при трансплантации органов (части органа) от прижизненного и (или) посмертного донора;

      2) для потенциальных реципиентов, не имеющих прижизненного донора и включенных в регистр;

      3) для реципиентов и доноров при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.

      Сноска. Пункт 3 - в редакции приказа Министра здравоохранения РК от 30.09.2021 № КР ДСМ -101 (вводится в действие по истечении десяти календарных дней после дня его первого официального опубликования).

      4. Определение иммунологической совместимости реципиента и донора осуществляется на основании предоставленных в HLA-лабораторию:

      1) гражданами Республики Казахстан, получающих услуги по трансплантации на территории Республики Казахстан в рамках гарантированного объема бесплатной медицинской помощи, направления из центра трансплантации Республики Казахстан, где планируется оказание услуг по трансплантации;

      2) лицами, не являющимися гражданами Республики Казахстан и получающих услуги по трансплантации на территории Республики Казахстан в рамках договора, заключенного с центрами трансплантации, направления из данных центров трансплантации;

      3) лицами, не являющимися гражданами Республики Казахстан, выступающих в качестве потенциального прижизненного донора для гражданина Республики Казахстан, получающего услуги по трансплантации на территории Республики Казахстан в рамках гарантированного объема бесплатной медицинской помощи, направления из центра трансплантации Республики Казахстан, где планируется оказание услуг по трансплантации;

      4) лицами, не являющимися гражданами Республики Казахстан и не получающих услуги по трансплантации солидных органов на территории Республики Казахстан, в рамках возмездного договора с лабораторией, направления оформленного на официальном бланке уполномоченного органа в области здравоохранения страны, гражданином которой является потенциальный живой донор и(или) реципиент;

      5) лицами, не являющимися гражданами Республики Казахстан и не получающих услуги по трансплантации гемопоэтических стволовых клеток на территории Республики Казахстан, в рамках возмездного договора с лабораторией, направления оформленного на официальном бланке уполномоченного органа в области здравоохранения страны, гражданином которой является пациент и(или) его потенциальный живой донор, и(или) зарубежного центра трансплантации;

      6) лицами, являющимися гражданами Республики Казахстан, планирующих получение возмездной услуги по трансплантации солидного органа в зарубежной клинике, в рамках возмездного договора с лабораторией, направления оформленного на официальном бланке указанной клиники или центра трансплантации Республики Казахстан, заключенного с реципиентом и(или) донором;

      7) лицами, являющимися гражданами Республики Казахстан, планирующих получение возмездной услуги по трансплантации гемопоэтических стволовых клеток в зарубежной клинике, в рамках возмездного договора с лабораторией на основании направления оформленного на официальном бланке указанной клиники или центра трансплантации Республики Казахстан;

      8) лицами, являющимися гражданами Республики Казахстан, получающих услуги по трансплантации солидного органа или гемопоэтических стволовых клеток в зарубежной клинике в рамках программы "Лечение за рубежом", в рамках гарантированного объема бесплатной медицинской помощи, направления уполномоченного органа в области здравоохранения или центра трансплантации Республики Казахстан.

      5. В официальном бланке медицинской организации указываются:

      Ф.И.О (при наличии), дата рождения, гражданство, национальность, группа крови и резус-принадлежность, адрес проживания реципиента и его потенциального прижизненного донора (доноров);

      информация о диагнозе реципиента;

      гемотрансфузионный, акушерский и трансплантационный анамнезы реципиента;

      планируемый вид оперативного вмешательства;

      информация о лечащем враче и его контакты для передачи результатов.

      6. После подтверждения направления осуществляется забор образцов крови для проведения HLA-исследований по определению иммунологической совместимости тканей при трансплантации органов (части органа) и(или) тканей (части ткани).

      7. Перед забором крови на пробирке указываются Ф.И.О (при наличии) и дата рождения реципиента и(или) донора, группа крови и резус-принадлежность, дата и время забора.

      Забор образца крови у реципиента и(или) донора производится из вены в соответствующую вакуумную пробирку согласно приложению 1 к настоящим Правилам. Для HLA-типирования молекулярно-генетическим методом забор крови не проводится из фистульной вены, а также у реципиентов, получающих гепаринсодержащие препараты и после процедуры гемодиализа.

