

Результаты

Если анализ прошел правильно, должно быть видно агглютинацию хотя бы в одном из тестовых полей с пометкой "Patient Test".

Если агглютинация хорошо видна в тестовом поле для группы А, то тестируемая кровь имеет группу А.

Если агглютинация хорошо видна в тестовом поле для группы В, то тестируемая кровь имеет группу В.

Если агглютинация хорошо видна в обоих тестовых полях, то тестируемая кровь имеет группу АВ.

Нужно учитывать, что при любом тесте реакция агглютинации будет видна через 2 минуты. Характер агглютинации в тестовом поле В отличается от реакции в поле А.

Агглютинация в тестовом поле В, как правило, включает в себя небольшое количество крупных шариков. Агглютинация в тестовом поле В, как правило, в виде небольших дискретных скоплений, каждый как головка булавки.

Если пациент анемичный и если пациент имеет группу крови А, то антиген может стать насыщенным антителами и препятствовать перекрестному связыванию и агглютинации. Если пациент имеет низкий гематокрит (НСТ), то это может помочь в проведении теста, проводя его без использования разбавителя в тестовых полях (А и В).

Ограничения

1. Для получения точных результатов важно четко следовать инструкции.
2. Всегда используйте новую дозирующую пипетку для каждого образца и новую мешалку для каждого тестового поля. Повторное использование любого прибора вызовет контаминацию и неточные результаты.
3. Стабильность отдельных компонентов набора изменяется. Храните компоненты, как указано на этикетках. Не используйте компонент с вышедшим сроком годности. Использование просроченных материалов может привести к получению недостоверных результатов.
4. Разбавитель представлен в бутылке с завинчивающейся крышкой, чтобы минимизировать непреднамеренное бактериальное или другое загрязнение. Разбавитель не должен использоваться ни для чего кроме проведения теста на определение группы крови.
5. Физическая целостность образца пациента имеет решающее значение для корректности результата.
6. Всегда набирайте полный шприц или пробирку где используется ЭДТА. Меньшее количество крови вызовет слишком высокую концентрацию ЭДТА в тестируемой пробе.

Manufactured under license from:

Kansas State University and
dms laboratories, inc
RapidVet is a trademark of dmslaboratories, inc

Manufactured by:

Agrolabo S.p.A.
Via Masero, 59
10010 Scarmagno (TO)
ITALY
Tel.: +39 (125) 73.11.11
Fax: +39 (125) 73.11.90
agrolabo@agrolabo.it
www.agrolabo.it



Feline (кошки)

Определение группы крови

in vitro

Описание и инструкция по применению

Как показывает практика, в последние годы в ветеринарной трансфузионной медицине значение определения групп крови у кошек и собак значительно выросло.

В частности спрос на определение группы крови находится на подъеме потому, что только предопределив группу крови реципиента можно избежать смертельной ошибки при переливании крови. У кошек встречаются три группы крови, обозначаемые как А, В и АВ. Антигены кошек не имеют никакого отношения к антигенам человека АВО и определяются по кошачьей аллоиммунной сыворотке. Группы крови варьируются между породами. У кошек одна система групп крови, состоящая из двух антигенов, комбинированно или по отдельности: А, В и АВ. Группы крови у кошек наследуются аутосомно по простым признакам с доминированием группы А над группой В. Большинство кошек обладают А антигеном и около одной трети из них, встречающихся в природе, имеют анти-В антитела. Группа В у всех, встречающихся в природе, кошек имеется высокий титр анти-А антител. Недавний опрос проведенный в Соединенных Штатах показал, что процент кошек с антигеном В варьируется от 0,3% до 59% в зависимости от породы.

Кошки с группой крови АВ редкие, поскольку такие кошки на мембранах эритроцитов имеют оба антигена: А и В, они не имеют или имеют только анти-А, или только анти-В антитела. Определение групп крови у кошек играет важную роль в практической ветеринарной медицине для предотвращения смешивания А и В эритроцитов. Кошки с В эритроцитами демонстрируют немедленную и катастрофическую системную анафилактическую реакцию (гипотензия, брадикардия, апноэ, мочеиспускание, дефекация, рвота и тяжелые неврологические депрессия), а также гемолитические признаки (гемоглобинемия и гемоглобинурия), когда переливают кровь группы А из-за их природного высокого титра анти-А антитела. Кошки с А эритроцитами и естественными антителами с низким титром анти-В антитела будут обладать слабой реакцией, когда смешивается с В кровью, но даже это может сделать разницу в скорости восстановления организма при медицинском случае, так как переливаемые эритроциты имеют короткий срок жизни. Другие кошки с А эритроцитами, которым кровь группы В переливается впервые, реакцию не проявляют, но, как следствие, у них будет развиваться умеренный титр анти-В антитела, который приведет к серьезной негативной реакции при последующем несовместимом переливании. Определение группы крови у кошек также имеет важное значение при скрещивании, это дает понимание о возможных проблемах у котят. Неонатальный гемолиз может произойти, когда есть несовместимость группы крови матери и плода. Потому, у пород кошек с часто встречающейся в природе группой В и высоким титром анти-А антител, неонатальный гемолиз может произойти у котят с группой крови А в результате скрещивания самки с группой крови В и самцом с группой А. Материнские анти-А антитела с молозивом поглощаются котенком и активно разрушают его эритроциты. И здоровые при рождении котят погибают в течение первых дней жизни. Определение групп крови у кошки и кота, а так же подбор совместимости, могут исключить гемолиз новорожденных котят.

