



UA.TR.098

Інструкція з використання моноклонального реагенту анти-D Супер для визначення груп крові людини за системою Rhesus анти-D Супер Ig M

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Тільки для професійного використання!

Резус-належність (Rh⁺ або rh⁻) визначається наявністю або відсутністю антигену D, який є найбільш імуногенним з усіх еритроцитарних антигенів.

Характерною особливістю антигену D системи Rhesus є його поліморфізм, що зумовлює наявність великої кількості різновидів даного антигену. Різні зразки D⁺ еритроцитів не завжди демонструють однакову силу реакції з анти-D- реагентом. Більшість D⁺ еритроцитів вступають у пряму реакцію аглютинації з анти-D Ig M реагентом, тому сумнівів у їх позитивній резус-належності немає.

У випадках, коли зразок еритроцитів дає нечітку, сумнівну реакцію аглютинації з анти-D Ig M реагентом або не дає її зовсім, для встановлення резус-належності необхідно застосовувати додаткові дії, наприклад, подовжити термін інкубації з анти-D Ig M реагентом або додати антиглобуліновий реагент після сенсibiliзації еритроцитів анти-D Ig G (керувачись інструкцією виробника). При наявності аглютинації такі клітини відносять до D⁺.

Принцип методу

Моноклональний реагент анти-D Супер призначений для встановлення резус належності шляхом визначення D антигену еритроцитів людини за допомогою реакції прямої аглютинації та її модифікацій. Визначення проводиться на площині, в планшеті або в пробірках.

Призначення

Моноклональний реагент анти- D Супер для визначення груп крові людини за системою Rhesus застосовується для встановлення резус належності у осіб будь-якої групової приналежності за системою АВ0.

При застосуванні моноклонального реагенту анти-D Супер для визначення груп крові людини за системою Rhesus слід керуватися даною Інструкцією, а також «Інструкцією з визначення груп крові за системами АВ0, резус та імунних антитіл» (наказ МОЗ України №164 від 05.07.1999 р.)

Аналітичні характеристики

Реагент строго специфічен.

1. Моноклональний реагент анти-D Супер містить моноклональні антитіла анти-D класу Ig M в титрі $\geq 1:128$

2. Гемаглютинуюча активність на площині моноклонального реагенту анти- D Супер - не пізніше 60 s (с) Моноклональний реагент анти-D Супер має високу гемаглютинуючу активність і надійно виявляє відповідний антиген на еритроцитах як гомо-, так і гетерозиготних фенотипів (в прямій реакції на площині). Моноклональний реагент анти-D Супер специфічен і не дає перехресних реакцій з невідповідними антигенами.

Для отримання надійних результатів необхідно дотримання інструкції по призначенню набору.

Відтворюваність результатів складає 100%.

Матеріал для дослідження

Нативна кров без консерванту або кров стабілізована з використанням консервантів (глюгіцер, цитроглюкофосфат, гепарин та ін.). Рекомендовано проводити дослідження в крові стабілізованій ЕДТА, відмитих та невідмитих еритроцитах.

Зразки отриманої крові повинні бути досліджені якомога скоріше, не пізніше 24-48 h (год) від часу забору від пацієнта. Якщо дослідження затримуються, зразки повинні зберігатися при температурі 2-8°C. Обмеження: не можна аналізувати гемолізовані зразки крові, а також зразки з наявністю згустків.

Умови проведення досліджень.

Визначення групи крові проводиться в приміщенні з достатнім освітленням при температурі 18-25°C. Для кожного реагенту (пацієнту) використовуйте окрему промарковану піпетку. Бажано користуватися одноразовими допоміжними матеріалами (планшетами, мікроплатами, пробірками, паличками для перемішування та ін.)

Перелік необхідного устаткування

- пластина або планшет, білий плоский для аглютинації;
- секундомір;
- палочки скляні або пластикові;
- пробірки центрифужні місткістю 5.0-10.0 ml (мл);
- піпетки напівавтоматичні одноканальні зі змінюваними наконечниками, що дозволяють відбирати об'єми рідини 0.01, 0.05 і 0.1 ml (мл);
- пробірки круглодонні місткістю 2.0-5.0 ml (мл);
- піпетки місткістю 5.0 ml (мл) або 10.0 ml (мл);
- водяна баня або термостат, який підтримує температуру 37-48°C;
- центрифуга настільна на 3000 г/мін (об/хв);
- 0.9% фізіологічний розчин;
- рукавички гумові;
- контрольні еритроцити + і - фенотипу для кожного реагенту.