      После заполнения пробирки с кровью аккуратно перемешиваются путем 8-10-кратного переворачивания пробирки.

      Образцы крови сопровождаются направлением с обязательным заполнением всех граф согласно документу, удостоверяющему личность реципиента и(или) донора и заверенного печатью или штампом направляющей организации (врача). В случае, если реципиент и(или) донор не достиг 18-ти лет, то прилагается копия свидетельства о рождении.

      8. Транспортировка образцов крови осуществляется при температуре от +2 °С до +8 °С в защищенных от света термоконтейнерах (сумка-холодильник) с теплоизолирующими свойствами и плотно прилегающей крышкой. Пробы транспортируются в вертикальном положении в штативах для пробирок. Срок доставки проб составляет 24 часа с момента забора образца крови для серологических анализов и 72 часа для других видов анализов.

      9. При наличии гемолиза, перегрева, замораживания или по истечении срока с момента забора образец крови не принимается для исследования.

      10. Результаты исследований по определению гистосовместимости, проведенные в зарубежных лабораториях, не признаются действительными для принятия решения о возможности проведения трансплантации в Республике Казахстан.

      Результаты HLA-исследований передаются в организацию здравоохранения (лечащему врачу или курьеру, имеющему доверенность или доверенному лицу, указанному в официальном письме) направившую материал для исследований. При передачи результатов исследований используются защищенные интернет-каналы и дополнительная защита файла паролем с соблюдением норм конфиденциальности.

      Не допускается передача результатов потенциальному донору или реципиенту, а также их родственникам.

**Параграф 1. Порядок определения иммунологической совместимости у реципиентов и доноров при трансплантации органов (части органа) от прижизненного донора и(или) посмертного донора**

      11. Для определения иммунологической совместимости у реципиентов и доноров при трансплантации почки и поджелудочной железы от прижизненного и(или) посмертного донора сотрудниками HLA-лаборатории проводится первичное определение гистосовместимости по локусам А, В и Сw I класса и локусу DRB1 II класса HLA-системы. Для определения гистосовместимости проводится типирование прижизненного донора и реципиента по указанным локусам.

      Первичное типирование осуществляется серологическим методом на низкоразрешающем уровне локусов А, В и Сw I класса. Проводится подтверждающее типирование А, В и DRB1 локусов реципиента и подобранного донора молекулярно-генетическим методом на низкоразрешающем уровне методом SSP или SSO из нового образца крови.

      Дважды определенный результат типирования, полученный с использованием двух разных образцов крови в лабораториях иммунологического типирования, определенных в соответствии с законодательством Республики Казахстан, является окончательным.

      12. Реципиенты, нуждающиеся в трансплантации органа (ткани), проверяются на наличие HLA-антител по направлению врача-трансплантолога стационара и(или) республиканского координатора. При установлении наличия антител определяется их уровень и специфичность. Уровень антител выражается в процентах. Установление наличия в крови реципиента HLA-антител и определение их специфичности осуществляется с целью эффективного подбора донора.

      Если реципиенту проводились переливания компонентов крови, то скрининг антител проводится после 14 дней от момента сенсибилизации организма (переливания компонентов крови). Определение уровня (процента) сенсибилизации проводится с сывороткой реципиента, отобранной не ранее чем за 48 часов до операции.

      Определение наличия HLA-антител проводится методом ИФА (Elisa test) или флуоресцентной цитометрии. При сложных случаях оценка сенсибилизации лейкоцитарными антителами оценивается в совокупности указанных методов.

      При наличии HLA-антител у реципиента для диагностики донор-специфических антител, типирование прижизненного и(или) посмертного донора проводится по локусам HLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DQA, DPВ, DPА. Типирование проводится молекулярно-генетическим методом на низкоразрешающем уровне SSP или SSO.

      13. Для окончательного решения вопроса о совместимости донора и реципиента при органной трансплантации для всех пар потенциальных реципиентов и доноров проводится проба на совместимость "кросс-матч".

      Проба на совместимость "кросс-матч" выполняется серологическим методом на основе лимфоцитотоксического теста. Для подтверждения результатов, полученных серологическим методом, проводится проба на совместимость методом проточной цитометрии.

