

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 20 ____ № _____

УТВЕРЖДАЮ

Главный врач ГУЗ «Станция переливания



А. Т. Коденев

_____ 2016 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению

**НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГРУППЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА
СИСТЕМЫ АВО, РЕЗУС-ФАКТОРА И ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИЭРИТРОЦИТАРНЫХ**

АНТИТЕЛ

(Реагенты для иммуногематологических исследований KSPK)

1. НАЗНАЧЕНИЕ
2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА
3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ
5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ
6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ
7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА
8. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ
9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для определения группы крови человека системы АВО, резус-фактора и выявления антиэритроцитарных антител предназначен для комплексного исследования крови доноров и больных.

Эта методика включает в себя определение группы крови системы АВО перекрестным методом (определение групповых антигенов и групповых антител), определение резус-фактора, а так же выявление антиэритроцитарных антител крови доноров и больных.

Набор рассчитан на 100 определений, включая контрольные образцы.

Определение группы крови системы АВО производится методом прямой реакции агглютинации на плоскости. Стандартные изогемагглютинирующие сыворотки системы АВО выявляют групповые антигены, а стандартные эритроциты групп О(І), А(ІІ), В(ІІІ) выявляют групповые антитела α (анти-А) и β (анти-В). Определение группы крови производится на плоскости при комнатной температуре. Определение резус-фактора донора и больного, а так же проверка наличия или отсутствия антиэритроцитарных антител, производится методом конглоутинации с 10%-ным раствором желатина, экспресс методом в пробирках без подогрева или в непрямой реакции Кумбса.

Правильное определение группы крови, резус-фактора, а так же выявление антиэритроцитарных антител имеет большое значение при проведении гемотрансфузий больным, так как обеспечение совместимости крови донора и реципиента необходимо для профилактики посттрансфузионных осложнений.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

При взаимодействии антител с соответствующим антигеном происходит агглютинация (склеивание) эритроцитов. Если эритроциты не содержат антигена, то агглютинации не происходит. Определение группы крови системы АВО производится на плоскости в реакции прямой агглютинации. Когда встречаются одноименные антигены и антитела, происходит реакция агглютинации эритроцитов.

2.2. СОСТАВ НАБОРА:

2.2.1. Стандартные изогемагглютинирующие сыворотки $O_{\alpha\beta}(I)$, $A_{\beta}(II)$, $B_{\alpha}(III)$, $AB_o(IV)$ изготавливаются из сыворотки или плазмы доноров, содержат групповые антитела α (анти-А) и β (анти-В).

Стандартные сыворотки системы АВО представляют собой прозрачную или слегка опалесцирующую жидкость, окрашенную в соответствии с групповой принадлежностью: $O_{\alpha\beta}(I)$ – не окрашивается, $A_{\beta}(II)$ – в синий, $B_{\alpha}(III)$ – в красный, $AB_o(IV)$ – в желтый цвет.

В состав набора входят 2 серии стандартных изогемагглютинирующих сывороток системы АВО:

$O_{\alpha\beta}(I)$ – 2 фл/амп по 5 мл;

$A_{\beta}(II)$ – 2 фл/амп по 5 мл;

$B_{\alpha}(III)$ – 2 фл/амп по 5 мл;

$AB_o(IV)$ – 2 фл/амп по 1 мл.

Всего 8 флаконов/ампул – по 2 флакона/ампулы каждой группы в количестве 32 мл.

2.2.2. Стандартные эритроциты представляют собой взвесь эритроцитов группы O(I), A(II) и B(III) в специально изготовленном консервирующем растворе (ФСП 42 0270-114-01) в соотношении 1:4.

O(I) – 1 фл/амп по 5 мл;

A(II) – 1 фл/амп по 5 мл;

B(III) – 1 фл/амп по 5 мл.

Всего 3 флакона/ампулы стандартных эритроцитов в количестве 15 мл.

