

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора
от _____ 20 ____ г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Главный врач
Государственного бюджетного
учреждения здравоохранения
Республики Мордовия
«Мордовская республиканская станция
переливания крови»

О.Г. Македонская
«24» _____ 2012 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения антител к антигенам эритроцитов (консервированных стандартных эритроцитов для исследований системы АВ0, консервированных стандартных эритроцитов для выявления нерегулярных антиэритроцитарных антител; 33 % раствора полиглюкина для лабораторных целей)

1 НАЗНАЧЕНИЕ

1.1 Набор реагентов для определения антител к антигенам эритроцитов предназначен для выполнения иммуногематологических исследований крови человека (доноров, реципиентов, беременных).

1.2 Консервированные стандартные эритроциты для исследований системы АВ0, входящие в состав набора реагентов для определения антител к антигенам эритроцитов, применяются для определения анти-А и анти-В антител в сыворотке / плазме крови при исследовании групповой принадлежности системы АВ0 перекрестным способом и выявления полных/неполных анти-А и анти-В антител в сыворотке крови. Пригодны для использования в прямой реакции агглютинации на плоскости, непрямой пробе Кумбса, реакции агглютинации в солевой среде.

1.3 Консервированные стандартные эритроциты для выявления нерегулярных антиэритроцитарных антител, являющиеся составной частью набора реагентов, предназначены для определения аллоиммунных антител к антигенам эритроцитов в сыворотке крови, а также для использования в качестве контрольных образцов при определении резус-принадлежности и выполнении RH/KELL фенотипирования эритроцитов в предусмотренных для этих исследований методах. Определение антител стандартными эритроцитами выполняется в непрямой пробе Кумбса, реакции конгломинации с применением желатина.

1.4 Кроме того, набор реагентов для определения антител к антигенам эритроцитов применяется для проведения контроля специфичности и активности при использовании и изготовлении стандартных изогемагглютинирующих сывороток системы АВ0, моноклональных реагентов, сывороток и реактивов, предназначенных для определения антигенов различных систем эритроцитов крови человека.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1 Принцип действия

2.1.1 В основе выявления антител к антигенам эритроцитов лежит способность антигенов консервированных стандартных эритроцитов взаимодействовать со специфичными для них антителами in vitro. Взаимодействие проявляется в виде реакции агглютинации эритроцитов

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1 Принцип действия

2.1.1 В основе выявления антител к антигенам эритроцитов лежит способность антигенов консервированных стандартных эритроцитов взаимодействовать со специфичными для них антителами *in vitro*. Взаимодействие проявляется в виде реакции агглютинации эритроцитов антителами и появлении визуально определяемой агрегации эритроцитов. Если исследуемая сыворотка не содержит антител, направленных против этих антигенов, то агглютинации консервированных стандартных эритроцитов не происходит. 33% раствор полиглокина для лабораторных целей является компонентом реакции, необходимым для процесса агглютинации эритроцитов антиэритроцитарными антителами неполной формы.

2.2 Состав набора

2.2.1 Набор реагентов для определения антител к антигенам эритроцитов включает консервированные стандартные эритроциты для исследований системы АВ0 и консервированные стандартные эритроциты для выявления нерегулярных антиэритроцитарных антител.

2.2.2 В состав набора входят следующие компоненты:

Таблица 1 Состав набора реагентов для определения антител к антигенам эритроцитов

Наименование реагентов	Группа крови системы АВ0	Антигенный состав эритроцитов	Тара, объем
1 Для исследований системы АВ0:			
1.1 консервированные стандартные эритроциты	0 (I)	D+, C+, E-, c+, e+, K-	1 фл. х 5 мл
1.2 консервированные стандартные эритроциты	A (II)	D+, C+ E-, c+, e+, K-	1 фл. х 5 мл
1.3 консервированные стандартные эритроциты	B (III)	D+, C+, E-, c+, e+, K-	1 фл. х 5 мл
2 Для выявления антиэритроцитарных антител:			
2.1 консервированные стандартные эритроциты	0 (I)	D+, C+, E-, c-, e+, K+	1 фл. х 5 мл
2.2 консервированные стандартные эритроциты	0 (I)	D+, C-, E+, c+, e-, K-	1 фл. х 5 мл
2.3 консервированные стандартные эритроциты	0 (I)	D-, C-, E-, c+, e+, K-	1 фл. х 5 мл
2.4. 33% раствор полиглокина для лабораторных целей			2 фл. х 5 мл

2.2.3 Объем реагентов во флаконах и число флаконов в наборе могут быть изменены по согласованию с потребителем.