      Первичный "кросс-матч" проводится для определения совместимых родственных доноров на этапе подбора из числа живых доноров, а также с архивированной сывороткой реципиентов при трансплантации от посмертного донора.

      Перед проведением операции ставится актуальный "кросс-матч" с сывороткой, отобранной в течение 48 часов до операции, и является обязательным для подбора среди прижизненных и(или) посмертных доноров.

      Для определения прогнозируемой совместимости донора и реципиента врачом-трансплантологом проводится сопоставление результатов типирования донора и реципиента с учетом результатов определения HLA-антител и пробы на совместимость "кросс-матч".

      Трансплантация органа осуществляется на основании отрицательного результата актуального "кросс-матча".

      Сноска. Пункт 13 - в редакции приказа Министра здравоохранения РК от 30.09.2021 № КР ДСМ -101 (вводится в действие по истечении десяти календарных дней после дня его первого официального опубликования).

      14. Для определения иммунологической совместимости у реципиентов и доноров при трансплантации печени от прижизненного донора и при трансплантации печени, сердца и органокомплекса "сердце-легкие" от посмертного донора, реципиенты проверяются на наличие HLA-антител по направлению врача-трансплантолога стационара и(или) республиканского координатора.

      При наличии HLA-антител определяется их уровень и специфичность согласно порядку и методами указанные в пункте 12 настоящих Правил.

      При отсутствии лейкоцитарных антител HLA-типирование реципиента и донора, а также проведение пробы на совместимость "кросс-матч" не обязательно.

      При наличии лейкоцитарных антител реципиентам и их донорам HLA-типирование и проба на совместимость "кросс-матч" проводится согласно порядку, указанному в пунктах 11 и 13 настоящих Правил.

      15. Реципиенты, перенесшие трансплантацию органа (части органа) от посмертного или прижизненного донора, по направлению профильного специалиста или специалиста ПМСП проверяются на наличие HLA-антител методом флуоресцентной цитометрии со следующей кратностью:

      на 14 день после трансплантации;

      через месяц после трансплантации;

      в первый год каждые 3 месяца после трансплантации;

      при отрицательном статусе 1 раз в год;

      при положительном статусе каждые 3 месяца.

      Для установления донор-специфических антител проводится дополнительное типирование донора по локусам HLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DQA, DPВ, DPА для диагностики донор-специфических антител по направлению врача-трансплантолога центра трансплантации, профильного специалиста или специалиста ПМСП. Типирование проводится на низкоразрешающем уровне молекулярно-генетическим методом SSP или SSO. При необходимости подтверждения результатов, полученных на низкоразрешающем уровне, проводится типирование на высоком уровне (SBT).

      Наличие донор-специфических антител является ранним маркером отторжения трансплантата. При наличии в полученных результатах донор-специфических антител проводится коррекция уровня иммуносупрессивными препаратами.

      Сноска. Пункт 15 - в редакции приказа Министра здравоохранения РК от 30.09.2021 № КР ДСМ -101 (вводится в действие по истечении десяти календарных дней после дня его первого официального опубликования).

**Параграф 2. Порядок определения иммунологической совместимости у потенциальных реципиентов, включенных в регистр**

      Сноска. Заголовок параграфа 2 - в редакции приказа Министра здравоохранения РК от 30.09.2021 № КР ДСМ -101 (вводится в действие по истечении десяти календарных дней после дня его первого официального опубликования).

      16. Для определения иммунологической совместимости у потенциальных реципиентов, включенных в регистр, забор крови для HLA-исследования проводится на основании направления от профильного специалиста или специалиста ПМСП.

      Забор крови проводится по графику в региональных центрах крови и(или) поликлиниках по месту жительства, за исключением реципиентов, находящихся на диализе. Реципиентам, получающим диализ, забор крови проводится в диализных центрах.

      Обеспечение расходными материалами для забора крови и доставка образцов крови в HLA-лабораторий осуществляется региональным центром крови.

      Сноска. Пункт 16 с изменением, внесенным приказом Министра здравоохранения РК от 30.09.2021 № КР ДСМ -101 (вводится в действие по истечении десяти календарных дней после дня его первого официального опубликования).

