

## «УТВЕРЖДАЮ»

Главный врач Государственного автономного учреждения здравоохранения «Республиканский центр крови Министерства здравоохранения Республики Татарстан», к.м.н.

Р.Г. Тураев

2014 г.

### ИНСТРУКЦИЯ

**по применению Набора реагентов для определения антигенов и антител групп крови человека (стандартные изогемагглютинирующие сыворотки ABO, стандартные эритроциты ABO, стандартные эритроциты O(I) группы фенотипов CCDee, ccDEE, ccdeeK, сыворотка для контроля реакции при выявлении антиэритроцитарных антител, 33% раствор полиглюкина)**

#### 1 НАЗНАЧЕНИЕ

1.1 Набор реагентов предназначен для иммуногематологических исследований крови доноров, реципиентов, беременных.

1.2. Стандартные изогемагглютинирующие сыворотки ABO предназначены для определения антигенов A и B системы ABO при исследовании групповой принадлежности прямым и перекрёстным методами в реакции прямой гемагглютинации на плоскости, проведения контроля специфичности и активности стандартных эритроцитов ABO на плоскости при комнатной температуре.

1.3. Стандартные эритроциты ABO используются для определения анти-A, анти-B антител системы ABO перекрёстным методом, определения титра естественных и иммунных анти-A, анти-B антител в сыворотке крови больных, беременных, доноров на плоскости. Пригодны для проведения контроля специфичности и активности при использовании и изготовлении стандартных изогемагглютинирующих сывороток ABO, моноклональных реагентов.

1.4. Стандартные эритроциты O(I) группы фенотипов CCDee, ccDEE, ccdeeK применяются для выявления изоиммунных антиэритроцитарных антител в исследуемых сыворотках, могут быть использованы в качестве контрольных образцов при фенотипировании эритроцитов

1.5. Сыворотка для контроля реакции при выявлении изоиммунных антиэритроцитарных антител в пробирках с желатином используется как контроль пригодности стандартных эритроцитов.

1.6. 33% раствор полиглюкина применяется в качестве дополнительного компонента при проведении пробы на совместимость переливаемой крови.

#### 2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

##### 2.1. ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

В основе выявления антигенов и антител лежит способность антигенов взаимодействовать со специфичными для них антителами *in vitro*. Взаимодействие проявляется в виде реакции агглютинации (склеивания) эритроцитов антителами. Положительный результат реакции (наличие агглютинации) свидетельствует о присутствии в исследуемом образце одноимённого антигена (или антитела), отрицательный результат (отсутствие агглютинации) – об отсутствии антигена (антитела).

##### 2.2. СОСТАВ НАБОРА

2.2.1 Стандартные изогемагглютинирующие сыворотки ABO-13 ампул (флаконов): по 2 ампулы (флакона): стандартных изогемагглютинирующих сывороток ABO каждой группы разных серий и 1 ампула (флакон) сыворотки AB<sub>0</sub>(IV) группы.

2.2.2. Стандартные эритроциты ABO O(I), A(II), B(III) 3 ампулы (флакона),

2.2.3 Стандартные эритроциты для выявления антиэритроцитарных антител фенотипов CCDee, ccDEE, ccdeeK (3 флакона).

2.2.4. Сыворотка для контроля реакции при выявлении антиэритроцитарных антител (1 флакон)

2.2.5. 33% раствор полиглюкина (1 флакон),

Набор рассчитан на 100 исследований

Объём реагентов во флаконах (ампулах) и их число могут быть изменены по согласованию с потребителем.

### 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Набор реагента для определения антигенов и антител групп крови человека впускаются в соответствии с инструкциями (приказ МЗ РФ от 09.01. 1998г. №2) и «Инструкции по приготовлению стандартного универсального реагента для экспресс-определения резус-фактора в пробирке без подогрева и способу изготовления 33% раствора полиглобулина для серологических реакций» № 06—14/47 от 24.11.87

3.2. Стандартные изогемагглютинирующие сыворотки АВО должны отвечать следующим требованиям:

- сыворотка должна быть специфичной, т.е. содержать групповые антитела анти-А, анти-В или оба антитела вместе и не вызывать неспецифической реакции агглютинации эритроцитов одноименной группы и группы О(I). Сыворотка группы АВ<sub>0</sub>(IV), не содержащая групповых антител, не должна вызывать агглютинацию;

