

антителами. При отсутствии соответствующих антигенов и антител агглютинации нет. Раствор желатина 10 % способствует усилению реакции агглютинации антител с соответствующими антигенами (метод конглотинации в пробирке с подогревом от 46 до 48°C).

Состав набора

- стандартные эритроциты ABO - 3 флакона по 3 мл и инструкция по применению;
- стандартные эритроциты I-II-III для скрининга антиэритроцитарных антител - 3 флакона по 3 мл и инструкция по применению;
- стандартные изогемагглютинирующие сыворотки - 6 флаконов по 5 мл, 1 флакон по 2 мл и инструкция по применению;
- раствор желатина 10 % - 5 флаконов по 20 мл или 1 флакон по 100 мл и инструкция по применению.

Порядок применения

Определение проводится в нативной крови, взятой на консерванте; в крови, взятой без консервантов; крови, взятой из пальца.

Проведение анализов проводится согласно Приказа МЗ РФ от 9 января 1989г. № 2 и на основании инструкций по применению реагентов для гелевых методик.

1. РЕАКЦИЯ АГГЛЮТИНАЦИИ НА ПЛОСКОСТИ

1.1 Проводить испытания при температуре 15 - 25 °C в помещении с хорошим освещением.

На плоскость нанести по одной большой капле (0,1 мл) сыворотки под соответствующими подписями.

1.2 Рядом со стандартными сыворотками поместить маленькую каплю (0,01мл) исследуемых эритроцитов. Соотношение сыворотки к эритроцитам 10:1.

1.3 Капли перемешать, наблюдать за ходом реакции покачивая плоскость. Результат оценить через 5 минут.

2. РЕАКЦИЯ КОНГЛЮТИНАЦИИ С ЖЕЛАТИНОМ

2.1 На дно пробирки поместить одну каплю исследуемых или стандартных эритроцитов (0,05 мл).

2.2 Добавить две капли (0,1 мл) раствора желатина 10 % и 1 - 2 капли (0,1 мл) исследуемой сыворотки или Цоликлона.

2.3 Содержимое пробирки перемешать путем встряхивания.

2.4 Инкубировать на водяной бане 46-48 °C 15 минут.

2.5 По извлечении пробирки из водяной бани долить 5-8 мл раствора натрия хлорида 0,9 % к содержимому пробирки и, после осторожного переворачивания пробирки, визуально или под микроскопом определить наличие или отсутствие агглютинации эритроцитов.

3. НЕПРЯМАЯ ПРОБА КУМБСА

3.1 Отмыть стандартные эритроциты раствором натрия хлорида 0,9 % 3-4-раза.

3.2 На дно пробирки поместить три капли (0,15 мл) исследуемой сыворотки и одну каплю (0,01мл) отмытых эритроцитов.

3.3 Содержимое пробирки перемешать путем встряхивания и инкубировать в термостате при 37 °C 45 минут.

3.4 Отмыть сенсibilизированные эритроциты раствором натрия хлорида 0,9 % 3-4-раза.

3.5 Приготовить 5 % взвесь отмытых сенсibilизированных эритроцитов.

3.6 Поместить в пробирку 2 капли 5 % взвеси отмытых сенсibilизированных эритроцитов и две капли АГС.

3.7 Центрифугировать пробирку 1 минуту при 1000 об./мин.

3.8 Оценить результат под микроскопом.

4. РЕАКЦИЯ АГГЛЮТИНАЦИИ В СОЛЕВОЙ СРЕДЕ

4.1 Отмыть стандартные эритроциты раствором натрия хлорида 0,9 % 3-4-раза и приготовить 2 % взвесь.

4.2 Поместить в лунку планшета по одной капле (0,05 мл) исследуемой сыворотки, раствора натрия хлорида 0,9 % и 2 % взвеси отмытых эритроцитов.

4.3 Содержимое лунки перемешать путем встряхивания и инкубировать в термостате при 37 °C один час.

4.4 После инкубации оценить результат.

5. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

5.1 Наличие агглютинации эритроцитов — эритроциты видны в виде взвеси мелких, реже крупных комочков на фоне просветленной или полностью обесцвеченной жидкости — положительная реакция.

5.2 Отсутствие агглютинации эритроцитов - равномерное окрашивание содержимого пробирки или капли, без каких-либо признаков агглютинации — отрицательная реакция.

5.3 В случае определения группы крови системы ABO следует пользоваться таблицами 1 и 2. Перед чтением результатов в капли, где наступила агглютинация, добавить по капле раствора натрия хлорида 0,9 % для исключения неспецифической агглютинации эритроцитов

Таблица 1

Оценка результатов определения группы крови при помощи изогемагглютинирующих сывороток двух серий каждой группы

Изогемагглютинирующие сыворотки группы			Исследуемая кровь принадлежит к группе
O _{αβ} (I) Анти- (A+B)	A _β (II) Анти-B	B _α (III) Анти-A	
-	-	-	O(I)
+	-	+	A(II)
+	+	-	B(III)
+	+	+	AB(IV)
Контроль с сывороткой группы AB ₀ (IV) -			

Таблица 2

Оценка результатов определения группы крови перекрестным методом при помощи изогемагглютинирующих сывороток двух серий каждой группы и стандартных эритроцитов

Стандартные эритроциты			Изогемагглютинирующие сыворотки группы			Исследуемая кровь принадлежит к группе
O(I)	A(II)	B(III)	O _{αβ} (I) Анти-(A+B)	A _β (II) Анти-B	B _α (III) Анти-A	
-	+	+	-	-	-	O(I)
-	-	+	+	-	+	A(II)
-	+	-	+	+	-	B(III)
-	-	-	+	+	+	AB(IV)
			Контроль с сывороткой группы AB ₀ (IV)			

как плюс (+) - наличие агглютинации,

как минус (-) - отсутствие ее.

Стандартные эритроциты ABO, стандартные эритроциты I-II-III для скрининга антиэритроцитарных антител, стандартные изогемагглютинирующие сыворотки

выпускаются в соответствии с «Приказом МЗ РФ от 9 января 1989 г. № 2». Раствор желатина 10 % выпускается в соответствии с инструкцией по изготовлению раствора желатина 10 % для лабораторных работ ТО-Л4-01-01.

Стандартные эритроциты ABO должны давать четкую, хорошо видимую агглютинацию при взаимодействии со стандартными изогемагглютинирующими реактивами соответствующей специфичности и не давать агглютинации с реактивами, не содержащими антител против данного антигена эритроцитов:

- стандартные эритроциты OI не дают агглютинацию с анти-A и анти-B;
- стандартные эритроциты AII дают агглютинацию с анти-A;
- стандартные эритроциты BIII дают агглютинацию с анти-B.

Стандартные эритроциты группы AII предназначены для выявления изогемагглютинина анти-A, должны иметь титр не ниже 1:32. Стандартные эритроциты группы BIII предназначены для выявления изогемагглютинина анти-B, должны иметь титр не ниже 1:32. Время наступления агглютинации эритроцитов AII и BIII со стандартными изогемагглютинирующими реактивами должно составлять не более 10 секунд. Стандартные эритроциты группы OI с этими реактивами не должны давать агглютинации в течение 20 минут.

Стандартные эритроциты I-II-III для скрининга антиэритроцитарных антител должны содержать в эритроцитах антигены D, C, c, E, e, K в различных сочетаниях, обеспечивающие выявление клинически значимых антител, давать с соответствующими реактивами четкую агглютинацию при определении методом с применением желатина, в непрямой пробе Кумбса, реакцией агглютинации в солевой среде и в геле.

Стандартные изогемагглютинирующие сыворотки должны соответствовать следующим требованиям:

- сыворотка должна быть специфичной, то есть содержать определенные групповые антитела анти-A, анти-B или оба вместе, и не вызывать неспецифической агглютинации эритроцитов одноименной группы и группы OI. Сыворотка группы ABIV, не содержащая групповых антител не должна вызывать агглютинацию;
- должна быть активной, что выражается в наступлении первых признаков агглютинации со стандартными эритроцитами групп A₁ и B в течение первых 30 секунд, со стандартными эритроцитами A₂ в течение первой минуты и титром агглютининов по отношению к эритроцитам групп A₁ и B не ниже, чем 1:32;
- должна быть прозрачной. Допускается небольшая опалесценция, что не влияет на качество сыворотки;
- должна быть окрашена: группа Aβ (II) - светло-зеленый или светло-синий цвет,

В_α (III) - розовый или красный цвет, АВ₀ (IV) - желтый цвет;

— должна быть предохранена от инфицирования прибавлением консервирующих средств.

Раствор желатина 10 % представляет собой прозрачную жидкую массу светло-желтого или желтого цвета, застывающую при температуре 4-8⁰С.

Раствор желатина 10 % способствует усилению реакции агглютинации антител с соответствующими антигенами (метод конглотинации в пробирке с подогревом от 46 до 48⁰С) в методах по определению резус принадлежности, антиэритроцитарных антител, проб на совместимость по групповым системам крови человека.

Условия хранения

Срок хранения 2 месяца при температуре 4 – 8 ⁰С.

Условия транспортирования

Транспортировать набор реагентов следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта при температуре от 4 до 8 ⁰С в изотермической таре

Правила утилизации

При утилизации отходов следует соблюдать «СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» (Постановление главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 09.12.2010 № 163).

ОГУП "Челябинская
станция переливания
крови по адресу:
6 листов 1 шт.
16.03.2012.

