



УВАГА! ЗМІНА ІНСТРУКЦІЇ!

UA.TR.098

Інструкція
з використання моноклонального реагенту анти-В
для визначення груп крові людини за системою АВ0
анти-В Ig M

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Тільки для професійного використання.

Принцип методу

Моноклональний реагент анти-В містить специфічні моноклональні антитіла класу IgM до відповідних антигенів еритроцитів людини. В основі методу дослідження з використанням даного моноклонального реагенту лежить реакція прямої аглютинації еритроцитів відповідними антитілами, що спостерігається неозброєним оком. Якщо еритроцити не містять антиген, то аглютинації не відбувається. Реакція імунологічна, тип реакції - якісна. Реагент не містить антитіл іншої специфічності. У складі реагенту не міститься інших інгредієнтів, які можуть вплинути на проведення вимірювань. Реагент отриманий методом біотехнології.

Технологія виготовлення реагенту виключає можливість його контамінації патогенними для людини вірусами.

Призначення

Моноклональний реагент анти-В для визначення груп крові людини за системою АВ0 призначений для визначення груп крові людини шляхом виявлення антигену В еритроцитів людини за допомогою реакції прямої гемаглютинації. При застосуванні моноклонального реагенту анти-В для визначення груп крові людини за системою АВ0 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

Реагенти строго специфічні.

1. Моноклональний реагент анти-В містить моноклональні антитіла анти-В класу Ig M в титрі $\geq 1:32$, Моноклональний реагент анти-В не повинен давати аглютинації з еритроцитами груп A(II) і 0(I).
2. Гемаглютинуюча активність на площині моноклонального реагенту анти-В - не пізніше 10 s (с).
3. Відтворюваність результатів складає 100%.

Матеріал для дослідження

Нативна кров без консерванту або кров стабілізована з використанням консервантів (глюгіцир, цитроглюкофосфат, гепарин та ін.). Рекомендовано проводити дослідження в крові стабілізованій ЕДТА, відмітих та невідмітих 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 біла плоска для аглютинації або планшет
- секундомір;
- палички скляні або пластикові;
- фосфатно-сольовий буфер (рН 6,8-7,2) або фізіологічний розчин (рН 6,5-7,5);
- центрифуга для пробірок
- шейкер
- загальне лабораторне обладнання. - контрольні еритроцити + і - фенотипу для кожного реагенту.

Підготовка реагентів для аналізу

Реагент готовий до використання. Реагент дістати з холодильника і витримати при кімнатній температурі 15 min (хв). На одне визначення витрачається приблизно 50 µl (мкл) кожних антитіл при використанні флакона-крапельниці, що поставляється.

Проведення аналізу**A. Методика пластиини/планшету**

1. Приготуйте 35-45% суспензію еритроцитів у фізіологічному розчині або фосфатно-сольовому буфері/або використовуйте цільну кров з антикоагулянтом у власній плазмі.
2. Помістіть на пластиину з написом: 1 об'єм моноклонального реагенту анти-В (50 µl (мкл)) та 1 об'єм суспензії еритроцитів (50µl (мкл)).
3. Використовуючи чисту паличку-аплікатор, перемішайте реагент та клітини.
4. Спостерігайте за ходом реакції з моноклональним реагентом анти-В візуально при легкому погодуванні планшету або пластиини протягом 1 min (хв). Аглютинація еритроцитів з моноклональним реагентом зазвичай настає в перші 3-5 s (с), але спостереження слід вести на протязі 1-3 min (хв), бо можливий більш повільний початок аглютинації з еритроцитами, що містять слабкі різновиди антигену В. Оцінюйте результат макроскопічно над розсіяним світлом і не приймайте нитки фібрину за аглютинацію.
6. Будь-які слабкі реакції слід повторити за методикою пробірки.

УВАГА! Використання реагенту більше/менше від рекомендованого часу може привести до отримання неправильних результатів.

B. Методика пробірки

1. Приготуйте 2-3% суспензію еритроцитів у фосфатно-сольовому буфері або фізіологічному розчині.
2. Помістіть у промарковану пробірку: 1 об'єм моноклонального реагенту анти-В (50 µl (мкл)) та 1 об'єм суспензії еритроцитів (50µl (мкл)).
3. Ретельно перемішайте та інкубуйте при кімнатній температурі протягом 1 min (хв).
4. Центрифугуйте всі пробірки протягом 10 s (с) при 1000 g або протягом іншого відповідного часу та сили.
5. Обережно ресуспендуйте еритроцитарну масу і проаналізуйте макроскопічно на наявність аглютинації.
6. Будь-які пробірки з негативним або сумнівним результатом слід інкубувати протягом 15 min (хв). При кімнатній температурі.
7. Після інкубації повторіть кроки 4 та 5.

