

**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 (pH 6,8-7,2) або фізіологічний розчин (pH 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**

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

##### **A. 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.

##### **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-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 холодових 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 сенсibilізовані 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).

- Моноклональні реагенти стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати їх щільно закритими при 2-8 °С.
- 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.
- 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:

- Недотримання умов використання, зберігання, транспортування.
- Закінчення терміну придатності виробу.
- Невідповідна температура навколишнього середовища.
- Падіння або удар, що призвели до пошкодження первинної упаковки виробу.
- Забруднення реагенту шляхом недотримання умов чистоти приміщення або необхідного устаткування.

**Гарантії виробника**

- 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.
- 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                                                                                  |
|  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                                                                        | <b>REF</b> Каталожний номер                                                                                |