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1 Основными характеристиками консервированных стандартных эритроцитов, входящих в набор реагентов для определения антител к антигенам эритроцитов, являются:

- установленные группа крови системы АВ0 и антигенный состав;
- специфичность: антиген - негативные стандартные эритроциты не агглютинируются специфичными для этих антигенов антителами;
- высокая агглютинабельность.

3.2 Консервированные стандартные эритроциты для исследований системы АВ0 идентифицированы по антигенам систем АВ0, RH и KELL. Консервированные стандартные эритроциты для выявления нерегулярных антиэритроцитарных антител типированы по системам АВ0, RH, KELL; их антигенный состав исследован дважды – цоликлонами в прямой реакции агглютинации на плоскости и в гелевом тесте микрометодом.

3.3 АВ0-специфичность компонентов набора подтверждена двукратно исследованиями с помощью стандартных изоагглютинирующих сывороток для определения групп крови системы АВ0 и цоликлонов анти-А, -В, -АВ. Специфичность реагентов набора в отношении антигенов систем RH, KELL подвергнута контролю цоликлонами в прямой реакции агглютинации на плоскости и в гелевом тесте микрометодом.

3.4 Антиген А стандартных эритроцитов А (II) представлен вариантом А₁. Консервированные стандартные эритроциты А (II) и В (III) дают четкую, хорошо видимую агглютинацию не позднее, чем через 5 секунд с начала наблюдения и имеют титр не ниже, чем 1:64 при исследовании в прямой реакции агглютинации на плоскости с цоликлонами. Присутствующие в стандартных эритроцитах антигены систем RH и KELL дают агглютинацию силой от «+++» до «++++» при исследовании цоликлонами в прямой реакции агглютинации на плоскости и реагентами диагностических карт в гелевом тесте микрометодом.

33% раствор полиглюкина для лабораторных целей обеспечивает мелкую, четко различимую агглютинацию консервированных резус-положительных (D+) эритроцитов сывороткой, содержащей резус- антитела анти-D неполной формы, через 5 мин. после смешивания.

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1 Реагенты предназначены строго для профессиональной диагностики in vitro.

4.2 Компоненты реагентов являются нетоксичными.

4.3 Кровь доноров, эритроцитная масса которых используется в качестве материала для приготовления реагентов, была тестирована и признана отрицательной по следующим маркерам: HBs-антиген, анти-ВИЧ1/ВИЧ2, ВГС-антитела, при использовании методик, считающихся наиболее чувствительными. Однако, ни один из существующих методов не может абсолютно гарантировать отсутствие ВИЧ, гепатитов В, С или других патогенных агентов. Кроме того, исследуемые образцы крови следует рассматривать как потенциально инфицированные и способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов и других гемотрансмиссивных инфекций. В связи с этим, при работе с ними следует соблюдать необходимые меры предосторожности: работать в резиновых (или латексных) перчатках, использовать одноразовые палочки, пипетки, наконечники, планшеты. Лабораторные принадлежности многократного применения должны проходить дезинфекцию в соответствии с установленными нормативными документами и требованиями Минздравсоцразвития Российской Федерации.

