

Standardní operační postup – OKB úsek krevní banka			
č. 01	VYŠETŘENÍ KREVNÍ SKUPINY AB0/Rh D NA JEDNORÁZOVÉ FÓLII HX SEROPLATES 10		
Autor: Varnušková Jiřina		Platnost od: 1. 11. 2013	Schválila: kvalifikovaná osoba RNDr. Josef Ranoš a Rada kvality
Určeno pro: Zdravotní laborant			
Poslední revize: č. 1 4/2013	Důvod revize: Úprava pracovního postupu		
Poslední revize: č. 2 11/2017	Důvod revize: Periodická kontrola, Změna diagnostických sér	Kontrolu provedl: Bc. Sigmundová Pavla	Schválil: kvalifikovaná osoba Ing. Kolátková Marina
Poslední revize: č. 3 6/2019	Důvod revize: Periodická kontrola, Úprava pracovního postupu	Kontrolu provedl: Mgr. A. Mrázová Bc. P. Sigmundová	Schválil: kvalifikovaná osoba MUDr. H. Ryšánková
Poslední revize: č. 4 12/2021	Důvod revize: Periodická kontrola	Kontrolu provedl: Mgr. A. Mrázová	Schválil: Ing. M. Kolátková
Termín další revize:		12/ 2023	
Identifikace výtisku: Výtisk jediný – originál (výtisk z elektronické podoby má pouze informativní charakter)			

Definice:

Určení přítomnosti nebo chybění A, B, RhD antigenů na erythrocytech monoklonálními diagnostickými séry anti-A, anti-B, anti-AB, anti-D IgM, anti-D IgM + IgG , negativní ctl. – Rh-Control a k určení přítomnosti nebo chybění aglutininů v plazmě typovými krvinkami 0, A1, A2, a B.

Princip:

Technika určování antigenů erytrocytů je založena na principu hemaglutinace. Testované krvinky pokud nesou příslušný antigen, jsou shlukovány (aglutinovány) přímou aglutinační metodou, dostanou-li se do kontaktu s diagnostikem, obsahujícím odpovídající protilátku (typu IgM).

Určování AB0 krevních skupin je definováno stanovením A nebo B antigenů na povrchu lidských erytrocytů a současně průkazem přítomnosti anti-A nebo anti-B protilátek v plazmě. Je tedy nutno identifikovat antigeny erytrocytů známými anti-A a anti-B diagnostiky a potvrdit výsledek ověřením (ne)přítomnosti odpovídajících protilátek v plazmě vyšetřovaného vzorku pomocí erytrocytů se známým fenotypem 0, A1, A2 a B (reversní test). Pro určení Rh (D) je třeba použít diagnostikum anti-D IgM , anti-D IgM + IgG, nezachycující D^{w/v} variantu a negativní kontrolu.

Vzorek:

K vyšetření je potřeba jedna zkumavka nesrážlivé krve odebrané do EDTA, minimálně 6 ml. Zkumavka musí být řádně označena, viz Vyhl.343/1997 Sb., Centrifugace 5-10 minut.

Upozornění: Hemolytické vzorky se nesmí používat!!

Postup:

Na dokonale čistou jednorázovou fólii HX SEROPLATES 10 s označenými sloupci (1-10) Anti-AB, anti-A, anti-B, anti- D IgM Complete, anti-D IgM + IgG, neg. Ctl.: Rh-Control, 0, A1, A2, B nakapejte do jamek 1-6 příslušná diagnostická antiséra (kapátkem 3 kapky), do sloupců 7-10 nakapejte příslušné typové erytrocyty (kapátkem 1 kapka).

Vedle každé kapky reagentie diagnostických antisér napipetujte cca 5 µl nepromytého sedimentu erytrocytů tak, aby **nedošlo** ke kontaktu mezi kapkami. Vedle každé kapky typových erytrocytů napipetujte cca 100 µl plazmy tak, aby **nedošlo** ke kontaktu mezi kapkami, rovnoměrně spirálovým a kývavým pohybem promíchejte diagnostikum a erytrocyty, vyšetřovanou plazmu a typové krvinky. Inkubujte 30 sekund při laboratorní teplotě, bez míchání. Za pomalého kývavého pohybu fólií během tří minut pozorujte případný vznik aglutinace, odečítejte, vyhodnoťte reakce okamžitě po třech minutách. Proveďte kontrolu „čtyř očí“. Po použití se použitá fólie likviduje jako nebezpečný odpad. Fólie HX SEROPLATES 10 může být použita pro několik současných vyšetření krevních skupin, maximálně pět.

Interpretace:

Určení AB0 skupiny dané osoby je spolehlivě definováno pouze při striktně souhlasných výsledcích krvinkového (přímého) a plazmového (reverzního) testu. Pokud dojde k diskrepanci, **nevydávejte** výsledek!! Vyžádejte nový vzorek krve, žádanku a odešlete do specializované (referenční) laboratoře. V našem případě do Krevního centra FN Ostrava.

