

УТВЕРЖДЕНА

«УТВЕРЖДАЮ»

Приказом Росздравнадзора
от _____ 200__ г. № _____

Генеральный директор ООО «ГЕМ»



/С. А. Гольдберг

2009 г.

М.п.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов для определения
групп крови человека АВО на основе моноклональных антител
«ЦОЛИКЛОНЫ АВО»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Цоликлоны анти-А, анти-В и анти-АВ диагностические жидкие для определения групп крови человека АВО предназначены для качественного выявления в эритроцитах человека антигенов системы АВО, применяются в учреждениях службы крови, клиническо-диагностических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 400 определений при расходе по 0,1 мл каждого реагента на 1 анализ.

2. ПРИНЦИП МЕТОДА

Основным принципом метода типирования крови при помощи моноклональных антител является реакция антиген-антитело. Активные центры антител определенной специфичности связываются с мембранными антигенами эритроцитов крови, что вызывает агглютинацию (склеивание) эритроцитов, легко наблюдаемое визуально.

Наличие агглютинации эритроцитов исследуемой крови человека под действием моноклональных антител определенной специфичности однозначно свидетельствует о том, что данные эритроциты несут антиген данной специфичности.

3. СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят:

1. Реагент Цоликлон анти-А, представляющий собой раствор анти-А моноклональных антител в 1,8 % растворе NaCl с добавлением ЭДТА-Na (4,5 мг/мл), азида натрия (0,1%) в качестве консерванта и красителя фенолового красного (0,0014 %) - 4 флакона по 10 мл.
2. Реагент Цоликлон анти-В, представляющий собой раствор анти-В моноклональных антител в 1,8 % растворе NaCl с добавлением ЭДТА-Na (4,5 мг/мл), азида натрия (0,1%) в качестве консерванта и красителя трипанового синего (0,0028 %) - 4 флакона по 10 мл.
3. Реагент Цоликлон анти-АВ, представляющий собой раствор анти-А и анти-В моноклональных антител в равных пропорциях в 1,8 % растворе NaCl с добавлением ЭДТА-Na (4,5 мг/мл) и азида натрия (0,1%) в качестве консерванта - 2 флакона по 10 мл.

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

В состав набора входят реагенты - растворы полных антител, относящихся к иммуноглобулинам класса М (IgM-антитела), специфичностей анти-А и анти-В. Реагент Цоликлон анти-АВ представляет собой смесь растворов антител вышеуказанной специфичности и предназначен для дополнительного контроля группы крови О (I).

Титр (концентрация) антител в реагентах Цоликлоны анти-А, анти-В и анти-АВ соответствуют значениям 1 : 32 - 1 : 64. Авидность (гемагглютинирующая активность) - 10 секунд. В реакции используется по 0,1 мл каждого реагента и примерно 0,05 - 0,01 мл нативной крови.

Воспроизводимость результатов группового типирования крови человека по системе АВО набором Цоликлонов АВО - 100 %. Результат типирования не зависит от формы антигенов А или В в исследуемых эритроцитах (сильные или слабые).

5. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ПРОБЫ

Анализ может проводиться с образцами нативной крови как венозной, так и артериальной или капиллярной, как взятой в консервант, так и без консерванта.

Следует категорически избегать загрязнения анализируемого образца эритроцитами из другой пробы, т.к. вследствие высокой чувствительности реагентов сравнительно небольшое количество иммуноактивных загрязнений может привести к ложно-положительной реакции.

Срок пригодности образцов крови человека для проведения их типирования по группам АВО с помощью Цоликлонов ограничен 7 сутками хранения при температуре +2°...+8° С.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Компоненты набора Цоликлонов АВО, в используемых концентрациях не токсичны и не требуют соблюдения специальных мер безопасности при работе с ними. Работа с образцами крови требует использования одноразовых пластиковых или резиновых перчаток, т. к. исследуемые образцы могут содержать вирусы гепатитов, ВИЧ или другой гемоконтактной инфекции (Приказ № 408 Минздрава СССР от 12 июля 1989 года).

7. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- Керамические пластинки (плитка облицовочная) однотонные, светлые с чистой сухой обезжиренной поверхностью; возможно использование различных типов планшетов* для определения групп крови;
- пробирки стеклянные или пластиковые с анализируемыми образцами крови, маркированные, в штативе;
- одноразовые пастеровские пипетки пластиковые или стеклянные для нанесения на пластинку капель типлируемых образцов крови;
- палочки стеклянные для смешивания реагента с образцом исследуемой крови.

* Использование применявшихся ранее специальных шариков в планшетах для определения групп крови человека не рекомендуется.

8. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

Реагенты полностью готовы к работе и специальной подготовки не требуют.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

На проведение одного анализа группы крови человека по системе АВО (типирование 1 образца) расходуется примерно 0,1 мл Цоликлона анти-А и 0,1 мл Цоликлона анти-В. Цоликлон анти-АВ

используется для подтверждения О (I) группы уже после проведенного типирования. Его расход также составляет 0,1 мл. При использовании неградуированных пипеток 0,1 мл - 1 полная капля.

Анализы следует проводить в помещении с хорошим освещением и температурой $+15^{\circ}\text{C}$... $+30^{\circ}\text{C}$.

Порядок проведения типирования:

1. На смачиваемую (обезжиренную) поверхность керамической светлой пластинки нанести по одной капле (0,1 мл) Цоликлона анти-А, анти-В и анти-АВ.
2. Рядом с каждой каплей реагента нанести маленькую (0,05 - 0,01 мл) каплю исследуемой крови.
3. Смешать каплю Цоликлона с каплей крови индивидуальной чистой стеклянной палочкой.
4. Реакция агглютинации развивается в течение первых 3-5 секунд при мягком покачивании пластинки. Результаты реакции учитываются через 3 минуты после смешивания капель. Положительный результат тестирования выражается в появлении агглютинации (склеивания) эритроцитов, которую можно наблюдать невооруженным глазом, поскольку капля быстро просветляется, а эритроциты образуют крупные, хорошо различимые ярко-алые агрегаты (см. Рис. 1).



Рис 1. Положительный результат:
хорошо видны агглютинаты
в просветлившемся поле реакции



Рис. 2. Отрицательный результат:
агглютинация не наблюдается,
поле реакции равномерно окрашено

При отрицательном результате гемагглютинация не развивается, капля продолжает оставаться равномерно окрашенной в красный свет, агрегаты в ней не обнаруживаются (см. Рис. 2).

5. Учет результатов реакции агглютинации представлен в таблице:

Учет реакции агглютинации			Группа крови АВО
анти-А	анти-В	анти-АВ	
—	—	—	0 (I)
+	—	+	A (II)
—	+	+	B (III)
+	+	+	AB (IV)

(+) - наличие агглютинации

(—) - отсутствие агглютинации

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРОВ

Срок хранения набора - 2 года при температуре $+2^{\circ}\text{C}$... $+8^{\circ}\text{C}$. При температуре до $+25^{\circ}\text{C}$ компоненты набора устойчивы в течение месяца в закрытом виде. Вскрытый флакон в закрытом виде можно хранить при температуре $+2^{\circ}\text{C}$... $+8^{\circ}\text{C}$ в течение месяца.

По вопросам, касающимся качества набора «Цоликлоны АВО» следует обращаться в ООО «ГЕМ» по адресу: 125167 Москва, Новый Зыковский проезд, 4-А, ООО «ГЕМ». Директору ООО «ГЕМ» С.А. Гольдбергу.

Телефоны: (495) 612-43-12, 613-86-63, тел./факс (495) 612-40-81

Мастер производства

Жеребцова Л. В.

Протипувано, пронуеровано
и крепно печатю
3/1111 лист (6)
Генеральный директор ООО "ЕМ"
С.А. Гольдберг



