

ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
«РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ ТРАНСФУЗИОЛОГОВ»

Валидация и обеспечение качества иммуногематологических реагентов
СТАНДАРТ ОРГАНИЗАЦИИ
№ 25, дата принятия 15.12.2016

Предисловие

Российская ассоциация трансфузиологов (РАТ) – общероссийская общественная организация, созданная 15 сентября 2003 года с целью содействия реализации творческого потенциала членов ассоциации в интересах решения актуальных теоретических, научно-практических, организационных, технологических, учебно-методических и социальных задач развития трансфузионной медицины (зарегистрирована Минюстом России 13 октября 2003 года №4279).

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по стандартизации в Российской ассоциация трансфузиологов определены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ "О техническом регулировании".

Сведения о стандарте

1. Разработан рабочей группой РАТ.
2. Внесен рабочей группой РАТ.
3. Принят Советом РАТ, протокол № 25 от 15 декабря 2016 г.
За принятие стандарта проголосовали: единогласно.
4. Введен впервые.
5. Издан 15 декабря 2016 г.

ВАЛИДАЦИЯ И ОБЕСПЕЧЕНИЕ КАЧЕСТВА
ИММУНОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ РЕАГЕНТОВ

Область применения

Настоящий стандарт распространяется на медицинские организации, выполняющие иммуногематологические исследования.

Соответствие европейским требованиям

Стандарт соответствует требованиям Совета Европы к реагентам для определения групп крови и антиглобулиновых тестов (Европейское соглашение по реактивам для определения групп крови № 39 - European Agreement on the Exchanges of Blood-Grouping Reagents, European Treaty Series, No. 39). Эти требования адаптированы к российской практике и представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Валидация реагентов

Проверяемый параметр	Требования	Частота проверки
Эритроциты		

Внешний вид	Отсутствие гемолиза или помутнения в супернатанте при визуальном осмотре	Каждая серия
Реактивность и специфичность	Четкие однозначные реакции с реагентами против определенных эритроцитарных антигенов	Каждая серия
Реагенты для типирования АВО		
Внешний вид	Отсутствие осадка, частиц при визуальном осмотре	Каждая новая серия
Реактивность и специфичность	Четкие однозначные реакции и отсутствие ложных реакций с эритроцитами со слабой экспрессией соответствующих антигенов, отсутствие иммунного гемолиза, «монетных столбиков» или феномена прозоны (см. «Контроль качества определения АВО и Rh)	Каждая новая серия
Сила реакции	Сила реакции неразведенного реагента в солевом пробирочном тесте с 3% взвесью эритроцитов должна соответствовать +++ или ++++ при комнатной температуре. Для поликлональных антител титр анти-А, анти-В, анти-АВ к эритроцитам А1 и В должен быть 1/128, а к А2- и А2В-клеткам – 1/64	Каждая новая серия
Реагенты для типирования Rh		
Внешний вид	Отсутствие осадка, частиц при визуальном осмотре	Каждая серия
Реактивность и специфичность	Четкие однозначные реакции и отсутствие ложных реакций с эритроцитами со слабой экспрессией соответствующих антигенов, отсутствие иммунного гемолиза, «монетных столбиков» или феномена прозоны (см. «Контроль качества определения АВО и Rh)	Каждая новая серия
Сила реакции	Сила реакции каждого неразведенного реагента должна соответствовать +++ или ++++. При использовании соответствующих гетерозиготных эритроцитов титр анти-RhD должен быть 1/32, а титр анти-С, анти-Е, анти-с, анти-е и анти-CDE – 1/16	Каждая новая серия

Антиглобулиновая сыворотка		
Внешний вид	Отсутствие осадка, частиц при осмотре	Каждая серия
Реактивность и специфичность	А) отсутствие гемолиза и агглютинации эритроцитов любой группы после инкубации с совместимой сывороткой	Каждая серия
	В) агглютинация эритроцитов, сенсibilизированных анти-RhD сывороткой с содержанием активности антител не более 10 нг/мл (активность антител 0,05 МЕ/мл)	Каждая серия
	С) агглютинация эритроцитов, сенсibilизированных комплемент-связывающими аллоантителами (например, анти-Јка) происходит в более высоком титре в присутствии, нежели в отсутствие комплемента. Либо - агглютинация эритроцитов, покрытых белками С3b и С3d	Каждая новая серия
Протеаза		
Внешний вид	Отсутствие осадка, частиц при визуальном осмотре	Каждая серия
Реактивность и специфичность	Отсутствие агглютинации или гемолиза при использовании АВ-совместимой сыворотки. Агглютинация эритроцитов, сенсibilизированных слабым анти-RhD IgG	Каждая серия
	Отсутствие агглютинации несенсibilизированными эритроцитами и гемолитической активности	Каждая новая серия
Солевой раствор		
Внешний вид	Отсутствие осадка, частиц при визуальном осмотре	Каждый день
Содержание NaCl	0,154 моль/л (=9 г/л)	Каждая новая серия
pH	6,6-7,6	Каждая новая серия для буферного раствора
Раствор низкой ионной силы		
Внешний вид	Отсутствие помутнения, осадка или частиц при визуальном осмотре	Каждая серия
pH	6,7 (диапазон 6,5-7,0)	Каждая

Контроль качества

Процедуры контроля качества серологических исследований могут быть разделены на контроль оборудования, реагентов и техники выполнения исследований. Такая классификация позволяет обеспечить ясность, несмотря на то, что некоторые аспекты проверок совпадают, особенно при контроле реагентов и техники выполнения.

