

«УТВЕРЖДАЮ»

Главный врач
Государственного бюджетного
учреждения здравоохранения
Республиканская станция переливания
крови



ИНСТРУКЦИЯ

по применению

Набор реагентов для определения группы крови АВ0 перекрестным методом и выявления аллоиммунных антител (стандартные эритроциты АВ0, фенотипированные эритроциты 0(I) группы (CCDee, ccDEE, ccdeeK), 10% раствор желатина для диагностики *in vitro* по ТУ 21.20.23.110-001-01953133-2021

1. СОСТАВ НАБОРА:

1. Стандартные эритроциты 0-A-B:
(стандартные эритроциты 0(I) D-, C-, Cw-, c+, E-, e+, K-, 10 мл- 1 флакон,
стандартные эритроциты A (II) D-, C-, Cw-, c+, E-, e+, K-, 10 мл- 1 флакон,
стандартные эритроциты B (III) D-, C-, Cw-, c+, E-, e+, K-, 10 мл- 1 флакон),
2. Фенотипированные эритроциты 0(I) группы (CCDee, ccDEE, ccdeeK):
I- Фенотипированные эритроциты 0(I) группы (CCDee), 1 флакон - 10 мл;
II- Фенотипированные эритроциты 0(I) группы (ccDEE), 1 флакон - 10 мл;
III- Фенотипированные эритроциты 0(I) группы (ccdeeK), 1 флакон - 10 мл.
3. 10% раствор желатина, 8 флаконов по 10 мл.
4. инструкция по применению набора – 1 шт.

2. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов предназначен для определения групп крови АВ0, скрининга аллоиммунных антител в исследуемой крови и постановки проб на совместимость крови донора и реципиента.

3. ОПИСАНИЕ ИЗДЕЛИЯ

Набор реагентов для определения группы крови АВ0 перекрестным методом и выявления аллоиммунных антител следует использовать для комплексного исследования крови доноров и пациентов.

Стандартные эритроциты 0-A-B используются для определения групп крови АВ0 перекрестным методом.

Фенотипированные эритроциты 0(I) группы (CCDee, ccDEE, ccdeeK) используются для выявления аллоиммунных антител.

10% раствор желатина используется исследования сыворотки на наличие неполных аллоиммунных антител и проведения пробы на совместимость крови донора и реципиента методом конглоутинации.

Набор рассчитан на 80 исследований.

4. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

4.1 Определение групп крови системы ABO перекрестным способом при помощи цоликлонов и стандартных эритроцитов 0-A-B:

4.1.1 На предварительно маркированный планшет нанести цоликлоны анти-A, анти-B, анти-AB – по одной капле (0,1 мл/100 мкл).

4.1.2 На правую часть пластинки под обозначениями 0, A, B нанести по одной (0,01 мл/10 мкл) капле стандартных эритроцитов 0-A-B.

4.1.3 Из пробирки с исследуемой крови пипеткой извлечь сыворотку(плазму) и нанести ее по одной (0,1 мл/100 мкл) капле на подготовленные стандартные эритроциты.

4.1.4 Набрать со дна пробирки исследуемые эритроциты и нанести их по (0,01 мл/10 мкл) 1 капле рядом с каждой каплей цоликлонов. Перемешать капли покачиванием планшета.

4.1.5 Наблюдение за ходом реакции вести в течение пяти минут.

4.1.6 Учет результата реакции.

Результат реакции в каждой капле может быть положительным (+) или отрицательным (-).

- Положительный результат (+) выражается в агглютинации (склеивании) эритроцитов – агглютинаты видны невооруженным глазом сначала в виде мелких красных зернышек, постепенно сливающихся в более крупные хлопья. При этом сыворотка постепенно обесцвечивается.
- При отрицательной реакции (-) капля остается равномерно окрашенной.
- В тех случаях, когда положительный результат получается с цоликлонами всех групп (во всех каплях), для исключения неспецифической агглютинации произвести дополнительное контрольное исследование испытуемых эритроцитов с 0,9 % физиологическим раствором. При отсутствии реакции агглютинации, делают заключение о принадлежности исследуемого образца АВ группы.

Таблица 1

Оценка результатов определения групп крови перекрестным способом при помощи цоликлонов анти-A, анти-B, анти-AB и стандартных эритроцитов 0-A-B.

