

Приказом Росздравнадзора
От 20 г. №

УТВЕРЖДАЮ
Главный врач
КУ «Сургутская станция переливания крови»
Ю.А. Чемакин
2012 г.

по применению Набора реагентов для иммуногематологических исследований
(стандартные эритроциты ABO, фенотипированные эритроциты O(I) группы CCDee, ccDEE, ccddeeK для выявления антиэритроцитарных антител)

2.1.2. Стандартные эритроциты для выявления антиэритроцитарных антител представляют собой взвесь эритроцитов группы O(I) с установленным фенотипом антигенов в специально изготовленном консервирующем растворе для пролонгированного хранения и содержат антигены системы резус: (D, C, c, E, e) и антиген K системы Келл. В набор входит 3 флакончика.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Стандартные реагенты для определения групповых антител крови человека системы ABO, выявления антиэритроцитарных антител изготавливаются из крови доноров, обследованных на ВИЧ, гепатиты, В, С и другие гемоконтактные инфекции. Стандартные реагенты содержат антигены системы Резус и Келл для выявления антиэритроцитарных антител, или групповые антигены А и В для выявления антител системы ABO.

Технология изготовления реагентов исключает возможность контаминации патогенными для человека вирусами.

Все реагенты выпускаются в соответствии с приказом МЗ РФ № 2 от 09.01.1998 г. (Об утверждении инструкций по иммуносерологии).

К стандартным эритроцитам системы ABO предъявляются следующие требования:

Стандартные эритроциты для исследований по системе ABO должны давать четкую, хорошо видимую агглютинацию при взаимодействии с ЭРИТРОТЕСТ-цоликлонами (моноклональными антителами) анти-А, анти-В и не должны давать агглютинации при контрольном исследовании (при необходимости) с физиологическим раствором:

- стандартные эритроциты O(I) не должны давать агглютинации с цоликлонами анти-А и анти-В;

- стандартные эритроциты A(II) дают агглютинацию с цоликлоном анти-А;

- стандартные эритроциты B(III) дают агглютинацию с цоликлоном анти-В.

Стандартные эритроциты группы A(II), предназначенные для выявления антител анти-А, должны агглютинировать антитела анти-А в течение не более 10 секунд. Эритроциты группы B(III), предназначенные для выявления антител анти-В, должны агглютинировать антитела анти-В в течение не более 10 секунд.

Стандартные эритроциты группы крови O(I), предназначенные для выявления антиэритроцитарных антител в сыворотке человека и установления их специфичности. Они должны содержать антигены системы Резус: D, C, E, c, e в различных сочетаниях, антиген Kell системы Kell, обеспечивающие выявление клинически значимых антител, давать с соответствующими реактивами четкую агглютинацию при определении методом конгломинации с 10% раствором желатина, или непрямой пробе Кумбса. Стандартные эритроциты группы O(I), не содержащие антигены системы Резус: D, C, E, c, e не должны давать агглютинации с сыворотками, содержащими антитела анти-D, анти-C, анти-E при исследовании их методом конгломинации с желатином, или непрямой пробе Кумбса.

Должны иметь точную паспортизацию, т.е. обозначение групповой принадлежности, титра, срока годности, номера серии и наименования учреждения их изготовившего.

Все эти сведения должны быть обозначены на этикетке, наклеиваемой на флакон.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Изготавливаемые реагенты предназначены только для лабораторной диагностики in vitro.

При работе с набором и утилизации отходов следует соблюдать СанПиН 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность», Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.5.2826-10 «Профилактика ВИЧ-инфекции».

В связи с тем, что исследуемые образцы крови следует рассматривать как потенциально инфицированные и способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита

и другие вирусные инфекции. При проведении анализов следует использовать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, а также одноразовые палочки и специальные планшеты. Определение группы крови и резус принадлежности должно производиться в помещении с хорошим освещением при температуре +15-25° С.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе со стандартными реагентами требуется следующее оборудование и материалы:

- планшет для изосерологических исследований;
- одноразовые стеклянные палочки;
- пробирки градуированные центрифужные 10,0 мл;
- пипетки одноразовые пластиковые;
- секундомер;
- штативы для пробирок;
- лупа с увеличением в 2-3 раза;
- термостат суховоздушный;
- маркер по стеклу;
- центрифуга настольная на 3000 об/мин;
- натрий хлористый, хч;
- микроскоп;
- раствор желатина 10 %;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые одноразовые.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для исследования используются эритроциты в специально изготовленном консервирующем растворе (ФСП 42 0270-114-01) в соотношении 1:4, хранящихся при температуре +2-8° С. Наиболее крупная агглютинация наблюдается при использовании эритроцитов в высокой концентрации. Реакция агглютинации начинает развиваться через 10-15 секунд, четко выраженная агглютинация наступает через 30-60 секунд.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Техника определения антигенов эритроцитов системы АВО, определения антиэритроцитарных антител к антигенам системы резус и Келл.