- должна быть активной, что выражается в наступлении первых признаков агглютинации со стандартными эритроцитами группы А<sub>1</sub> и В в течение первых 30 секунд;

- не должна оказывать на эритроциты гемолизирующего действия;

- должна быть прозрачной, допускается небольшая опалесценция, что не влияет на качество сыворотки;

- должна быть окрашена: группа О(I)-не окрашена, группа А(II) в светло-синий (голубой) цвет, группа В(III)-в красный (розовый), группа АВ<sub>0</sub>( IV)- в желтый

3.3. Стандартные эритроциты АВО – это реагенты, приготовленные из эритроцитной массы специально отобранных доноров и консервирующего раствора. Представляют собой осадок эритроцитов красного цвета с прозрачной надосадочной жидкостью без признаков гемолиза, расфасованные в ампулы (флаконы). Должны давать четкую, хорошо видимую агглютинацию при взаимодействии со стандартными сыворотками соответствующей специфичности и не давать агглютинации с сыворотками, не содержащими антител против данного антигена эритроцитов. Дают агглютинацию на плоскости в течение 10 секунд с сыворотками, содержащими соответствующие агглютинины.

3.4. Эритроциты О(I) группы фенотипов CCDee, ccDEE, ccdeeK – реагенты, приготовленные из эритроцитной массы специально отобранных доноров и консервирующего раствора, представляют собой осадок эритроцитов красного цвета с прозрачной надосадочной жидкостью без признаков гемолиза, расфасованную во флаконы. Предназначены для выявления антиэритроцитарных антител, должны содержать антигены системы Резус: D, C, E, c, d, e и К системы Kell, обеспечивающие выявление клинически значимых антител, давать с соответствующими реактивами четкую агглютинацию при определении методом конгломинации с 10% раствором желатина.

Стандартные эритроциты группы крови О(I) фенотипа ccdeeK, не должны давать агглютинацию с сыворотками, содержащими антитела анти-D, анти-C, анти-E.

3.5. Сыворотка для контроля реакции при определении антиэритроцитарных антител представляет собой слегка опалесцирующую прозрачную жидкость бледно-желтого цвета. Содержит неполные резус – антитела анти-D, которые должны давать агглютинацию с антигеном D и не давать с другими антигенами, должна быть активной, т.е. агглютинация наступает через 15 минут после смешивания с эритроцитами в реакции конгломинации с 10% раствором желатина при нагревании до +48<sup>0</sup>С, титр должен быть не ниже 1:4-1:8.

3.6. 33% раствор полиглобулина представляет собой прозрачную слегка опалесцирующую бесцветную или бледно-жёлтую жидкость. Является дополнительным компонентом в реакции конгломинации в пробирках при проведении пробы на совместимость. При добавлении в пробирку с сывороткой, содержащей антиэритроцитарные антитела, наблюдается агглютинация с эритроцитами, содержащими соответствующий антиген, если антиген отсутствует, агглютинации нет.

### 4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Реагенты для определения антигенов и антител групп крови человека предназначены только для *in vitro* диагностики.

Кровь доноров, которая используется для приготовления реагентов тестирована на отсутствие антител к вирусам иммунодефицита человека (ВИЧ-1, ВИЧ-2), поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg), антител к вирусу гепатита С (a-HCV) и сифилиса.

С любыми образцами крови пациента следует обращаться как с потенциально инфицированными, способными длительно сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов и другие гемотрансмиссивные инфекции. При работе необходимо соблюдать меры предосторожности. Все манипуляции проводить в медицинской одежде с использованием индивидуальных средств защиты (медицинские перчатки,

защитные очки или щитки). Лабораторные принадлежности многоразового применения должны быть обеззаражены и обработаны в соответствии с действующими нормативными документами.

Иммуногематологические исследования должны проводиться в помещении с хорошим освещением при температуре  $+15-25^{\circ}\text{C}$ .

