

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель
Министра здравоохранения
Республики Беларусь
« 17 » 2022 г.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

РЕАГЕНТА МОНОКЛОНАЛЬНОГО ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИГЕНА D СИСТЕМЫ РЕЗУС

СОГЛАСОВАНО

Заместитель директора

РУП «Центр экспертиз и испытаний
в здравоохранении»



М.И. Злотникова

2022 г.

СОГЛАСОВАНО

Директор ГУ «Республиканский

научно-практический центр

трансфузиологии и

медицинских биотехнологий»



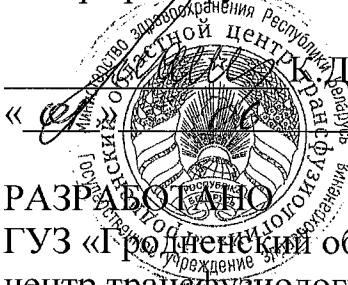
Ф.Н. Карпенко

2022 г.

СОГЛАСОВАНО

Главный врач

ГУЗ «Гродненский областной
центр трансфузиологии»



К.Д. Маслаков

2022 г.

СОГЛАСОВАНО

Главный врач

Брестская областная станция
переливания крови»



М.В. Осоприлко

2022 г.

РАЗРАБОТАНО

ГУЗ «Гродненский областной
центр трансфузиологии»

СОГЛАСОВАНО

Главный врач

Уз «Могилевская областная станция
переливания крови»



Т.Ф. Бурак

2022 г.

2022 г.

1. Назначение

Реагент анти-D предназначен для выявления антигена D системы Резус в эритроцитах человека.

2. Характеристика и основные свойства

Действующим началом реагента анти-D являются моноклональные человеческие анти-D антитела, которые продуцируются гетерогибридомой, полученной в результате слияния человеческой лимфобластоидной линии с миеломной клеточной линией мыши. Моноклональные антитела принадлежат к одному классу иммуноглобулинов IgM, полностью идентичны по структуре и биологической активности. Антитела анти-D класса IgM являются полными антителами, т.е. вызывают прямую агглютинацию эритроцитов, содержащих D-антиген. В связи с тем, что IgM антитела не вызывают агглютинации некоторых образцов эритроцитов со слабовыраженным D-антигеном (D^u), определение резус-принадлежности реципиентов и доноров отличаются. Реципиенты с группой крови D^u рассматриваются как резус-отрицательные и определение их резус-принадлежности ограничивается только тестированием моноклональным реагентом анти-D.

Доноры, в отличие от реципиентов, содержащие D^u антиген, рассматриваются как резус-положительные и определение их резус-принадлежности идет в два этапа.

Образцы донорской крови, которые при исследовании реагентом анти-D класса IgM были определены как D-отрицательные, необходимо дополнительно исследовать с помощью других анти-D реагентов, содержащих неполные антитела класса IgG: поликлональной сывороткой или моноклональным анти-D IgG реагентом на присутствие D^u антигена.

3. Трактовка результатов определения представлена в таблице.

Исследуемые эритроциты	Результат реакции с реагентом		Резус-принадлежность
	Моноклональный анти-D полные антитела	анти-D неполные антитела	
Реципиенты	-		Отрицательная
	+		Положительная
Доноры	+		Положительная
	-	+	Положительная D^u
	-	-	Отрицательная

(+) – наличие агглютинации;

(-) – отсутствие агглютинации.

Реагент анти-D может быть использован для выявления D-антигена в любых вариантах прямой реакции агглютинации: на плоскости, в пробирках, в микроплате.

4. Определение D антигена системы резус

4.1. Реакция агглютинации на плоскости

На пластину со смачиваемой поверхностью нанесите большую каплю (около 0,1 мл) реагента. Рядом поместите маленькую каплю (0,01-0,05 мл) исследуемой крови и смешайте кровь с реагентом. Четко выраженная агглютинация наступает через 30-60 сек при покачивании пластины. Результаты реакции учитывайте через 5 мин.

4.2. Реакция агглютинации в пробирках

В круглодонную пробирку внесите одну каплю (около 0,1 мл) реагента и добавьте одну каплю 5% суспензии исследуемых эритроцитов в физиологическом растворе. Содержимое пробирки тщательно перемешайте встряхиванием и инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре. После инкубации пробирку центрифугируйте при 1500-2000 об/мин в течение 1 мин. Мягко покачивая пробирку, отслоите осадок от дна. При отрицательном результате осадок эритроцитов разбивается, образуя непрозрачную гомогенную суспензию. При положительном результате в пробирке видны агглютинаты на фоне прозрачной жидкости.

4.3. Реакция агглютинации в микроплате

В лунку 96-ячеечной круглодонной микроплаты внесите 0,05 мл реагента и 0,05 мл 2% суспензии исследуемых эритроцитов в физиологическом растворе (эритроциты предварительно дважды отмойте). Через 45-60 минут инкубации при комнатной температуре визуально оцените результат реакции по рисунку осадка эритроцитов на дне лунки: при отрицательном результате осадок эритроцитов собирается в точку, при положительном - имеет большой диаметр, располагается неравномерным слоем, имеет неровные или завернутые края.

5. Контроль специфичности

Для контроля специфичности реакции необходимо включать стандартные D-положительные и D-отрицательные эритроциты.

6. Форма выпуска

Реагент выпускается в жидкой форме во флаконах объемом 10 мл. В качестве консерванта применяется азид натрия в конечной концентрации 0,1%.