Підготовка реагентів для аналізу

Реагент готовий до застосування. Реагент дістати з холодильника і витримати при кімнатній температурі 15 min (хв).

Підготовка еритроцитів. Стандартні еритроцити, що зберігаються в консерванті, тричі відмийте 0.9% фізіологічним розчином. Досліджувані еритроцити для постановки реакції аглютинації на площині, в планшеті та пробірках відмивати не обов'язково.

Приготування 5% суспензії еритроцитів. До 1 ml (мл) 0.9% фізіологічного розчину додайте 2 краплі крові або 1 краплю осаду еритроцитів.

Проведення аналізу**1. Реакція аглютинації на площині і в планшеті.**

1.1. На пластинку, яка змочується, або в лунку планшета нанесіть 1-2 краплі (50-100 µl (мкл)) моноклонального реагенту анти-D Супер, 1 маленьку краплю (20-50 µl (мкл)) досліджуваної крові або еритроцитів і змішайте. Змішування на площині проводиться за допомогою паличок, а в планшеті - шляхом його похитування до повного перемішування еритроцитів з реагентом.

1.2. Через 20-30 s (с) після змішування похитайте пластинку або планшет.

1.3. Оцініть результат візуально по наявності або відсутності аглютинації.

Оцінка результатів

Позитивна реакція аглютинації означає наявність на еритроцитах антигену, негативна - його відсутність. Чітка реакція настає через 30-60 s (с) після змішування реагенту з еритроцитами. При використанні еритроцитів у високій концентрації чітка аглютинація настає швидше. Аглютинація еритроцитів з гетерозиготних фенотипом може розвиватися трохи повільніше, ніж аглютинація з гомозиготним фенотипом. Остаточний результат реакції слід враховувати через 3 min (хв), але не пізніше, тому що при підсиханні краплі може спостерігатися дрібна неспецифічна аглютинація. У сумнівних випадках можна після закінчення 3 min (хв) додати до крапель з сумнівною реакцією фізіологічний розчин (1-2 краплі) і похитати пластинку або планшет. Неспецифічна аглютинація зникне.

Реакцію враховують при позитивній реакції аглютинації зі стандартними позитивними і відсутності її з негативними еритроцитами

2. Реакція прямої аглютинації в пробірках.

2.1. Внесіть в круглодонну пробірку місткістю 5.0 ml (мл) 1 краплю (50 µl (мкл)) моноклонального реагенту анти-D Супер.

2.2. Потім додайте 1 краплю (50 µl (мкл)) 5% суспензії еритроцитів, ретельно перемішайте струшуванням.

2.3. Інкубуйте пробірку протягом 15 min (хв) при температурі 18-25°C.

2.4. Центрифугуйте пробірку протягом 1 min (хв) при 1500 г/мін (об/хв) при кімнатній температурі.

2.5. Відокремте осад від дна, обережно струшуючи пробірку.

2.6. Результат реакції оцініть візуально.

Оцінка результатів

При негативному результаті осад еритроцитів розбивається і утворює гомогенну непрозору суспензію. При позитивному результаті осад залишається у вигляді одного або декількох великих аглютинатів на тлі прозорої рідини.

3. Реакція прямої аглютинації в мікроплаті.

- 3.1. У лунку круглодонної плати внести по одній краплі (50 μ l (мкл)) моноклонального реагенту та додати до них по одній краплі (50 μ l (мкл)) 5% суспензії еритроцитів, що досліджуються.
- 3.2. Центрифугувати при швидкості 500g 1500 г/мін (об/хв) протягом 60 s (с) або попередньо інкубувати при температурі 20-25°C протягом 30 min (хв).
- 3.3. Перед врахуванням результату мікроплату злегка струшують.
- 3.4. Врахування результатів необхідно проводити мікроскопічно.