5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

5.1 При работе с реагентами требуются следующие оборудование и материалы:

- центрифуга лабораторная клиническая;
- термостат электрический суховоздушный;
- баня водяная лабораторная;
- микроскоп;
- лупа лабораторная 6х-8х;
- часы песочные;
- дозаторы пипеточные одноканальные переменного объема 5-50, 100-1000 мкл;
- наконечники одноразовые к пипеточным дозаторам;
- пипетки и палочки одноразовые полимерные или стеклянные;
- штативы лабораторные полимерные для пробирок;
- пробирки биологические;
- пробирки градуированные центрифужные;
- стекла предметные;

- планшеты для определения групп крови;
- планшеты для иммунологических реакций однократного применения;
- маркер для стекла;
- стаканы стеклянные;
- перчатки хирургические резиновые или медицинские диагностические одноразовые;
- цоликлоны анти-А, анти-В, анти-АВ и/или стандартные изогемагглютинирующие сыворотки АВ0;
- сыворотка для пробы Кумбса;
- контрольные сыворотки для скрининга антител;
- желатин, 10% раствор для лабораторных работ;
- 0,9% раствор хлорида натрия;
- вода очищенная.

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Анализируемым биологическим материалом является кровь человека. При использовании реагентов набора в качестве контрольных образцов исследуемым материалом будут являться различные реагенты, предназначенные для определения антигенов эритроцитов.

6.2 Для определения группы крови системы АВ0 перекрестным способом подходят образцы крови, взятые в сухие пробирки или пробирки с антикоагулянтом. Для выявления нерегулярных антиэритроцитарных антител, в т.ч. иммунных групповой системы АВ0, требуются образцы крови, заготовленные без консерванта.

6.3 Образцы крови допустимо хранить до использования при температуре от 2 до 8 °С не более 48 часов. Нельзя использовать гемолизированные образцы.

7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1 Определение групп крови системы АВ0 перекрестным способом при помощи стандартных изогемагглютинирующих сывороток (или цоликлонов анти-А, -В, -АВ) и стандартных эритроцитов

7.1.1 Нанести на верхнюю часть предварительно маркированного планшета по одной большой капле (0,1 мл/ 100 мкл) изогемагглютинирующих сывороток АВ0 двух серий (или цоликлонов анти-А, анти-В, анти-АВ) под соответствующими надписями.

7.1.2 Нанести на нижнюю часть планшета над соответствующими надписями по одной маленькой капле (0,01 мл/ 10 мкл) консервированных стандартных эритроцитов для исследований системы АВ0 групп 0 (I), А (II), В (III), взятых из осадка на дне флаконов.

7.1.3 Извлечь из пробирки, содержащей исследуемую кровь, сыворотку и нанести ее по одной большой капле (0,1 мл/ 100 мкл) рядом с каждой каплей стандартных эритроцитов.

7.1.4 Извлечь из пробирки этой же пипеткой эритроциты исследуемой крови и нанести их рядом с каждой каплей стандартной сыворотки (цоликлона) по одной маленькой капле (0,01 мл/ 10 мкл).

7.1.5 Тщательно перемешать во всех каплях сыворотку (цоликлон) с эритроцитами одноразовыми или стеклянными палочками, индивидуальными для каждой пары капель. Покачать планшет и оставить в покое на 1-2 минуты (при использовании сывороток).

7.1.6 Наблюдать за ходом реакции при периодическом покачивании планшета в течение 5 минут (3 минут при использовании цоликлонов). Агглютинация исследуемых эритроцитов, как правило, начинается в течение первых 10-30 секунд, но 5 (3) -минутный интервал наблюдения должен быть выдержан ввиду возможности поздней агглютинации эритроцитов. Агглютинация исследуемой сыворотки со стандартными эритроцитами может наступить поздно (к концу пятой

минуты) в связи с возможным низким титром содержащихся в ней групповых антител.

7.1.7 Добавить в капли смеси сыворотки с эритроцитами, в которых наступила агглютинация, по 1 капле (0,05 мл/ 50 мкл) 0,9% раствора хлорида натрия (не ранее, чем через 3 минуты с начала наблюдения). Продолжать наблюдение при периодическом покачивании планшета до истечения пяти минут.

7.1.8 Учесть результат реакции.

