UA.TR.098

Інструкція
з використання антиглобулінової сироватки-АГС

IN VITRO Зберігати при 2-8 ºC

Тільки для професійного використання.

Принцип методу

Реагент виявляє антитіла класу IgG, з'єднані з еритроцитами in vivo або in vitro, і C3d фрагмент комплементу у прямій і непрямій пробі Кумбса. Реакція аглютинації відбувається завдяки властивості антиглобулінових антитіл взаємодіяти з Fc-фрагментами сенсибілізуючих молекул антитіл та здатністю утворювати "місток" між сусідніми вкритими антитілами клітинами, що і призводить до формування аглютинатів, які можливо бачити неозброєним оком.

Призначення

Цей реагент призначений для виявлення антитіл класу IgG (усіх чотирьох підкласів) та фрагментів C3d, зв´язаних з еритроцитами. Може використовуватись для тестування сироватки хворого на наявність імунних антитіл, визначення специфічності імунних антитіл, проведення проб на індивідуальну сумісність донора і реципієнта, визначення антигенів еритроцитів за допомогою реагентів, що містять неповні антитіла, виявлення аутоімунних антитіл або C3d фрагментів комплементу, фіксованих на еритроцитах.

При застосуванні моноклонального реагенту анти-D 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 05.07.1999р.).

Склад набору

1. Антиглобулінова сироватка-АГС анти-C3d Ig M/Ig G, 3 ml (мл).
2. Інструкція з використання.
3. Сертифікат якості (Аналітичний паспорт).

Аналітичні характеристики

Титр та авідність (гемаглютинуюча здатність) реакцією непрямої аглютинації в антиглобуліновому тесті (НАГТ) з CcDEe- сенсибілізованими еритроцитами повинні відповідати вимогам, зазначеним в Сертифікаті якості (Аналітичному паспорті).

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, відмитих та не відмитих 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 груп крові проводиться в приміщенні з достатнім освітленням при кімнатній 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;
- палички скляні або пластикові;
- автоматичні дозатори фіксованого або варіабельного об'єму 10-100 µl (мкл);

e-mail: **granumlab@gmail.com**
Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561
granum.ua

- 0.9% фізіологічний розчин;
- рукавички гумові.

Підготовка реагентів для аналізу

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

Визначення проводиться у приміщенні з достатнім освітленням при температурі 18-25 °С.

Проведення аналізу

1. Непрямий антиглобуліновий метод з використання 0.9 % фізіологічного розчину.

1.1. В чітко нумеровану чисту пробірку внести 2 краплі (100 µl (мкл)) досліджуваної сироватки.

1.2. Додати 1 краплю (50 µl (мкл)) 3-5% суспензії еритроцитів Набір№1 Стандартні еритроцити («ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», Україна), тричі відмитих і суспендованих в 0.9% фізіологічному розчині.

1.3. Ретельно перемішати та інкубувати 30-50 min (хв) при 37°С.

1.4. Три-чотири рази відмити клітини в 0.9 % фізіологічному розчині. Для цього треба додати до верху пробірки фізіологічний розчин, перемішати, центрифугувати протягом 5 min (хв) при 1500 r/min (об/хв). Повністю зливаючи надосадову рідину та ресуспендуючи клітинний згусток при кожному промиванні.

1.5. Додати до сухого клітинного згустку 2 краплі (100 µl (мкл)) реагент АГС. Ретельно перемішати та центрифугувати протягом 1 min (хв) при 1000-1500 r/min (об/хв).

1.6. Знову суспендувати клітини, обережно перемішуючи, та провести макроскопічний облік.

Примітка: Занадто енергійне перемішування може призвести до зруйнування слабкої аглютинації.

1.7. Достовірність всіх негативних антиглобулінових тестів повинна бути підтверджена тестом з еритроцитами, сенсибілізованими IgG.

2. Непрямий антиглобуліновий метод з використанням фізіологічного розчину з низькою іонною силою – LISS.

Непрямий антиглобуліновий тест проводиться в два етапи. На першому здійснюється фіксація антитіл на еритроцитах in vitro, а на другому – їх виявлення в реакції аглютинації за допомогою АГС. Застосування розчину LISS дозволяє скоротити тривалість першого етапу.

2.1. Відмийте еритроцити тричі фізіологічним розчином. Для цього треба додати до верху пробірки фізіологічний розчин, перемішати, центрифугувати протягом 5 min (хв) при 1500 r/min (об/хв). Повністю зливаючи надосадову рідину та ресуспендуючи клітинний згусток при кожному промиванні.

