



ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики *in vitro*
«Стандартные эритроциты для определения группы крови АВО перекрестным
методом» (Эритроциты АВО)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Медицинское изделие для диагностики *in vitro* Эритроциты АВО (далее по тексту – изделие), выпускаемое в виде набора, включающего стандартные эритроциты О (I), A₁ (II) и B (III) групп, применяется в клинической лабораторной диагностике (клиническая медицина и служба крови) и предназначено для выявления изогемагглютининов α и β в сыворотке или плазме крови человека перекрестным методом в реакции гемагглютинации на плоскости.

1.2. Изделие применяется совместно с моноклональными антителами (анти-A, анти-B и анти-AB диагностические, жидкие) для определения группы крови человека системы АВО перекрестным методом, зарегистрированными в установленном порядке и разрешенными к применению в соответствии с законодательством Российской Федерации.

1.3. Изделие рассчитано на проведение 200 исследований для выявления изогемагглютининов α и β в сыворотке или плазме крови человека перекрестным методом в реакции агглютинации на плоскости.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Определение группы крови основывается на реакции прямой гемагглютинации на плоскости (пластине или планшете) при смешивании стандартных эритроцитов с исследуемой сывороткой (плазмой) крови человека. Реакция наступает в результате специфического взаимодействия антигенов А, В, АВ, содержащихся на поверхности

эритроцитов, с соответствующими антителами (анти-А, анти-В) сыворотки (плазмы) крови человека. Положительный результат (агглютинация) выражается в склеивании эритроцитов в отчетливо видимые агрегированные скопления клеток красного цвета - агглютинаты, и просветлении поля реакции. Отрицательный результат выражается в отсутствии склеивания эритроцитов, поле реакции остается равномерно окрашенным в красный цвет. Стандартные эритроциты О(І) группы не содержат на своей поверхности групповых антигенов, поэтому при смешивании с исследуемыми образцами всегда дают отрицательный результат.

2.2. Состав набора

В состав изделия входят:

- стандартные эритроциты О(І) группы, жидкие, готовые к применению – 2 флакона (по 2 мл).
- стандартные эритроциты А₁(ІІ) группы, жидкие, готовые к применению – 2 флакона (по 2 мл).
- стандартные эритроциты В(ІІІ) группы, жидкие, готовые к применению – 2 флакона (по 2 мл).

К изделию прилагается инструкция по применению и аналитический паспорт на поставляемую серию.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность:

- стандартные эритроциты О(І) группы не дают агглютинации с цоликлонами анти-А, анти-В в течение пяти минут;
- стандартные эритроциты А₁(ІІ) группы, предназначенные для выявления агглютинина анти-А дают агглютинацию с цоликлонами анти-А и цоликлонами анти-А₁ Лектин, но не дают агглютинацию с цоликлонами анти-В в течение пяти минут;
- стандартные эритроциты В(ІІІ) группы, предназначенные для выявления агглютинина анти-В дают агглютинацию с цоликлонами анти-В и не дают агглютинацию с цоликлонами анти-А в течение пяти минут.

3.2. Чувствительность:

- стандартные эритроциты А₁(ІІ) группы, предназначенные для выявления изогемагглютинина α, должны иметь титр не менее 1:64 при проведении реакции прямой

агглютинации на плоскости с разведенными цоликлонами анти-А не позднее, чем через 180 сек. после смешивания;

– стандартные эритроциты В(III) группы, предназначенные для выявления изогемагглютенина β , должны иметь титр не менее 1:64 при проведении реакции прямой агглютинации на плоскости с разведенными цоликлонами анти-В не позднее, чем через 180 сек. после смешивания.

3.3. Диагностическая чувствительность: клинические исследования, проведенные на 206 образцах сыворотки крови, показали 100% чувствительность (интервал 86%-100%).

Диагностическая специфичность: клинические исследования, проведенные на 206 образцах сыворотки крови, показали 100% специфичность (интервал 86%-100%).

3.4. Диагностическая чувствительность: клинические исследования, проведенные на 199 образцах плазмы крови, показали 100% чувствительность (интервал 86%-100%).

Диагностическая специфичность: клинические исследования, проведенные на 199 образцах плазмы крови, показали 100% специфичность (интервал 86%-100%).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения изделия – класс 3 (ГОСТ Р 51609-2000).

4.2. Все компоненты изделия в используемых концентрациях являются нетоксичными.

4.3. Образцы крови доноров, из которых изготавливается изделие, предварительно обследуются на наличие маркеров гемотрансмиссивных инфекций: HBsAg, антиген/антител к вирусам иммунодефицита человека (ВИЧ 1,2), антител к HCV, возбудителя сифилиса при помощи тест-систем, зарегистрированных в установленном порядке и разрешенных к применению в соответствии с законодательством Российской Федерации.

