

ИНСТРУКЦИЯ МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
13 ноября 2008 г. № 120-1108

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель
Министра здравоохранения
Республики Беларусь

Р.А.Часнойть

13.11.2008

**Приготовление стандартных редких сывороток для
определения различных изоантигенов человека**

Учреждение-разработчик: государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр гематологии и трансфузиологии»

Авторы: д.м.н., профессор М.П.Потапнев, к.м.н., доцент Э.Л.Свирновская, Е.М.Дворина, Т.В.Будько, Е.В.Полкова

Минск, 2008

Под редкими группами крови понимают такие сочетания групповых антигенов в эритроцитах человека, в которых: а) отсутствует какой-либо из антигенов высокой частоты встречаемости; б) отсутствуют одновременно несколько антигенов, в том числе активных и высокой частоты; в) содержатся различные редкие антигены; г) имеются редкие сочетания антигенов разных систем.

Под редкими сыворотками подразумеваются сыворотки крови людей, чаще с редкой группой крови, содержащие изоиммунные антитела, редко возникающие у людей вследствие естественной сенсibilизации при беременности. Причиной редкости такой сенсibilизации является редкость или, наоборот, высокая частота антигенов, против которых могут быть направлены антитела, а также низкая иммуногенная активность некоторых антигенов.

К редким сывороткам относятся моноспецифические сыворотки, содержащие антитела к какому-либо одному антигену системы Резус – С, Е, с, е, С^w или к одному из антигенов других систем – Келл, Даффи, Кидд, Левис, Лютеран, MNSs и др.

К редким сывороткам относятся также полиспецифические сыворотки, содержащие два или более вида антител, одними из которых чаще всего бывают антитела анти-D, а другими – антитела редкой специфичности. К таким редким полиспецифическим сывороткам относят сыворотки анти-С+D, анти-D+E, анти-D+E, анти-B+анти-Fy^a, анти-D+Келл и другие сочетания антител анти-D с какими-либо редкими антителами, а также все сочетания только редких антител, например, анти-С+е, анти-С+анти-Fy^a и т.д.

Трансфузионная терапия, проводимая лицам с редкими группами эритроцитарных антигенов, повышает возможность образования редких антител, особенно если кровь переливалась повторно и у реципиента были в прошлом беременности.

Реиммунизация соответствующим антигеном, проводимая лицам, иммунизированным естественным путем при беременности или вследствие трансфузий крови, еще более повышает возможность образования активных редких антител.

Лица, иммунизированные естественным путем при беременности или вследствие гемотрансфузий, могут привлекаться в кадры доноров с дополнительной реиммунизацией соответствующим антигеном. Привлечение к донорству и реиммунизация для получения редких сывороток проводятся так же, как это предусмотрено для сывороток антирезус

(инструкция по применению «Иммунизации доноров для получения стандартных сывороток и иммуноглобулина антирезус»).

Реиммунизация допустима для повышения активности любых антител, так как не вносит ничего качественно нового в иммунологический статус иммунизируемого лица и, следовательно, не создает дополнительной опасности в случае необходимости переливания крови.

Эффективной мерой получения некоторых редких сывороток является искусственная иммунизация доноров-добровольцев.

Искусственная иммунизация ранее несенсибилизированных лиц допустима только теми антигенами и при тех условиях, когда это не может повлечь каких-либо осложнений для иммунизируемого лица в виде неблагоприятных исходов последующих беременностей или несовместимости в случае переливания крови.

1. Основное назначение редких сывороток в организациях службы крови

Моноспецифические сыворотки антирезус анти-С, анти-Е, анти-с, анти-е, анти-С^w, а также моноспецифические сыворотки других систем применяются наряду с сыворотками анти-D при фенотипировании крови доноров для создания панели стандартных эритроцитов и кадров типированных доноров, в том числе доноров редких групп, а также для установления фенотипа крови больных и других лиц с целью выяснения причин и предупреждения сенсибилизации и посттрансфузионных осложнений.

Полиспецифические сыворотки анти-С+D, анти-D+E, анти-С+D+E применяются при обследовании доноров и при обработке их крови на втором этапе исследования на резус-принадлежность. При этом сыворотки анти-С+D и анти-D+E должны быть использованы одновременно или могут быть заменены одной сывороткой анти-С+D+E.