### **5.ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ**

При работе со стандартными реагентами требуется следующее оборудование и материалы:

- планшет со смачиваемой поверхностью;
- пипетки Пастера стеклянные или полимерные одноразовые,
- автоматический дозатор переменного объёма 20-200 мкл;
- наконечники одноразовые к автоматическим пипеткам,
- палочки стеклянные или одноразовые полимерные,
- песочные часы на 5 минут или секундомер;
- 0,9% раствор хлорида натрия;
- штатив лабораторный на 10 гнёзд;
- водяная баня (температура  $+48^{\circ}\text{C}$ ) или термостат;
- 10% раствор желатина;
- тонкостенные пробирки высотой около 10 см;
- стекла предметные и покровные,
- маркер для стекла,
- стаканы стеклянные,
- перчатки медицинские одноразовые,
- раствор желатина для лабораторных работ 10%,
- микроскоп,
- лупа с 6-8-кратным увеличением

### **6.АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ**

Для исследования используют цельную кровь, отмытые эритроциты, эритроциты в плазме, сыворотке, консерванте или физиологическом растворе. При исследовании на изоиммунные антиэритроцитарные антитела необходимо использовать сыворотку крови (при использовании для исследования плазмы существует вероятность невыявления слабоактивных антиэритроцитарных антител). Кровь пациента должна быть не более двухдневного срока хранения при  $t+2^{\circ}-+8^{\circ}\text{C}$ . Нельзя использовать гемолизированные образцы крови.

Во избежание ошибок рекомендуется использовать плотный осадок эритроцитов со дня пробирки, максимально освобождённый от взвешивающей среды.

### **7.ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА**

#### **7.1.Определение группы крови АВО прямым способом.**

7.1.1.. Промаркировать планшет, для чего указать Ф.И.О. пациента (донора), а также надписать специфичность изогемагглютинирующих сывороток АВО в порядке их нанесения.

7.1.2. На планшет раскатать стандартные изогемагглютинирующие сыворотки АВО двух серий в два ряда по одной большой капле (100 мкл) под соответствующими надписями.

7.1.3. Из пробирки с исследуемой кровью осторожно взять пипеткой эритроциты и нанести маленькую каплю (10 мкл) рядом со стандартными сыворотками. Соотношение эритроцитов и сыворотки - 1:10.

7.1.4. Тщательно перемешать капли стеклянной (пластиковой) палочкой. Наблюдать за реакцией 5 минут при периодическом покачивании планшета. На 3-5 минуте наблюдения, в те капли, где наступила агглютинация, добавить по одной капле (50 мкл) 0,9% раствора натрия хлорида, покачивая планшет.

#### **7.1.5.Трактовка результатов реакции.**

Положительный результат (+) выражается в агглютинации эритроцитов, агглютинаты видны невооруженным глазом в виде мелких или крупных красных агрегатов.

При отрицательном результате (-) капля остаётся равномерно окрашенной в красный цвет, агглютинации в ней не обнаруживается.

Результаты могут быть выражены в 4-х различных комбинациях.

а) Исследуемая кровь принадлежит к группе O(I), если со всеми стандартными изогемагглютинирующими сыворотками АВО получены отрицательные результаты (см. рисунок).

б) Исследуемая кровь принадлежит к группе A(II), если в реакции со стандартными изогемагглютинирующими сыворотками  $O_{\alpha\beta}$ (I) (анти-AB) и  $B_{\alpha}$ (III) (анти-A) получен положительный

результат, а со стандартной изогемагглютинирующей сывороткой  $A_{\beta}(II)$  (анти-B) получен отрицательный результат (см. рисунок).

в) Исследуемая кровь принадлежит к группе B(III), если в реакции со стандартными изогемагглютинирующими сыворотками  $O_{\alpha\beta}(I)$  (анти-AB) и  $A_{\beta}(II)$  (анти-B) получен положительный результат, а со стандартной изогемагглютинирующей сывороткой  $B_{\alpha}(III)$  (анти-A) получен отрицательный результат (см. рисунок).

г) В тех случаях, когда положительный результат получен со всеми стандартными сыворотками, для исключения неспецифической агглютинации необходимо провести дополнительное контрольное исследование со стандартной изогемагглютинирующей сывороткой  $AB_0(IV)$  группы. Для этого на планшет нанести большую каплю (100 мкл) стандартной изогемагглютинирующей сыворотки  $AB_0(IV)$ , рядом маленькую каплю (10 мкл) исследуемых эритроцитов. Капли перемешать стеклянной (пластиковой) палочкой. Наблюдать за реакцией 5 минут при периодическом покачивании. Исследуемая кровь принадлежит к группе AB(IV), если со стандартной изогемагглютинирующей сывороткой  $AB_0(IV)$  получен отрицательный результат (см. рисунок).

