

Instrukcja kontroli zestawu do badań antygenów z układu AB0

Wykonanie:

1. Badanie wykonuje się metodą manualną z zastosowaniem płyty z nacryłu, zestawu krwinek wzorcowych i odczynników monoklonalnych.
2. Na płytce nacrylowej w pionowym rzędzie umieścić 3 x po 1 kropli odczynnika monoklonalnego anty-A. W drugim rzędzie obok umieścić 3 x po 1 kropli odczynnika monoklonalnego anty-B.
3. Następnie dodać po 1 kropli krwinek wzorcowych w rzędach poziomych, odpowiednio grupy: 0, A1, B.
4. Poruszać płytką ruchem okrężnym i pozostawić przez 3-5 minut w temperaturze pokojowej.
5. Zestaw jest prawidłowo przygotowany jeśli otrzymano silne aglutynacje zgodnie ze schematem:

odczynnik monoklonalny		anty-A	anty-B
krwinki wzorcowe	0	○	○
	A	●	○
	B	○	●

Wykonanie:

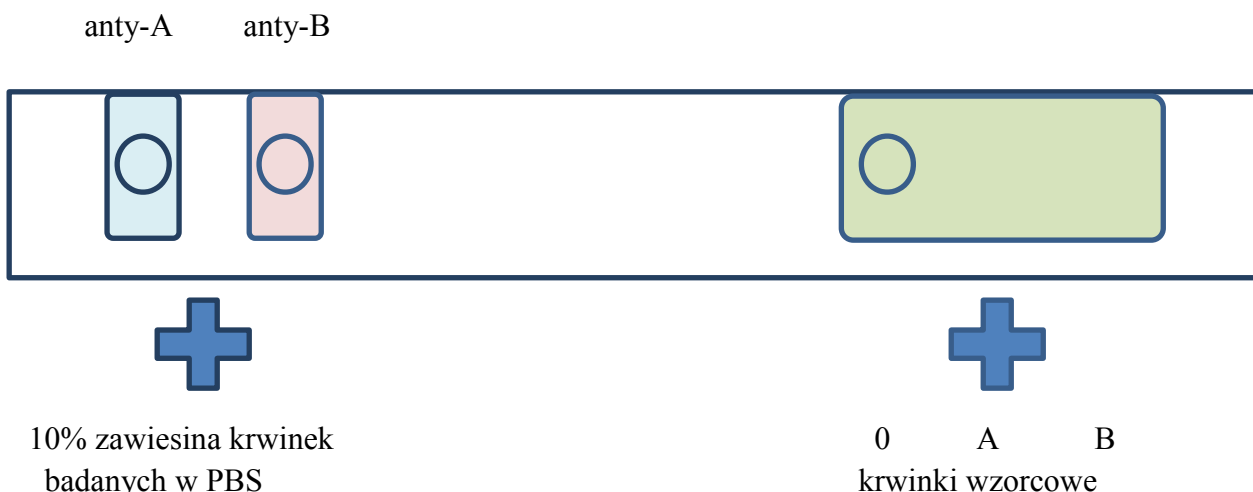
1. Przygotować 4 próbki plastikowe do badań serologicznych.
2. Do 2 probówek dodać po 1 kropli jednego odczynnika anty-D BLEND, a do 2 następnych po 1 kropli odczynnika drugiego anty-D RUM1.
3. Następnie dodać po 1 kropli krwinek wzorcowych odpowiednio Rh dodatnich i Rh ujemnych. Odwirować po 1 minucie.
4. Zestaw jest prawidłowo przygotowany do pracy jeśli otrzymano silne reakcje aglutynacji odczynnika anty-D z krwinkami Rh dodatnimi i ujemne reakcje odczynnika z krwinkami Rh ujemnymi.

Wykonanie oznaczenia:

1. Badanie wykonuje się metodą manualną z zastosowaniem płyty z nacrylu, zestawu krwinek wzorcowych i odczynników monoklonalnych.
2. W statywie obok probówki z badaną krwią wstawić dwie dodatkowe probówki opisane numerem takim jaki jest napisany na probówce z krwią.
3. Do jednej z nich przenieść pipetką surowicę badaną, a do drugiej probówki przenieść kilka kropli krwinek, które należy zawiesić w roztworze PBS i odwirować w wirówce, zlać nadsącz i zawiesić w roztworze PBS w celu otrzymania 10% zawiesiny krwinek badanych (1 kropla gęstych krwinek + 9 kropli PBS).
4. Na płytce nacrylowej należy nakropić odczynniki monoklonalne anty-A, anty-B i 3 krople surowicy badanej. Następnie należy dodać po 1 kropli 10% zawiesiny przygotowanych krwinek badanych, a do nakropionej wcześniej surowicy – po 1 kropli krwinek wzorcowych grupy 0, A, B.
5. Poruszyć płytką nacrylową ruchem okrężnym i pozostawić na 3-5 minut w temperaturze pokojowej.

odczynniki monoklonalne:

surowica badana:



6. Odczytać wyniki aglutynacji i określić grupę krwi według schematu:

ODCZYNNIK MONOKLONALNY		KRWINKI WZORCOWE			GRUPA
anty-A	anty-B	0	A	B	
					0
					A
					B
					AB

7. Aby zbadać antygen D układu Rh w badanej próbce należy do dwóch próbek serologicznych dodać po 1 kropli odczynnika monoklonalnego anty-D: BLEND i anty-D: RUM.