Сыворотки, содержащие антитела анти-D и дополнительно антитела других систем, например, анти-Fy³ или анти-Келл, являющиеся, главным образом, случайными находками, могут быть использованы при исследовании крови резус-отрицательных лиц для определения у них антигенов, против которых направлены дополнительные антитела.

2. Источники и способы получения сыворотки

Для получения моноспецифических сывороток анти-С и анти-Е необходимо выявление лиц, сенсибилизированных естественным путем, и привлечение их к донорству с последующей реиммунизацией. Допускается искусственная иммунизация этими антигенами доноров-добровольцев, которая требует длительных курсов, так как не всегда бывает успешной, особенно для получения активных сывороток анти-С.

Моноспецифические сыворотки анти-с и анти-е следует получать только от лиц, сенсибилизированных естественным путем. Рекомендуются привлечение таких лиц к донорству с последующей реиммунизацией. Искусственная иммунизация антигеном с и антигеном е недопустима, так как в этих случаях нужно было бы иммунизировать резус-положительных лиц, то есть сделать их реципиентами, для которых будет несовместимой вся резус-отрицательная и, в большинстве случаев, резус-положительная кровь.

Моноспецифические сыворотки анти-Келл, анти-Даффи, анти-Кидд, анти-S, анти-s, анти-С^w следует получать от лиц, сенсибилизированных естественным путем. Поскольку такие антитела возникают исключительно редко, чаще всего при беременности в сочетании с многократными трансфузиями крови, то выявление таких сенсибилизированных лиц, то есть первичный поиск редких антител, следует организовать с привлечением к этой работе отделений переливания крови при больницах.

В последующем этих лиц желательно привлекать к донорству с последующей реиммунизацией.

Моноспецифические сыворотки анти-M, анти-N, анти-P, анти-Левис могут быть выявлены при массовых обследованиях крови доноров, поскольку такие антитела иногда

(очень редко) бывают у людей врожденными. Также редко встречаются такие антитела у лиц, сенсibilизированных естественным путем, – беременностями и трансфузиями крови. Таких лиц следует привлекать к донорству с последующей реиммунизацией. Искусственная иммунизация этими антигенами противопоказана.

Сыворотки двойной специфичности анти-С+D следует получать от лиц, сенсibilизированных естественным путем, с последующим привлечением их к донорству и реиммунизации.

Сыворотки двойной и тройной специфичности – анти-D+E и анти-С+D+E – могут быть получены почти исключительно путем искусственной иммунизации доноров-добровольцев, так как такое сочетание антител очень редко возникает при естественной сенсibilизации.

Антитела специфичности анти-С+D, анти-D+E и анти-С+D+E иногда образуются при искусственной иммунизации доноров-добровольцев антигеном D. В этих случаях допустимо продолжение иммунизации с использованием тех антигенов, против которых требуется повысить титр антител.

Сыворотки анти-D в сочетании с антителами какой-либо другой специфичности могут быть получены от лиц, сенсibilизированных естественным путем при беременности и трансфузиях крови, и только на протяжении небольшого срока, так как редкие антитела у таких сенсibilизированных лиц быстро ослабевают или исчезают из крови. Искусственная иммунизация для получения таких сывороток противопоказана.

3. Методы иммунизации и реиммунизации

Иммунизацию и реиммунизацию для получения сывороток анти-С и анти-Е следует производить согласно инструкций «Иммунизация доноров для получения стандартной сыворотки и иммуноглобулина антирезус».

Реиммунизацию с целью получения антител другой специфичности следует производить аналогично реиммунизации антигенами С и Е с использованием эритроцитов соответствующего фенотипа. Возможны некоторые изменения в дозах и сроках введения эритроцитов.

Иммунизацию антигенами системы Келл, Даффи, Кидд, антигенами S, s, C^w следует производить аналогично иммунизации антигенами С и Е. Возможны некоторые изменения в дозах и сроках введения эритроцитов. Иммунизацию и реиммунизацию для получения сывороток анти-С+D, анти-D+E и анти-С+D+E следует производить на фоне уже имеющихся активных антител анти-D, вводя те антигены, против которых имеются дополнительные антитела. Дозы введения антигена аналогичны дозам при иммунизации антигенами С и Е. Длительность курса зависит от срока появления антител.

