

УТВЕРЖДЕНА

«УТВЕРЖДАЮ»

Приказом Росздравнадзора

Директор

ФГУ «РосНИИГТ Росмедтехнологий»

от _____ 200 г. № _____

РАМН, профессор

Е.А.Селиванов

200 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов диагностических жидких для определения антител к антигенам эритроцитов

(Тест-эритроциты ID-DiaCell)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов Тест-эритроциты ID-DiaCell предназначен для выявления антител к антигенам эритроцитов и установления их специфичности при проведении тестов на совместимость крови донора и реципиента.

Исследование антител проводится:

- при исследовании группы крови перекрестным методом (определение анти-А, анти-В в сыворотке или плазме крови пациента или донора);
- при скрининге антител у реципиентов перед трансфузией;
- при выявлении иммунологических конфликтов мать-плод по антигенам эритроцитов для диагностики гемолитической болезни новорожденных;
- при постановке контрольных исследований при определении резус-принадлежности и выявлении антител к антигенам эритроцитов.

Набор рассчитан на проведение 200 определений при расходе 50 мкл реагента на 1 анализ.

Селиванов
04.12.06

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Принцип метода

Для выявления антител методом агглютинации в геле в верхнюю часть микропробирок добавляют тест-эритроциты и исследуемые сыворотки (плазмы). После инкубации и центрифугирования оценивают результат. Сыворотки (плазмы), содержащие антитела, агглютинируют соответствующие тест-эритроциты, которые не проходят через гель из-за большого размера и остаются в верхней части пробирки (положительный результат). Сыворотки (плазмы), не содержащие антитела, не агглютинируют тест-эритроциты, которые легко проходят через гель и оседают на дне пробирки (отрицательный результат).

Состав набора

В состав набора входят:

1. Тест-эритроциты ID-DiaCell A - содержат эритроциты донора группы крови А;
2. Тест-эритроциты ID-DiaCell B - содержат эритроциты донора группы крови В;
3. Тест-эритроциты ID-DiaCell I - содержат эритроциты донора группы крови О фенотипа ccDEEK-;
4. Тест-эритроциты ID-DiaCell II - содержат эритроциты донора группы крови 0 фенотипа CCDeeK-;
5. Тест-эритроциты ID-DiaCell III - содержат эритроциты донора группы крови 0 фенотипа cdeK+.

Все тест-эритроциты готовы для использования.

Эритроциты представляют 0,8% взвесь в буферном растворе.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Тест-эритроциты А агглютинируются сыворотками (плазмами), содержащими анти-А антитела, и не агглютинируются сыворотками (плазмами), содержащими анти-В антитела. Тест-эритроциты В агглютинируются сыворот-

ками (плазмами), содержащими анти-В антитела, и не агглютинируются сыворотками (плазмами), содержащими анти-А антитела. Тест-эритроциты 0 ccDEEK- агглютинируются сыворотками (плазмами), содержащими анти-с,-D,-Е антитела, и не агглютинируются сыворотками (плазмами), содержащими анти-С,-е,-К антитела. Тест-эритроциты 0 CCDeeK- агглютинируются сыворотками (плазмами), содержащими анти-С,-D,-е антитела, и не агглютинируются сыворотками (плазмами), содержащими анти-с,-Е,-К антитела. Тест-эритроциты cdeK+ агглютинируются сыворотками (плазмами), содержащими анти-с,-е,-К антитела, и не агглютинируются сыворотками (плазмами), содержащими анти-D,-С,-Е антитела.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

При работе с набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемиологического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждениях системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981).

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ:

- Центрифуга для центрифугирования карт;
- термостат, поддерживающий температуру $37 \pm 0,1$ °С;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменяемыми наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 25 и 50 мкл;

- штатив для пробирок и карт;
- Тест-эритроциты ID-DiaCell I-II-III, ID-DiaCell A, ID-DiaCell B;
- ID-карты, содержащие нейтральный гель или анти-IgG реактив;
- перчатки резиновые или пластиковые.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Определение антител проводят в сыворотке или плазме крови. Кровь для исследования в количестве 5-10 мл забирают из вены в пластиковую или стеклянную пробирку, не содержащую консервант или содержащую консервант.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Перед использованием тест-эритроциты необходимо выдержать в течение времени не менее 10-15 мин при комнатной температуре (18-25°C). Осторожно встряхнуть флакон с тест-эритроцитами до получения гомогенной взвеси.

1. Промаркировать ID-карту, вписать в нее № исследуемого образца сыворотки (плазмы) или Ф.И.О. пациента.
2. Снять защитную фольгу с пробирок ID-карты.