Примітки: інструкції з використання для визначення груп крові за методиками Bio-Rad ID (NaCl, ферментний тест та карти холодових аглютинінів), Ortho BioVue (нейтральні касети), мікропланшету з використанням лунок "U" надаються за запитом.

Оцінка результатів

Результат реакції в кожній краплі може бути позитивним або негативним.

Позитивний результат виражається в аглютинації (склеюванні) еритроцитів.

Аглютинацію видно неозброєним оком у вигляді дрібних червоних агрегатів, що швидко зливаються у великі пластивці або в один великий аглютинат. При негативній реакції крапля залишається рівномірно забарвленою в червоний колір, аглютинати в ній не виявляються. Інтерпретація результатів реакції аглютинації досліджуваної крові з моноклональним реагентом представлена в таблиці 1. Таблиця 1

№	Результат реакції* з Моноклональним реагентом:			Досліджувана кров належить до групи**
	Анти-А	Анти-В	Анти-AB	
1	-	-	-	0(I)
2	+	-	+	A(II)
3	-	+	+	B(III)
4	+	+	+	AB(IV)

* Знаком плюс (+) позначена наявність аглютинації, знаком мінус (-) відсутність аглютинації.

** Остаточно групова належність досліджуваного зразка за системою АВ0 встановлюється за результатами перехресного визначення антигенів А і В на еритроцитах і ізогемаглютинінів в сироватці крові за допомогою стандартних еритроцитів.

При позитивному результаті реакції аглютинації з усіма трьома моноклональними реагентами необхідно виключити спонтанну неспецифічну аглютинацію досліджуваних еритроцитів. Для цього необхідно змішати на площині 1 краплю досліджуваної крові (еритроцитів) з 1 краплею фізіологічного розчину. Кров можна віднести до групи АВ (IV) тільки при відсутності аглютинації еритроцитів у фізіологічному розчині. За наявності спонтанної аглютинації (позитивна реакція в контрольній краплі) рекомендується повторити визначення групи крові, використовуючи відміті еритроцити зразка крові.

Обмеження

1. Антигени АВ0 не повністю сформовані при народженні, тому реакції з пуповинами або неонатальними зразками можуть бути слабкіші.
2. Зразки крові слабких підгруп А або В (наприклад, Ax) можуть викликати помилково-негативні або слабкі реакції при тестуванні з використанням методик планшету, мікропланшету або гелевих карт. Бажано для повторного тестування слабких підгруп використовувати методику пробірки.
3. Моноклональні реагенти анти-А та моноклональні реагенти анти-В не перевірені на виявлення Ax та A3 або Bx та B3 антигени відповідно, і тому ТОВ «Лабораторія Гранум» не заявляє про реактивність моноклонального реагенту анти-А або анти-В проти цих слабких підгруп А та В.
4. Збережена кров може давати слабші реакції, ніж свіжа кров.
5. Хибнопозитивні або хибнонегативні результати також можуть виникати через:
 - Забруднення тестових матеріалів.
 - Неправильне зберігання, концентрація клітин, час інкубації або температура.
 - Неправильне або надмірне центрифугування.
 - Відхилення від процедури.
 - Пуповинна кров забруднена Вартоновим студнем.

Контроль якості

При контролі якості необхідно тестувати специфічність і гемаглютинуючу активність зі стандартними еритроцитами групи 0 (I), A1 (II), В (III). Результати контролю повинні відповісти нормам, зазначеним у розділі «Аналітичні характеристики» даної інструкції. Контроль якості проводиться для кожної серії досліджень. Контрольні матеріали правильності (прецизійності) проведення дослідження повинні відповідати і бути атестовані в установлена порядку.

**УВАГА!**

1. ТІЛЬКИ для *in vitro* діагностики.
2. ТІЛЬКИ для використання **професійним медичним персоналом**, що має відповідну кваліфікацію, необхідні здобуті знання та навички.
3. Дотримуйтесь 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.
5. Перевірте відповідність етикуетки та кришки флакону з реагентом перед його використанням згідно таблиці:

№	Вміст флакону (реагент)	Кришка (колір)	Етикетка (колір)
1	Анти-А	синій	блакитна смужка
2	Анти-В	жовтий	жовта смужка
3	Анти-AB	білий	блакитно-жовта смужка

Примітка: якщо ви виявили невідповідність кольору етикетки з кольором кришки, негайно зверніться до ТОВ «Лабораторія Гранум» для вживтя коригувальних дій та уникнення негативних наслідків.

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 анти-А, анти-В, анти-AB.
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 навколошнього середовища.
4. Падіння або удар, що привели 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
	Консультуйтесь 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