Иммунизированным и реиммунизированным лицам выдается справка по форме, предусмотренной действующей инструкцией по применению «Иммунизация доноров для получения стандартной сыворотки и иммуноглобулина антирезус» с указанием антигена, которым проводилась иммунизация. Иммунизация животных для получения сывороток анти-M и анти-N, анти-P, анти-Левис и обработка этих сывороток производится согласно ТУ и лабораторным регламентам применения этих сывороток.

4. Методы и дозы взятия крови

У лиц, содержащих антитела, следует брать кровь для последующего получения сыворотки или плазмы методом плазмафереза.

Дозы взятия крови и плазмы зависят от состояния здоровья таких лиц и предусмотрены действующей «Инструкцией о порядке медицинского осмотра доноров крови, взятия у них крови и ее компонентов».

5. Показатели пригодности редких сывороток для практического использования

Сыворотки должны быть прозрачными или слегка опалесцировать. Например, красный оттенок цвета, а также желтое окрашивание вследствие присутствия желчных пигментов. Моноспецифические редкие сыворотки рекомендуются для практического использования при титре полных или неполных антител не ниже 1:16. Ввиду редкости и трудности получения таких сывороток, при хорошей авидности специфических антител допускается использование их с титром 1:8.

Сыворотки анти-C+D, анти-D+E и анти-C+D+E должны иметь титры антител анти-D не ниже: полных – 1:16, неполных – 1:32. Титр антител анти-C и анти-E как полных, так и неполных должен быть не ниже 1:16.

Сыворотки, содержащие антитела анти-D и дополнительно антитела к антигенам других систем, годны для использования специалистами серологических лабораторий организаций переливания крови при любом титре антител от 1:8 при хорошей их авидности. Выдача комбинированных сывороток в другие учреждения допустима лишь при титре всех антител не ниже 1:16. Если в сыворотке, содержащей редкие антитела одной специфичности, одновременно содержатся другие антитела с низким титром и слабой авидностью, то сыворотка нуждается в абсорбции или может быть использована специалистами на станциях переливания крови. Выдаче в другие учреждения без абсорбции такая сыворотка не подлежит.

6. Организация поиска и первичное исследование редких сывороток

Поскольку изоиммунные антитела возникают редко, для получения сывороток редкой специфичности следует организовать работу по выявлению sensibilizированных лиц как среди резус-отрицательных, так среди резус-положительных больных и доноров с привлечением к этой работе лабораторий, в которых проводятся определения резус-принадлежности эритроцитов крови.

Первичное исследование сывороток лиц с подозрением на сенсibilизацию производится в организациях переливания крови, включая отделения переливания крови при больницах. Первичное исследование сывороток лиц, подвергающихся искусственной иммунизации, производится на станциях переливания крови, производящих иммунизацию.

Первичное исследование проводится непрямой пробой Кумбса или реакцией конгломинации с применением желатина для выявления неполных антител и реакцией агглютинации в солевой среде для выявления полных антител.

С целью сокращения объема работы при первичном исследовании сывороток следует использовать эритроциты с содержанием возможно большего числа антигенов в одном образце (удобнее всего фенотип CcDEe, K+, Fy^{a+}, Jk+).

В случае отсутствия типированных эритроцитов для выявления антител следует приготовить смеси эритроцитов группы 0(I) по 5–6 образцов и использовать 3–4 таких смеси в качестве стандартов, считая каждую смесь за один образец.

Для изготовления стандартов можно использовать эритроциты из осадка крови, взятой из вены со стабилизатором или из места укола пальца.

При массовых исследованиях крови выявление изоиммунных антител можно проводить одновременно с определением резус-принадлежности, подвергая испытанию сыворотку каждого исследуемого лица. При этом допустимо предварительно исследовать сыворотку методом конгломинации с желатином с помощью одного «стандарта» эритроцитов. В качестве такого стандарта следует использовать смесь 2–3 образцов резус-положительных эритроцитов группы 0(I), содержащих антигены D, C, E, c, e, C^w, Келл, Fy и другие.

Кровь лиц, в сыворотке которых выявлены антитела, исследуется далее в лабораториях станций переливания крови, где устанавливается специфичность, активность и форма антител.

Исследование сывороток начинается с проверки групповой принадлежности по системе АВ0. Затем сыворотка исследуется на специфичность, активность и форму антител. Для исследования применяется непрямая проба Кумбса, метод конглотинации с применением желатина, реакция агглютинации в солевой среде. Следует иметь в виду, что в одной и той же сыворотке могут содержаться как полные, так и неполные антитела, причем их специфичность может совпадать или быть различной. Так, например, сыворотка может содержать неполные антитела анти-D, анти-C и анти-E и в то же время – полные антитела анти-C и анти-E или только полные анти-E. Титр полных и неполных антител также может быть различен.

Широта исследований зависит от возможности станции переливания крови. В тех случаях, когда станция не располагает всеми указанными ниже стандартными типированными эритроцитами, для дальнейшего исследования сыворотка должна передаваться в ГУ «Республиканский научно-практический центр гематологии и трансфузиологии» (ГУ «РНПЦГТ»).

Для полного выявления антител, установления их специфичности, формы и титра следует использовать панель типированных стандартных эритроцитов. Для удобства в панели целесообразно использовать эритроциты группы 0(I).

В качестве образцов в панель можно включать эритроциты типированных доноров, для чего берут у них кровь из вены в пробирку с изотоническим раствором цитрата натрия или консервантом. Эритроциты перед употреблением отмывают двукратно изотоническим раствором хлорида натрия. Срок хранения таких эритроцитов до отмывания – 2–3 дня, после отмывания – 1 день.

Если кровь взята у донора в стерильных условиях в контейнер с консервантом, применяемым для консервирования крови, она может храниться 1 месяц при температуре +4 – +8 °С. Перед использованием эритроциты двукратно отмывают изотоническим раствором хлорида натрия. Срок годности отмытых эритроцитов – 1 день.

Более эффективно применение эритроцитов доноров редких групп, сохраняемых в замороженном состоянии, лучше в малых объемах – 2–5 мл. Размороженные эритроциты отмывают специальными растворами, используемыми для эритроцитов, предназначенных для трансфузии. После отмывания эритроциты используются в тот же день.

В панели должны быть представлены стандартные эритроциты, позволяющие выявлять и идентифицировать антитела в пределах следующих систем: Rh-Hr, Даффи, Келл, Кидд, Левис, MNSs, Лютеран, Р. В зависимости от возможности учреждения эта панель может быть расширена за счет увеличения образцов или уменьшена, но так, чтобы в нее по возможности были включены как положительные, так и отрицательные образцы для каждого антигена.

Панель включает резус-положительные и резус-отрицательные образцы эритроцитов разных фенотипов. Среди резус-положительных должны быть эритроциты, содержащие пять антигенов системы Резус – CcDEe. В этих же образцах имеются в том или ином сочетании антигены всех других систем. Таким образом, положительная реакция с этими образцами укажет на наличие в сыворотке любых антител, но без уточнения их специфичности.

Следующие резус-положительные образцы относятся к фенотипам CCDEe, CcDEE, CcDee, CCDee, ccDEe и ccDEE. Часть их гомозиготна, а часть – гетерозиготна по антигенам С и Е. Эти образцы необходимы для идентификации антител анти-с и анти-е.

Затем следуют образцы фенотипов ccDee, Ccdde, CCddee и ccdEe. Эти образцы дают возможность выявлять специфичность антител в системе резус, причем очень ценным является образец с двойным содержанием антигена С (фенотип CCdее). Этот образец дает возможность идентифицировать антитела в очень редких сыворотках, например, анти-D + анти-с.

Среди резус-положительных образцов в панели должны быть разновидности с содержанием антигена D^u и антигена C^w. Образец D^u служит для того, чтобы установить,

достаточно ли активны антитела анти-D. Образец с содержанием антигена C^w служит для выявления антител анти- C^w .