## 7.2. Определение группы крови АВО перекрёстным способом со стандартными изогемагглютинирующими сыворотками и стандартными эритроцитами АВО.

7.2.1. Промаркировать планшет, для чего указать Ф.И.О. пациента, а также надписать специфичность изогемагглютинирующих сывороток АВО и стандартных эритроцитов АВО в порядке их нанесения.

7.2.2. На верхнюю часть планшета нанести стандартные изогемагглютинирующие сыворотки АВО двух серий в два ряда: по одной большой капле (100 мкл) под соответствующими надписями.

7.2.3. На нижнюю часть планшета нанести по одной маленькой капле (10 мкл) стандартных эритроцитов O(I), A(II), B(III) под соответствующими надписями.

7.2.4. Из пробирки с исследуемой кровью осторожно извлечь пипеткой сыворотку (100 мкл) и поместить рядом со стандартными эритроцитами АВО (соотношение стандартных эритроцитов и исследуемой сыворотки - 1:10). Этой же пипеткой из пробирки взять исследуемые эритроциты (10 мкл) и поместить рядом со стандартными изогемагглютинирующими сыворотками АВО (соотношение исследуемых эритроцитов и стандартных сывороток - 1:10).

7.2.5. Тщательно перемешать капли стеклянной (пластиковой) палочкой. Наблюдать за ходом реакцией 5 минут, при периодическом покачивании планшета. После окончания экспозиции в те капли, где имеется агглютинация, добавить по одной капле (50 мкл) раствора натрия хлорида, 0,9%, покачивая планшет.

7.2.6. Трактовка результатов реакции.

Положительный результат (+) выражается в агглютинации эритроцитов, агглютинаты видны невооруженным глазом в виде мелких или крупных красных агрегатов.

При отрицательном результате (-) капля остаётся равномерно окрашенной в красный цвет, агглютинации в ней не обнаруживается.

Результаты могут быть выражены в 4-х различных комбинациях.

а) Исследуемая кровь принадлежит к группе  $O_{\alpha\beta}(I)$  (анти-AB), если в реакции со всеми стандартными изогемагглютинирующими сыворотками АВО и стандартными эритроцитами O(I) получены отрицательные результаты, а положительные результаты получены в реакции со стандартными эритроцитами A (II) и B(III) (см. рисунок).

б) Исследуемая кровь принадлежит к группе  $A_{\beta}(II)$  (анти-B), если в реакциях со стандартными изогемагглютинирующими сыворотками  $O_{\alpha\beta}(I)$  (анти-AB),  $B_{\alpha}(III)$  (анти-A) и со стандартными эритроцитами B(III) получены положительные результаты, а отрицательные результаты получены в реакциях со стандартной изогемагглютинирующей сывороткой  $A_{\beta}(II)$  (анти-B) и стандартными эритроцитами O(I), A(II) (см. рисунок)..

в) Исследуемая кровь принадлежит к группе  $B_{\alpha}(III)$  анти-A, если в реакциях со стандартными изогемагглютинирующими сыворотками  $O_{\alpha\beta}(I)$  (анти-AB),  $A_{\beta}(II)$  (анти-B) и со стандартными эритроцитами A(II) получены положительные результаты, а отрицательные результаты получены в реакциях со стандартной изогемагглютинирующей сывороткой  $B_{\alpha}(III)$  (анти-A) и стандартными эритроцитами O (I), B(III) (см. рисунок)..

г) В тех случаях, когда положительный результат получен со всеми стандартными сыворотками, а со всеми стандартными эритроцитами получен отрицательный результат, для исключения неспецифической агглютинации провести дополнительное контрольное исследование со стандартной изогемагглютинирующей сывороткой  $AB_0(IV)$  группы. Для этого на планшет нанести большую каплю (100 мкл) стандартной изогемагглютинирующей сыворотки  $AB_0(IV)$ , рядом маленькую каплю (10 мкл)

исследуемых эритроцитов. Капли перемешать стеклянной палочкой. Наблюдать за реакцией 5 минут при покачивании планшета. Исследуемая кровь принадлежит к группе  $AB_0(IV)$ , если со стандартной изогемагглютинирующей сывороткой  $AB_0(IV)$  получен отрицательный результат (см.рисунок).