7.1.1. Метод агглютинации на плоскости

- 7.1.1.1. Из флаконов с капельницей нанести на планшет по одной большой капле (0,1мл) ЭРИТРОТЕСТ-целиклонов анти-А и анти-В под соответствующими надписями.
- 7.1.1.2. Рядом с каплей целиклонов нанести одну маленькую каплю (0,01 мл) исследуемой крови.
- 7.1.1.3. Палочкой смешать кровь с целиклонами.
- 7.1.1.4. Наблюдать за ходом реакции следует при легком покачивании планшета в течение 3 минут. Агглютинация обычно наступает в первые 10-15 секунд, четко выраженная агглютинация наступает через 30-60 секунд. Результат реакции необходимо учитывать через 3 минуты.

7.1.2. Реакция конглоутинации с 10% раствором желатина

7.1.2.1 В пробирку внести одну каплю (0,05 мл) стандартных эритроцитов O(I) группы.

7.1.2.2 Добавить две капли (0,1 мл) исследуемой сыворотки и 2 капли (0,1 мл) 10 % желатина.

7.1.2.3 Содержимое пробирки тщательно перемешать.

7.1.2.4 Инкубировать в суховоздушном термостате 30 минут при + 48 ° С.

7.1.2.5 Содержимое пробирки залить 5 -7 мл изотонического раствора NaCl и, после осторожного переворачивания пробирки, визуально или под микроскопом определить наличие (или отсутствие) агглютинатов.

8 УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

8.1 В случае определения антигенов группы крови системы ABO следует пользоваться таблицами 1, 2, 3.

Оценка результатов определения антигенов крови системы ABO при помощи цоликлонов

Таблица 1

ЭРИТРОТЕСТ-цоликлоны (моноклональные антитела)	
Анти-А	Анти-В
—	—
Эритроциты не содержат антигенов. Исследуемая кровь группы O(I)	

Таблица 2

ЭРИТРОТЕСТ-цоликлоны (моноклональные антитела)	
Анти-А	Анти-В
+	-
Эритроциты содержат антиген А. Исследуемая кровь группы A(II)	

Таблица 3

ЭРИТРОТЕСТ-цоликлоны (моноклональные антитела)	
Анти-А	Анти-В
—	+
Эритроциты содержат антиген В. Исследуемая кровь группы B(III)	

Знаком плюс (+) обозначено наличие агглютинации,

Знаком минус (—) – отсутствие её

8.2 В случае определения антигенов системы резус и Келл моноклональными антителами (цоликлонами) наличие агглютинатов на планшете указывает на присутствие соответствующих антигенов (табл.4).

Агглютинация с Эритрогест-целиклонами:

Образец №	Анти-D	Анти-C	Анти-E	Анти-c	Анти-e	Анти-K	Выявлены антигены	Фенотип эритроцит
1	+	+	-	-	+	-	D+, C+, E-, c-, e+, K-	CCDee
2	+	-	+	+	-	-	D+, C-, E+, c+, e-, K-	ccDEE
3	-	-	-	+	+	+	D-, C-, E-, c+, e+, K+	ccdeeK

Знаком плюс (+) обозначено наличие агглютинации,
Знаком минус (-) – отсутствие её

8.3 Для контроля специфичности (независимо от применения методики исследования) необходимо использовать соответствующие стандартные Rh(+) и Rh(-), Келл(+) и Келл(-) эритроциты O(I) группы.

9 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Срок хранения изготовленного реагента указан на флаконе. Вскрытый флакон можно хранить в холодильнике при температуре +2-8 °С в течение одного месяца.

Доставлять набор можно всеми видами крытого транспорта в термоконтейнерах. Во избежание гемолиза стандартных эритроцитов их замораживание недопустимо.

10 РЕКЛАМАЦИЯ

Основаниями для рекламации являются: отсутствие активности, неспецифичность, нарушение целостности флакона, наличие хлопьев, гемолиз стандартных эритроцитов, истекший срок годности реагента.

При оставлении 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 не вскрытыми флаконы данной серии.

Рекламации следует направлять в учреждение-изготовитель:

КУ «Сургутская станция переливания крови»

628403, г. Сургут, проезд Дружбы 4, тел. (3462) 37-68-08, 37-72-22.

Заведующая иммунологическим отделением
КУ «ССПК» г. Сургута

Н.Н.Меркулова

СОГЛАСОВАНО

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



« 09 » 04 2012 г.