7.2 Определение полных иммунных антител групповой системы АВ0 реакцией солевой агглютинации

7.2.1 Подготовка реагентов для анализа

7.2.1.1 Поместить в предварительно маркированные градуированные центрифужные пробирки по 0,5 мл/ 500 мкл консервированных стандартных эритроцитов для исследований системы АВ0 групп А (II) и В (III), взятых из осадка на дне флаконов.

7.2.1.2 Долить в пробирки до метки 10 мл 0,9% раствор хлорида натрия и перемешать их содержимое индивидуальной для каждой пробирки одноразовой или стеклянной палочкой.

7.2.1.3 Уравновесить пробирки и центрифугировать их в течение 5 минут при 2000-3000 об/мин.

7.2.1.4 Отсосать надосадочную жидкость из каждой пробирки. Повторить отмывание эритроцитов.

7.2.1.5 Установить в штатив и обозначить две пробирки в соответствии с групповой принадлежностью отмываемых эритроцитов.

7.2.1.6 Приготовить 2% взвесь отмываемых эритроцитов. Для этого внести в каждую из двух пробирок по 49 капель (0,01 мл/ 10 мкл каждая) 0,9% раствора хлорида натрия и по 1 капле (0,01 мл/ 10 мкл) отмываемых стандартных эритроцитов в соответствии с их маркировкой и маркировкой пробирок с отмываемыми эритроцитами. Перемешать содержимое пробирок индивидуальной для каждой пробирки стеклянной палочкой.

7.2.2 Поместить 0,5-1,0 мл исследуемой сыворотки в градуированную центрифужную пробирку, развести в четыре раза 0,9% раствором хлорида натрия и перемешать одноразовой или стеклянной палочкой.

7.2.3 Разлить разведенную сыворотку в две маркированные градуированные центрифужные пробирки поровну.

7.2.4 Прогреть одну из пробирок с разведенной сывороткой в водяной бане при температуре 70°C в течение 10 минут. Получить в результате этого две порции исследуемой сыворотки - нативную и прогретую, каждая из которых разведена в соотношении 1:4.

7.2.5 Нумеровать лунки в планшете для иммунологических реакций следующим образом:

- при исследовании сыворотки группы А (II) или В (III) - один ряд из 12 лунок;
- при исследовании сыворотки группы 0 (I) - два ряда по 12 лунок.

Нумерация лунок заключается в обозначении у каждой лунки степени разведения помещенной в нее сыворотки (1:4, 1:8, 1:16 и т. д.).

7.2.6 Внести во все лунки каждого ряда, начиная со второй, по две капли (0,02 мл/ 20 мкл) 0,9% раствора хлорида натрия.

7.2.7 Внести в первую и вторую лунки каждого ряда по две капли (0,02 мл/ 20 мкл) непрогретой сыворотки, разведенной в четыре раза.

7.2.8 Смешать во второй лунке планшета каждого ряда сыворотку с 0,9% раствором хлорида натрия пипеткой и перенести две капли этой смеси в третью лунку, из третьей, после перемешивания, в четвертую и т. д.

7.2.9 Удалить из последней лунки две капли смеси. В результате в лунках планшета получено разведение исследуемой сыворотки от 1:4 до 1:8000.

7.2.10 Приготовить аналогично разведения прогретой сыворотки, разведенной в четыре раза,

согласно п.п. 7.2.5 -7.2.9. Достаточно сделать разведения до 1:128.

7.2.11 Добавить во все лунки планшета с разведениями прогретой и непрогретой сыворотки по одной капле (0,01 мл/ 10 мкл) 2% смеси консервированных стандартных эритроцитов противоположной группы, а именно :

- при исследовании сыворотки группы B_{α} (III) - эритроциты группы A (II);
- при исследовании сыворотки группы A_{β} (II) - эритроциты группы B (III);
- при исследовании сыворотки группы $O_{\alpha\beta}$ (I) - в один ряд лунок добавить эритроциты группы A (II), в другой - группы B (III).

7.2.12 Встряхнуть планшеты для перемешивания содержимого лунок. Оставить планшеты на один час: с нативной сывороткой - при комнатной температуре, с прогретой - в термостате при температуре 37 °С.

7.2.13 Учесть результат реакции при помощи лупы с 6-8 -кратным увеличением.

7.3 Определение неполных иммунных антител групповой системы АВ0 непрямой пробой Кумбса

7.3.1 Подготовка реагентов для анализа выполняется согласно п.7.2.1.1.-7.2.1.4. настоящей инструкции.

7.3.2 Установить в штатив и пронумеровать: 6 пробирок – при исследовании сыворотки групп A_{β} (II) и B_{α} (III) и два ряда по 6 пробирок - при исследовании сыворотки группы $O_{\alpha\beta}$ (I).

7.3.3 Надписать на пробирках степень разведения сыворотки, которая будет исследована, от 1:4 до 1:128.

7.3.4 Внести во все пробирки, начиная со второй, по три капли 0,9% раствора хлорида натрия.

7.3.5 Внести в первую и вторую пробирку штатива по три капли исследуемой сыворотки, предварительно разведенной и прогретой согласно п.п.7.2.2.-7.2.4.

7.3.6 Перенести из второй пробирки, после перемешивания ее содержимого, три капли в следующую и так далее до последней пробирки, из которой три капли удалить. В результате получены разведения сыворотки от 1:4 до 1:128.

7.3.7 Добавить пипеткой во все пробирки по одной маленькой капле (0,01 мл/10 мкл) дважды отмытых 0,9% раствором хлорида натрия консервированных стандартных эритроцитов для исследований системы АВ0 противоположной группы, а именно:

- при исследовании сыворотки группы B_{α} (III) - эритроциты группы A (II);
- при исследовании сыворотки группы A_{β} (II) - эритроциты группы B (III);
- при исследовании сыворотки группы $O_{\alpha\beta}$ (I) - эритроциты группы A (II) в первый ряд и эритроциты группы B (III) во второй ряд пробирок.

7.3.8 Встряхнуть штатив для перемешивания содержимого пробирок и инкубировать в термостате при температуре 37°С в течение 45 минут.

7.3.9 Трижды отмыть эритроциты после инкубации и приготовить из них 5% взвесь, добавив для этого в каждую пробирку с отмытыми стандартными эритроцитами по 19 капель (0,01 мл/10 мкл каждая) 0,9% раствора хлорида натрия.

7.3.10 Перенести по 1 капле (0,05 мл/ 50 мкл) взвеси эритроцитов из каждой пробирки каждого ряда на планшет и пронумеровать в соответствии с нумерацией пробирок.

7.3.11 Добавить к каждой капле взвеси эритроцитов по одной капле (0,05 мл/ 50 мкл) сыворотки для пробы Кумбса и тщательно перемешать индивидуальной для каждой пары капель стеклянной палочкой. Слегка покачать планшет и оставить в покое на 1-2 минуты.

7.3.12 Наблюдать за результатом реакции в течение 20 минут при периодическом покачивании планшета.

7.3.13 Учесть результат реакции.

7.4 Определение нерегулярных антиэритроцитарных антител в сыворотке крови непрямой пробой Кумбса

7.4.1 Подготовка реагентов для анализа

7.4.1.1 Установить в штатив и пронумеровать три градуированные центрифужные пробирки в соответствии с числом и нумерацией образцов консервированных стандартных эритроцитов для выявления нерегулярных антиэритроцитарных антител.

7.4.1.2 Внести в пробирки, в соответствии с их нумерацией, по 0,5 мл/ 500 мкл консервированных стандартных эритроцитов.

7.4.1.3 Долить во все пробирки до метки 10 мл 0,9% раствор хлорида натрия и перемешать их содержимое индивидуальной для каждой пробирки стеклянной палочкой.

7.4.1.4 Уравновесить пробирки и центрифугировать их в течение 5 минут при 2000 - 3000 об/мин.

7.4.1.5 Отсосать надосадочную жидкость из каждой пробирки. Повторить такое отмывание эритроцитов дважды.