### 7.3.Определение группы крови ABO перекрёстным способом моноклональными реагентами и стандартными эритроцитами ABO.

7.3.1.Определение группы крови ABO проводить на планшете со смачиваемой поверхностью.

7.3.2. Промаркировать планшет, для чего указать Ф.И.О. пациента, а также надписать специфичность моноклональных реагентов анти-AB, анти-B, анти-A и стандартных эритроцитов ABO в порядке их нанесения.

7.3.3. Моноклональные реагенты анти-AB, анти-B, анти-A раскатать в один ряд по одной большой капле (по 100 мкл) под соответствующими надписями.

7.3.4. Во второй ряд раскатать по одной маленькой капле (10-30 мкл) стандартных эритроцитов. O(I), A(II), B(III) групп.

7.3.5. Из пробирки с исследуемой кровью осторожно извлечь пипеткой сыворотку крови пациента (100 мкл) и поместить рядом со стандартными эритроцитами ABO (соотношение стандартных эритроцитов и исследуемой сыворотки - 1:10). Этой же пипеткой из пробирки взять исследуемые эритроциты (10-30 мкл) и поместить рядом с моноклональными реагентами анти-AB, анти-B, анти-A (соотношение исследуемых эритроцитов и реагентов - 1:10 или 3:10).

7.3.6.. Каждую каплю исследуемого материала перемешать стеклянной (пластиковой) палочкой с соответствующим реагентом. Наблюдать за реакцией 3 минуты, при периодическом покачивании планшета.

7.3.7.Трактовка результатов реакции.

Положительный результат (+) выражается в агглютинации эритроцитов, агглютинаты видны невооруженным глазом в виде мелких или крупных красных агрегатов, быстро сливающихся в крупные хлопья.

При отрицательном результате (-) капля остаётся равномерно окрашенной в красный цвет, агглютинации в ней не обнаруживается.

Результаты могут быть выражены в 4-х различных комбинациях.

а) Исследуемая кровь принадлежит к группе O(I) анти-AB, если в реакции с моноклональными реагентами и стандартными эритроцитами O(I) получены отрицательные результаты, а положительные результаты получены в реакции со стандартными эритроцитами A(II) и B(III).

б) Исследуемая кровь принадлежит к группе A(II) анти-B, если в реакции с моноклональными реагентами анти-A и анти-AB и со стандартными эритроцитами B(III) получены положительные результаты, а отрицательные результаты получены в реакциях с моноклональным реагентом анти-B и стандартными эритроцитами O(I), A(II).

в) Исследуемая кровь принадлежит к группе B(III), если в реакции с моноклональными реагентами анти-B и анти-AB и со стандартными эритроцитами A(II) получены положительные результаты, а отрицательные результаты получены в реакциях с моноклональным реагентом анти-A и стандартными эритроцитами O(I), B(III).

г) В тех случаях, когда положительный результат получен со всеми моноклональными реагентами, а со всеми стандартными эритроцитами получен отрицательный результат, для исключения неспецифической агглютинации необходимо провести дополнительное контрольное исследование с раствором натрия хлорида, 0,9%. Для этого на планшет нанести большую каплю (100 мкл) раствора натрия хлорида, 0,9%, рядом добавить маленькую каплю (10-30 мкл) исследуемых эритроцитов. Капли перемешать стеклянной (пластиковой) палочкой. Наблюдать за реакцией 3 минуты при периодическом покачивании планшета.

Исследуемая кровь принадлежит к группе AB<sub>0</sub>(IV), если с раствором натрия хлорида, 0,9% получен отрицательный результат.



#### 7.4. Определение титра естественных анти-A ( $\alpha$ ), анти-B ( $\beta$ ) антител.

7.4.1. Для определения титра естественных групповых анти-A, анти-B антител приготовить ряд разведений с раствором натрия хлорида 0,9% на плоскости. Если исследуют сыворотку O (I) группы сделать два ряда разведений, если A (II) или B (III) по одному ряду разведений.