Skládování diagnostik:

BIO-RAD diagnostika: anti-A, anti-B, anti-A,B, anti-D Complete, anti-D IgM + IgG, Rh-Control, DiaCell ABO skladujte, pokud je právě nepoužíváte při teplotě 2 – 8°C.

Nezmrazujte a nevystavujte zvýšeným teplotám!

Hodnocení provedení testu:

Pozitivní test – aglutinace erytrocytů

Negativní test – žádná aglutinace

Související dokumentace:

Návody k použití:

Diagnostické sérum DiaClone (BIO-RAD) Anti-A, Anti-B, Anti-AB, Anti-D Complete, Anti-D, RhD-NEGATIVE CONTROL

Typové krvinky (BIO-RAD) A1, A2, B, 0

Používaná diagnostika BIO-RAD

Katalogové číslo	Název reagencie	balení
100711	Anti-A	10 x 10 ml
100811	Anti-B	10 x 10 ml
100911	Anti-AB	10 x 10 ml
102205	Anti-D IgM Complete	5 ml
101071	Anti-D IgM + IgG	10 x 10 ml
101971	Rh-Control	10 x 10 ml
009321	IH-QC1	4 x 6 ml
009322	IH-QC2	4 x 6 ml
109414	DiaCell ABO	4 x 10 ml

Kód LIS	Kód VZP	
360 B_KS	22111 (bodů 176)	KS STATIM
360 B_KS	22112 (bodů 131)	KS RUTINA
361 B_KS	22129 (bodů 235)	Vyšetření jednoho erytrocytárního antigenu
799 SEPA	97111(bodů 10)	Separace séra nebo plazmy
Národní číselník		
05161 B_BGABORH_*		

Vyšetření krevní skupiny AB0 Rh (D) systému.

Pomůcky:

- Jednorázové rukavice
- Jednorázová fólie HX SEROPLATES
- Diagnostická antiséra BIO-RAD
- Typové krvinky A1,A2, B a 0
- Mikropipeta 100 µl
- Žluté špičky Eppendorf
- Aglutinační zkumavky
- Popisovač zkumavek
- Centrifuga
- Nesrážlivá krev EDTA minimálně 6ml v jedné zkumavce
- Dezinfekční roztok dle platného desinfekčního řádu
- Odpadní nádoba na nebezpečný odpad
- Buničitá vata

Provedení testu:

- **zkontroluj** shodu identifikačních znaků na Žádance o vyšetření a zkumavce s biologickým materiálem
- **načti** žádanku o vyšetření do systému LIS přes čárový kód
- **označ** aglutinační zkumavku pro oddělenou plazmu pacienta a Žádanku o vyšetření odpovídajícím ID štítkem pacienta
- **navlékni** jednorázové rukavice
- **dej centrifugovat** biologický materiál na 10 minut

- **odděl** plazmu od krevního koláče do předem označené aglutinační zkumavky
- **napipetuj** do příslušných jamek fólie HX SEROPLATES 10 diagnostická séra a typové krvinky
- **přidej** krvinky pacienta k diagnostickým antisérům a plazmu pacienta k typovým krvinkám
- **promíchej** kývavými a krouživými pohyby deskou diagnostická séra a typové krvinky s krvinkami a plazmou pacienta
- **odečti** cca po 2 -3 minutách vzniklou aglutinaci v jednotlivých jamkách
- **proved'** kontrolu „čtyř očí“
- **poznamenej** výsledek₂ na Žádanku o vyšetření
- **uschovej** biologický materiál na 24 hodin do lednice
- **odlož** použitou fólii a rukavice do nebezpečného odpadu
- **zapiš** výsledek vyšetření do LIS
- **vytiskni** výsledkový list pro příslušné oddělení
- **opatři** Žádanku o vyšetření a výsledkový list podpisem a razítkem krevní skupiny
- **založ** Žádanku o vyšetření k archivaci, výsledkový list do výsledkové skříně pro žadatele
- **ulož** zpět do lednice diagnostická séra a typové krvinky
- **proved'** dezinfekci pracovního stolu

Poznámka:

U novorozenců nejsou plně vyvinuty aglutininy.

U starších ročníků populace aglutininy během života slábnou. Mohou nastat problémy s určením krevní skupiny na fólii HX SEROPLATES 10. V tomto případě vyšetříme aglutininy v aglutinačních zkumavkách s následnou centrifugací 1 minutu při 1000 ot/min. (aglutinační zkumavky si označíme popisky- 0 , A1, A2 a B) Po centrifugaci odečteme vzniklou aglutinaci – centrifugační síla reakci aglutininů s typovými krvinkami zvýrazní. V případě diskrepancí odešleme nový krevní vzorek do referenční laboratoře KC FN Ostrava.

Výsledek krevní skupiny se nesmí hlásit telefonicky z důvodu přeslechnutí!!