

1 НАЗНАЧЕНИЕ

Раствор желатина 10 % предназначен для проведения иммуносерологических исследований у доноров, реципиентов и беременных женщин: для определения Rh(D)-принадлежности крови человека; исследования сыворотки на наличие неполных аллоиммунных антител; проведения пробы на совместимость крови донора и реципиента.

Раствор желатина 10 % представляет собой слабоокрашенную студенистую массу, которая при нагревании превращается в жидкость.

2 КОМПЛЕКТНОСТЬ

В комплект поставки раствора желатина 10 % входят:

- 10 флаконов по 10 мл с раствором желатина 10 %;
- инструкция по применению.

Флакон с раствором желатина 10 % рассчитан на проведение 50 определений.

3 ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

Персонал, использующий раствор желатина 10 %, 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 раствором желатина 10 % и кровью пациентов требуют соблюдения правил работы с условно-патогенным биологическим материалом, в соответствии с действующим законодательством Республики Беларусь.

Утилизация брака и отходов от раствора желатина 10 % после его 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 ОПРЕДЕЛЕНИЕ Rh(D)-ПРИНАДЛЕЖНОСТИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА РЕАКЦИЕЙ КОНГЛЮТИНАЦИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ РАСТВОРА ЖЕЛАТИНА 10 % В ПРОБИРКЕ С ПОДОГРЕВОМ

Определении Rh(D)-принадлежности производится специалистом, имеющим специальную подготовку.

4.1 Оборудование, материалы и реактивы:

- пробирки центрифужные или другие вместимостью не менее 10 мл;
- штативы для пробирок;
- баня водяная или суховоздушный термостат;
- лупа с 2-4 кратным увеличением;
- тест-сыворотка антирезус анти-D с неполными антителами;
- стандартные эритроциты Rh(D)-положительные и Rh(D)-отрицательные;
- изотонический раствор натрия хлорида для инфузий 0,9 мг/мл.

4.2 Анализируемые образцы.

Исследуемые образцы эритроцитов.

4.3 Проведение анализа.

Перед использованием раствор желатина 10 % необходимо тщательно просмотреть. При помутнении или появлении хлопьев, а также при потере свойств застудневать при температуре 2-8 °С раствор желатина 10 % непригоден.

В штатив устанавливают 2 ряда пробирок по числу исследуемых образцов эритроцитов в каждом ряду и 2 пробирки для стандартных Rh(D)-положительных и Rh(D)-отрицательных эритроцитов. На пробирках надписывают фамилию и инициалы лица, кровь которого будет исследоваться. Пробирки нумеруют. В одинаково обозначенные пробирки (в 2 ряда) вводят по 50 мкл (1 капле) исследуемых эритроцитов, а в контрольные – по 50 мкл (1 капле) стандартных Rh(D)-положительных и Rh(D)-отрицательных эритроцитов.

Во все пробирки 1 ряда добавляют по 100 мкл (2 капли) тест-сыворотки антирезус анти-Rh(D).

Во все пробирки (в 2 ряда) добавляют по 100 мкл (2 капли) раствора желатина 10 %, предварительно подогретого до разжижения.

Второй ряд является контролем для исключения возможного неспецифического склеивания исследуемых эритроцитов (прямая желатиновая проба).

Содержимое пробирок перемешивают встряхиванием и штатив с пробирками помещают на водяную баню при температуре 46-48 °С на 20 мин или в суховоздушный термостат при температуре 46-48 °С на 40 мин.

После извлечения пробирок из водяной бани или суховоздушного термостата в них доливают по 5-8 мл изотонического раствора натрия хлорида и перемешивают содержимое путем 1-2 кратного перевертывания пробирок.

4.4 Регистрация результатов.

Пробирки просматривают на свет невооруженным глазом или через лупу. Результат трактуют по наличию или отсутствию агглютинации эритроцитов.

4.5 Учет результатов реакции.

Образцы эритроцитов, давшие агглютинацию с сывороткой анти-D, являются Rh(D)-положительными (Rh+). Образцы эритроцитов, не давшие агглютинации с сывороткой анти-D – резус отрицательными (rh-). Однако результаты учитывают как истинные после проверки контрольных образцов, подтверждающих специфичность и активность сыворотки антирезус, т.е. при отсутствии агглютинации со стандартными резус-отрицательными эритроцитами одноименной группы и наличии агглютинации со стандартными резус-положительными эритроцитами одноименной группы или 0(I) группы. В пробирках второго (контрольного) ряда агглютинации быть не должно.

Наличие агглютинации в какой-либо пробирке контрольного ряда (прямая желатиновая проба положительная) говорит о неспецифичности реакции. При этих условиях положительный результат с сывороткой антирезус не может быть учтен как истинный. В таких случаях рекомендуется отмыть исследуемые эритроциты теплым изотоническим раствором натрия хлорида для элюирования с них аутоантител и повторить исследование. При сомнительном результате для определения Rh(D)-принадлежности следует применить метод агглютинации в солевой среде с использованием сывороток антирезус, содержащих полные антитела.

5 ИССЛЕДОВАНИЕ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА НА НАЛИЧИЕ НЕПОЛНЫХ АЛЛОИММУННЫХ АНТИТЕЛ С ПРИМЕНЕНИЕМ РАСТВОРА ЖЕЛАТИНА 10 %

5.1 Оборудование, материалы и реактивы:

- баня водяная или суховоздушный термостат;
- пробирки высотой около 10 см;
- микроскоп световой биологический с увеличением 40-1000×;
- штативы для пробирок;
- резус-положительные тест-эритроциты 0 (I) группы с фенотипом CcDEeKell.