7.4.2. На планшет нанести по одной большой капле (100 мкл) раствора натрия хлорида 0,9% в десять пронумерованных точек. Затем в первую точку добавить одну большую каплю (100 мкл) исследуемой сыворотки. Перемешать. Из первой точки с разведённой сывороткой перенести одну большую каплю (100 мкл) во вторую точку с раствором натрия хлорида 0,9%. Каплю перемешать, перенести одну большую каплю (100 мкл) разведения в третью точку и т.д. Из последней точки одну большую каплю (100 мкл) разведённой сыворотки удалить. Получается ряд разведений 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256 и т.д.

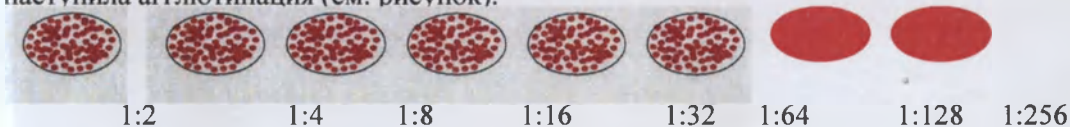
7.4.3. Рядом с каждой каплей разведённой сыворотки поместить по одной маленькой капле (10 мкл) стандартных эритроцитов ABO (соотношение сыворотки и эритроцитов 10:1). Для O (I) группы в первый ряд разведений - по капле эритроцитов A (II), во второй ряд разведений - по капле эритроцитов B (III). Для сыворотки A (II) - эритроциты B (III), для сыворотки B (III) - эритроциты A (II).

7.4.4. Капли перемешать стеклянной палочкой, начиная с наибольшего разведения.

7.4.5. Наблюдать за реакцией 5 минут при периодическом покачивании планшета.

### Трактовка результатов:

За титр естественных групповых антител принимается наибольшее разведение сыворотки, в котором наступила агглютинация (см. рисунок).



### 7.5. Исследование иммунных групповых анти-А, анти-В антител и их титра в реакции с применением 5% раствора унитиола.

7.5.1. Для определения в исследуемой сыворотке групповых иммунных анти-А, анти-В антител используется готовая лекарственная форма 5% раствора унитиола.

Порядок проведения исследования

7.5.2. Для исследования взять две центрифужные пробирки (опыт и контроль). Промаркировать, для чего указать Ф.И.О. реципиента, пробирка №1 – опыт, пробирка №2 – контроль.

7.5.3. Из пробирки с исследуемой кровью пациента осторожно взять пипеткой сыворотку и внести 150 мкл на дно центрифужной пробирки (пробирка № 1). В пробирку № 2 внести 150 мкл моноклонального реагента анти-D Супер Ig M.

7.5.4. В обе пробирки добавить по 150 мкл 5% раствора унитиола (разведение 1:2).

7.5.5. Пробирки поместить в термостат при  $t+37^{\circ}\text{C}$  на два часа.

7.5.6. После инкубации исследуемую сыворотку раститровать на плоскости также как при определении титра естественных анти-А, анти-В антител (см. рис.3). Если исследуют сыворотку O(I) группы сделать два ряда разведений, если A(II) или B(III) по одному ряду разведений. Получаются следующие разведения: 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 и т.д.

7.5.7. Добавить по одной маленькой капле (10 мкл) стандартных эритроцитов ABO: при исследовании сыворотки A(II) группы – эритроциты B(III), при исследовании сыворотки B(III) – эритроциты A(II), при исследовании сыворотки O(I) в первый ряд разведений – эритроциты A(II), во второй ряд разведений – эритроциты B(III).

7.5.8. Все капли перемешать стеклянной (пластиковой) палочкой, начиная с наибольшего разведения. Наблюдать за реакцией 5 минут.

7.5.9. Содержимое контрольной пробирки исследуют также.

7.5.10. Трактовка результатов:

Сыворотки, инкубированные с раствором унитиола и сохранившие способность агглютинировать эритроциты А и/или В, содержат анти-А, анти-В антитела.

