

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора
от _____ 2009г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Президент Фонда развития
медицинских и биологических
технологий «МеДиКлон»


В.Е. Эмме
« 3 февраля 2009г. »

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов диагностических жидких для определения групп крови человека по антигенам эритроцитов АВО (ИзосероклоныTM анти-А, анти-В, анти-АВ, анти-А₁).

1. НАЗНАЧЕНИЕ

ИзосероклоныTM анти-А, анти-В, анти-АВ, анти-А₁ диагностические жидкие предназначены для определения групповой принадлежности крови человека О(І), А(ІІ), В(ІІІ), АВ(ІV) по антигенам эритроцитов, включая дифференциальное выявление вариантов групповых антигенов А (А₁, А₂) и АВ (А₁В, А₂В), в прямой реакции гемагглютинации.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Принцип действия реагентов, входящих в набор, основывается на реакции гемагглютинации. Реакция наступает в результате специфического взаимодействия антигенов А, В, АВ или А₁ эритроцитов человека с соответствующими ИзосероклонамиTM анти-А, анти-В, анти-АВ или анти-А₁.

Действующее начало реагентов анти-А, анти-В и анти-АВ-мышинные моноклональные антитела класса IgM, реагирующие соответственно с групповым антигеном А (ИзосероклонTM анти-А), групповым антигеном В (ИзосероклонTM анти-В) или АВ (ИзосероклонTM анти-АВ) эритроцитов человека.

ИзосероклонTM анти-А₁ может быть представлен в наборе взаимозаменяемыми реагентами двух видов, действующее начало которых:

1. мышинные моноклональные антитела класса IgM, реагирующие с антигеном А₁ эритроцитов человека;

2. растительный лектин (фитогемагглютинин), специфически реагирующий с антигеном A₁ эритроцитов человека.

Компоненты набора используют в прямой реакции агглютинации путем смешивания ИзосероклоновTM с исследуемыми образцами крови (эритроцитов). Наступление агглютинации (положительная реакция) выражается в склеивании эритроцитов в отчетливо видимые агрегированные скопления клеток – агглютинаты, и просветлении поля реакции.

При отсутствии указанных антигенов на исследуемых эритроцитах агглютинация не появляется.

2.2. Состав набора

В состав набора входят следующие реагенты:

- ИзосероклонTM анти-A, готов к использованию – 3 флакона (по 5,0 мл) или 3 флакона (по 10 мл);
- ИзосероклонTM анти-B, готов к использованию – 3 флакона (по 5,0 мл) или 3 флакона (по 10 мл);
- ИзосероклонTM анти-AB, готов к использованию – 3 флакона (по 5,0 мл) или 3 флакона (по 10 мл);
- ИзосероклонTM анти-A₁, готов к использованию – 1 флакон (7,5 мл) или 1 флакон (15 мл).

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность:

- ИзосероклонTM анти-A агглютинирует эритроциты, содержащие антигены A₁ и A₂, и не агглютинирует эритроциты групп O и B;
- ИзосероклонTM анти-B агглютинирует эритроциты, содержащие антиген B, и не агглютинирует эритроциты групп O и A;
- ИзосероклонTM анти-AB агглютинирует эритроциты, содержащие антигены A₁, A₂, и B, и не агглютинирует эритроциты группы O;
- ИзосероклонTM анти-A₁ агглютинирует эритроциты, содержащие антиген A₁, и не агглютинирует эритроциты групп A₂, B и O;
- ИзосероклоныTM анти-A, анти-B, анти-AB и анти-A₁ полностью моноспецифичны по своим иммунохимическим характеристикам, и поэтому не вызывают неспецифической агглютинации эритроцитов человека.

3.2. Титр:

- в реакции агглютинации на плоскости титр ИзосероклоновTM анти-A, анти-B, анти-AB составляет не менее 1:32; ИзосероклонаTM анти-A₁ – не менее 1:8.

3.3. Авидность:

- время наступления агглютинации эритроцитов с соответствующими ИзосероклонамиTM, включая определение слабо выраженных антигенов эритроцитов, обычно не превышает 30 сек.



И. И. В. Е.

3.4. Количество определений:

- набор, в зависимости от его комплектации, рассчитан на проведение определений групповой принадлежности в 150 или 300 образцах крови.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с анализируемыми образцами крови следует использовать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы крови человека необходимо рассматривать как потенциально инфицированный материал, способный длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита и др. возбудителей инфекций.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- белые пластинки со смачиваемой поверхностью;
- пипетки пастеровские вместимостью 5,0 мл;
- стеклянные или пластмассовые палочки для перемешивания капель крови и реагентов;
- физиологический раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Определение производится в нативной крови, взятой в консервант; в крови, взятой без консерванта, в том числе взятой из пальца.

Срок хранения образцов крови, предназначенных для исследования – не более 3 суток при температуре от 2 до 8°C.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Используется метод прямой реакции гемагглютинации на плоскости: на пластине или в планшете.

Определение производится в помещении с хорошим освещением при температуре от 15 до 25°C.

Расход каждого реагента на одно исследование составляет 0,1 мл.

7.1. Порядок проведения анализа

7.1.1. Необходимо промаркировать пластину или планшет, указав фамилию, имя, отчество исследуемого лица и специфичность реагентов (анти-А, анти-В, анти-АВ и анти-А_I).

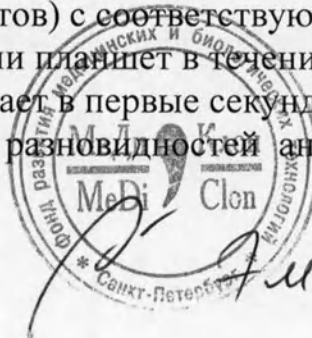
7.1.2. Нанести на плоскость по одной большой капле (около 0,1 мл) ИзосероклоновTM анти-А, анти-В и анти-АВ.

7.1.3. Рядом с каждым реагентом нанести по одной маленькой (0,01 – 0,05 мл) капле исследуемой крови или эритроцитов.

7.1.4. Смешать отдельными чистыми стеклянными палочками каждую каплю исследуемой крови (эритроцитов) с соответствующим реагентом.

7.1.5. Мягко покачивать пластину или планшет в течение 2,5 минут.

Обычно четкая агглютинация наступает в первые секунды после смешивания, но при наличии слабых разновидностей антигенов А или В она может наступить позднее.



7.1.6. Наличие агглютинации свидетельствует о положительном результате – (+), а ее отсутствие – об отрицательном (-).

7.1.7. После завершения реакции агглютинации исследуемого образца крови (эритроцитов) с ИзосероклонамиTM анти-А, анти-В и анти-АВ делают заключение о его принадлежности к группам О(I), А(II), В(III) или АВ(IV) (см. таблицу в п. 8. «Учет результатов реакции»).

7.1.8. В образцах крови (эритроцитов) с установленной группой А(II) или АВ(IV) следует провести дифференцировку на варианты групповых антигенов А₁(II) и А₂(II) или А₁В(IV) и А₂В(IV). Для этого к одной большой капле (0,1 мл) ИзосероклонаTM анти-А₁ необходимо добавить одну маленькую каплю (0,01-0,05 мл) исследуемой крови или эритроцитов.

7.1.9. Мягко покачивать пластину или планшет в течение 2,5 минут и затем провести дифференцировку между группами А₁(II) и А₂(II) или между А₁В(IV) и А₂В(IV) (см. таблицу в п. 8 («Учет результатов реакции»)).*

8. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

Оценка результатов реакции гемагглютинации с ИзосероклонамиTM анти-А, анти-В, анти-АВ и анти-А₁ представлена в таблице.

Результат реакции с Изосероклонами TM			Исследуемая кровь принадлежит к группе	Результат реакции с Изосероклоном TM Анти-А ₁	Исследуемая кровь принадлежит к группе
Анти -А	Анти -В	Анти -АВ			
-	-	-	О(I)		
+	-	+	А(II): А ₁ (II) или А ₂ (II)	+	А ₁ (II)
				-	А ₂ (II)
-	+	+	В(III)		
+	+	+	АВ(IV): А ₁ В(IV) или А ₂ В(IV)	+	А ₁ В(IV)
				-	А ₂ В(IV)

Примечание: (+) – наличие агглютинации; (-) – отсутствие агглютинации;
 – окончательное заключение о групповой принадлежности

* Внимание! Учёт результатов реакции с использованием ИзосероклонаTM анти-А₁ следует проводить не позднее 2 мин после начала реакции, т.к. реагент анти-А₁ в реакции с эритроцитами группы А₂(II) может давать слабовыраженную агглютинацию после истечения рекомендуемого (до 2 мин) времени наблюдения.



В случае положительной реакции исследуемого образца крови со всеми четырьмя реагентами (ИзосероклонамиTM анти-А, анти-В, анти-АВ и анти-А₁), т.е. при установлении группы крови А₁В(IV), необходимо убедиться, что полученный результат не является следствием спонтанной аутоагглютинации эритроцитов. Для этого проводят дополнительное контрольное исследование данного образца крови с 0,9% - ным раствором хлористого натрия (физиологическим раствором). На плоскости смешивают одну каплю (0,01-0,05мл) исследуемой крови с каплей (0,1мл) физиологического раствора. При отсутствии агглютинации в контрольном исследовании делают заключение о принадлежности крови к группе А₁В(IV). При наличии спонтанной агглютинации (положительная реакция в контрольном исследовании крови с физиологическим раствором) рекомендуется повторить определение группы крови, используя отмытые эритроциты данного образца крови.

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

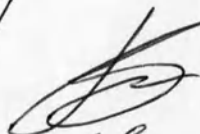
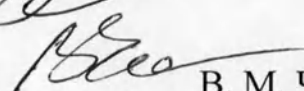
Срок хранения реагентов - два года при температуре от 2 до 8°C. Вскрытые флаконы с реагентами можно хранить при температуре от 2 до 8°C в закрытом виде в течение шести месяцев.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в Фонд развития медицинских и биологических технологий «МеДиКлон» по адресу: 190103, Санкт-Петербург, Рижский пр., д.2 и в Институт стандартизации и контроля лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора по адресу: 117246, г. Москва, Научный проезд, д.14а. Телефоны: 120-60-95, 120-60-96.

Проректор по лечебной работе
ГОУ ВПО СПбГМУ
им.акад. И.П.Павлова,
проф., д.м.н.

 Д. Ю. Семёнов

Заведующий ОПК СПбГМУ
им.акад. И.П.Павлова,
доц., к.м.н.

 Б. А. Барышев
 В. М. Чмелёв

Зам. Президента Фонда «МеДиКлон»,
к.б.н.



Лилия В.Е.