      17. Для потенциальных реципиентов, включенных в регистр, определяется HLA-фенотип. Типирование реципиентов проводится по локусам А и В I класса и локусу DRB1 II класса, молекулярно-генетическим методом на низко разрешающем уровне (SSP или SSO). При появлении прижизненного донора, потенциальному реципиенту, находящемуся в регистре, проводится подтверждающее типирование из нового образца крови.

      Для посмертного донора проводится типирование по локусам HLA- А, В и DRB1 молекулярно-генетическим методом на низко разрешающем уровне (SSP или SSO) по направлению республиканского трансплантационного координатора.

      Информация об HLA-фенотипе реципиента включается в медицинскую информационную систему.

      Сноска. Пункт 17 - в редакции приказа Министра здравоохранения РК от 30.09.2021 № КР ДСМ -101 (вводится в действие по истечении десяти календарных дней после дня его первого официального опубликования).

      18. При включении в регистр или подготовке к родственной трансплантации потенциальным реципиентам, нуждающимся в трансплантации органа (части органа), проводится определение наличия лейкоцитарных антител по направлению врача-трансплантолога или профильного специалиста (при его отсутствии, участкового терапевта или врача общей практики).

      В дальнейшем для лиц, включенных в регистр, наличие HLA-антител определяется с кратностью один раз в три месяца. При наличии антител определяется их уровень и специфичность. Уровень HLA-антител выражается в процентах. Определение наличия HLA-антител проводится методом ИФА (Elisa test) или флуоресцентной цитометрии. При сложных случаях оценка сенсибилизации лейкоцитарными антителами оценивается в совокупности указанных методов.

      Информация об уровне сенсибилизации, выраженной в процентах, включается в медицинскую информационную систему.

      Сноска. Пункт 18 - в редакции приказа Министра здравоохранения РК от 30.09.2021 № КР ДСМ -101 (вводится в действие по истечении десяти календарных дней после дня его первого официального опубликования).

      19. При выявлении посмертного донора проводится первичная проба на совместимость "кросс-матч" с образцом крови потенциальных реципиентов, отобранных медицинской информационной системой, по направлению республиканского координатора.

      Актуальная проба на совместимость "кросс-матч" проводится по направлению врача трансплантолога центра трансплантации. Трансплантация органа осуществляется на основании отрицательного результата актуального "кросс-матча".

      Сноска. Пункт 19 - в редакции приказа Министра здравоохранения РК от 30.09.2021 № КР ДСМ -101 (вводится в действие по истечении десяти календарных дней после дня его первого официального опубликования).

**Параграф 3. Порядок определения иммунологической совместимости у реципиентов и доноров при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (костного мозга)**

      20. Для определения иммунологической совместимости у реципиентов и доноров при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (костного мозга) сотрудниками HLA-лаборатории проводится первичное определение гистосовместимости реципиента и его потенциальных доноров по локусам А, В и С I класса и локусам DRB1, DQB1 II класса на низкоразрешающем уровне молекулярно-генетическим методом (SSP или SSO) по направлению врача-гематолога.

      Для определения окончательной гистосовместимости по указанным локусам проводится подтверждающее типирование реципиента и подобранного донора молекулярно-генетическим методом на высоком уровне разрешения (SBT/NGS) из нового образца крови по направлению врача-гематолога.

      Определение прогнозируемой совместимости донора и реципиента проводится врачом-гематологом путем сопоставления результатов типирования донора и реципиента.

      21. Для диагностики донорспецифических антител реципиенту проводится определение процента сенсибилизации и(или) специфичности HLA-антител методом флуоресцентной цитометрии.

      22. Для реципиентов, не имеющих родственных доноров, формируется Национальный Регистр доноров гемопоэтических стволовых клеток (далее – Регистр).

      У лиц, изъявивших желание войти в Регистр, проводится определение HLA-фенотипа по локусам А, В и С I класса и локусам DRB1, DQB1 II класса молекулярно-генетическим методом на высоком уровне разрешения (SBT/NGS) по направлению специалистов Национального Регистра.