При отрицательном результате (отсутствие агглютинации) сыворотка утратила способность агглютинировать эритроциты А и/или В. Это говорит о разрушении полных антител (Ig M).

Результат исследования содержимого контрольной пробирки должен быть отрицательным (пробирка №2).

При наличии иммунных анти-А, анти-В антител на плоскости наблюдается агглютинация (содержимое пробирки №1). За титр иммунных анти-А, анти-В антител принимается наибольшее разведение сыворотки, в котором наступила агглютинация.

### 7.6. Определение изоиммунных антиэритроцитарных антител.

7.6.1. В штатив установить 2 ряда тонкостенных пробирок высотой не менее 10 см по 3 пробирки в каждом ряду на одно исследование, в 3-м ряду – 1 пробирку для аутоконтроля. Пробирки промаркировать.

7.6.2. В три пробирки 1 и 2 ряда внести по 1 капле (50 мкл) стандартных эритроцитов в соответствии с их фенотипами, обозначенными на флаконе.

7.6.3. В пробирку 3 ряда внести 1 каплю (50 мкл) эритроцитов из исследуемого образца.

7.6.4. Во все пробирки добавить по 2 капли (100 мкл) 10% раствора желатина, нагретого до разжижения.

7.6.5. В пробирки 1-го ряда внести по 2 капли (100 мкл) исследуемой сыворотки, в пробирки 2-го ряда внести по 2 капли (100 мкл) сыворотки для контроля реакции при определении антиэритроцитарных антител.

7.6.6. Штатив с пробирками встряхнуть для перемешивания и поместить на водяную баню ( $t+48^{\circ}\text{C}$ ) на 15 минут или в термостат на 45 минут.

7.6.7. После окончания инкубации штатив с пробирками извлечь, добавить в каждую по 5-8 мл 0,9% раствора натрия хлорида, содержимое пробирок перемешать путем одно - двукратного перевертывания и оценить результат исследования.

#### 7.6.8.Трактовка результатов:

Результат учитывать, просматривая пробирки на свет невооруженным глазом или через лупу, в виде наличия или отсутствия агглютинации (см. рисунок).



Агглютинация есть  
(положительный результат)



Агглютинации нет  
(отрицательный результат)

Наличие агглютинации хотя бы в одной пробирке 1-го и 2-го ряда, а в пробирке 3 ряда агглютинации нет (аутоконтроль отрицательный) указывает на то, что в исследуемой сыворотке обнаружены неполные антиэритроцитарные антитела.

Отсутствие агглютинации в пробирках 1-го и 3-го ряда и наличие агглютинации в пробирках 2-го ряда (с D-положительными эритроцитами) указывает на то, что антиэритроцитарные антитела не обнаружены. Если в пробирках 1 и 3 ряда визуальна агглютинация отсутствует, содержимое пробирок необходимо микроскопировать. Для этого каплю содержимого каждой пробирки поместить с помощью стеклянной (пластиковой) палочки на предметное стекло и посмотреть под малым увеличением. Отсутствие агглютинатов свидетельствует о том, что исследуемая сыворотка не содержит антител. При наличии агглютинации хотя бы в одной капле говорит о том, что сыворотка содержит антитела против антигенов эритроцитов.

Наличие агглютинации в пробирке 3 ряда говорит о положительном аутоконтроле и необходимости дополнительного исследования образца крови.

#### 7.7.Проба на совместимость с применением 33% раствора полиглюкина

7.7.1.На дно пробирки пастеровской пипеткой или дозатором внести 2 капли (100 мкл) сыворотки больного, одну каплю (50 мкл) донорской крови, одну каплю (50 мкл) 33% раствора полиглюкина; перемешать содержимое .

7.7.2.Пробирку наклонить почти до горизонтального положения, затем медленно поворачивать таким образом, чтобы содержимое ее растекалось по стенкам. Контакт эритроцитов с сывороткой больного при поворачивании пробирки следует продолжать не менее 5 минут.

7.7.3.Через 5 минут в пробирку долить 3-5 мл изотонического раствора хлорида натрия и перемешать содержимое путем 2-3-х кратного перевертывания пробирки (**Не взбалтывать!**).