Цоликлоны		
Анти-A	Анти-B	Анти-AB
-	-	-
Стандартные эритроциты		
О	A	B
-	+	+
Испытуемая кровь группы 0(I)		

Цоликлоны		
Анти-A	Анти-B	Анти- B
+	-	+
Стандартные эритроциты		
О	A	B
-	-	+
Испытуемая кровь группы A (II)		

Цоликлоны		
Анти-A	Анти-B	Анти- B
-	+	+
Стандартные эритроциты		
О	A	B
-	+	-
Испытуемая кровь группы B (III)		

Цоликлоны		
Анти-A	Анти-B	Анти-AB
+	+	+
Стандартные эритроциты		
О	A	B
-	-	-
Испытуемая кровь группы AB (IV)		

Примечание: Знаком (+) обозначено наличие агглютинации, знаком (-) – отсутствие ее.

4.2 Выявление аллоиммунных антител к антигенам эритроцитов реакцией конглотинации с применением 10% раствора желатина.

- 4.2.1. Установить пронумерованные пробирки в штатив (число и нумерация пробирок соответствует числу и нумерации образцов эритроцитов - панели, состоящей из трех образцов фенотипированных эритроцитов группы 0(I-II-III).
- 4.2.2. Внести по 1 капле (0,05 мл/50 мкл) стандартных эритроцитов (I-II-III).
- 4.2.3. В пробирки внести по 2 капли (0,1 мл/100 мкл) 10% раствора желатина.
- 4.2.4. Внести в каждую пробирку по 2 капли (0,1 мл/100 мкл) исследуемой сыворотки.
- 4.2.5. Штатив с пробирками встряхнуть для перемешивания капель, установить в суховоздушный термостат при температуре +46-48°C на 45 мин.
- 4.2.6. По истечении времени инкубации извлечь штатив с пробирками из термостата, в каждую пробирку налить 3-5 мл 0,9% раствора натрия хлорида.
- 4.2.7. Содержимое пробирок перемешать путем 1-2 кратного их перевертывания.
- 4.2.8. В каждую серию исследований включать «положительный» и «отрицательный» контрольные образцы.
- 4.2.9. Результат реакции оценить, просматривая содержимое пробирок визуально и с помощью микроскопирования.

Результат реакции может быть:

- положительным (+), то есть аллоиммунные неполные антитела обнаружены;
- отрицательным (-), то есть аллоиммунные неполные антитела не обнаружены.

4.3. Проба на совместимость с применением 10% раствора желатина методом конглотинации

- 4.3.1. Проба производится в пробирке при температуре 46 – 48° С в течении 10 – 15 минут.
- 4.3.2. На пробирке надписать фамилию, инициалы и группу крови больного и донора, и номер контейнера с кровью. В пробирку внести 0,2 мл исследуемой сыворотки реципиента и 0,1 мл крови донора и 0,2 мл разжиженного 10% раствора желатина.
- 4.3.3. Содержимое пробирки перемешать путем встряхивания и поместить ее в водяную баню или в горизонтальном положении в термостат при 46 – 48° С на 15 мин.
- 4.3.4. После инкубации долить в нее 3 – 5 мл изотонического раствора NaCl, содержимое пробирки перемешать 1–2-кратным перевертыванием ее и просмотреть на свет невооруженным глазом и затем путем микроскопирования.

Трактовать результат реакции следующим образом:

- если в пробирке наблюдается агглютинация эритроцитов - эритроциты видны в виде взвеси мелких, реже крупных комочков на фоне просветленной или полностью обесцвеченной жидкости - это значит, что кровь донора несовместима с кровью реципиента и не должна быть ему перелита;
- если содержимое пробирки остается равномерно окрашенным и в нем не наблюдается каких-либо признаков агглютинации, это значит, что кровь донора совместима с кровью реципиента.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Таблица 2