8. Następnie dodać po 1 kropli krwinek badanych i wirować przez 1 min w wirówce.
9. Reakcja aglutynacji odczynnika anty-D z krwinkami badanymi wskazuje na **RhD dodatnie** i obecność antygeny D na krwinkach badanych. Natomiast brak reakcji aglutynacji w próbkach po odwirowaniu wskazuje na to, że krwinki badane nie posiadają antygeny D i są **RhD ujemne**.

UWAGA:

Oznaczenia antygenów układu AB0 I Rh przeprowadza się za pomocą dwóch zestawów odczynników zawierających różne linie przeciwciał monoklonalnych anty-A, anty-B, anty-D (IgM). Należy przestrzegać zaleceń producenta tych odczynników.

W pracowniach Serologii Transfuzjologicznej badane grupy krwi odczytują dwie osoby.

Odczyt zapisywany jest w książce badań i jest potwierdzany podpisem przez dwie osoby. Po badaniu krew przechowywana jest w pracowni przez 5 dni w temperaturze +4°C.

Wykonanie badania:

1. Należy przygotować mikrokartę LISS/COOMBS zawierającą 6 kolumnien reakcyjnych – potrzebne będą trzy kolumny; opisać je numerami I,II,III oraz numerem próbki badanej
2. Do każdej kolumny dodać 50µl krwinek wzorcowych panelowych I,II,III – za pomocą pipety automatycznej
3. Następnie nakropić po 25µl surowicy badanej – za pomocą pipety automatycznej
4. Inkubować w cieplarni w temperaturze 37°C przez 15 minut, a następnie wstawić do wirówki przeznaczonej na mikrokarty i wirować przez 10 minut.
5. Po wyjęciu z wirówki odczytać wynik:

Jeśli krwinki po odwirowaniu przeszły przez żel z surowicą antyglobulinową i znajdują się na dnie mikrokolumny to świadczy to o braku reakcji antygen – przeciwciało i braku w badanej surowicy przeciwciał odpornościowych. Natomiast pojawienie się reakcji aglutynacji i zatrzymanie aglutynatów na powierzchni żelu lub w całej jego długości dowodzi obecności przeciwciał odpornościowych. Należy dokonać ich identyfikacji w Regionalnym Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa.

Instrukcja wykonania próby zgodności serologicznej między biorcą i dawcą krwi (próba krzyżowa):

Wykonanie:

1. Badanie jest wykonywane przez dwie siedzące obok siebie osoby z wykorzystaniem próbek krwi, w których oznaczono grupę krwi i Rh. Jedna z badanych próbek krwi będzie próbką biorcy, a dreny od pojemników z KKCz – próbkami krwi dawcy.
2. Kontrola grupy krwi biorcy została wykonana wcześniej, więc należy skonsultować grupę krwi dawcy w układzie AB0i dla biorcy Rh ujemnego również w zakresie antygeny D z układu Rh.
3. Należy przygotować zawiesiny 5% krwinek dawcy w LISS ID-2
4. Opisać mikrokartę LISS/COOMBS nr biorcy i nr donacji dawcy krwi oraz nr krwinek panelowych - I,II III
5. Nakropić po 50 µl krwinek panelowych ID I, II, III oraz 50µl przygotowanych krwinek dawcy – za pomocą pipety automatycznej
6. Dodać do każdej mikrokolumny po 25µl surowicy biorcy – za pomocą pipety automatycznej
7. Inkubować mikrokartę w cieplarni w temperaturze 37°C przez 15 minut, następnie odwirować ją w wirówce
8. Odczytać wynik po wyjęciu z wirówki.

Jeśli krwinki po odwirowaniu przeszły przez żel z surowicą antyglobulinową i znajdują się na dnie wszystkich mikrokolumn to świadczy to o braku reakcji antygen-przeciwciała i braku w badanej surowicy przeciwciał odpornościowych i próba krzyżowa jest zgodna.

Natomiast pojawienie się reakcji aglutynacji i zatrzymaniu aglutynatów na powierzchni żelu lub w całej jego długości dowodzi to obecności przeciwciał odpornościowych i należy badanie wysłać do Regionalnego Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa.

Aglutynacja w mikrokolumnie z krwinkami dawcy i surowicą biorcy oznacza obecność przeciwciał odpornościowych skierowanych do krwinek dawcy – próba krzyżowa niezgodna.