##### 7.7.4.Трактовка результата.

Если в пробирке наблюдается агглютинация в виде взвеси мелких или крупных комочков иногда хлопьевидной формы на фоне просветленной или полностью обесцвеченной жидкости - кровь донора **несовместима** с кровью больного в отношении антигенов системы Резус и других антигенных систем.

Если содержимое пробирки остается равномерно окрашенным и не наблюдается признаков агглютинации - кровь донора совместима с кровью реципиента.



Проба не совместима,  
**Переливать нельзя!**



Проба совместима,  
**Переливать можно**

#### 8.РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты исследования зарегистрировать в соответствующей медицинской документации и скрепить подписью лица, проводившего исследование.

#### 9.УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Наборы реагентов для определения антигенов и антител групп крови человека (стандартные изоагглютинирующие сыворотки ABO, консервированные стандартные эритроциты ABO, стандартные эритроциты для выявления антиэритроцитарных антител O(I) группы фенотипов CCDee, ccDEE, ccdeeK, сыворотка для контроля реакции при выявлении антиэритроцитарных антител), хранятся при температуре

+2°C..+8°C в течение всего срока годности. Перед работой выдержать при комнатной температуре не менее 1 часа.

33% раствор полиглюкина для лабораторных целей хранится при комнатной температуре.

Вскрытые ампулы (флаконы) со стандартной изогемагглютинирующей сывороткой АВО и флаконы с сывороткой для контроля реакции при выявлении изоиммунных антител годны к использованию в течение 2 недель.

Вскрытые ампулы (флаконы) со стандартными эритроцитами АВО и флаконы со стандартными эритроцитами O(I) группы фенотипов CCDee, ccDEE, ccdeeK годны к использованию в течение 7 дней.

Вскрытый флакон с 33% раствором полиглюкина годен к использованию в течение одного месяца.

#### **10. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ**

Предприятие – изготовитель гарантирует соответствие набора реагентов для определения групп крови человека требованиям ТУ 9398-001-01957616-2012 при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных настоящими ТУ.

Гарантийный срок годности:

- стандартных изогемагглютинирующих сывороток системы АВО-6 месяцев с даты изготовления;
- стандартных эритроцитов АВО и стандартных эритроцитов O(I) группы для выявления антиэритроцитарных антител фенотипов CCDee, ccDEE, ccdeeK- 2 месяца с даты изготовления;
- сыворотки для контроля реакции при выявлении антиэритроцитарных антител-2 месяца с даты изготовления;
- 33% раствора полиглюкина- 6 месяцев с даты изготовления.

#### **11. УТИЛИЗАЦИЯ НАБОРА**

Утилизация и уничтожение набора реагентов в связи с истечением срока годности, а также пришедшие в негодность, подлежат утилизации в соответствии с ГОСТ Р 51088-2012, СанПин 2.1.2790-10 и Инструкциями по правилам обращения с отходами в учреждениях здравоохранения.

#### **12. РЕКЛАМАЦИЯ**

Основанием для рекламации являются: отсутствие активности, специфичности, гемолиз эритроцитов, нарушение целостности флакона (ампулы), наличие хлопьев, получение реагентов с истёкшим сроком годности.

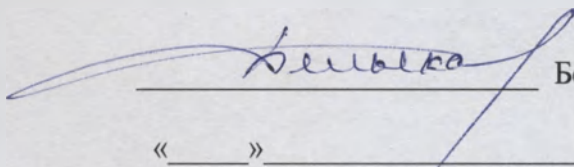
При составлении рекламации необходимо указать дату получения, номер серии, причину, по которой реагент признан негодным. Необходимо приложить протокол с результатами проверки реагента. Вместе с рекламацией необходимо направить 2-3 невскрытых набора (флаконов, ампул) данной серии.

Рекламацию следует направлять в учреждение – изготовитель:

Государственное автономное учреждение здравоохранения «Республиканский центр крови Министерства здравоохранения Республики Татарстан».

420088, г. Казань, ул. Ново-Азинская, 33, тел (843) 272-26-61, факс (843) 272-28-03

Заведующая иммунологическим отделением  
ГАУЗ «РЦК МЗ РТ»

  
Бельская Е.Е.  
« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2014 г.

Пронумеровано, прошито и скреплено печатью на  
десяти листах

главный врач \_\_\_\_\_ Тураев Р.Г.