4.4. Изделие следует рассматривать, как потенциально биологически опасный диагностический реагент, при работе с которым необходимо соблюдать все санитарно-противоэпидемические мероприятия, так как ни одна из существующих методик исследований на маркеры гемотрансмиссивных инфекций не может гарантировать полное отсутствие патогенных агентов. При работе с исследуемыми образцами крови человека (сыворотка, плазма) следует надевать одноразовые стерильные резиновые или латексные перчатки и соблюдать все меры противоэпидемического режима.

4.5. При работе с изделием следует соблюдать основные правила работы, изложенные в Постановлении №1230 от 31 декабря 2010 г. "Об утверждении правил и методов исследований и правил отбора образцов донорской крови, необходимых для применения и исполнения технического регламента о требованиях безопасности крови, ее продуктов, кровезамещающих растворов и технических средств, используемых в трансфузионно-инфузионной терапии", СанПиН 2.1.3.2630-10, СП 3.1.5.2826-10, СП 3.1.1.2341-08.

4.6. Изделие предназначено только для *in vitro* диагностики.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- цоликлоны анти-А, анти-В и анти-АВ диагностические, жидкие для определения групп крови человека системы АВО, зарегистрированные в установленном порядке и разрешенные к применению в соответствии с законодательством Российской Федерации;
- лупа;
- штатив для серологических пробирок;
- белые пластинки с лунками или прозрачные пластиковые планшеты;
- пипетки пастеровские объемом 1,0 мл или дозаторы пипеточные переменного объема от 5 мкл до 100 мкл, от 10 мкл до 200 мкл;
- стеклянные или пластмассовые палочки для перемешивания;
- раствор для инфузий 0,9%-ный натрия хлорида, объемом 0,5 л;
- дезинфицирующие растворы (раствор спирта этилового 70%-ный и другие средства, разрешенные к применению в Российской Федерации в соответствии с Инструкциями/Методическими указаниями по их применению, утвержденными в установленном порядке);
- перчатки резиновые или латексные стерильные одноразового применения;
- секундомер;
- холодильное оборудование.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для проведения исследований по выявлению изогемагглютининов α и β в сыворотке или плазме крови человека перекрестным методом в реакции агглютинации на плоскости стандартными эритроцитами необходима сыворотка или плазма крови

человека, заготовленная не позднее трехдневного срока хранения в холодильном оборудовании при температуре от плюс 2°C до 6°C.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа компоненты изделия следует выдержать при температуре от плюс 15°C до 25°C не менее 30 мин.

7.2. Перед постановкой реакции осуществляют визуальный контроль изделия. Стандартные эритроциты представляют собой взвесь эритроцитной массы красного цвета без пленок, сгустков и признаков гемолиза. При отстаивании на дне флакона образуется гомогенный осадок эритроцитов красного цвета с прозрачной бесцветной надосадочной жидкостью. Перед началом исследования флаконы со стандартными эритроцитами следует осторожно перемешать до получения гомогенной взвеси без сгустков.

7.3. Подготовку цоликлонов (анти-А, анти-А₁ Лектин, анти-В и анти-АВ диагностические, жидкие) для реакции агглютинации следует проводить в соответствии с инструкцией по их применению.

7.4. Определение проводят на белом или прозрачном планшете, на верхнюю часть которого слева направо наносят обозначения: О_αβ(I), А_β(II) и В_α(III). На верхнем крае надписывают фамилию и инициалы лица, у которого определяют группу крови.

7.5. Нанести на пластину цоликлоны анти-А, анти-В, анти-АВ по одной большой капле (0,1 мл) под соответствующими обозначениями слева направо (левая половина планшета).

На правую часть планшета также под соответствующими обозначениями нанести по одной маленькой капле (0,01 мл) стандартных эритроцитов О_αβ(I), А₁β(II) и В_α(III) групп.

7.6. Из пробирки с исследуемой кровью пипеткой отобрать сыворотку (плазму) и нанести ее по одной большой капле (0,1 мл) на стандартные эритроциты О_αβ(I), А_β(II) и В_α(III) групп.

7.7. Со дна этой же пробирки с исследуемой кровью пипеткой отобрать эритроциты и нанести по одной маленькой капле (0,01-0,03 мл) исследуемых эритроцитов рядом с нанесенными цоликлонами.

7.8. Соответствующие капли следует смешать друг с другом и тщательно перемешать сухой стеклянной палочкой до равномерного окрашивания. Включить

секундомер. Через 5 секунд после смешивания покачать пластину вращательными движениями, затем оставить на 1-2 минуты при комнатной температуре и снова покачать.

7.9. Произвести визуальный учет реакции в течение пяти минут.

7.10. В случаях сомнительной реакции по истечении 5 минут можно добавить к каплям физиологический раствор (1-2 капли) и покачать пластинку, после чего повторно произвести учет результатов.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результат оценивают визуально по наличию или отсутствию агглютинации. Время наступления агглютинации эритроцитов с сывороткой (или плазмой) крови человека должно составлять не более 30 секунд. Четкая реакция наступает примерно через 60 секунд после смешивания. Окончательный результат реакции следует учитывать в течение 5 минут, т.к. при высыхании капли может наблюдаться мелкая неспецифическая агглютинация.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

Учет результатов исследования проводить путем сопоставления результатов, полученных в реакции агглютинации с цоликлонами и стандартными эритроцитами.

Таблица 1

Оценка результатов определения групп крови перекрестным методом при помощи цоликлонов и стандартных эритроцитов

Цоликлоны			Стандартные эритроциты			Исследуемая кровь (Ф.И.О.) принадлежит к группе
			Группы			
Анти-А	Анти-В	Анти-АВ	O _{αβ} (I)	A _{1β} (II)	B _α (III)	
-	-	-	-	+	+	
+	-	+	-	-	+	
-	+	+	-	+	-	
+	+	+	-	-	-	

- «+» – наличие агглютинации
- «-» – отсутствие агглютинации

Положительный (+) результат (наличие агглютинации) – отчетливо видны агрегированные скопления клеток красного цвета (агглютинаты) просветление поля реакции.

Отрицательный (-) результат (отсутствие агглютинации) – поле реакции остается равномерно окрашенным в красный цвет.

Возможны следующие варианты реакций:

- сыворотка исследуемой крови дает отрицательную реакцию со стандартными эритроцитами группы O(I) и положительную – со стандартными эритроцитами A₁(II) группы и B(III) группы. Это указывает на наличие в исследуемой крови агглютиногенов α и β, т.е. подтверждает принадлежность исследуемой крови к группе Oαβ(I);
- сыворотка исследуемой крови дает отрицательную реакцию со стандартными эритроцитами O(I) группы и A₁(II) группы, но положительную с эритроцитами группы B(III). Это указывает на наличие в исследуемой крови агглютенина β, т.е. подтверждает принадлежность испытуемой крови к группе A_β (II);
- сыворотка исследуемой крови дает отрицательную реакцию со стандартными эритроцитами O(I) группы и B(III) группы, но положительную с эритроцитами группы A₁(II). Это указывает на наличие в исследуемой крови агглютенина α, т.е. подтверждает принадлежность испытуемой крови к группе B_α(III);
- сыворотка исследуемой крови дает отрицательную реакцию со стандартными эритроцитами всех трех групп (O(I), A₁(II), B(III)), что указывает на отсутствие агглютенинов в исследуемой крови, т.е. подтверждает принадлежность испытуемой крови к группе AB(IV).

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортирование изделия должно производиться всеми видами крытого транспорта в специальных транспортных термоизоляционных контейнерах или рефрижераторах при температуре плюс 2°C до 6°C с соблюдением санитарно-гигиенических требований и условий обеспечения сохранности продукта при транспортировке. Замораживание изделия не допускается.

10.2. Хранение изделия должно осуществляться в упаковке производителя в холодильном оборудовании для иммунобиологических препаратов при температуре плюс 2°C до 6°C без нарушения герметичности флаконов в течение 45 дней согласно указанному сроку годности на этикетках флаконов. Замораживание изделия не допускается.

10.3. Дробное использование изделия может быть реализовано в течение 7 дней после вскрытия флаконов. В случае дробного использования изделия плотно закупоренные

флаконы со стандартными эритроцитами можно хранить при температуре от плюс 2°C до 6°C в течение 7 дней.

10.4. Гарантийный срок годности – 45 дней со дня выпуска изделия.

10.5. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению изделия.

10.6. Использованное изделие в зависимости от вида биологического материала, а также изымаемое из оборота и /или с истекшим сроком годности, подлежит уничтожению способом, исключающим возможность его повторного применения, как отходы класса Б и В. Выбор методов безопасного обеззараживания и /или обезвреживания отходов опасности класса Б, В зависит от мощности и профиля медицинской организации (Раздел 5 СанПиН 2.1.7.2790-10).

10.7. Использованный инструментарий, биологический материал обеззараживают в соответствии с требованиями действующих нормативных документов по соблюдению санитарно-противоэпидемического режима.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимых сил.

11.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества медицинского изделия Эритроциты АВО, следует обращаться в ГУЗ «Саратовская областная станция переливания крови» по адресу: 410033, г. Саратов, ул. Гвардейская, д. 27, тел.: 8(8452) 63-71-05, 8(8452) 63-20-20, 8(8452) 35-20-51.

Т.Н. Т.Н. Барнашова

Алекс Г.Н. Алексеева

 В.М. Попков

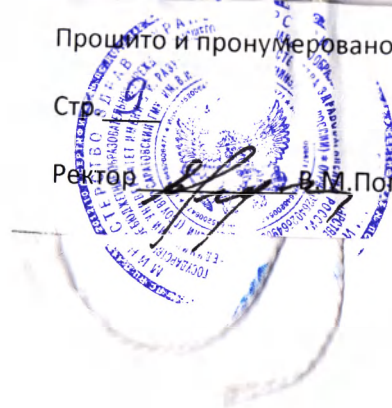
М.П.

Прошито и пронумеровано

Стр.

Ректор

В.М.Попков



Приложение В

«ПРИКАЗ»
Главный врач ГУЗ «Саратовская
областная станция переливания крови»
Г. Аверьянов
«30» июля 2015 г.
М.П.



Дополнения и изменения к инструкции

от «30» июля 2015 года

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Медицинское изделие для диагностики *in vitro* Эритроциты ABO (далее по тексту- изделие), выпускаемое в виде набора, включающего стандартные эритроциты O (I), A₁ (II) и B (III) группы, применяется в клинической лабораторной диагностики (клиническая медицина и служба крови) и предназначено для выявления изогемагглютининов α и β в сыворотке или плазме крови человека перекрёстным методом в реакции гемагглютинации на плоскости.

1.2. Изделие применяется совместно с моноклональными антителами (анти-A, анти-B и анти-AB диагностические, жидкие) для определения группы крови человека системы ABO перекрестным методом, зарегистрированными в установленном порядке и разрешенными к применению в соответствии с законодательством Российской Федерации.

1.3. Изделие рассчитано на проведение 200 исследований для выявления изогемагглютининов α и β в сыворотке или плазме крови человека перекрёстным методом в реакции агглютинации на плоскости.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Определение группы крови основывается на реакции прямой гемагглютинации на плоскости (пластине или планшете) при смешивании стандартных эритроцитов с исследуемой сывороткой (плазмой) крови человека. Реакция наступает в результате специфического взаимодействия антигенов A, B, AB, содержащихся на поверхности эритроцитов, с соответствующими антителами (анти-A, анти-B) сыворотки (плазмы) крови человека. Положительный результат (агглютинация) выражается в склеивании эритроцитов в отчетливо видимые агрегированные скопления клеток красного цвета - агглютинаты, и просветлении поля реакции. Отрицательный результат выражается в отсутствии склеивания эритроцитов, поле реакции остается равномерно окрашенным в красный цвет. Стандартные эритроциты O (I) группы не содержат на своей поверхности групповых антигенов, поэтому при смешивании с исследуемыми образцами всегда дают отрицательный результат.

В Инструкцию по применению медицинского изделия для диагностики *in vitro* «Стандартные эритроциты для определения группы крови ABO перекрестным методом» (Эритроциты ABO) производства ГУЗ «Саратовская областная станция переливания крови» внесены дополнения и изменения курсивом в раздел 3. в п/п.:

3.3. Диагностическая чувствительность: клинические исследования, проведенные на 206 образцах сыворотки крови, показали 100% чувствительность (интервал 95%-100%).

Диагностическая специфичность: клинические исследования, проведенные на 206 образцах сыворотки крови, показали 100% специфичность (интервал 95%-100%).

3.4. Диагностическая чувствительность: клинические исследования, проведенные на 199 образцах плазмы крови, показали 100% чувствительность (интервал 95%-100%).

Диагностическая специфичность: клинические исследования, проведенные на 199 образцах плазмы крови, показали 100% специфичность (интервал 95%-100%).

Заведующая клинико-иммунологической
лаборатории ГУЗ «Саратовская ОСПК»



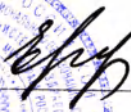
Т.Н. Барнашова

Заведующая отделом бактериологического
и технического контроля
ГУЗ «Саратовская ОСПК»



Г.Н. Алексеева

Ректор ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ
им. В.И. Разумовского Минздрава
России



В. М. Попков

Прошито и пронумеровано

Стр. 3

Ректор  В.М. Попков