Панель включает резус-отрицательные образцы, положительная реакция с которыми указывает на наличие антител по другим системам. Эти образцы содержат разнообразные сочетания антигенов других систем: положительные и отрицательные по антигенам Fy^a , Fy^b и Кидд.

Необходимы Келл-положительные образцы. Некоторые из них могут быть Челланно-отрицательные. Келл-положительные образцы подразделяются также в зависимости от наличия или отсутствия в них антигенов Даффи.

Исследование сыворотки с этими образцами позволяет выявить специфичность в пределах этих систем эритроцитов, что очень важно, так как антитела анти-Келл и анти-Даффи являются следующими по частоте после антител антирезус.

Дальнейшее подразделение резус-отрицательных образцов включает различия по системе Кидд и Левис с наиболее редкими фенотипами этой системы – Jk^{2-} , Jk^{b+} , Le^{a+} , Le^{b-} .

И, наконец, в панели представлены фенотипы эритроцитов других систем: MNSs, P, Лютеран. Причем наибольшую ценность представляют различия по этим системам внутри группы резус-отрицательных образцов.

Использование представленной панели стандартных эритроцитов дает возможность выявлять и определять специфичность полных и неполных антител всех серологических систем как в том случае, когда эти антитела одной специфичности, так и в других – когда антитела различаются и по специфичности, и по форме.

В практической работе исследование следует начинать в следующем порядке: сначала используются выборочно 10–12 образцов эритроцитов, подобранных с таким расчетом, чтобы выявить сенсibilизацию к любому из основных антигенов резус – D, C, E, c, e, C^w . Среди резус-отрицательных включаются образцы с максимальным набором различных антигенов.

Если сыворотка содержит резус-антитела какой-либо одной специфичности или их сочетание, агглютинация наступит также с соответствующими образцами эритроцитов.

Если сыворотка агглютинирует резус-отрицательные образцы, имеющие антигены Fy или Келл, следует произвести дополнительные исследования с включением образцов эритроцитов различного фенотипа по этим антигенам. Если сыворотка агглютинирует резус-отрицательные эритроциты независимо от антигенов Fy и Келл, то панель для исследования следует еще более расширить включением образцов с различными сочетаниями антигенов по системам Кидд, Левис, MNSs и т.д.

Если сыворотка агглютинирует все образцы, взятые для первичного исследования, независимо от резус-принадлежности, следует провести дополнительные исследования с использованием стандартных эритроцитов, гомозиготных по антигенам C и E, т.е. не содержащих антигена c и антигена e. Отсутствие агглютинации с этими образцами свидетельствует о наличии соответствующих антител – анти-c и анти-e.

При наличии агглютинации с указанными фенотипами следует иметь в виду другие, широко распространенные антигены, например, Челанно, и поэтому использовать Челанно-отрицательные стандартные эритроциты.

В случае положительного результата и с этим стандартом следует расширить панель с включением образцов одновременно отрицательных по многим антигенам, так как в этих случаях можно предположить наличие в сыворотке нескольких антител.

7. Титрование сыворотки

После выявления антител и установления их специфичности и формы следует определить титр антител. Титрование проводится отдельно для неполных и полных антител непрямой пробой Кумбса, в методе конглоутинации с желатином и реакцией агглютинации в солевой среде, аналогично титрованию сывороток антирезус. Для титрования используют образцы эритроцитов, содержащие антиген, против которого

направлены антитела. По возможности титрование проводится с гомозиготными и гетерозиготными образцами. Для антител анти-с это является обязательным, так как эти антитела обладают выраженным феноменом дозы и, будучи активными с гомозиготными образцами (сс), могут оказаться неактивными и дать ложноотрицательный результат при исследовании гетерозиготных образцов (Се). При решении вопроса о возможности практического использования таких сывороток учитывается титр с гетерозиготным образцом и этот титр указывается на этикетке.

Описанное в настоящем разделе исследование сыворотки дает возможность решить вопрос о специфичности антител, содержащихся в сыворотке, а также об их форме и активности (титре). Далее каждая сыворотка, имеющаяся в достаточном количестве, для дальнейшего ее использования должна быть обработана и расфасована, как указано в пункте 9. Сыворотки (сырье) хранят в течение 3 недель при температуре +4 – +8 °С, после чего проводится их стандартизация.