2.2.3. Универсальный реагент антирезус (анти Rh₀ (D)) изготавливается из сыворотки или плазмы доноров, содержит антитела к одному (моноспецифические) или к нескольким (полиспецифические) антигенам системы резус (D, C, c, E, e). Всего в набор входит 5 флаконов/ампул по 5 мл. Всего 25 мл.

2.2.4. Стандартные эритроциты для поиска антиэритроцитарных антител представляют собой взвесь эритроцитов группы O(I) в специально изготовленном консервирующем растворе для пролонгированного хранения эритроцитов и содержат антигены системы резус: D, C, c, E, e и антигены системы Kell. В набор входят 5 флаконов/ампул по 5 мл. Всего 25 мл.

2.2.5. Сыворотка антирезус с неполными антителами для непрямой реакции Кумбса при выявлении антиэритроцитарных антител (контрольная сыворотка), содержит антитела-антирезус в титре 1:32, изготавливается из сыворотки или плазмы доноров, представляют собой прозрачную или слегка опалесцирующую жидкость желтого или красно-коричневого цвета, консервированную борной кислотой (2г на 100г сыворотки). В набор входит 2 флакона/ампулы по 1 мл. Всего 2 мл.

Всего в набор входит 23 флакона/ампулы в количестве 99 мл на 100 определений и инструкции по применению.

Розлив компонентов набора производится во флаконы-капельницы полимерные ФКП (ТУ 9464-003-20670820-2009) (или ампулы стеклянные, ТУ 9462-002-11068395-2005) по 1 и 5 мл дозатором переменного объема Bio-Hit (Финляндия) (ГОСТ 50444-92 Рр 3,4). На флаконы наклеиваются этикетки на клейкой основе (ГОСТ 7625-86Е), упаковываются в грипперы (ГОСТ 17768-90), вкладываются инструкции по применению.

Хранить набор реагентов в холодильнике при t +4 – +8°C

Компоненты набора реагентов должны быть активны, строго специфичны, титр соответствовать ТУ 9398 – 001 – 01912832 – 2010, Приказу МЗ РФ №2 от 09.01.1998г. «Об утверждении инструкций по иммуносерологии»

- Поверхностный антиген гепатита В (HbsAg) (определяется методом иммуноферментного анализа, далее – ИФА) – должен отсутствовать.
- Антитела к вирусу С (определяется методом ИФА) – должны отсутствовать.
- Антитела к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ 1,2), (определяется методом ИФА) – должны отсутствовать.
- Антитела к Trepanema Pallidum (с постановкой РМП) – должны отсутствовать.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Все реагенты выпускаются в соответствии с инструкциями (Приказ Минздрава России № 2 от 09.01.1998 г.)

Источником для получения реагентов служит плазма и эритроцитная масса, полученные из донорской крови и содержащие групповые антитела и антигены, с титром, достаточным для приготовления стандартных сывороток, стандартных эритроцитов, универсального реагента антирезус и сыворотки антирезус с неполными антителами для непрямой реакции Кумбса.

Технология производства исключает возможность контаминации реагентов патогенными для человека вирусами, так как предварительное определение пригодности плазмы, эр. массы, предполагаемой для передачи в иммунологическое отделение, включает в себя биохимическое, иммуногематологическое исследование крови, контроль вирусной безопасности крови методом ИФА для выявления вируса гепатита В (HbsAg), на антитела к вирусу гепатита С, на антиген р24 и антитела к ВИЧ, а также исследование на антитела к Tr. Pallidum с постановкой РМП.

При получении сыворотки из плазмы для дефибрирования последней используют 10% раствор хлорида кальция (6 мл на 100 мл плазмы).

Сыворотку, признанную годной, консервируют борной кислотой (2 – 3 г на 100 мл сыворотки). Для консервирования эритроцитов используется консервант для пролонгированного хранения стандартных эритроцитов (ФСП 42 0270 – 1141 – 01) изготовленный ООО «Гемостандарт» в соотношении 1:4.