Оцінка результатів

Якщо результат негативний, осад розбивається у вигляді рівномірного забарвлення рідини.

У разі позитивного результату осад залишається у вигляді великих аглютинатів.

Важливо! Використання реагенту більше/менше від рекомендованого часу може призвести до отримання неправильних результатів

Контроль якості

Для контролю специфічності і активності реактивів (незалежно від методики дослідження) при проведенні будь-якого варіанту реакції аглютинації для контролю аглютинуючої активності застосовуваного моноклонального реагенту в кожній серії досліджень необхідно використовувати стандартні еритроцити, що несуть відповідний антиген, для контролю специфічності - стандартні еритроцити, що не несуть відповідного антигену. Результати враховують тільки в разі правильної реакції моноклонального реагенту зі стандартними еритроцитами.



УВАГА!

1. ТІЛЬКИ для in vitro діагностики.
2. ТІЛЬКИ для використання **професійним медичним персоналом**, що має відповідну кваліфікацію, необхідні здобуті знання та навички.
3. Дотримуйтеся вимог інструкції з використання під час використання реагенту.
4. Якщо ви не впевнені в результаті інтерпретації проведеного дослідження, зверніться по допомогу до більш досвідченої особи, що має відповідну кваліфікацію та досвід.

Вимоги безпеки та утилізації

1. Категорично забороняється піпетування ротом. Робота із зразками крові, що досліджуються моноклональними реагентами, потребує дотримання заходів безпеки, які передбачені для роботи з необстеженою кров'ю.
2. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з моноклональними реагентами.
3. Знезараження та утилізація реагентів, сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з чинним законодавством

Умови зберігання, транспортування і експлуатації

1. Транспортування реагенту повинно проводитися всіма видами критого транспорту відповідно до вимог і правил, прийнятих на даному виді транспорту при температурі 2-8°C. Допускається транспортування при температурі до 25°C не більше 5 d (доб) і при температурі до 22°C не більше 10 d (доб).
2. Зберігання моноклонального реагенту повинно проводитися в темному місці при температурі 2-8°C протягом всього терміну придатності. Допускається зберігання при температурі до 25°C не більше 5 d (доб) і при температурі до 22°C не більше 10 d (доб).
3. Розкриті флакони з моноклональним реагентом можна використовувати протягом усього зазначеного терміну придатності при відсутності змін, що виникають у процесі використання реагенту- помутніння, утворення нерозчинного осаду, бактеріального забруднення. Під час використання реагентів запобігати потрапляння прямих сонячних променів.
4. Моноклональні реагенти не слід зберігати відкритими, бо при висиханні їх активність знижується.

Ознаки погіршення

Каламутність, осад можуть свідчити про погіршення якості реагентів або забруднення. Причинами погіршення можуть бути:

1. Недотримання умов використання, зберігання, транспортування.

2. Закінчення терміну придатності виробу.
3. Невідповідна температура навколишнього середовища.
4. Падіння або удар, що призвели до пошкодження первинної упаковки виробу.
5. Забруднення реагенту шляхом недотримання умов чистоти приміщення або необхідного устаткування.








Гарантії виробника

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 24 mth (міс) з дня виготовлення набору.

Примітка: Якщо вам стало відомо про будь-який інцидент, що призвів до негативних наслідків, будь ласка, повідомте про це на електронну адресу або за номером телефону гарячої лінії.

Виробник: ТОВ «Лабораторія Гранум», Україна, 61001, м. Харків, вул. Франківська, 14,
тел/факс: (057) 752-32-31, електронна адреса: granumlab@gmail.com

Символи на продукції

 Виробник	 Виріб медичний для діагностики in vitro	 Берегти від сонячного світла
 Консультуйтеся з інструкцією із використання	 Температурне обмеження	
 Засторога. Зверніться до інструкції з використання для отримання інформації щодо застережень, попереджень, запобіжних заходів		
 Знак відповідності Технічним регламентам UA.TR.XXX Ідентифікаційний код ООВ		
Виготовлено: Дата виробництва Придатно до: Термін придатності Серія: Номер серії		