



UA.TR.098

УВАГА! ЗМІНА ІНСТРУКЦІЇ!

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

IN VITRO

Тільки для професійного використання.

Зберігати при 2-8 °С

Принцип методу

Моноклональний реагент анти-А 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, отриманий методом біотехнології, не містить антитіл іншої специфічності та інших інгредієнтів, які можуть вплинути на проведення вимірювань. Технологія виготовлення реагенту виключає можливість його контамінації патогенними для людини вірусами.

Призначення

Моноклональний реагент анти-А для визначення груп крові людини за системою АВ0 призначений для визначення груп крові людини шляхом виявлення антигену А еритроцитів людини за допомогою реакції прямої гемаглютинації. При застосуванні моноклонального реагенту анти-А 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 05.07.1999р.).

Склад набору

1. Моноклональний реагент анти-А IgM, 10 ml (мл).
2. Інструкція з використання.
3. Сертифікат якості (Аналітичний паспорт).

Аналітичні характеристики

Реагенти строго специфічні.

1. Моноклональний реагент анти-А містить моноклональні антитіла анти-А класу Ig M в титрі, вказаному в Сертифікаті якості (Аналітичному паспорті). Моноклональний реагент анти-А не повинен давати аглютинації з еритроцитами груп В(III) і 0(I). Моноклональний реагент анти-А виявляє А1 і А2 антигени еритроцитів. Аглютинація еритроцитів з більш слабкими варіантами антигену А настає пізніше, ніж з еритроцитами А1 і А2.
2. Гемаглютинуюча активність на площині моноклонального реагенту анти-А - вказана в Сертифікаті якості (Аналітичному паспорті).
3. 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 °С. 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 °С.

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 $55 \pm 10 \mu\text{l}$ (мкл) кожних антитіл при використанні флакона-крапельниці, що поставляється.

Проведення аналізу

А. Методика на площині

1. На промарковану пластину помістіть 2 краплі моноклонального реагенту анти-А та 2 краплі досліджуваного зразка (у співвідношенні 1:1).
2. Використовуючи чисту паличку-аплікатор, перемішайте реагент та зразок.
3. Спостерігайте за ходом реакції з моноклональним реагентом анти-А візуально при легкому погойдуванні планшету або пластини протягом 1 min (хв). Аглютинація еритроцитів з моноклональним реагентом зазвичай настає в перші 3-10 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 А. Оцінюйте результат макроскопічно над розсіяним світлом і не приймайте нитки фібрину за аглютинацію.
4. Будь-які слабкі реакції слід повторити за методикою пробірки.

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

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-А (50 μl (мкл)) та 1 об'єм суспензії еритроцитів (50 μl (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 холододових 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 пластівці 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 представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

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

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

** Остаточна групова належність досліджуваного зразка за системою АВ0 встановлюється за результатами перехресного визначення антигенів А і В на еритроцитах і ізогемаглютининів 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 відмиті еритроцити зразка крові.

Обмеження

- Антигени АВ0 не повністю сформовані при народженні, тому реакції з пуповинними або неонатальними зразками можуть бути слабкіші.
- Зразки крові слабких підгруп А або В (наприклад, Ах) 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.
- Моноклональні реагенти анти-А та моноклональні реагенти анти-В не перевірені на виявлення Ах та А3 або Вх та В3 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.
- Збережена кров може давати слабші реакції, ніж свіжа кров.
- 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 вартюновими драглями.

Контроль якості

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

При контролі якості необхідно тестувати специфічність, титр та гемаглютинуючу активність зі стандартними еритроцитами групи 0 (I), A1 (II), B (III). Результати контролю повинні відповідати вимогам, зазначеним в Сертифікаті якості (Аналітичному паспорті). Контроль якості проводиться для кожної серії досліджень.



УВАГА!

- ТІЛЬКИ для in vitro діагностики.
- ТІЛЬКИ для використання **професійним медичним персоналом**, що має відповідну кваліфікацію, необхідні здобуті знання та навички.
- Дотримуйтеся вимог інструкції з використання під час використання реагенту.
- Якщо ви не впевнені в результаті інтерпретації проведеного дослідження, зверніться по допомогу до більш досвідченої особи, що має відповідну кваліфікацію та досвід.
- Перевірте відповідність етикетки 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-АВ	білий	блакитно-жовта смужка

Примітка: якщо ви виявили невідповідність кольору етикетки з кольором кришки, негайно зверніться до ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ» для вжиття 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.
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 °С. Допускається транспортування при температурі до 25 °С не більше 5 d (доб) і при температурі до 22 °С не більше 10 d (доб).
2. Моноклональні реагенти стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати їх щільно закритими при 2-8 °С.
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 Технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro № 754 від 02.10.2013р. при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 30 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 15.001	REF 15.015
Вміст	10 ml (мл)	50 ml (мл)
Моноклональний реагент анти-A	1 фл. x 10 ml (мл)	5 фл. x 10 ml (мл)

 ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», Україна, 61001, м. Харків, вул. Франківська, 14.

Тел./факс: (057) 752-32-31, www.granum.ua

Символи на продукції

 Виробник	Виготовлено: Дата виробництва	Придатно до: Термін придатності	Серія: Номер серії
 IVD	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	UA.TR.XXX Ідентифікаційний код ООВ		
 REF	Каталожний номер		