8. Стандартизация сыворотки

Стандартизация редких сывороток производится на станциях переливания крови, располагающих необходимой панелью типированных стандартных эритроцитов 0(I) группы. При стандартизации производят исследования, предусмотренные в пункте 7 настоящей инструкции. Результаты сопоставляют с данными, указанными на этикетке, оценивается внешний вид сыворотки, качество укупорки флаконов, ампул и правильность оформления этикеток.

При стандартизации окончательно решается вопрос о том, какой специфичности, формы и титра антитела содержатся в данной сыворотке и для определения какого (каких) антигена(ов) и в какой именно реакции пригодна данная сыворотка.

Если качество сыворотки отвечает требованиям, изложенным в пункте 5, титр в ней сохранился или снизился, но не стал ниже требуемого, и при этом правильно оформлены этикетки и наставление по использованию, то учреждение, проводившее стандартизацию, дает заключение о возможности использования данной сыворотки как стандартного реактива. Это заключение сообщается в учреждение, представившее сыворотку для стандартизации.

В случае несоответствия сыворотки необходимым требованиям в учреждение, изготовившее сыворотку, также сообщаются результаты с указанием причин непригодности сыворотки или неправильности, имеющейся в ее паспортизации. При этом даются рекомендации по возможному устранению отмеченных недостатков. При затруднении проведения стандартизации редкие сыворотки направляются в ГУ «РНПЦГТ».

9. Обработка и расфасовка сыворотки

После того, как у сенсibilизированного лица при первичном исследовании сыворотки выявлены редкие антитела, из его крови получают сыворотку или плазму методом плазмафереза. Сыворотку консервируют борной кислотой из расчета 2 грамма на 100 мл сыворотки или азидом натрия – 1 г на 1000 мл. К плазме для удаления фибрина добавляют 10 %-й раствор хлорида кальция из расчета 6 мл на 100 мл плазмы и после ретракции сгустка отсасывают сыворотку в другой флакон и также консервируют.

На флаконы с сывороткой наклеивают этикетки с указанием фамилии, имя и отчества донора, групповой принадлежности по системе АВ0 и характеристики изоиммунных антител с теми подробностями, которые удалось выявить при первичном исследовании. Сыворотку хранят при температуре +4 – +8 °С. Через два-три дня сыворотку вновь исследуют на наличие, специфичность, форму и титр антител, как указано в пункте 7 настоящей инструкции. Результат исследования записывают на этикетке сосуда с сывороткой и регистрируют в журнале.

Если в сыворотке выявлены активные редкие антитела и имеется возможность получить от сенсibilизированного лица еще некоторое количество сыворотки, эту новую порцию исследуют так же, как описано выше. Флаконы с сывороткой хранят при температуре +4 – +8 °С.

Если показатели специфичности и активности (титра) антител и внешний вид сыворотки отвечают требованиям, указанным в пункте 5, сыворотку можно считать пригодной для практического использования и разлить в ампулы или маленькие флаконы по 1, 2, 3 или 5 мл в зависимости от предполагаемых объемов использования. Чем больше редкость антител, тем меньшие объемы рекомендуются для расфасовки сыворотки.

Ампулы запаивают, флаконы плотно укупоривают и этикетируют.

Через три недели после розлива в сыворотке вновь исследуется специфичность, форма и активность антител, проверяется правильность паспортизации и решается вопрос о возможности использования этой сыворотки в методе, рекомендуемом для практической работы.

Для удаления антител системы АВ0 проводится абсорбция эритроцитами соответствующей групповой принадлежности с отсутствием в них антигена, против которого в сыворотке имеются изоиммунные антитела. Абсорбция или нейтрализация антител α и β проводится после исследования сыворотки на наличие, специфичность, активность и форму антител до ее расфасовки.

После абсорбции и еще через три недели сыворотку исследуют на наличие в ней групповых антител, а также специфичность, форму и титр изоиммунных антител. Если групповые антитела α и β исчезли, а показатели изоиммунных антител отвечают требованиям, указанным в пункте 5, сыворотку можно расфасовать.

10. Паспортизация редкой сыворотки

На флаконы с расфасованной редкой сывороткой наклеивают этикетки, на которых указывают название организации переливания крови, где изготовлена сыворотка, номер серии, специфичность антиэритроцитарных антител, их форму. Указывается также групповая принадлежность по системе АВ0. Для сыворотки группы АВ(IV) или специально абсорбированной вместо символа, обозначающего групповую принадлежность, пишутся слова «для всех групп крови». На этикетках наносятся по диагонали цветные полосы: для группы А(II) – две синие, для группы В(III) – три красные, для сыворотки с символом «для всех групп крови» – четыре желтые. Возможно печатать этикетки на синем фоне для группы А(II), красные – для группы В(III), желтые – для АВ(IV), вместо символа, обозначающего групповую принадлежность, пишутся слова «для всех групп крови».

На этикетках указывается количество, срок годности и условия хранения.

11. Хранение и выдача редких сывороток

Расфасованные редкие сыворотки хранят или в замороженном состоянии при температуре не выше –18 °С или при +4 – +8 °С. Редкие сыворотки после стандартизации используются для нужд учреждений, в которых они изготовлены, и могут выдаваться в другие организации переливания крови.

При выдаче сыворотки к ней прилагают инструкцию по использованию, в которой указывают, в каком методе для каждого из антител следует использовать данную сыворотку.

При хранении сыворотка контролируется один раз в месяц или (в целях экономии сыворотки) непосредственно перед выдачей. Срок годности редких сывороток при хранении в замороженном состоянии – 1 год, при хранении в условиях при температуре +4 – +8 °С – 4 месяца. По истечении срока годности сыворотку проверяют и, если титр не снизился или снизился не более чем на два разведения и при этом сохранился не ниже

требований, указанных в пункте 6, срок продлевают еще на 2 месяца. Если через 2 месяца титр сохранился – срок снова продлевается.

Дополнение 1

Использование стандартной сыворотки для определения антигенов эритроцитов редкой специфичности методом конглоутинации с желатином в пробирках

Инструкция по применению

В пробирку к 1 капле сыворотки (0,05 мл) добавить 1 каплю испытуемых эритроцитов (0,05 мл) и 2 капли 10 %-го желатина (0,1 мл). Содержимое перемешать путем встряхивания.

Инкубировать в термостате при температуре +46 – +48 °С в течение 45 минут или в водяной бане при температуре +46 – +48 °С в течение 20 минут.

После прогревания в пробирку долить 3–5 мл изотонического раствора хлорида натрия, содержимое перемешать путем перевертывания пробирки.

Учет результатов исследования проводить с помощью микроскопирования, для чего 1 каплю содержимого из пробирки нанести пипеткой или стеклянной палочкой на предметное стекло и просмотреть при малом увеличении. Положительный результат реакции (наличие агглютинации) свидетельствует о наличии в эритроцитах соответствующего антигена.

В каждую серию исследований должны быть включены «положительный» (+) и «отрицательный» (–) контроля: эритроциты D+, D–, C+, C–, E+, E–, c+, c–, K+, K–.

Дополнение 2

Использование стандартной сыворотки для определения антигенов эритроцитов редкой специфичности методом конглоутинации в сывороточной среде на чашках Петри (на плоскости) с подогревом

Инструкция по применению

На чашку Петри (пластмассовую пластинку) нанести 2 капли сыворотки (0,1 мл), добавить 1 каплю взвеси испытуемых эритроцитов (0,05 мл). Капли перемешать стеклянной палочкой.

Чашку Петри (пластинку) поместить в водяную баню +46 – +48 °С на 10 минут.

Результат исследований просмотреть при легком покачивании чашки Петри (пластины), наблюдая за наличием или отсутствием агглютинации эритроцитов.

При положительном результате агглютинаты эритроцитов легко различимы на почти обесцвеченном фоне жидкости. При отрицательном результате капля остается равномерно окрашенной в красный цвет. Положительный результат реакции свидетельствует о наличии на эритроцитах соответствующего антигена.

В каждую серию исследований должны быть включены «положительный» и «отрицательный» контроля: эритроциты D+, D–.