2.2. Приготуйте в розчині LISS 5% суспензію відмитих еритроцитів.

2.3. В чисту промарковану пробірку внесіть:

* при проведенні проби на сумісність - 2 краплі (100 µl (мкл)) суспензії еритроцитів донора та 2 краплі сироватки (плазми) крові реципієнта.
* при скринінгу імунних антитіл – 2 краплі (100 µl (мкл)) суспензії еритроцитів Набір№1Стандартні еритроцити («ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», Україна) та 2 краплі дослідної сироватки (плазми) крові пацієнта.
* при типуванні еритроцитів – 2 краплі (100 µl (мкл)) дослідних еритроцитів та 2 краплі неповних антитіл відомої специфічності.

3.3. Змішайте вміст пробірок легким постукуванням пальців по пробірці.

3.4. Інкубуйте пробірки протягом 20 min (хв) при 37 °С.

3.5. Відмийте еритроцити тричі фізіологічним розчином, повністю видаляючи надосадову рідину після останьої відмивки.

3.6. До осаду додайте 2 краплі (100 µl (мкл)) АГС, змішайте.

3.7. Центрифугуйте пробірки протягом 1 min (хв) при 1000-1500 r/min (об/хв).

3.8. Обережно похитуючи пробірку, відділіть осад від дна та візуально визначте наявність аглютинації. Результат вважається позитивним, якщо еритроцити відділяються від дна у вигляді одного або декількох крупних, іноді багато невеликих аглютинатів. При негативному результаті еритроцити утворюють непрозору гомогенну суспензію.

Примітка. При типуванні еритроцитів неповними антитілами за допомогою непрямого антиглобулінового тесту до досліду необхідно включати стандартні + та – еритроцити.

3. Прямий антиглобуліновий метод

Прямий антиглобуліновий метод використовується для визначення адсорбованих IgG або фрагментів комплементу на еритроцитах. **Проба крові, яку взяли для дослідження, повинна бути свіжою (менш, ніж за 24 h (год) та набраною з антикоагулянтом ЕДТА.**

3.1. Підготувати 3-5% суспензію еритроцитів, що досліджуються, в 0.9% фізіологічному розчині.

3.2. В чітко нумеровану чисту скляну пробірку вносять 1 краплю (50 µl (мкл)) клітинної суспензії.

granum.ua

3.3. Тричі відмити клітини в 0.9 % фізіологічному розчині. Для цього треба додати до верху пробірки фізіологічний розчин, перемішати, центрифугувати протягом 5 min (хв) при 1500 r/min (об/хв). Повністю зливаючи надосадову рідину та ресуспендуючи клітинний згусток при кожному промиванні.
3.4. Повністю удалити надосадову рідину після останнього відмивання.
3.5. До осаду додайте 2 краплі (100 µl (мкл)) АГС та змішайте.
3.6. Центрифугуйте пробірку протягом 1 min (хв) при 1000-1500 r/min (об/хв).
3.7. Обережно похитуючи пробірку, відділить осад від дна та візуально визначте наявність аглютинації. Результат вважається позитивним, якщо еритроцити відділяються від дна у вигляді одного або декількох крупних, іноді багато невеликих аглютинатів. При негативному результаті еритроцити утворюють непрозору гомогенну суспензію.

УВАГА!

Забруднення досліджуваної проби, або недостатнє відмивання нейтралізують антилюдський глобулін.
Можливе отримання хибних результатів через забруднення або відхилення від рекомендацій.
Використання реагенту більше/менше від рекомендованого часу може призвести до отримання неправильних результатів

Контроль якості

В якості контрольного матеріалу рекомендовано використовувати сенсібілізовані та несенсибілізовані стандартні еритроцити людини. 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. Реагенти стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати їх щільно закритим при 2-8 ºC.
3. Розкриті флакони з 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. 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.

granum.ua

Гарантії виробника

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам Технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro № 754 від 02.10.2013р. при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 12 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

	REF 15.013
Вміст	3 ml (мл)
Антиглобулінова сироватка-АГС	1 фл. x 3 ml (мл)

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

granum.ua

Символи на продукції

Виробник **Виготовлено:** Дата виробництва **Придатно до:** Термін придатності **Серія:** Номер серії
IVD Виріб медичний для діагностики in vitro Консультуйтесь 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 **UA.TR.XXX** Ідентифікаційний код ООВ
REF Каталожний номер