      Если в результате поиска в Регистре будет найден донор, соответствующий по генотипу потенциальному реципиенту, после получения согласия донора на донацию гемопоэтических стволовых клеток проводится подтверждающее типирование молекулярно-генетическим методом на высоком уровне разрешения (SBT/NGS) из нового образца крови.

      Информация об HLA-фенотипе потенциальных доноров включается в электронную базу данных Регистра.

      Ведение Регистра доноров гемопоэтических стволовых клеток (костного мозга) осуществляется в соответствии с подпунктом 1) статьи 215 Кодекса.

      23. Для реципиентов, нуждающихся в трансплантации стволовых клеток, формируется банк пуповинной крови и по запросу врача-гематолога подбираются совместимые по HLA-фенотипу дозы пуповинной крови.

      HLA-типирование пуповинной крови проводится по локусам А, В и DRB1 молекулярно-генетическим методом на низком уровне разрешения (SSP/SSO) по направлению специалистов банка пуповинной крови.

      Информация об HLA-фенотипе пуповинной крови передается специалистам банка пуповинной крови.

      24. Для реципиентов, перенесших трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток, по направлению врача-гематолога определяется донорский химеризм с целью определения степени приживления трансплантата и предсказания рецидива основного заболевания.

      Определение донорского химеризма проводится молекулярно-генетическим методом путем проведения фрагментного анализа STR-локусов и (или) ПЦР в режиме реального времени.

      Для определения донорского химеризма у реципиентов после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток используются образцы крови реципиента, взятые до и после проведения трансплантации, и образец крови донора.

      Результат выражается в процентном соотношении наличия донорских генов в образце крови реципиента.

      25. Для реципиентов с иммунологической рефрактерностью и наличием лейкоцитарных антител сотрудниками HLA-лаборатории проводится индивидуальный подбор тромбоцитов.

      При высоких процентах сенсибилизации лейкоцитарных антител в крови реципиента проводится типирование реципиента по локусам А, В и С I класса и локусам DRB1, DQB1 II класса на низкоразрешающем уровне молекулярно-генетическим методом (SSP или SSO) для поиска подходящего донора крови по HLA-фенотипу.

      База HLA-типированных доноров крови создается по локусам А, В и С I класса HLA-системы на низкоразрешающем уровне серологическим методом.

      Индивидуальный подбор компонентов крови проводится на основе лимфоцитотоксического теста "кросс-матч" c сывороткой реципиента и образцом крови донора имеющим совпадение по антигенам локуса А, В и С I класса системы HLA. При отсутствии донора крови с совпадением HLA-фенотипа индивидуальный подбор тромбоцитов проводится на основании лимфоцитотоксического теста "кросс-матч" без учета HLA-фенотипа донора.

      К переливанию выдаются тромбоциты с отрицательным результатом индивидуального подбора компонентов крови на основе лимфоцитотоксического теста "кросс-матч".

      При высокой сенсибилизации реципиента лейкоцитарными антителами (выше 50%) переливаются дозы тромбоцитов, имеющих самый низкий уровень цитотоксичности лимфоцитотоксического теста (2+ или 4+).

      При отсутствии донора с отрицательным и низким уровнем цитотоксичности лимфоцитотоксического теста, переливание тромбоцитов проводится от доноров, имеющих большое количество совпадений по антигенам локусов А, В и С I класса системы HLA.

|  |  |
| --- | --- |
|  | Приложение к правилам определения иммунологической совместимости тканей при трансплантации органов (части органа) и (или) тканей (части ткани) |

**Перечень исследований для проведения иммунологической совместимости тканей**  
**при трансплантации органов (части органа) и(или) тканей (части ткани)**

      Сноска. Перечень - в редакции приказа Министра здравоохранения РК от 30.09.2021 № КР ДСМ -101 (вводится в действие по истечении десяти календарных дней после дня его первого официального опубликования).