Наименование показателей	Характеристика и норма по ТУ
1 Органолептические характеристики	
1.1 Внешний вид	
1.1.1 Стандартные эритроциты 0(I), D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K-	Наличие четкой границы между осадком эритроцитов и надосадочной жидкостью. Отсутствие признаков гемолиза и мутности в надосадочной жидкости.
1.1.2 Стандартные эритроциты A(II), D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K-	Наличие четкой границы между осадком эритроцитов и надосадочной жидкостью. Отсутствие признаков гемолиза и мутности в надосадочной жидкости.
1.1.3 Стандартные эритроциты B(III), D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K-	Наличие четкой границы между осадком эритроцитов и надосадочной жидкостью. Отсутствие признаков гемолиза и мутности в надосадочной жидкости.
1.1.4 I-Фенотипированные эритроциты 0(I) группы, (CCDee) D+, C+, c-, E-, e+, K-	Наличие четкой границы между осадком эритроцитов и надосадочной жидкостью. Отсутствие признаков гемолиза и мутности в надосадочной жидкости.
1.1.5 II-Фенотипированные эритроциты 0(I) группы, (ccDEE) D+, C-, c+, E+, e-, K-	Наличие четкой границы между осадком эритроцитов и надосадочной жидкостью. Отсутствие признаков гемолиза и мутности в надосадочной жидкости.
1.1.6 III-Фенотипированные эритроциты 0(I) группы, (ccdeeK), D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K+	Наличие четкой границы между осадком эритроцитов и надосадочной жидкостью. Отсутствие признаков гемолиза и мутности в надосадочной жидкости.
1.1.7 10% раствор желатина	Оценивается прозрачность, а также отсутствие мутности и жидкого состояния при температуре от +4 до +8 градусов С.
2 Технические характеристики изделия	
2.1 Группа крови системы АВ0	
2.1.1 Стандартные эритроциты 0(I), D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K-	Должны иметь групповую принадлежность 0(I).
2.1.2 Стандартные эритроциты A(II), D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K-	Должны иметь групповую принадлежность A(II).
2.1.3 Стандартные эритроциты B(III), D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K-	Должны иметь групповую принадлежность B(III).
2.1.4 I-Фенотипированные эритроциты 0(I) группы, (CCDee) D+, C+, c-, E-, e+, K-	Должны иметь групповую принадлежность 0(I).
2.1.5 II-Фенотипированные эритроциты 0(I) группы, (ccDEE) D+, C-, c+, E+, e-, K-	Должны иметь групповую принадлежность 0(I).
2.1.6 III-Фенотипированные эритроциты 0(I) группы, (ccdeeK), D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K+	Должны иметь групповую принадлежность 0(I).
2.2. Антигенный состав	
2.2.1 Стандартные эритроциты 0(I), D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K-	Должны содержать антигены c, e системы RH.
2.2.2 Стандартные эритроциты A(II), D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K-	Должны содержать антигены c, e системы RH.
2.2.3 Стандартные эритроциты B(III), D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K-	Должны содержать антигены c, e системы RH.
2.2.4 I-Фенотипированные эритроциты 0(I) группы, (CCDee) D+, C+, c-, E-, e+, K-	Должны содержать антигены D, C системы RH.
2.2.5 II-Фенотипированные эритроциты 0(I) группы, (ccDEE), D+, C-, c+, E+, e-, K-	Должны содержать антигены D, E системы RH.
2.2.6 III-Фенотипированные эритроциты	Должны содержать антигены c, e системы RH; антиген K

0(I) группы, (ccdeeK), D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K+	системы KEL.
2.3 Специфичность	
2.3.1 Стандартные эритроциты 0(I), D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K-	Не должны давать агглютинацию с реагентами анти-A, анти-B, анти-AB
2.3.2 Стандартные эритроциты A(II), D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K-	Не должны давать агглютинацию с реагентами анти-B.
2.3.3 Стандартные эритроциты B(III), D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K-	Не должны давать агглютинацию с реагентами анти-A.
2.3.4.I-Фенотипированные эритроциты 0(I) группы, (CCDee)D+, C+, c-, E-, e+, K-	Не должны давать агглютинацию с реагентами анти-E, анти-c, анти-K.
2.3.5.II-Фенотипированные эритроциты 0(I) группы, (ccDEE), D+, C-, c+, E+, e-, K-	Не должны давать агглютинацию с реагентами, анти-C, анти-C ^w , анти-e, анти-K.
2.3.6.III-Фенотипированные эритроциты 0(I) группы, (ccdeeK), D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K+	Не должны давать агглютинацию с реагентами анти-D, анти-C, анти-C ^w , анти-E.
2.4 Активность антигенов	
2.4.1 Стандартные эритроциты A(II), D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K-	Должны давать агглютинацию с реагентами анти-A, анти-A1, анти-c, анти-e силой от 3+++ до 4++++
2.4.2 Стандартные эритроциты B(III), D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K-	Должны давать агглютинацию с реагентами анти-B, анти-c, анти-e силой от 3+++ до 4++++
2.4.3.I-Фенотипированные эритроциты 0(I) группы, (CCDee) D+, C+, c-, E-, e+, K-	Должны давать агглютинацию с реагентами анти-D, анти-C, анти-e силой от 3 +++ до 4++++
2.4.4.II-Фенотипированные эритроциты 0(I) группы, (ccDEE), D+, C-, c+, E+, e-, K-	Должны давать агглютинацию с реагентами анти-D, анти-E, анти-c силой от 3 +++ до 4++++
2.4.5.III-Фенотипированные эритроциты 0(I) группы, (ccdeeK), D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K+	Должны давать агглютинацию с реагентами анти-c, анти-e, анти-K силой от 3 +++ до 4++++
2.5 Скорость наступления агглютинации	
2.5.1 Стандартные эритроциты A(II), D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K-	Должны вступать в реакцию агглютинации с реагентами анти-A, анти-A1 не позднее 5 секунд с момента перемешивания
2.5.2 Стандартные эритроциты B(III), D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K-	Должны вступать в реакцию агглютинации с реагентами анти-B не позднее 5 секунд с момента перемешивания
2.6 Титр	
2.6.1 Стандартные эритроциты A(II), D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K-	Должны давать титр с Цоликлоном анти-A в прямой реакции агглютинации на плоскости не ниже 1:64
2.6.2 Стандартные эритроциты B(III), D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K-	Должны давать титр с Цоликлоном анти-B в прямой реакции агглютинации на плоскости не ниже 1:64

5. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

5.1 Транспортировка наборов реагентов для иммуногематологических исследований осуществляется любыми видами транспорта, в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта. Транспортировка реагентов осуществляется в термоконтейнерах, обеспечивающих температуру хранения от 2 до 8° С.

5.2 Хранение наборов реагентов должно осуществляться в упаковке организации-изготовителя в условиях холодильника при температуре от 2 до 8° С в течение всего срока годности.

5.3 Вскрытые флаконы с консервированными стандартными эритроцитами могут храниться при температуре от 2 до 8° С до конца окончания срока годности.

5.4 Эксплуатация набора реагентов должна осуществляться в помещении с хорошим освещением при температуре от +15 до +25°С.

6. РЕКЛАМАЦИЯ

Основанием для рекламации является: отсутствие активности, неспецифичность, нарушение целостности флакона, наличие хлопьев, гемолиз стандартных эритроцитов, истекший срок годности реагентов.

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 направить оставшиеся невскрытыми флаконы данной серии.

Рекламации следует направлять в учреждение-изготовитель.

Организация-изготовитель:

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Республиканская станция переливания крови: 450106, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Батырская, д. 41, корп. 1.

Тел.(347) 200-94-01; факс (347) 200-94-01.

E-mail:UFA.RSPK@doctorrb.ru

Маркировка:

	Дата изготовления
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Температурный диапазон
	Знак «биологический риск»
	Обратитесь к инструкции по применению

7. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

7.1 Используемое при работе с реагентами оборудование, материалы, реактивы:

- центрифуга лабораторная клиническая;
- центрифуга DG Gel для гелевых карт;
- термостат электрический суховоздушный;
- микроскоп для лабораторных исследований;
- лупа лабораторная 2х, 6х;
- дозаторы пипеточные одноканальные переменного объема 5 – 50, 100 – 1000 мкл;
- наконечники одноразовые к пипеточным дозаторам;
- пипетки Пастера одноразовые;
- штативы лабораторные полимерные для пробирок;
- одноразовые пластиковые пробирки;
- стекла предметные;
- стекла покровные;
- планшеты для определения групп крови;
- маркер;
- шапочка медицинская;
- халат (костюм) медицинский;
- маска защитная;
- очки защитные (или защитный экран);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- 0,9% раствор натрия хлорида;
- 10% раствор желатина для лабораторных работ;
- Цоликлоны Анти-А, Анти-В и Анти-АВ диагностические жидкие для определения групп крови человека системы АВО (антитела моноклональные анти-А, анти-В, анти-АВ) по ТУ 9398-001-27575295-2004;
- Цоликлон анти-А1, ТУ9398-101-51203590-2009;
- Цоликлоны анти-D Супер (Ig G и IgM), анти-С Супер анти-с Супер, анти-Е Супер, анти-е Супер, анти-Сw Супер, анти-К Супер ТУ 9398-101-51203590-2009;

8. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

8.1 Венозная кровь человека с антикоагулянтами (К2ЭДТА, К3ЭДТА);

8.2 Венозная кровь с активатором свертывания (Кремнезем);

8.3 Срок хранения образцов крови, предназначенных для исследований – не более двух суток при температуре +2 + 8°C.

8.4 Гемолизированные образцы крови исследованию не подлежат.

9. ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

9.1 Набор реагентов используется в клинической лабораторной диагностике для определения групп крови АВО, скрининга аллоиммунных антител в исследуемой крови и постановки проб на совместимость крови донора и реципиента.

10. ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ

10.1 Противопоказания отсутствуют, за исключением случаев, когда забор материала не может быть осуществлен по медицинским показаниям.

11. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

11.1 Реагенты предназначены для профессиональной диагностики in vitro.

11.2 Концентрация химических реактивов, входящих в состав реагентов, не является токсичной.

11.3 Эритроцитная взвесь, изготовленная из донорской крови и используемые в качестве материала для приготовления настоящих реагентов, предварительно тестируются при

использовании лицензированных реагентов и признаются отрицательными по следующим маркерам: HBs-антиген, антитела анти-HCV, антитела/антиген-ВИЧ1/ВИЧ2, антитела Treponema Pallidum. Однако ни один из известных в настоящее время методов диагностики не дает полной гарантии отсутствия инфекции. Поэтому при работе с реагентами рекомендуется соблюдать меры предосторожности, как при работе с потенциально инфицированным источником гемотрансмиссивных инфекций.

12. Влияние интерферирующих агентов

Гемолитические, липемические и желтушные образцы не показали влияния на результат вплоть до концентраций 2 г/л гемоглобина, 37 ммоль/л триглицеридов и 20 мг/мл билирубина.

13. Технические характеристики упаковки

13.1 Основные технические характеристики должны соответствовать таблице 3

Таблица 3

Компонент	Первичная упаковка	Габаритные размеры, мм	Объем флакона, мл	Кол-во флаконов	Вторичная упаковка	Габаритные размеры, ±5 мм
Стандартные эритроциты O(I) D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K-	флакон-капельница	Высота: 70±5 ø: 20±5	10	1	Картонная коробка	ДхШхВ: 30х30х85
Стандартные эритроциты A(II) D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K-	флакон-капельница	Высота: 70±5 ø: 20±5	10	1	Картонная коробка	ДхШхВ: 30х30х85
Стандартные эритроциты B (III) D-, C-, C ^w -, c+, E-, e+, K-	флакон-капельница	Высота: 70±5 ø: 20±5	10	1	Картонная коробка	ДхШхВ: 30х30х85
I-Фенотипированные эритроциты O(1) группы (CCDee)	флакон-капельница	Высота: 70±5 ø: 20±5	10	1	Картонная коробка	ДхШхВ: 30х30х85
II-Фенотипированные эритроциты O(1) группы (ccDEE)	флакон-капельница	Высота: 70±5 ø: 20±5	10	1	Картонная коробка	ДхШхВ: 30х30х85
III-Фенотипированные эритроциты O(1) группы (ccdeeK)	флакон-капельница	Высота: 70±5 ø: 20±5	10	1	Картонная коробка	ДхШхВ: 30х30х85
10% раствор желатина	флакон с индивидуальной крышкой	Высота: 55±5 ø: 20±5	10	8	Картонная коробка	ДхШхВ: 55х95х80

Технические характеристики транспортной упаковки

Транспортная упаковка	Габаритные размеры, ±1 см
Картонная коробка	ДхШхВ: 12,5х10х9,5

21 Лист
БУЗ РСПК