Контроль качества оборудования

Оборудование, используемое для серологических исследований в трансфузиологии (в частности, центрифуги, автоматические отмыватели клеток, термостаты, холодильники и замораживатели) должно регулярно подвергаться контролю качества. Автоматизированное оборудование для определения групп крови также следует систематически проверять в соответствии с инструкциями производителя.

Контроль качества реагентов

Процедуры контроля качества, рекомендуемые в настоящем стандарте, могут быть применены к реагентам для ручных и автоматизированных методов исследований. Однако, к уровню качества и процедуре контроля реагентов для автоматизированного определения группы крови могут быть специальные требования, которые, как правило, обеспечиваются производителями оборудования.

Контроль качества техники выполнения проб

При условии соответствия качества оборудования и реагентов заявленным требованиям, ложные результаты могут быть связаны непосредственно с техникой выполнения пробы, либо с несостоятельностью самого теста. Однако, наиболее часто ложные результаты являются следствием неаккуратного выполнения проб или неверной интерпретации их результатов.

Внутренний контроль качества

Процедуры контроля качества, рекомендуемые в этом разделе, сосредоточены на технике выполнения исследований, однако они могут выявить и недостатки в качестве оборудования и/или реагентов.

Таблица 2

Валидация методов исследований

Проверяемый параметр	Минимальные требования к исследованию	Контрольный образец	Частота проверки
----------------------	---------------------------------------	---------------------	------------------

1. Определение группы АВО-прямое	Определение дважды с 2 разными реагентами*: с моноклональными антителами анти-А и анти-В, с человеческими антисыворотками анти-А, анти-В и анти-АВ из разных серий **	По одному образцу эритроцитов типов О, А1, В.	Проверять каждую серию или минимум 1 раз в день, если реагенты из одной серии используются во всей лаборатории
2. Определение группы АВО обратное	Использование А и В клеток		Проверять каждую серию или минимум 1 раз в день, если реагенты из одной серии используются во всей лаборатории
3. Определение RhD	Определение дважды с 2 анти-RhD реагентами из разных клонов/серий. При обследовании доноров необходимо убедиться, что тест-система распознает слабый D-антиген и его наиболее важные частичные варианты (особенно категории VI) как RhD-положительный	По одному RhD-положительному и отрицательному образцу	Проверять каждую серию или минимум 1 раз в день, если реагенты из одной серии используются во всей лаборатории
4. Определение фенотипа Rh и других систем групп крови	Использовать специфичные реагенты	Положительный контроль: доза эритроцитов с подтвержденным определяемым антигеном. Отрицательный	Моноклональные антитела и человеческие антисыворотки – 1 раз в день

		контроль: доза эритроцитов без выявляемых антигенов	
5. Антиглобулиновый тест в пробирке	Предварительное отмывание эритроцитов не менее 3 раз	Отрицательные результаты подтверждаются добавлением сенсibilизированных эритроцитов для получения положительной реакции	Каждый отрицательный результат
6. Определение высокого титра антител анти-А и анти-В у доноров	Использование эритроцитов типа А1 и В. Титрование в солевом растворе или антиглобулиновом тесте с плазмой (сывороткой) в разведении 1:50	Образцы сыворотки с количеством иммунных анти-А и анти-В выше и ниже принятого (для анти-А и/или анти-В) титра солевой агглютинации. При использовании антиглобулинового теста один контрольный образец должен давать положительный результат, а другой – отрицательный	Каждая серия исследований
7. Определение нерегулярных аллоантител у доноров	Использование антиглобулинового теста или других тестов с соответствующей чувствительностью	Образцы сыворотки с известными антиэритроцитарными	Периодические проверки руководителем лаборатории и

		аллоантителами	участие в программах внешнего контроля качества
8. Определение нерегулярных аллоантител у пациентов	Использование, по меньшей мере, непрямого антиглобулинового теста или другого ручного/автоматизированного теста с эквивалентной чувствительностью и гомозиготными эритроцитами для определения основных клинически значимых антигенов	Как в п. 7	Как в п. 7
9. Пробы на совместимость (включая определение антигенов АВО и D у доноров и реципиентов эритроцитов, а также определение нерегулярных антител в сыворотке реципиента)	Использование как минимум непрямого антиглобулинового теста или ручного/автоматизированного теста с эквивалентной чувствительностью	Как в п. 7	Как в п. 7

* если проводилось обратное определение группы крови, то оба теста могут быть выполнены с одними реагентами.

** если известна группа крови по системе АВО и RhD, то единственного теста достаточно

ЛИТЕРАТУРА

1. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components/ 18th edition.- Council of Europe, Strasbourg, 2015 – 513 p.