7. Хранение

Срок хранения – 1 год при температуре +2-+8°C. Вскрытый флакон можно хранить при температуре +2-+8°C.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ



УТВЕРЖДАЮ
Заместитель
Министра здравоохранения
Республики Беларусь
Н.Н.Андросюк
« 11 » 08 2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

РЕАГЕНТОВ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГРУПП КРОВИ ЧЕЛОВЕКА СИСТЕМЫ АВ0

СОГЛАСОВАНО

Заместитель директора

РУП «Центр экспертиз и испытаний
в здравоохранении»



И.И. Злотникова
2022 г.

СОГЛАСОВАНО

Главный врач

ГУЗ «Гродненский областной
центр трансфузиологии»



К.Д.Маслаков
2022 г.

РАЗРАБОТАНО

ГУЗ «Гродненский областной
центр трансфузиологии»

СОГЛАСОВАНО

Директор ГУ «Республиканский
научно-практический центр
трансфизиологии и
репродуктивных биотехнологий»



Ф.Н. Карпенко
2022 г.

СОГЛАСОВАНО

Главный врач

ГУ «Брестская областная станция
переливания крови»



М.В.Осоприлко
2022 г.

СОГЛАСОВАНО

Главный врач

УЗ «Могилевская областная станция
переливания крови»



Ф.Бурак
2022 г.

2022 г.

1. Назначение

Реагенты анти-А, анти-В, анти-АВ предназначены для определения групп крови человека системы АВ0 в прямых реакциях гемагглютинации и применяются взамен или параллельно с поликлональными иммунными изогемагглютинирующими тест-сыворотками.

2. Характеристика и основные свойства реагентов анти-А, анти-В, анти-АВ

Моноклональные анти-А, анти-В, анти-АВ антитела получены путем современных биотехнологических методов, являются продуктом мышинных гибридом и принадлежат к иммуноглобулинам класса М. Технология изготовления реагента исключает возможность его контаминации патогенными для человека вирусами.

3. Техника определения групп крови человека системы АВ0 с помощью моноклональных реагентов

Определение производится в крови с консервантом, без консерванта, венозной или капиллярной. Используется метод прямой гемагглютинации на плоскости (на пластине или планшете). Определение групп крови производится в помещении с хорошим освещением при температуре +15-+25°C.

Порядок проведения исследования:

1. Нанесите на планшет или пластину индивидуальными пипетками реагенты анти-А, анти-В, анти-АВ по одной большой капле (0,1 мл) под соответствующими надписями.

2. Рядом с каплями реагентов нанесите по одной маленькой капле исследуемой крови (0,01-0,03 мл.)

3. Смешайте кровь с реагентом (на планшете – тщательно вымытым сухим шариком, покачивая планшет; на пластине – чистой индивидуальной сухой палочкой).

4. Наблюдайте за ходом реакции с реагентами визуально при легком покачивании пластины или планшета в течение 5 минут. Агглютинация эритроцитов обычно наступает в первые 3-5 сек., но наблюдение следует вести 5 мин., ввиду более позднего появления агглютинации с эритроцитами, содержащими слабые разновидности антигенов А или В.

5. Результат реакции в каждой капле может быть положительным или отрицательным. Положительный результат выражается в агглютинации (склеивании) эритроцитов. Агглютинаты видны невооруженным глазом в виде мелких красных агрегатов, быстро склеивающихся в крупные хлопья. При отрицательной реакции капля остается равномерно окрашенной в красный цвет, агглютинаты в ней не обнаруживаются.

6. Учет результатов реакции агглютинации представлен в таблице:

Учет реакции агглютинации			Группа крови системы АВ0
анти-А	анти-В	анти-АВ	
-	-	-	0(I)
+	-	+	A(II)
-	+	+	B(III)
+	+	+	AB(IV)

(+) – наличие агглютинации

(-) – отсутствие агглютинации

Примечание: АВ0 принадлежность крови доноров устанавливается только по результатам перекрестного определения: антигенов А и В в эритроцитах и изогемагглютининов в сыворотке.

В большинстве случаев при определении групп крови моноклональными реагентами достаточно вести учет реакции по наличию или отсутствию агглютинации с двумя реагентами: анти-А и анти-В. Дополнительное введение в реакцию реагента анти-АВ необходимо в диагностических лабораториях при возникновении затруднений при определении групп крови. Учет результатов агглютинации представлен в таблице:

Учет реакции агглютинации		Группа крови системы АВ0
анти-А	анти-В	
-	-	0(I)
+	-	A(II)
-	+	B(III)
+	+	AB(IV)

7. При положительном результате реакции агглютинации со всеми реагентами необходимо исключить спонтанную неспецифическую агглютинацию исследуемых эритроцитов. Для этого смешайте на плоскости 1 каплю физиологического раствора с одной каплей исследуемых эритроцитов. Кровь можно отнести к группе АВ(IV) только при отсутствии агглютинации эритроцитов в физиологическом растворе.

4. Форма выпуска

Реагенты выпускаются в жидкой форме во флаконах объемом 10 мл. Реагент анти-А – синего цвета, анти-В – красного, анти-АВ – бесцветного. В качестве консерванта применяется азид натрия в конечной концентрации 0,1%.

5. Хранение

Моноклональные реагенты должны храниться в сухом, защищенном от света месте при температуре +2 - +8°C в течение всего срока годности. Вскрытый флакон можно хранить при температуре +2 - +8°C в закрытом виде.

Примечание: Уточнение техники реакции, оценки результатов, возможные ошибки и другие подробности см. в «Инструкции по определению групп крови системы АВ0».