

**УВАГА! ЗМІНА ІНСТРУКЦІЇ!**

UA.TR.098

## Інструкція

### з використання моноклонального реагенту анти-D Мікс для визначення груп крові людини за системою Rhesus анти-D Мікс Ig M/Ig G

IN VITRO

Тільки для професійного використання.

Зберігати при 2-8°C

Резус-належність (Rh+ або rh-) визначається наявністю або відсутністю антигену D, який є найбільш імуногенним із 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 сенсibilізації еритроцитів анти-D Ig G (керуючись інструкцією виробника). При наявності аглютинації такі клітини відносять до D+.

#### Принцип методу

Моноклональний реагент анти-D Мікс являє собою суміш моноклональних антитіл класу Ig M і Ig G, що дозволяє з його допомогою виявляти як нормальний антиген D, так і його слабкі варіанти і категорії. Визначення антигену D системи Rhesus проводять за загальноприйнятими методами виявлення антигенів еритроцитів і можуть використовуватись в будь-якій модифікації реакції прямої аглютинації: в пробірках, на площині.

Враховуючи, що реагент анти-D Мікс містить моноклональні антитіла класу Ig G, рекомендуються визначення D антигену групи крові людини за системою Rhesus проводити в два етапи: перший – метод прямої аглютинації в пробірках; другий - непрямий антиглобуліновий тест. Непрямий антиглобуліновий тест є найбільш чутливим методом виявлення антигену D і його слабких варіантів.

#### Призначення

Виявлення клінічно важливих антигенів еритроцитів людини по системам Rhesus, сенсibilізація до яких призводить до тяжких посттрансфузійних ускладнень.

При застосуванні моноклонального реагенту анти-D Мікс 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.).

#### Склад набору

1. Моноклональний реагент анти-D Мікс Ig M/ Ig G, 10 ml (мл).
2. Інструкція з використання.
3. Сертифікат якості (Аналітичний паспорт).

#### Аналітичні характеристики

Реагент строго специфічен.

1. Моноклональний реагент анти-D Мікс містить суміш моноклональних антитіл класів Ig M ( в реакції прямої аглютинації в пробірках) і Ig G (в реакції непрямой аглютинації в антиглобуліновому тесті (НАГТ)), титр вказан в Сертифікаті якості (Аналітичному паспорті).

2. Моноклональний реагент анти-D Мікс має високу гемаглютинуючу активність(вказана в Сертифікаті якості (Аналітичному паспорті)) і надійно виявляє відповідний антиген на еритроцитах як гомо-, так і гетерозиготних фенотипів с) (в прямій реакції на площині). Моноклональний реагент анти-D Мікс специфічний 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 (венозна або капілярна) без консерванту.

Стабілізована кров з використанням консервантів (глюгіцер, цитроглюкофосфат, гепарин та ін.).  
Рекомендовано проводити дослідження в крові стабілізованій ЕДТА.

Пуповинна кров без домішок вартонових драглів.

Відмиті та невідмиті еритроцити у вигляді суспензії (35-45%) у фізіологічному розчині або фосфатно-сольовому буфері.

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 груп 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 застосування. Реагент дістати з холодильника і витримати при кімнатній температурі 15 min (хв). На одне визначення на площині витрачається приблизно  $55 \pm 10$   $\mu$ l (мкл) кожних антитіл при використанні флакона-крапельниці, що поставляється.

#### **Проведення аналізу**

##### **Методи прямої аглютинації (не категорія DVI)**

###### **А. Методика на площині**

1. Помістіть на позначене предметне скло або картку: 2 краплі моноклонального реагенту анти-D Мікс та 2 краплі досліджуваного зразка (у співвідношенні 1:1).
2. Використовуючи чисту паличку-аплікатор, перемішайте реагент та клітини.
3. Спостерігайте за ходом реакції з моноклональним реагентом анти-D Мікс візуально при легкому погойдуванні планшету або пластини протягом 1 min (хв). Аглютинація еритроцитів з моноклональним реагентом зазвичай настає в перші 20-30 s (с), але спостереження слід вести на протязі 1-3 min (хв), або можливий більш повільний початок аглютинації з еритроцитами, що містять слабкі різновиди антигену D. Оцінюйте результат макроскопічно над розсіяним світлом і не приймайте нитки фібрину за аглютинацію.
4. Будь-які слабкі реакції слід повторити за пробірковою методикою.