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Наименование исследования | Реципиент и(или) донор | Количество пробы (мл) | Наименование пробы, наличие наполнителя | Вид исследования |
| Проведение иммунологической совместимости у реципиентов и доноров при трансплантации органов от прижизненного и(или) посмертного донора | | | | |
| Фенотипирование крови по HLA-системе серологическим методом (антигены класса I-Локусы А,В,С) низкое разрешение | Реципиент | 5-9 | Кровь, антикоагулянт литии-гепарин | Серологический |
| Донор органа | 5-9 | Серологический |
| Постановка пробы на совместимость "кросс матч" | Реципиент | 5-9 | Кровь, гель и активатор свертывания | Серологический |
| Донор органа | 5-9 | Кровь, антикоагулянт литии-гепарин | Серологический |
| Генотипирование крови по HLA-системе методом SSP антигены класс I и II, локусы А, В, DRB1 среднее разрешение | Реципиент | 5-9 | Кровь, антикоагулянт К2ЭДТА | Молекулярно-генетический |
| Донор органа | 5-9 | Кровь, антикоагулянт К2ЭДТА | Молекулярно-генетический |
| Определение уровня сенсибилизации-процента HLA-антител в образце сыворотки методом ИФА (Elisa test) | Реципиент | 5-9 | Кровь, гель и активатор свертывания | ИФА |
| Определение наличия HLA-антител в образце сыворотки методом проточной флуорометрии | Реципиент | 5-9 | Кровь, гель и активатор свертывания | Проточная цитометрия |
| Определение специфичности HLA-антител 1 и 2 класса в образце сыворотки методом проточной флуорометрии | Реципиент | 5-9 | Кровь, гель и активатор свертывания | Проточная цитометрия |
| Определение процента сенсибилизации сыворотки HLA-антителами методом проточной цитометрии | Реципиент | 5-9 | Кровь, гель и активатор свертывания | Проточная цитометрия |
| Генотипирование крови по генам HLA-А, В, С, DRB1, DQB1/DQА1, DPB1/DPA1 методом ПЦР-SSP | Реципиент и(или) донор | 5-9 | Кровь, антикоагулянт К2ЭДТА | Молекулярно-генетический |
| Индивидуальный подбор тромбоцитов по лейкоцитарным антигенам реципиентам с рефрактерностью к тромбоцитам | | | | |
| Индивидуальный подбор компонентов крови на основе лимфоцитотоксического теста "кросс -матч" | Реципиент | 5-9 | Кровь, гель и активатор свертывания | Серологический |
| Донор крови и ее компонентов | 8-9 | Кровь, антикоагулянт литии-гепарин | Серологический |
| Определение иммунологической совместимости у реципиентов и доноров при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток от родственных доноров | | | | |
| Генотипирование крови по HLA-системе методом SSP класс I и II, локусы А, В, С, DRB1, DQB1 среднее разрешение | Реципиент | 5-9 | Кровь, антикоагулянт К2ЭДТА | Молекулярно-генетический |
| Донор ГСК | 5-9 | Молекулярно-генетический |
| Определение генов главного комплекса гистосовместимости по локусам А,В,С,DRB1, DRQB1 с разделением на гаплотипы методом SBT (High resolution) | Реципиент | 5-9 | Кровь, антикоагулянт К2ЭДТА | Молекулярно-генетический |
| Донор ГСК | 5-9 | Молекулярно-генетический |
| Определение генов HLA - А, В, С, DRB1, DQA1/DQB1, DPB1/DPA1 на высоком разрешении методом NGS | Донор ГСК | 5-9 | Кровь, антикоагулянт К2ЭДТА | Молекулярно-генетический |
| Определение иммунологической совместимости у потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток включенных в Национальный Регистр доноров гемопоэтических стволовых клеток и банки пуповинной крови | | | | |
| Типирование генов HLA-А, В, С, DRB1, DQB1 без разделения на гаплотипы (высокое разрешение) молекулярно-генетическим методом | Донор ГСК для вступления в Регистр ГСК | 8-9 | Кровь, антикоагулянт К2ЭДТА | Молекулярно-генетический |
| Определение генов HLA - А, В, С, DRB1, DQA1/DQB1, DPB1/DPA1 на высоком разрешении методом NGS | Донор ГСК | 8-9 | Кровь, антикоагулянт К2ЭДТА | Молекулярно-генетический |
| Генотипирование крови по HLA-системе методом SSP антигены класс I и II, локусы А, В, DRB1 среднее разрешение | Образцы пуповинной крови | 1-2 | - | Молекулярно-генетический |
| Проведение иммунологической совместимости у реципиентов, включенных в регистр | | | | |
| Определение антигенов HLA-А, В, DR локусов методом проточной цитофлуориметрии | Реципиент и(или) донор | 8-9 | Кровь, антикоагулянт К2ЭДТА | Молекулярно-генетический |
| Определение наличия HLA-антител в образце сыворотки методом проточной флуорометрии | Реципиент | 8-9 | Кровь, гель и активатор свертывания | Проточная цитометрия |
| Определение процента сенсибилизации сыворотки HLA-антителами методом проточной цитометрии | Реципиент | 8-9 | Кровь, гель и активатор свертывания | Проточная цитометрия |
| Определение донорского химеризма у реципиентов после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (костного мозга) | | | | |
| Определение химеризма у пациента после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток методом капиллярного секвенирования | Реципиент (образец крови до трансплантации и после трансплантации) | 5-9 | Кровь, антикоагулянт К2ЭДТА | Молекулярно-генетический |
| Донор ГСК | 5-9 | Кровь, антикоагулянт К2ЭДТА | Молекулярно-генетический |