Определение анти-А, анти-В антител:

а) внести в одну пробирку ID-карты, содержащей нейтральный гель, 50 мкл Тест-эритроцитов ID-DiaCell A; в другую пробирку внести 50 мкл Тест-эритроцитов ID-DiaCell B;

б) добавить в эти пробирки по 25 мкл исследуемой сыворотки (плазмы) крови;

в) центрифугировать ID-карты в центрифуге для центрифугирования карт в течение 10 мин при комнатной температуре;

г) оценить результат исследования. Вписать полученный результат в ID-карту.

Скрининг антител непрямым антиглобулиновым тестом:

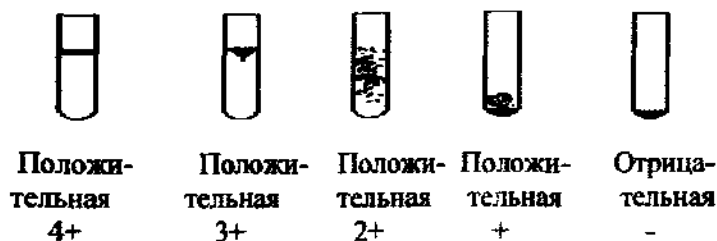
- а) внести в три пробирки ID-карты, содержащей анти-IgG реактив, по 50 мкл взвеси Тест-эритроцитов ID-DiaCell-I-II-III (в каждую пробирку по одному образцу);
- б) добавить в эти пробирки по 25 мкл исследуемой сыворотки (плазмы) крови;
- в) инкубировать в течение 15 мин при температуре $+37^{\circ}\text{C}$;
- г) центрифугировать ID-карты в центрифуге для центрифугирования карт в течение 10 мин при комнатной температуре ($18-25^{\circ}\text{C}$);
- д) оценить результат исследования. Вписать полученный результат в ID-карту.

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Положительный результат (агглютинированные эритроциты образуют четкое кольцо в верхней части микропробирки или распределяются в толще геля микропробирки) свидетельствует о наличии в исследуемой сыворотке (плазме) антител к антигенам эритроцитов. Характер агглютинации при выявлении антител к эритроцитам в гелевом тесте зависит от количества антител, их активности и оценивается от 4+ до +.

Отрицательный результат (эритроциты образуют осадок на дне микропробирки) свидетельствует об отсутствии в исследуемой сыворотке (плазме) крови антител к антигенам эритроцитов.

Оценка агглютинации в гелевом тесте



УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

Наличие агглютинации Тест-эритроцитов ID-DiaCell A исследуемой сывороткой (плазмой) свидетельствует о присутствии в ней анти-А антител. Отсутствие агглютинации свидетельствует о том, что анти-А антитела в сыворотке (плазме) не содержатся.

Наличие агглютинации Тест-эритроцитов ID-DiaCell B исследуемой сывороткой (плазмой) свидетельствует о присутствии в ней анти-В антител. Отсутствие агглютинации свидетельствует о том, что анти-В антитела в сыворотке (плазме) не содержатся.

Наличие агглютинации Тест-эритроцитов ID-DiaCell I 0ccDEEK-, ID-DiaCell II 0CCDeeK- и ID-DiaCell III 0cdeK+ исследуемой сывороткой (плазмой) свидетельствует о присутствии в ней соответствующих антител. Отсутствие агглютинации свидетельствует о том, что антитела в сыворотке (плазме) не содержатся.

Специфичность антител устанавливается при проведении дополнительных исследований с расширенной панелью эритроцитов, представленной 11 образцами эритроцитов с различными сочетаниями антигенов.

Тест-эритроциты ID-DiaCell могут быть также использованы для выявления антител в методе прямой агглютинации, непрямом антиглобулиновом тесте и методе конгломинации с желатином.

При использовании автоматического оборудования определение антител проводится согласно инструкции к прибору.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре 2-8°C в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до 25°C не более 1 суток. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок годности набора – 2 мес.

Вскрытые флаконы с Тест-эритроцитами могут храниться при температуре 2 - 8°C в закрытом виде в течение срока годности набора.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению набора.

По вопросам, касающимся качества набора Тест-эритроциты ID-DiaCell, следует обращаться в ФГУ РосНИИГТ Росздрава по адресу:

191024, г. Санкт-Петербург, 2-я Советская, 16.

Телефон (812) 717 44 66, факс (812) 274 92 27

и в Институт стандартизации и контроля лекарственных средств ФГУ «НЦЭСМП» Росздравнадзора по адресу: 117246, г. Москва, Научный проезд, д.14а, тел. (499) 120-60-95, 120-60-96.

Руководитель лаборатории
изосерологии, ст.н.с., д.б.н.



Н.В.Минеева