МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

СОГЛАСОВАНО
Заместитель Министра
здравоохранения
Республики Беларусь

_____Б.Н. Андросюк
«____»_____2023 г.

УТВЕРЖДАЮ
Директор ГУ «Республиканский
научно-практический центр
трансфузиологии и медицинских
биотехнологий»

_____Ф.Н. Карпенко
«11»_____05_____2023 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

СЫВОРОТКИ АНТИГЛОБУЛИНОВОЙ ПОЛИСПЕЦИФИЧЕСКОЙ

СОГЛАСОВАНО
Заместитель директора
РУП «Центр экспертиз
и испытаний в здравоохранении»

_____М.И. Злотникова
«____»_____2023 г.

РАЗРАБОТЧИКИ
И.о. заведующего лабораторией
экспериментального производства
РНПЦ трансфузиологии и медицинских
биотехнологий

_____Е.М. Дворина
«04»_____05_____2023 г.

Инженер по стандартизации лаборатории
экспериментального производства
РНПЦ трансфузиологии и медицинских
биотехнологий

_____Ю.В. Ольховик
«04»_____05_____2023 г.

2023

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1 НАЗНАЧЕНИЕ

Сыворотка антиглобулиновая полиспецифическая (далее – сыворотка АГ) предназначена для выявления неполных (неагглютинирующих) антител при постановке прямой и непрямой проб Кумбса.

Сыворотка АГ для пробы Кумбса содержит поликлональные антитела к IgG и предназначена для идентификации неполных антител при различных заболеваниях с элементами иммунопатологии, при резус-конфликтных беременностях, подборе пар донор-реципиент при проведении трансфузионной терапии и трансплантации органов и тканей, для идентификации антигенов, экспрессированных на красных кровяных клетках.

2 КОМПЛЕКТНОСТЬ

В комплект поставки сыворотки АГ входят следующие компоненты:

– 1 флакон по 5 мл с сывороткой антиглобулиновой полиспецифической;

– инструкция по применению.

3 ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

Персонал, использующий сыворотку АГ, должен быть обеспечен в установленном порядке средствами индивидуальной защиты и спецодеждой, должен соблюдать правила личной гигиены и асептики, принятые в медицинских учреждениях, в соответствии с действующим законодательством Республики Беларусь.

Меры предосторожности при работе с сывороткой АГ и кровью пациентов требуют соблюдения правил работы с условно-патогенным биологическим материалом, в соответствии с действующим законодательством Республики Беларусь.

Утилизация брака и отходов от сыворотки АГ после ее использования должна проводиться в соответствии с требованиями санитарных норм и правил «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами», утвержденными постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 7 февраля 2018 г. № 14.

4 ОПИСАНИЕ ПРОЦЕДУРЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

4.1 Прямой антиглобулиновый тест (прямая проба Кумбса):

– приготовьте 5 %-ю взвесь исследуемых эритроцитов в физиологическом растворе (далее – ФР), для чего 1 каплю (0,05 мл) эритроцитов смешайте в пробирке с 19 каплями (0,95 мл) ФР;

– внесите 1 каплю (0,05 мл) суспензии эритроцитов в чистую маркированную пробирку и отмойте их трижды ФР;

– полностью удалите супернатант после последней отмывки;

– к осадку добавьте 2 капли (0,1 мл) сыворотки АГ и смешайте;

– центрифугируйте пробирку 1 мин при 1500 об/мин;

– мягко ресуспендируйте осадок и визуально определите наличие агглютинации.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Трактовка результатов прямой пробы Кумбса:

Отсутствие агглютинации – отрицательная проба ***(при получении отрицательного результата в опытной пробирке – каплю исследуемой взвеси переносят на стекло и микроскопируют при малом увеличении).***

Наличие агглютинации – положительная проба, что указывает на сенсибилизацию исследуемых эритроцитов. Если агглютинация исследуемых эритроцитов наступила до добавления к ним сыворотки АГ, результат прямой пробы не учитывается.