|  |  |
| --- | --- |
|  | Приложение 2 к приказу |

**Положение о деятельности HLA-лаборатории**

**Глава 1. Общие положения**

      1. Настоящее Положение о деятельности HLA-лаборатории разработано в соответствии с пунктом 2 статьи 211 Кодекса Республики Казахстан от 7 июля 2020 года "О здоровье народа и системе здравоохранения" (далее – Кодекс) и определяют положение о деятельности HLA-лаборатории.

      2. HLA - лаборатории функционируют как структурное подразделение при организациях, осуществляющих деятельность в сфере донорства, заготовки крови, ее компонентов и препаратов.

      3. К HLA - лабораториям относятся:

      1) центральная лаборатория иммунологического типирования тканей (части тканей) и(или) органов (части органов) (далее – Центральная лаборатория), которая создается при республиканской государственной медицинской организации, осуществляющей научную деятельность и деятельность в сфере донорства, заготовки крови, ее компонентов и препаратов;

      2) локальная лаборатория иммунологического типирования тканей (части тканей) и(или) органов (части органов) (далее – локальная лаборатория), которая создается при государственных медицинских организациях, осуществляющих деятельность в сфере донорства, заготовки крови, ее компонентов и препаратов в областях и городах республиканского значения.

      4. В своей работе HLA - лаборатории руководствуются Конституцией Республики Казахстан, Кодексом Республики Казахстан "О здоровье народа и системе здравоохранения", настоящим положением, приказами Министерства здравоохранения Республики Казахстан, регламентирующими вопросы иммунологического обследования доноров и реципиентов при трансплантации тканей (части тканей) и(или) органов (части органов).

      5. HLA - лаборатории осуществляют деятельность по вопросам иммунологического обследования доноров и реципиентов при трансплантации тканей (части тканей) и(или) органов (части органов) в круглосуточном режиме.

**Глава 2. Задачи HLA-лабораторий**

      6. Основными задачами HLA-лаборатории являются:

      1) центральная лаборатория:

      организационно-методическое руководство локальными лабораториями;

      консультативная помощь локальным лабораториям;

      научная деятельность по исследованию лейкоцитарных антигенов человека (далее – HLA);

      образовательная деятельность по вопросам иммунологического обследования доноров и реципиентов при трансплантации тканей (части тканей) и(или) органов (части органов);

      обеспечение всеми видами иммунологического исследования реципиентов и их доноров для организаций, осуществляющих трансплантацию органов (части органа) и(или) тканей (части ткани);

      проведение иммунологического обследования реципиентов, состоящих в Листе ожидания курируемого региона;

      проведение экспертных лабораторных исследований по иммунологическому обследованию доноров и реципиентов при трансплантации тканей (части тканей) и(или) органов (части органов) для локальных лабораторий при спорных и сложных случаях;

      2) локальная лаборатория:

      обеспечение всеми видами иммунологического исследования реципиентов и их доноров для организаций, осуществляющих трансплантацию органов (части органа) и(или) тканей (части ткани);

      проведение иммунологического обследования реципиентов, состоящих в Листе ожидания курируемого региона;

      организация сбора сывороток реципиентов, нуждающихся в проведении трансплантации тканей (части тканей) и(или) органов (части органов) (далее – реципиентов);

      проведение HLA-исследований для иммунологического контроля за приживлением пересаженных органов и тканей.