Изогемагглютинирующие сыворотки окрашивают:

- $O_{\alpha\beta}(I)$ – естественный цвет сыворотки;
- $A_{\beta}(II)$ – в синий (метиленовым синим красителем);
- $B_{\alpha}(III)$ – в красный (эозином натрия);
- $AB_0(IV)$ – в желтый цвет (уранином);
- универсальный реагент – слегка опалесцирующая жидкость, не окрашивается;
- сыворотка антирезус с неполными антителами для непрямой реакции Кумбса не окрашивается.

Стандартным изогемагглютинирующим сывороткам предъявляются следующие требования:

- должны быть специфичными, то есть содержать определенные групповые антитела α (анти - А), β (анти - В) или оба вместе, и не вызывать неспецифической агглютинации эритроцитов одноименной группы и группы $O_{\alpha\beta}(I)$. Сыворотка $AB_0(IV)$, не содержащая групповых антител, не должна вызывать агглютинации;
- должны быть активными, т. е. агглютинация со стандартными эритроцитами групп A_1 и В появляется в течение первых 30 сек, а со стандартными эритроцитами A_2 – в течение первой минуты;
- титр агглютининов по отношению к эритроцитам A_1 и В не ниже, чем 1:32;
- не должны оказывать на эритроциты гемолизирующего действия;
- должны быть прозрачными. Допускается небольшая опалесценция, что не влияет на качество сыворотки.;
- должны быть окрашены:
 - $O_{\alpha\beta}(I)$ – не окрашена;
 - $A_{\beta}(II)$ – в синий;
 - $B_{\alpha}(III)$ – в красный;
 - $AB_0(IV)$ – в желтый цвет;
- должны быть предохранены от инфицирования добавлением консервирующих средств;

- должны иметь точную паспортизацию, т. е. указание на групповую принадлежность, титр, срок годности, номер серии и наименование учреждения-изготовителя. Все эти сведения обозначены на этикетке флакона/ампулы.;
- универсальный реагент агглютинирует антиген D;
- сыворотка антирезус с неполными антителами для реакции Кумбса – реагирует с антигеном D в НРК при инкубации ($t^{\circ}+37^{\circ}\text{C}$); агглютинация сенсibilизированных эритроцитов происходит при взаимодействии с АГС при комнатной температуре.

Специфичность сывороток и эритроцитов:

- Изогемагглюнирующая сыворотка группы $O_{\alpha\beta}(I)$ (анти-A + B) – агглютинирует эритроциты групп A(II); B(III); AB(IV).
- Изогемагглютинирующая сыворотка группы $A_{\beta}(II)$ (анти-B) – агглютинирует эритроциты групп B(III) и AB(IV).
- Изогемагглютинирующая сыворотка группы $B_{\alpha}(III)$ (анти-A) – агглютинирует эритроциты групп A(II) и AB(IV).
- Изогемагглютинирующая сыворотка группы $AB_0(IV)$ – не агглютинирует эритроциты.
- Стандартные эритроциты группы O(I) – не взаимодействуют с агглютинидами α (анти-A) и β (анти-B) системы ABO.
- Стандартные эритроциты группы A(II) – реагируют с агглютинидами α (анти-A) системы ABO.
- Стандартные эритроциты группы B(III) – реагируют с агглютинидами β (анти-B) системы ABO.
- Стандартные эритроциты групп O(I) $Rh^{+}(DC\acute{c}Ee) K^{+}$ – взаимодействуют с анти - D, анти - C, анти - c, анти - E, анти - e, анти - K антителами.
- Стандартные эритроциты групп O(I) $Rh^{+}(D\acute{c}\acute{c}Ee) K^{-}$ – взаимодействуют с анти-D, анти-c, анти - E, анти - e антителами.
- Стандартные эритроциты группы O(I) $Rh^{-}(dce) K^{-}$ – взаимодействуют с анти - c, анти - e антителами.
- Стандартные эритроциты группы O(I) $Rh^{-}(dce) K^{+}$ – реагируют с анти - c, анти - e, анти - K антителами.
- Стандартные эритроциты группы O(I) $dC\acute{c}eeK^{-}$ – реагируют с анти - C, анти - c, анти - e антителами.
- Универсальный реагент антирезус анти $Rh_0(D)$ – реагирует с антигеном D.
- Сыворотка антирезус с неполными антителами для реакции Кумбса – реагирует с антигеном D.

Гемагглютинирующая способность:

- Изогемагглюнирующая сыворотка группы $O_{\alpha\beta}(I)$ (анти-A + B) – агглютинация на плоскости с эритроцитами $A_1(II)$ и B(III) в течение 30 сек.
- Изогемагглютинирующая сыворотка группы $A_{\beta}(II)$ (анти-B) – агглютинация на плоскости в течение 30 сек с эритроцитами B(III).
- Изогемагглютинирующая сыворотка группы $B_{\alpha}(III)$ (анти-A) – агглютинация на плоскости в течение 30 сек с эритроцитами $A_1(II)$.
- Изогемагглютинирующая сыворотка группы $AB_0(IV)$ – агглютинация эритроцитов на плоскости отсутствует.
- Стандартные эритроциты группы O(I) – не взаимодействуют с агглютинидами α (анти-A) и β (анти-B).
- Стандартные эритроциты группы A(II) – агглютинация на плоскости с сывороткой O(I) и B(III) в течение 10 сек.
- Стандартные эритроциты группы B(III) – агглютинация на плоскости с сывороткой O(I) и A(II) в течение 10сек.

- Стандартные эритроциты группы $O(I) Rh^+ DCcEe K^+$ – агглютинация в пробирке с желатином в течение 30 – 40 мин. при $t^0+45\text{ }^{\circ}\text{C}$, выявляют антитела анти- D, анти- C, анти-с, анти - E, анти - e, анти - K.
- Стандартные эритроциты группы $O(I) Rh^+ Dc cEe K^-$ – агглютинация в пробирке с желатином в течение 30 – 40 мин. при $t^0+45\text{ }^{\circ}\text{C}$, выявляют антитела анти- D, анти- с, анти-E, анти - e.
- Стандартные эритроциты группы $O(I) Rh^- dce K^-$ – агглютинация в пробирке с желатином в течение 30 – 40 мин. при $t^0+45\text{ }^{\circ}\text{C}$, выявляют антитела анти - с, анти - e.
- Стандартные эритроциты группы $O(I) Rh^- dce K^+$ – агглютинация в пробирке с желатином в течение 30 – 40 мин. при $t^0+45\text{ }^{\circ}\text{C}$, выявляют антитела анти - с, анти - e, анти - K.
- Стандартные эритроциты группы $O(I) dCcEeK^-$ – агглютинация в пробирке с желатином в течение 30 – 40 мин. при $t^0+45\text{ }^{\circ}\text{C}$, выявляют антитела анти - C, анти - с, анти - e.
- Универсальный реагент антирезус – агглютинация в течение 3 – 5 минут (экспресс метод в пробирке без подогрева).
- Сыворотка антирезус с неполными антителами для реакции Кумбса – агглютинация сенсibilизированных эритроцитов АГ сывороткой на первой минуте, при слабом титре антител агглютинация может наступить через 20 минут.

Титр антител:

- Изогемагглюнирующая сыворотка группы $O_{af}(I)$ (анти-A + B) – 1:32/64
- Изогемагглютинирующая сыворотка группы $A_{\beta}(II)$ (анти-B) – 1:32; 1:64
- Изогемагглютинирующая сыворотка группы $B_{\alpha}(III)$ (анти-A) – 1:32; 1:64
- Сыворотка антирезус с неполными антителами для реакции Кумбса – титр анти – D 1 : 32 в НРК.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Изготавливаемые реагенты предназначены только для лабораторной диагностики *in vitro*.

Потенциальный риск применения набора реагентов класс 3.

При работе с набором и утилизации отходов следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981г.).

В связи с тем, что исследуемые образцы крови следует рассматривать как потенциально инфицированные и способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита и другие вирусные инфекции, при проведении анализов следует использовать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, а также одноразовые палочки и специальные планшеты. Определение группы крови и резус принадлежности должно производиться в помещении с хорошим освещением при температуре +15 – +25 $^{\circ}\text{C}$.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе со стандартными реагентами требуется следующее оборудование и материалы:

- планшет для изосерологических исследований;
- пластмассовые одноразовые или стеклянные палочки;

- пробирки градуированные центрифужные 10,0 мл;
- пипетки одноразовые пластиковые 3,5 мл;
- центрифуга настольная на 3 000 об/мин;
- натрий хлористый х.ч.;
- штативы для пробирок;
- микроскоп;
- раствор желатина 10%;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые одноразовые;
- 33% раствор полиглокина.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для исследования используют цельную кровь, отмытые эритроциты, эритроциты в плазме, сыворотке или физиологическом растворе не более двухдневного срока хранения при температуре $+2 \text{ } ^\circ\text{C}$ до $+8 \text{ } ^\circ\text{C}$. Во избежание ошибок рекомендуется использовать плотный осадок эритроцитов со дна пробирки.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

- 7.1. Техника определения группы крови АВО, резус-фактора и определения антиэритроцитарных антител.
 - 7.1.1. МЕТОД ГЕМАГГЛЮТИНАЦИИ НА ПЛОСКОСТИ (определение группы крови системы АВО)
 - 7.1.1.1. Из флаконов с капельницей нанести на планшет по одной большой капле (0,1 мкл) сыворотки под соответствующими надписями.
 - 7.1.1.2. Рядом с каплей сыворотки нанести одну маленькую каплю (0,01 мкл) исследуемой крови.
 - 7.1.1.3. Палочкой смешать кровь с сывороткой.
 - 7.1.1.4. Наблюдать за ходом реакции следует при легком покачивании пластинки в течение 5 минут. Агглютинация обычно наступает в первые 2-3 минуты, но наблюдение необходимо вести до 5 минут, чтобы не пропустить агглютинации с эритроцитами, содержащими слабые разновидности антигенов.
 - 7.1.1.5. Добавить каплю физиологического раствора.
 - 7.1.2. РЕАКЦИЯ КОНГЛЮТИНАЦИИ С ЖЕЛАТИНОМ (определение антител)
 - 7.1.2.1. В пробирку ввести одну каплю (0,1 мкл) исследуемых эритроцитов со дна пробирки без консервантов или отмытых от консерванта.
 - 7.1.2.2. Добавить одну-две капли исследуемой сыворотки и 2 капли 10% желатина.
 - 7.1.2.3. Содержимое пробирки тщательно перемешать.
 - 7.1.2.4. Инкубировать в термостате 30 минут при $+48 \text{ } ^\circ\text{C}$.
 - 7.1.2.5. Содержимое пробирки залить 5-6 мл физиологического раствора и, после осторожного 3-х кратного переворачивания пробирки, визуально или под микроскопом определить наличие агглютинатов.

- 7.1.3. ЭКСПРЕСС МЕТОД В ПРОБИРКАХ БЕЗ ПОДОГРЕВА(определение резус-фактора)
- 7.1.3.1. В штатив устанавливают 2 ряда пробирок по числу исследуемых эритроцитов в каждом ряду и по 2 пробирки для контрольных исследований. На пробирках надписывают фамилию, инициалы обследуемого лица.
- 7.1.3.2. Во все пробирки 1 ряда вводят по 2 капли (0,1 мл) стандартного универсального реагента антирезус (анти Rh₀ D).
- 7.1.3.3. Во все пробирки 2-го ряда вводят по 2 капли (0,1 мл) изотонического раствора NaCl и по 1 капле (0,05 мл) 33% раствора полиглокина.
- 7.1.3.4. 2-й ряд служит контролем для исключения возможной неспецифической агглютинации исследуемых эритроцитов, например, за счет аутоантител.
- 7.1.3.5. В каждую пару одинаково обозначенных пробирок с универсальным реагентом вводят, согласно маркировке, по 1 капле (0, 05 мл) исследуемой крови.
- 7.1.3.6. Содержимое пробирок перемешивают встряхиванием и затем медленно поворачивают по оси, наклоняя почти до горизонтального положения так, чтобы содержимое растеклось по стенкам пробирки. Такое растекание крови по стенкам делает реакцию более выраженной.
- 7.1.3.7. Агглютинация наступает уже в течение первой минуты, но для образования устойчивости комплекса антиген + антитело и четко выраженной реакции, а также ввиду возможности замедленной реакции при слабо выраженной агглютинабельности эритроцитов, контакт эритроцитов с реагентом при поворачивании пробирок проводят не менее 3-х минут.
- 7.1.3.8. Через 3 минуты добавляют по 2 – 3 мл изотонического раствора NaCl, перемешивают содержимое путем 2 - 3 кратного переворачивания пробирок (не встряхивая!)
- 7.2. Учет результата. Пробирки просматривают на свет невооруженным глазом или через лупу. Результат трактуют по наличию или отсутствию агглютинации эритроцитов:
- при наличии агглютинации, исследуемую кровь относят к «резус – положительной» (Rh +);
 - при отсутствии агглютинации исследуемую кровь считают «резус – отрицательной» (Rh -).
- Обязательно ставить контроль.
- Во всех образцах контрольного ряда агглютинации быть не должно.

8. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

- 8.1. В случае определения группы крови следует пользоваться таблицами 1, 2, 3, 4, 5. При подозрении на спонтанную неспецифическую агглютинацию исследуемых эритроцитов к образовавшимся агглютинатам, следует добавить одну каплю физиологического раствора. Агглютинаты, образовавшиеся в результате неспецифического склеивания эритроцитов, разойдутся.

Таблица 1. Оценка результатов определения групп крови при помощи изогемагглютинирующих сывороток двух серий каждой группы.
Знаком плюс (+) обозначено наличие агглютинации,

Знаком минус (–) – отсутствие её.

Изогемагглютинирующие сыворотки группы			Исследуемая кровь принадлежит к группе
O _{ар} (I) Анти-(A+B)	A _β (II) Анти-B	B _α (III) Анти-A	
– –	– –	– –	O(I)
+	–	+	A(II)
+	–	+	
+	+	–	B(III)
+	+	–	
+	+	+	AB(IV)
+	+	+	
Контроль с сывороткой группы AB _о (IV)			–

Таблицы 2, 3. Оценка результатов определения групп крови перекрестным методом при помощи изогемагглютинирующих сывороток двух серий каждой группы и стандартных эритроцитов.

Таблица 2.

Изогемагглютинирующие сыворотки с исследуемыми эритроцитами		
O _{ар} (A+B) Анти-(A+B)	A _β (II) Анти-B	B _α (III) Анти-A
– –	– –	– –
Стандартные эритроциты с сыворотками исследуемой крови		
O(I)	A(II)	B(III)
–	+	+
Исследуемая кровь группы O(I)		

Таблица 3.

Изогемагглютинирующие сыворотки с исследуемыми эритроцитами		
O _{ар} (A+B) Анти-(A+B)	A _β (II) Анти-B	B _α (III) Анти-A
+	+	–
+	+	–
Стандартные эритроциты с сыворотками исследуемой крови		
O(I)	A(II)	B(III)
–	+	–
Исследуемая кровь группы B(III)		

Таблицы 4, 5. Оценка результатов определения групп крови перекрестным методом при помощи изогемагглютинирующих сывороток двух серий каждой группы и стандартных эритроцитов.

Таблица 4.

Изогемагглютинирующие сыворотки с исследуемыми эритроцитами		
O _{αβ} (A+B) Анти-(A+B)	A _β (II) Анти-B	B _α (III) Анти-A
+	—	+
+	—	+
Стандартные эритроциты с сыворотками исследуемой крови		
O(I) —	A(II) —	B(III) +
Исследуемая кровь группы A(II)		

Таблица 5.

Изогемагглютинирующие сыворотки с исследуемыми эритроцитами			
O _{αβ} (A+B) Анти-(A+B)	A _β (II) Анти-B	B _α (III) Анти-A	AB _{αβ} (IV) контроль
+	+	+	—
+	+	+	—
Стандартные эритроциты с сыворотками исследуемой крови			
O(I) —	A(II) —	B(III) —	
Исследуемая кровь группы AB(IV)			

8.2. В случае определения резус принадлежности наличие агглютинатов в пробирке указывает на присутствие соответствующих антигенов. Для контроля специфичности (независимо от применения методики исследования) необходимо использовать соответствующие стандартные Rh (+) и Rh(–) эритроциты.

8.3. Отступление от изложенных правил может привести к ошибочным заключениям о групповой принадлежности исследуемой крови.

Типичными ошибками являются: ошибочный порядок расположения стандартных сывороток или эритроцитов в штативах; ошибочный порядок нанесения их на пластинку; неправильное соотношение количества сыворотки и эритроцитов; несоблюдение времени, необходимого для проведения реакции (5 минут); неиспользование контрольной реакции с сывороткой группы АВ₀ (IV); загрязнение или применение мокрых пипеток, пластинок, палочек, а также использование недоброкачественных стандартов, например, сыворотки с истекшим сроком годности (недостаточно активной), загрязненной или частично высохшей сыворотки, которая может вызвать неспецифическую реакцию агглютинации и т. д. Эти ошибки могут привести к неправильной оценке результата реакции в целом и в каждой отдельной капле. Последнее может заключаться в следующем:

- лицо, определяющее группу крови, считает, что агглютинации не произошло, в то время как она фактически есть или должна появиться;
- лицо, определяющее группу крови, предполагает, что произошла агглютинация, в то время как она фактически отсутствует.

Первая ошибка, т. е. учет реакции как отрицательной при фактическом наличии агглютинации, может произойти:

- а) В тех случаях, когда агглютинация начинается поздно или бывает слабо выражена. Это может зависеть от того, что стандартные сыворотки мало активны, или от того, что эритроциты исследуемого лица обладают слабой агглютинабельностью. При одновременном наличии этих двух причин агглютинация может совсем не появиться, например, если малоактивная сыворотка группы В_a (анти – А) не даст агглютинации с эритроцитами группы А(II), если агглютинабельность последних низкая, например подгруппа А₂.

Во избежание этой ошибки необходимо наблюдать за ходом реакции не менее пяти минут и особенно внимательно за теми каплями, в которых еще наступила агглютинация, а также работать только с активными сыворотками, агглютинирующая способность которых проверена, соответствует требованиям инструкции и в пределах срока ее годности;

- б) при избытке крови, если взята слишком большая капля.

Во избежание этой ошибки следует соблюдать соотношение объема исследуемой крови и стандартной сыворотки (или стандартных эритроцитов и исследуемой сыворотки) приблизительно 1:10.

- в) при высокой температуре (выше 25 °С) окружающего воздуха, например, в жаркую погоду.

Во избежание ошибки пластинку, на которой определяется группа крови, следует охладить.

Вторая ошибка, т. е. учет реакции как положительной при фактическом отсутствии агглютинации, может произойти:

- а) когда эритроциты испытуемой крови складываются в «монетные столбики», которые невооруженным глазом можно принять за агглютинаты.

Во избежание этой ошибки необходимо добавление изотонического раствора NaCl с последующим покачиванием пластинки, при этом, как правило, «монетные столбики» расходятся.

б) когда исследуемые эритроциты дают феномен ауто – или панагглютинации.

Во избежание этой ошибки необходимо не допускать определения групп крови при температуре ниже 15 °C и обязательно использовать контрольные сыворотки группы АВ₀(IV);

в) при использовании недоброкачественной сыворотки, дающей неспецифическую агглютинацию.

Во избежание этой ошибки следует просматривать ампулы (флаконы) со стандартной сывороткой и не использовать ее, если в ней имеются помутнение или признаки высыхания.

г) когда пластинку со смесью эритроцитов и сыворотки не покачивают. В этом случае эритроциты, оседая на дно, могут образовывать отдельные скопления, симулирующие агглютинацию.

Во избежание этой ошибки необходимо периодически покачивать пластинку, на которой проводится определение.

Однако и при правильной оценке реакции в каждой отдельной капле можно сделать неправильное заключение о групповой принадлежности, если спутать порядок расположения стандартов в штативе или на пластинке. Поэтому каждый раз в начале работы по определению групповой принадлежности следует тщательно проверять расположение в штативах пробирок со стандартными эритроцитами, а также всех ампул (флаконов) с сывороткой, их групповую принадлежность, номер серии и дату годности.

Во всех случаях нечеткого или сомнительного результата необходимо повторное определение группы крови при помощи стандартных сывороток других серий. Если результаты также остаются неясными, а определение проводилось только при помощи стандартных сывороток, то следует определить группу крови также и перекрестным способом.

Примечание 1. При определении групповой принадлежности крови больных в лечебных учреждениях могут встретиться трудности, вызванные изменением свойств крови при различных патологических состояниях. Это может выразиться в неспецифичной агглютинации эритроцитов, например, при аутоиммунной гемолитической анемии, у новорожденных с гемолитической болезнью, у больных циррозом печени, с ожогами, при гнойно – септическом состоянии. При некоторых заболеваниях, например, при лейкозах, наблюдается снижение агглютинабельности эритроцитов, особенно группы А(II), а также снижение активности групповых агглютининов.

В таких случаях определение групповой принадлежности крови больного должно производиться повторно с использованием стандартных сывороток более высокой активности и отмытых эритроцитов, желательно в лабораторных условиях.

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Срок хранения изготовленного реагента указан на флаконе. Вскрытый флакон можно хранить в холодильнике при температуре $+4 - 8^{\circ}\text{C}$ в течение одного месяца.

Доставлять набор можно всеми видами крытого транспорта при температуре окружающей среды, но замораживание недопустимо, так как произойдет гемолиз стандартных эритроцитов.

Основаниями для рекламации являются: отсутствие активности, неспецифичность, нарушение целостности флакона, наличие хлопьев, гемолиз стандартных эритроцитов, истекший срок годности реагента.

При составлении рекламации необходимо указать дату получения, номер серии, причину, по которой реагент признан негодным.

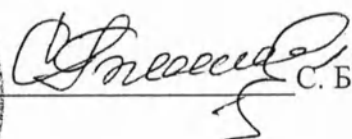
Необходимо приложить протокол с результатами проверки работы реагента. Вместе с рекламацией следует направить оставшиеся не вскрытыми флаконы данной серии.

Рекламацию следует направлять в учреждение – изготовитель:

ГУЗ «Станция переливания крови» ДЗ КК 350040, г. Краснодар, ул. Димитрова, 166, к/т телефон 8 (861) 233 – 72 – 23, 233 – 42 – 33

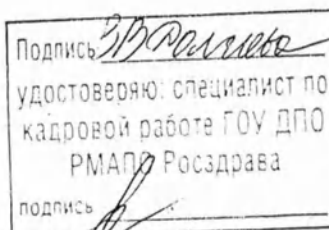
Заведующий иммунологического отделения
ГУЗ «Станция переливания крови»
ДЗ КК г. Краснодара

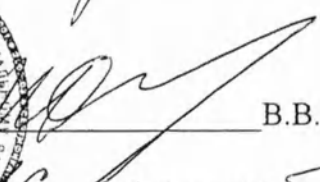


 С. Б. Бжассо

«СОГЛАСОВАНО»

Заведующий кафедрой клинической
лабораторной диагностики
ГОУ ДПО «РМАПО Росздрава»
д.м.н., профессор



 В. В. Долгов

6 сентября 2014

Пронумеровано, прошнуровано
и скреплено печатью

13
Листов

Главный врач ГУЗ «Станция
переливания крови» ДЗ КК

А.Т. Коденев