4.2 Непрямой антиглобулиновый тест (непрямая проба Кумбса):

– трижды отмойте стандартные эритроциты в 8-10 мл ФР;

– внесите 3 капли (0,15 мл) исследуемой сыворотки в чистую маркированную пробирку;

– добавьте 1 каплю (0,05 мл) отмытых эритроцитов и смешайте;

– в качестве ***отрицательного контроля*** используйте **сыворотку, заведомо не содержащую антиэритроцитарные антитела.** В качестве ***положительного контроля*** используйте **сыворотку, заведомо содержащую антитела к антигенам стандартных эритроцитов;**

– инкубируйте смесь при температуре 37 °С в течение 45 мин;

– отмойте эритроциты трижды ФР, полностью удалите супернатант после последней отмывки;

– приготовьте 5 %-ю взвесь отмытых сенсибилизированных эритроцитов в ФР;

– смешайте в пробирке 1 каплю (0,05 мл) 5 %-ой взвеси отмытых сенсибилизированных эритроцитов и 2 капли (0,1 мл) сыворотки АГ;

– центрифугируйте пробирки 1 мин при 1500 об/мин;

– мягко ресуспендируйте осадок и визуально определите наличие агглютинации.

Трактовка результатов непрямой пробы Кумбса:

Отсутствие агглютинации – отрицательная проба во всех пробирках означает, что в исследуемой сыворотке не содержится неполных антител к групповым антигенам, которые содержатся на стандартных эритроцитах, включенных в исследование ***(при получении отрицательного результата в опытной пробирке – каплю исследуемой взвеси переносят на стекло и микроскопируют при малом увеличении).***

Наличие агглютинации – положительная проба, что указывает на наличие неполных антител против антигенов эритроцитов в исследуемой сыворотке.

4.3 Непрямой антиглобулиновый тест с LISS раствором:

– стандартные эритроциты отмойте 1 раз ФР и 1 раз LISS раствором;

– приготовьте 5 %-ю взвесь эритроцитов в LISS растворе;

– внесите 3 капли (0,15 мл) исследуемой сыворотки в чистую маркированную пробирку;

– добавьте 1 каплю (0,05 мл) 5 %-ой взвеси эритроцитов и смешайте;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

– в качестве ***отрицательного контроля*** используйте **сыворотку, заведомо не содержащую антиэритроцитарные антитела.** В качестве ***положительного контроля*** используйте **сыворотку, заведомо содержащую антитела к антигенам стандартных эритроцитов;**

– инкубируйте смесь при температуре 37 °С в течение 15 мин;

– отмойте эритроциты трижды ФР, полностью удалите супернатант после последней отмывки;

– смешайте в пробирке 1 каплю (0,05 мл) 5 %-ой взвеси отмытых сенсибилизированных эритроцитов и 2 капли (0,1 мл) сыворотки АГ;

– центрифугируйте пробирки 1 мин при 1500 об/мин;

– мягко ресуспендируйте осадок и визуально определите наличие агглютинации.

Трактовка результатов непрямой пробы Кумбса:

Отсутствие агглютинации – отрицательная проба во всех пробирках означает, что в исследуемой сыворотке не содержится неполных антител к групповым антигенам, которые содержатся на стандартных эритроцитах, включенных в исследование ***(при получении отрицательного результата в опытной пробирке – каплю исследуемой взвеси переносят на стекло и микроскопируют при малом увеличении).***

Наличие агглютинации – положительная проба, что указывает на наличие неполных антител против антигенов эритроцитов в исследуемой сыворотке.

5 ОБЕСПЕЧЕНИЕ ПОЛУЧЕНИЯ ПРАВИЛЬНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для получения надежных результатов исследований необходимо строгое соблюдение техники исследования и выполнение следующих основных правил:

– стадии центрифугирования и отмывания должны осуществляться без перерыва;

– необходимо соблюдение рекомендованных температурных режимов;

– недопустимо наличие даже незначительного загрязнения на пипетках и пробирках, использованных при постановке анализа, т.к. это может привести к инактивации сыворотки АГ;

– оценка результатов должна проводиться непосредственно после добавления реагента, т.к. результатом может быть диссоциация комплекса антиген-антитело, приводящая к ложноположительному или ложноотрицательному результату.

6 СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности сыворотки АГ – 1 год от даты ее изготовления при температуре хранения от плюс 2 °С до плюс 8 °С.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7 УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Условия транспортирования сыворотки АГ должны соответствовать условиям ее хранения.

Сыворотку АГ транспортируют всеми видами транспорта в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на каждом виде транспорта.

Сыворотка АГ должна храниться в сухом, защищенном от света месте при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С в течение всего срока годности.

8 ЮРИДИЧЕСКИЙ АДРЕС ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий» (РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий)

220053, Республика Беларусь, г. Минск, Долгиновский тракт, 160

УНП 190572781, ОКПО 37652513

Тел.: (8-017) 289-01-06; 335-34-01; 289-88-18

Факс: (8-017) 289-87-45

E-mail: rnpc@blood.by; http://blood.by/

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru