

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ
Министерство здравоохранения Забайкальского края

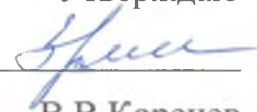
Государственное учреждение здравоохранения
КРАЕВАЯ КЛИНИЧЕСКАЯ БОЛЬНИЦА

672038, г.Чита, ул. Коханского, д. 7

тел. (302-2) 72 02 71, 28 20 95

E-mail: priem@kkb.chita.ru

от 18 декабря 2023 г. № 1026 -о

Утверждаю
Главный врач 
В.В.Коренев

Информационное письмо

Трудности при титровании антител

***О.С. Роднина, врач клинической лабораторной диагностики,
К.М.Н.***

Трудности при титровании антител

После выявления антител и установления их специфичности и формы следует определить титр антител, методом количественной оценки активности антител. Титрование проводится отдельно для неполных и полных антител непрямой пробой Кумбса, в методе конглотинации с желатином и реакцией агглютинации в солевой среде, аналогично титрованию сывороток антирезус. Для титрования используют образцы эритроцитов, содержащие антиген, против которого направлены антитела. Этой процедуре предшествует приготовление разведений сыворотки (от 1:2 до 1:1024). Далее каждое из них исследуется с соответствующими антиген-позитивными эритроцитами в том методе, которым антитела проявляют свое действие.

Процедура имеет ряд серьезных недостатков:

- Во-первых, несмотря на тщательные усилия, происходит избыточный перенос сыворотки при приготовлении разведений.
- Во-вторых, даже если разведения сыворотки приготовлены с большой точностью, различные константы антител одной и той же специфичности способны существенно влиять на результаты.
- В-третьих, результаты титрования, выполненного вручную, учитываются с известной долей субъективизма (также, как и другие при выполнении проб на совместимость, фенотипирование) в то время как в данном случае главным является необходимость объективно отличить положительные результаты от отрицательных.

Важные замечания по технике титрования

- После переноса объема сыворотки или ее разведения в следующую пробирку замените наконечник пипетки-дозатора. Использование одной и той же пипетки или наконечника приведет к излишнему переносу титруемой сыворотки и значительному завышению значений титра антител.
- Чем больше объемы приготовленных разведений, тем меньше погрешность при титровании, уровень ошибки обратно пропорционален объему используемой пипетки.
- Антитела нестабильны в разведенном состоянии. После приготовления разведений титрование должно быть выполнено сразу.
- Если для исследования имеются небольшие объемы сыворотки, реакции по определению титра проводят прямо в приготовленных

разведениях. При этом следует помнить, что такое титрование сопряжено с ошибками и погрешностями, которые отмечены в п.2 выше.

Точка конца титра

Правильный способ сообщить о результатах титрования - использовать величину, обратную наибольшему разведению, в котором наблюдается положительная реакция на 1+. Таким образом, о сыворотке, реагирующей неразведенной на 4+, в разведении 1:2 на 3+, 2+ в разведении 1:4, 1+ в разведении 1:8, затем слабее, чем на 1+ в разведениях 1:16 и 1:32 и показывающая отрицательный результат в разведении 1:64 можно сказать, что она **имеет титр 8 (не "1:8" - это не титр, а разведение!)**. Реакции с силой слабее 1+ обычно не принимаются во внимание при определении титра.

Эффект прозоны

Для того чтобы, не перестараться при учете показателей титра некоторые исследователи предпочитают вести учет результатов не с наименьших, а с наибольших разведений. Такой подход (наряду со сменой наконечников пипетки для титрования) позволяет избежать субъективизма при учете результатов титрования. Этот феномен может сослужить плохую службу в тех ситуациях, когда исследуется сыворотка крови больного с сильной посттрансфузионной гемолитической реакцией. Если при исследовании получены отрицательные результаты, то рекомендуется их повторить с сывороткой, разведенной в 5 или 10 раз. Феномен прозоны при титрованиях в аниглобулиновом тесте может иметь несколько причин, например, конкуренцию между полными и неполными антителами за антигенные сайты, частичная элюция антител при отмывании или выраженная элюция антител перед добавлением антиглобулиновой сыворотки, что приводит к ее последующей нейтрализации. Наиболее часто он наблюдается при работе с анти-IgG компонентом антиглобулиновой сыворотки.