RapidVet-H (Feline) предназначен для определения у кошек группы крови А, группы В и группы АВ. Антисыворотка лиофилизована на Тестовых Картах, хорошо разводится и смешивается с цельной кровью пациента. Все группы А эритроцитов реагируют с специфической антисывороткой и вызывают реакцию агглютинации; группа В эритроцитов проявляет со своей специфической антисывороткой; все группы АВ эритроцитов вызывают агглютинацию во всех случаях. Характер агглютинации в тестовом поле «А» и в тестовом поле «В» значительно отличаются друг от друга из-за разной природы используемой антисыворотки.



Принцип проведения анализа

The RapidVet-H (Feline) анализ основан на реакции агглютинации, которая происходит тогда, когда эритроциты, содержащие на поверхности мембраны одну из групп А, В или АВ антигенов и взаимодействует с высушенной антисывороткой специфического антигена, нанесенного на тестовое поле карточки.

Тип А эритроцитов характерен для NeuGc2GD3, образующий гликолипидный антиген на поверхности мембраны. RapidVet-H (Feline) использует мышинные моноклональные антитела, доказывающие специфический для данного антигена лиофилизированного на тестовой карте. Молекула антитела дает ему способность к связыванию и склеиванию антигенов, специфичных для крови группы А.

Тип В эритроцитов характерен для NeuAc2GD3 и имеет вид нейраминовой кислоты, представленной ганглиозидой и отсутствием в NeuGc, который присутствует в группе А эритроцитов. Специфическим связующим звеном был выявлен лектин Triticum Vulgaris. RapidVet-H (Feline) и использует лектин Triticum Vulgaris для обнаружения группы крови В.

Внимание: определенное количество кошачьих пациентов демонстрирует аутоагглютинацию разной степени, обусловленными разными факторами, которые вызывают агглютинацию с собственными красными телами. Если пациент демонстрирует аутоагглютинацию во время теста, то определить группу крови будет невозможно без сепарирования сыворотки и промывки эритроцитов перед тестом. Красные кровяные тельца промываются центрифугированием на скорости 2000 оборотов/мин на протяжении 5-ти минут. После центрифугирования получают жидкую часть (плазму) в верхней части и твердую часть (эритроциты) в нижней. Оператор должен собрать жидкую часть и заменить его таким же объемом физиологического раствора. Затем оператор должен снова проверить образец, появится ли еще реакция аутоагглютинации. Если это так, то он должен снова повторить процедуру промывки. Если появляется, то процедуру промывки оператор должен провести еще раз.

RapidVet-H (Feline) позволяет выявлять таких больных.

Реагенты и материалы:

Тестовая карточка агглютинации. Каждая карточка имеет 3 тестовых поля. Карточка включает в себя "Auto-Agglutination Saline Screen" и два поля "Patient Test" - группа А и "Patient Test" группа В. Все карты упакованы индивидуально и запечатаны в полиэтиленовые пакеты которые содержат влагопоглотитель. Хранить при комнатной температуре или в холодильнике (+2+8°C).

Бутылочка с разбавителем. Прозрачный пластиковый флакон содержит 0,02 моль/дм³ фосфатный буферный раствор (PBS) с рН 7,4. Наконечник пропускает по 50 мкл в одной капле. Хранить при комнатной температуре или в холодильнике (+2+8°C).

Пипетки и мешалки. Каждый полиэтиленовый пакет содержит пластиковые пипетки и мешалки.

Хранение и стабильность:

1. Тестовая карта агглютинации остается стабильной при комнатной температуре (+20+25°C) в течении 18 месяцев от даты производства. Каждая карточка имеет дату выхода срока годности. Хранение в холодильнике (+2+8°C) не продлевает срок годности существенно, но и отрицательного влияния на качество анализа не оказывает. Но может исключить непредвиденные или неизвестные колебания комнатной температуры за пределы допустимого диапазона.

2. Разбавитель стабилен в течение 24 месяцев с даты изготовления. Каждая бутылочка маркирована датой окончания срока годности.

3. Если тест проводится правильно, то хотя бы в одном тестовом поле с надписью "Patient Test" пройдет реакция агглютинации. Таким образом, тест прошел самоконтроль.

ПРИМЕЧАНИЕ: на каждом RapidVet-H (Feline) тестовом наборе указана дата окончания срока годности, в котором учитывается самое раннее окончание срока годности компонента в наборе. Даже если некоторые компоненты имеют более поздние даты окончания индивидуального срока годности, их использование с компонентами из других наборов не рекомендуется.

Процедура проведения теста:

1. **НАБЕРИТЕ** минимум 0,4 мл крови пациента в шприц или пипетку с/или ЭДТУ в качестве антикоагулянта. Анализ требует 150 мкл крови.

2. **НАПИШИТЕ** на карточке имя/номер кошки и дату проведения теста.

3. **ПОЛОЖИТЕ** тестовую карточку на плоскую поверхность.

4. **НАНЕСИТЕ** 1 каплю разбавителя (50 мкл) из бутылочки с дозатором в область «Auto-Agglutination Saline Screen».

5. **НАБЕРИТЕ** небольшое количество образца крови в пипетку и нанесите 1 каплю (50 мкл) в область «Auto-Agglutination Saline Screen». Используйте мешалку для смешивания материалов по **ВСЕЙ** поверхности тестового поля в течении 10 секунд. Мешалку держите все время ровно прижатой к поверхности тестовой карты (смотрите инструкцию по пользованию пипеткой).

6. Существует небольшой процент кошек имеющих аутоагглютинацию. Если наблюдается агглютинация, **ПРИОСТАНОВИТЕ** проведение теста и прежде чем продолжить, выполните процедуру промывки красных кровяных телец.

7. **НАНЕСИТЕ** из бутылочки с дозатором в каждое оставшееся тестовое поле 1 каплю разбавителя (50 мкл). Разбавитель помогает в реконструкции лиофилизированного материала.

8. Аккуратно **ВЗБОЛТАЙТЕ** пробирку с образцом крови пациента, чтобы вся их внутренняя поверхность покрылась кровью для растворения антигенов на ее стенках.

9. **НАБЕРИТЕ** небольшое количество образца крови пациента в пипетку и нанесите по 1 капле (50 мкл) в каждое из 2 тестовых полей с надписью "Patient Test". Используйте мешалку для смешивания материалов с **СОДЕРЖИМЫМ** каждого поля в течении 10 секунд. Мешалку держите все время ровно прижатой к поверхности тестового поля. Для каждого тестового поля используйте отдельную мешалку.

10. **ДОБАВТЕ ВТОРУЮ КАПЛЮ РАЗБАВИТЕЛЯ В ТЕСТОВОЕ ПОЛЕ "TYPE A". ПОВТОРНО НЕ ПЕРЕМЕШИВАЙТЕ.**

11. **ПОКАЧАЙТЕ** тестовую карту вдоль оси в течение 2 минут, убедитесь, что материал "вращается" каждый в своем поле. Будьте осторожны, не смешайте образцы между собой.

12. **НАКЛОНИТЕ** карту под углом 10-20°, чтобы избыток в крови сбежал к нижней части тестового поля. Оставшегося материала в верхней части тестового поля будет достаточно для оценки результата.

13. **ПРОЧИТАЙТЕ** результат, обратите внимание на поля, где произошла агглютинация.

14. После того, как материалы на карте высохли, **НАКЛЕЙТЕ** на карту пленку для сохранности результата.

ПРИМЕЧАНИЕ

Использование пипетки: удерживайте пипетку между большим и указательным пальцами возле плоского, закрытого конца, сожмите и не отпускайте. Удерживайте пипетку вертикально и поместите открытый конец пипетки ниже поверхности образца. Разожмите пипетку для втягивания образца. Затем удерживайте пипетку в перпендикулярном положении непосредственно над тестовым полем, куда должен быть нанесен образец крови. Легонько сожмите и нанесите каплю на тестовое поле (50 мкл). Для компенсации потери материала, остающегося на мешалке, каждая пипетка имеет объем чуть более 50 мкл. Используйте для каждого образца новую пипетку. Ни при каких обстоятельствах пипетка не должна быть использована более чем один раз, в противном случае может произойти смешение материалов тестовых полей и результаты теста будут недостоверными.