###### **В. 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-D Мікс та 1 об'єм суспензії еритроцитів.
3. Ретельно перемішайте та відцентрифугуйте всі пробірки протягом 20 s (с), при 1000 g або протягом іншого відповідного часу та сили.
4. Акуратно ресуспендуйте еритроцити та макроскопічно перевірте аглютинацію.
5. Будь-які пробірки, що показують негативний або сумнівний результат (що може статися із зразками Du або слабким D), слід інкубувати протягом 15 хвилин при кімнатній температурі.
6. Після інкубації повторіть кроки 3 та 4.

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

#### **Методи непрямой аглютинації (для виявлення категорії DVI)**

##### **Непрямий антиглобуліновий метод**

1. Приготуйте 2-3% завись еритроцитів у фосфатно-сольовому буфері або фізіологічному розчині.
2. Помістіть у промарковану пробірку: 1 об'єм моноклонального реагенту анти-D Мікс та 1 об'єм суспензії еритроцитів.
3. Ретельно перемішайте та інкубуйте при 37°C протягом 15 хвилин.
4. Промийте еритроцити хоча б один раз фосфатно-сольовим буфером або фізіологічним розчином, намагаючись видалити фізіологічний розчин між промиваннями та ресуспензуйте кожну клітинну кнопку після кожної промивки. Повністю видалить фізіологічний розчин після останнього промивання.
5. Додайте по 2 краплі антиглобулінової сироватки або анти-IgG на кожну кнопку із сухими осередками.
6. Ретельно перемішайте та відцентрифугуйте всі пробірки протягом 20 секунд при 1000 g протягом іншого відповідного часу та сили.
7. Ресуспендуйте кожну клітинну кнопку та макроскопічно перевірте аглютинацію.
8. Підтвердіть достовірність усіх негативних реакцій з еритроцитами, що сенсibiliзовані до IgG.

**Примітки:** інструкції з використання для визначення груп крові за методиками Bio-Rad ID (карти LISS/Coombs), Ortho BioVue (карти AHG/Coombs) надаються за запитом.

##### **Оцінка результатів**

Результат реакції може бути позитивним або негативним.

При негативному результаті осад еритроцитів розбивається і утворює гомогенну непрозору суспензію.

При позитивному результаті осад залишається у вигляді одного або декілька великих аглютинатів на тлі прозорої рідини.

Позитивний результат свідчить про наявність антигену D.

##### **Контроль якості**

В якості контрольного матеріалу рекомендовано використовувати Набір №1 Стандартні еритроцити виробництва ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ».

Для контролю специфічності, титру та активності препаратів (незалежно від методики дослідження) до кожної серії досліджень необхідно включати стандартні D + і D- еритроцити, а в разі використання реакції конглютинації з желатином також проводити контроль еритроцитів з розчином желатину без моноклонального реагенту анти-D (контроль на ауто- і панаглютинацію еритроцитів). Результати контролю повинні відповідати вимогам, зазначеним в Сертифікаті якості (Аналітичному паспорті). Контроль якості проводиться для кожної серії досліджень.



##### **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.


#### Гарантія виробника

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам Технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro № 754 від 02.10.2013 р. 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.

#### Комплектація

	<b>REF</b> 15.006
Вміст	10 ml (мл)
Моноклональний реагент анти-D Мікс	1 фл. x 10 ml (мл)

 ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», Україна, 61001, м. Харків, вул. Франківська, 14.  
Тел./факс: (057) 752-32-31, [www.granum.ua](http://www.granum.ua)

#### Символи на продукції

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