**Глава 3. Функции HLA- лабораторий**

      7. В соответствии с поставленными задачами HLA-лаборатории осуществляют следующие функции:

      1) проведение HLA-исследований у реципиентов и доноров при трансплантации почек и поджелудочной железы от прижизненного и(или) посмертного донора;

      2) проведение HLA-исследований у реципиентов и доноров при трансплантации других органов (печень, сердце и другие) прижизненного и(или) посмертного донора;

      3) проведение HLA-типирования реципиентов и доноров при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (костного мозга) от родственных доноров;

      4) проведение HLA-исследований у реципиентов, включаемых Лист ожидания курируемого региона;

      5) проведение HLA-типирования потенциальных доноров для формирования Регистра доноров гемопоэтических стволовых клеток и пуповинной крови для формирования банка пуповинной крови;

      6) постановка пробы на совместимость "кросс-матч" донора и реципиента при трансплантации органов;

      7) определение донорского химеризма у реципиентов после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (костного мозга);

      8) проведение посттрансплантационного мониторинга HLA-антител у реципиентов, перенесших трансплантацию органа (ткани);

      9) осуществление индивидуального подбора тромбоцитов реципиентам на основе HLA-фенотипа при необходимости.

      8. Организационно-методическое руководство и научные функции Центральной лаборатории:

      1) координация деятельности Локальных лабораторий по сбору сывороток реципиентов, нуждающихся в трансплантации органа, для определения предсуществующих антител и пробы на совместимость "кросс-матч";

      2) осуществление организационно-методического руководства Локальными лабораториями в части сбора, скрининга, заготовки антилейкоцитарных сывороток и иммунологического типирования крови для выявления корреляций с различными заболеваниями, при популяционных научных исследованиях;

      3) мониторинг и анализ деятельности Локальных лабораторий;

      4) формирование основных направлений по совершенствованию методов, используемых в тканевом типировании;

      5) планирование и координация подготовки кадров для лабораторий тканевого типирования республики, участие в проведении обучения для специалистов Локальных лабораторий;

      6) проведение научных работ по изучению распространенности HLA-фенотипов в казахстанской популяции, взаимосвязей изучаемых HLA-фенотипов с различными видами заболеваний, исследований генома человека;

      7) изучение и трансферт в практику лабораторий иммунологического типирования республики новых методов исследований;

      8) внедрение в практику медицинских организаций иммуногенетических и геномных исследований при диагностике различных патологических состояний, оценке и прогнозировании эффективности лечения, формировании групп риска среди населения с целью организации профилактических мероприятий для предупреждения ряда заболеваний, проведение популяционных исследований;

      9) разработка плана и программы международного сотрудничества в области тканевого типирования, участие в международных рабочих совещаниях, обмен анти-HLA сыворотками с зарубежными лабораториями для совершенствования тест-реагентов, методов тканевого типирования;

      10) проведение исследований, по внешней оценке, качества и проведение межлабораторных сравнительных испытаний.

      9. Организационные и консультативные функции Локальной лаборатории:

      1) участие в составлении планов по повышению квалификации сотрудников организации здравоохранения по вопросам иммунологического типирования тканей;

      2) организация разъяснительной работы по вопросам клинического значения иммунологических исследований;

      3) представление отчетов о проделанной работе в Центральную лабораторию.

      10. Структура и штатные нормативы Центральной лаборатории определяются в соответствии с законодательством Республики Казахстан.

      11. Локальную лабораторию возглавляет лицо, прошедшее специализацию в Центральной лаборатории иммунологического типирования тканей (части тканей) и(или) органов (части органов), назначаемое на должность в установленном законодательством порядке.

© 2012. РГП на ПХВ «Институт законодательства и правовой информации Республики Казахстан» Министерства юстиции Республики Казахстан