5.2 Анализируемые образцы.

Исследуемые образцы сыворотки.

5.3 Проведение анализа.

Перед использованием раствор желатина 10 % необходимо тщательно просмотреть. При помутнении или появлении хлопьев, а также при потере свойств застудневать при температуре 2-8 °С раствор желатина 10 % непригоден.

В штатив устанавливают пробирки высотой около 10 см, которые нумеруют. Число и нумерация пробирок должны соответствовать числу и нумерации тест-эритроцитов, с которыми исследуется сыворотка.

В пробирки в соответствии с их нумерацией вводят по 50 мкл (1 каплю) тест-эритроцитов, приготовленных в качестве стандартов.

Во все пробирки добавляют по 100 мкл (2 капли) раствора желатина 10 %, предварительно подогретого до разжижения. После этого во все пробирки добавляют по 100 мкл (2 капли) исследуемой сыворотки.

Содержимое пробирок перемешивают встряхиванием и штатив с пробирками помещают на водяную баню при температуре 46-48 °С на 20 мин или в суховоздушный термостат при температуре 46-48 °С на 40 мин.

После извлечения пробирок из водяной бани или суховоздушного термостата в них доливают по 5-8 мл изотонического раствора натрия хлорида и перемешивают содержимое путем 1-2 кратного перевертывания пробирок.

5.4 Регистрация результатов.

Результат оценивают на свет невооруженным глазом. Результат трактуют по наличию или отсутствию агглютинации эритроцитов.

При исследовании крови донора во всех сомнительных и отрицательных случаях результат реакции оценивают с помощью микроскопа. Для этого каплю содержимого пробирки помещают с помощью стеклянной палочки на предметное стекло и просматривают под малым увеличением.

5.5 Учет результатов реакции.

Наличие агглютинации в пробирках с образцами резус-положительных эритроцитов и отсутствие с резус-отрицательными собственными эритроцитами указывает на содержание в испытуемой сыворотке неполных аллоиммунных антител.

Отсутствие агглютинации со всеми образцами тест-эритроцитов указывает на то, что неполные аллоиммунные антитела не выявлены.

6 ПРОБА НА СОВМЕСТИМОСТЬ КРОВИ ДОНОРА И РЕЦИПИЕНТА С ПРИМЕНЕНИЕМ РАСТВОРА ЖЕЛАТИНА 10 %

6.1 Оборудование, материалы и реактивы:

- пробирки центрифужные или другие вместимостью не менее 10 мл;
- штативы для пробирок;
- баня водяная или суховоздушный термостат;
- микроскоп световой биологический с увеличением 40-1000×;
- изотонический раствор натрия хлорида для инфузий 0,9 мг/мл.

6.2 Анализируемые образцы.

Исследуемые образцы эритроцитов донора.

Исследуемые образцы сыворотки реципиента.

6.3 Проведение анализа.

Перед использованием раствор желатина 10 % необходимо тщательно просмотреть. При помутнении или появлении хлопьев, а также при потере свойств застудневать при температуре 2-8 °С раствор желатина 10 % непригоден.

К 50 мкл (1 капле) эритроцитов донора добавить 100 мкл (2 капли) раствора желатина 10 %, предварительно подогретого до разжижения и 100 мкл (2 капли) сыворотки реципиента.

Содержимое пробирок перемешивают встряхиванием и штатив с пробирками помещают на водяную баню при температуре 46-48 °С на 20 мин или в суховоздушный термостат при температуре 46-48 °С на 40 мин.

После извлечения пробирок из водяной бани или суховоздушного термостата в них доливают по 5-8 мл изотонического раствора натрия хлорида и перемешивают содержимое путем 1-2 кратного переворачивания пробирок.

6.4 Регистрация результатов.

Результат оценивают невооруженным глазом. Результат трактуют по наличию или отсутствию агглютинации эритроцитов.

При исследовании крови донора во всех сомнительных и отрицательных случаях результат реакции оценивают с помощью микроскопа. Для этого каплю содержимого пробирки помещают с помощью стеклянной палочки на предметное стекло и просматривают под малым увеличением.

6.5 Учет результатов реакции.

Если в пробирке наблюдается агглютинация эритроцитов – эритроциты видны в виде взвеси мелких, реже крупных комочков на фоне просветленной или полностью обесцвеченной жидкости – это значит, что кровь донора **несовместима с кровью реципиента и не должна быть ему перелита.**

Если содержимое пробирки остается равномерно окрашенным и в нем не наблюдается какой-либо из признаков агглютинации, это значит, что кровь донора совместима с кровью реципиента.

7 СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности раствора желатина 10 % – 1 год от даты его изготовления при температуре хранения от плюс 2 °С до плюс 8 °С.

8 УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Условия транспортирования раствора желатина 10 % должны соответствовать условиям его хранения.

Раствор желатина 10 % транспортируют всеми видами транспорта в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на каждом виде транспорта.

Раствор желатина 10 % должен храниться в сухом, защищенном от света месте при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С в течение всего срока годности.

9 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) 257-47-45; 335-34-02

Факс: (8-017) 289-86-13

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