7.4.2 Установить в штатив, пронумеровать и обозначить три пробирки в соответствии с нумерацией и обозначением пробирок со стандартными эритроцитами.

7.4.3 Внести во все пробирки по три капли (0,15 мл) испытуемой сыворотки.

7.4.4 Набрать со дна каждой пробирки, содержащей отмытые стандартные эритроциты, по маленькой капле (0,01 мл/ 10 мкл) эритроцитов с помощью пипетки и перенести их в пробирки с испытуемой сывороткой согласно нумерации пробирок.

7.4.5 Тщательно перемешать содержимое пробирок путем встряхивания и инкубировать в термостате в течение 45 минут при температуре 37°C.

7.4.6 Вынуть штатив с пробирками из термостата, долить в каждую из них 0,9% раствор хлорида натрия до метки 10 мл, уравновесить, центрифугировать и отсосать индивидуальной пипеткой надосадочную жидкость. Повторить такое отмывание эритроцитов 3-4 раза.

7.4.7 Добавить в каждую пробирку с отмытыми эритроцитами по 19 капель (0,01 мл/ 10 мкл каждая) 0,9% раствора хлорида натрия для получения 5% взвеси.

7.4.8 Перенести по 1 капле (0,05 мл/ 50 мкл) взвеси эритроцитов из каждой пробирки каждого ряда на планшет и пронумеровать в соответствии с нумерацией пробирок.

7.4.9 Добавить к каждой капле взвеси эритроцитов по одной капле (0,05 мл/ 50 мкл) сыворотки для пробы Кумбса и тщательно перемешать индивидуальной для каждой пары капель стеклянной палочкой. Слегка покачать планшет и оставить в покое на 1-2 минуты.

7.4.10 Наблюдать за результатом реакции в течение 20 минут при периодическом покачивании планшета.

7.4.11 Учесть результат реакции.

7.5 Определение нерегулярных антиэритроцитарных антител в сыворотке крови реакцией конглоутинации с применением желатина

7.5.1 Установить в штатив и пронумеровать три пробирки в соответствии с числом и нумерацией образцов консервированных стандартных эритроцитов для выявления нерегулярных антиэритроцитарных антител.

7.5.2 Внести во все пробирки по две капли (0,1 мл/100 мкл) исследуемой сыворотки.

7.5.3. Внести в пробирки в соответствии с их нумерацией по одной капле (0,05 мл/50 мкл) консервированных стандартных эритроцитов, предварительно отмытых согласно п.п.7.4.1.1 – 7.4.1.5.

7.5.4 Добавить во все пробирки по две капли (0,1 мл/ 100 мкл) 10% раствора желатина для лабораторных целей, подогретого до разжижения.

7.5.5 Встряхнуть штатив для перемешивания содержимого пробирок и инкубировать в водяной бане при температуре от 46 до 48°C в течение 15 минут или в суховоздушном термостате в течение 45 минут.

7.5.6 Извлечь из водяной бани или термостата штатив с пробирками и добавить в каждую из них 5-8 мл 0,9% раствора хлорида натрия.

7.5.7 Перемешать содержимое пробирок путем одно-двукратного перевертывания и наблюдать результат реакции, просматривая их на свет.

7.5.8 Учесть результат реакции визуально и с помощью микроскопирования.

Проба на совместимость переливаемой крови с применением 33% раствора полиглюкина для лабораторных целей

7.6.1 Установить в штатив центрифужную или любую другую пробирку емкостью не менее 10 мл. Написать на ней фамилию, инициалы, группы крови больного и донора, номер контейнера с кровью.

7.6.2 Внести пипеткой на дно пробирки две капли сыворотки больного, одну каплю крови из контейнера и одну каплю 33% раствора полиглюкина для лабораторных целей.

7.6.3 Перемешать содержимое пробирки встряхиванием, далее в течение 3-5 минут медленно поворачивать ее по оси, наклоняя почти до горизонтального положения так, чтобы содержимое растекалось по стенкам. Такое растекание содержимого пробирки по стенкам делает реакцию более выраженной.

7.6.4 Установить пробирку вертикально, добавить 2-3 мл 0,9% раствора хлорида натрия и перемешать ее содержимое путем 2-3х-кратного перевертывания (не взбалтывать!). Просмотреть пробирку на свет невооруженным глазом или через лупу.

7.6.5 Учесть результат реакции.

7.7 Нормы расхода

7.7.1 Определение групповых анти-А и анти-В антител в сыворотке / плазме крови при исследовании групповой принадлежности системы АВ0 перекрестным способом - 0,03 мл на 1 исследование.

7.7.2 Определение полных иммунных антител групповой системы АВ0 - 0,01 мл на 1 исследование сыворотки групп А (II) и В (III); 0,02 мл на одно исследование сыворотки группы 0 (I).

7.7.3 Определение неполных иммунных антител групповой системы АВ0 - 0,06 мл на 1 исследование сыворотки групп А (II) и В (III); 0,12 мл на одно исследование сыворотки группы 0 (I).

7.7.4 Определение нерегулярных антиэритроцитарных антител в сыворотке крови непрямой пробой Кумбса - 0,03 мл на 1 исследование; реакцией конглоутинации с применением желатина - 0,15 мл на 1 исследование.

7.7.5 Определение резус-принадлежности при помощи стандартного универсального реагента антирезус анти-D в пробирках без подогрева - 0,3 мл стандартного универсального реагента антирезус анти-D и 0,05 мл 33% раствора полиглюкина для лабораторных целей на 1 исследование (включая расход на проведение контрольных исследований).

7.7.6 Проба на совместимость переливаемой крови с применением 33% раствора полиглюкина для лабораторных целей - 0,05 мл 33 % раствора полиглюкина для лабораторных целей на 1 исследование.

8 РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

8.1 Регистрация результатов реакции (п.п.7.1.,7.3.-7.5.) проводится по наличию (от «+» до «++ ++») или отсутствию («-») агглютинации консервированных стандартных эритроцитов исследуемой сывороткой в каждой капле (или пробирке). Результат учитывается как:

- отрицательный, если агглютинации эритроцитов не наблюдается, а капля смеси (или содержимое пробирки) остается равномерно окрашенной (-ым) в красный цвет. При определении

нерегулярных антиэритроцитарных антител реакцией конглоутинации с применением желатина необходимо дополнительно микроскопировать содержимое пробирок, в которых при просмотре невооруженным глазом агглютинация не видна. Для этого каплю содержимого каждой пробирки поместить с помощью стеклянной палочки на предметное стекло и просмотреть под малым увеличением;

- положительный, если видны агглютинаты в виде склеенных эритроцитов, а капля смеси (или содержимое пробирки) в той или иной степени обесцвечивается.

Отсутствие агглютинации во всех каплях (пробирках) свидетельствует о том, что исследуемая сыворотка не содержит антител, направленных против антигенов консервированных стандартных эритроцитов.

Наличие агглютинации хотя бы в одной капле (пробирке) говорит о том, что исследуемая сыворотка содержит антитела, направленные против какого-либо из антигенов консервированных стандартных эритроцитов.

8.2 Регистрация результата определения полных иммунных антител групповой системы АВ0 реакцией солевой агглютинации (п.7.2.) проводится по наличию или отсутствию агглютинации консервированных стандартных эритроцитов исследуемой сывороткой, что выражается в разной форме их осадка на дне лунок планшета. Результат учитывается как:

- отрицательный, если агглютинации эритроцитов не наблюдается: осадок эритроцитов располагается ровным слоем в центре лунки планшета без шероховатостей и неровностей, границы его представляют собой правильно очерченный круг. Диаметр осадка при отрицательном результате всегда меньше, чем при положительном;

- положительный, если агглютинация эритроцитов произошла: осадок эритроцитов располагается на дне лунки планшета неравномерным слоем. Отмечается шероховатость, губчатость или зернистость его структуры. Края осадка неровные, изогнутые, иногда они завернуты внутрь. В некоторых случаях эритроциты расположены в виде волнистого венчика вокруг более светлой центральной части.

Отсутствие агглютинации во всех лунках планшета свидетельствует о том, что исследуемая сыворотка не содержит иммунных антител групповой системы АВ0 полной формы.

Наличие агглютинации свидетельствует о том, что исследуемая сыворотка содержит иммунные антитела групповой системы АВ0 полной формы, а последнее разведение, в котором она наблюдается — об их титре.

8.3 Контроль специфичности.

Для контроля специфичности реакции при определении нерегулярных антиэритроцитарных антител в каждую серию исследований необходимо включать контрольные образцы сывороток, содержащие («+» контроль) и не содержащие («-» контроль) антиэритроцитарные антитела.

8.4 Интерпретация результатов определения анти-А и анти-В антител в сыворотке / плазме при исследовании групповой принадлежности системы АВ0 перекрестным способом представлена в таблице 2.

Таблица 2 Результаты исследования групповых антител при определении групп крови системы АВ0 перекрестным способом

Результаты реакции * со стандартными эритроцитами			Присутствующие антитела
0 (I)	A (II)	B (III)	
-	+	+	анти-А, анти-В
-	+	-	анти-А
-	-	+	анти-В
-	-	-	отсутствуют

* Знаком (+) обозначено наличие агглютинации, знаком (-) - ее отсутствие

8.5 Результат пробы на совместимость переливаемой крови с применением 33% раствора полиглюкина для лабораторных целей учитывают следующим образом: наличие агглютинации в пробирке свидетельствует о том, что кровь донора несовместима с кровью больного и не должна быть ему перелита. Если содержимое пробирки остается равномерно окрашенным и в нем не наблюдается признаков агглютинации эритроцитов, это означает, что кровь донора совместима с кровью больного в отношении резус-антигена D.

**9 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА
(КОНСЕРВИРОВАННЫЕ СТАНДАРТНЫЕ ЭРИТРОЦИТЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ
СИСТЕМЫ АВО, КОНСЕРВИРОВАННЫЕ СТАНДАРТНЫЕ ЭРИТРОЦИТЫ
ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ НЕРЕГУЛЯРНЫХ АНТИЭРИТРОЦИТАРНЫХ
АНТИТЕЛ ; 33% РАСТВОР ПОЛИГЛЮКИНА ДЛЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ЦЕЛЕЙ.)**

Набор реагентов для определения антител к антигенам эритроцитов хранят при температуре от 2 до 8 °С. Срок годности набора указан на этикетках компонентов набора и коробке на набор. Реагенты из разгерметизированных флаконов пригодны для использования в течение недели. Эксплуатация набора реагентов для определения антител к антигенам эритроцитов должна производиться в помещении с хорошим освещением при температуре от 15 до 25 °С.

10 РЕКЛАМАЦИЯ

Основаниями для рекламации являются: отсутствие активности, неспецифичность, нарушение целостности флаконов, получение реагентов с истекшим сроком годности или недостаточными сведениями. При составлении рекламации необходимо указать дату получения, номер серии, причины, по которым набор реагентов признан негодным. Вместе с рекламацией необходимо направить 2-3 не вскрытых набора данной серии.

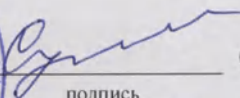
Рекламацию следует направлять в организацию-изготовитель.

Организация-изготовитель:

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Республики Мордовия
«Мордовская республиканская станция переливания крови»
430030, Республика Мордовия, г. Саранск, ул. Дальняя, д.3-а
тел. (834-2) 32-83-11; факс (834-2) 32-83-11; E- mail: mrspk@ moris.ru

Заведующий отделом контроля качества
ГБУЗ РМ «Мордовская республиканская
станция переливания крови»





Сургаева Т.В.

подпись

12 » октября 2012 г.

СОГЛАСОВАНО:

Заведующий кафедрой клинической
лабораторной диагностики ГБОУ ДПО
РМАПО Минздравсоцразвития России,
д.м.н., профессор



подпись

Долгов В.В.

12 » 2012 г.