



UA.TR.098

Інструкція з використання моноклонального реагенту анти-D для визначення груп крові людини за системою Rhesus анти-D 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

В основі дії моноклонального реагенту анти-D для визначення груп крові людини за системою Rhesus лежить реакція непрямой аглютинації D+ еритроцитів. Оскільки антитіла анти-D класу IgG після зв'язування з D+ еритроцитами не викликають їх аглютинації, необхідно додати антиглобулінову сироватку або розчин желатину, які викликають утворення аглютинатів з еритроцитами, що спостерігаються неозброєним оком. Реакція непрямой аглютинації за допомогою антиглобулінової сироватки є найбільш чутливим методом виявлення D-антигену і його слабких варіантів.

Призначення

Моноклональний реагент з антитілами анти-D класу Ig G для визначення груп крові людини за системою Rhesus застосовується для встановлення резус належності шляхом визначення антигену D еритроцитів людини при проведенні тесту в пробірках (непрямий антиглобуліновий тест).

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 05.07.1999 р.).

Склад набору

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

Аналітичні характеристики

Моноклональний реагент анти-D містить моноклональні антитіла анти-D класу Ig G в титрі, вказаному в Сертифікаті якості (Аналітичному паспорті). Моноклональний реагент анти-D забезпечує високочутливе і специфічне зв'язування з D+ еритроцитами. Використання моноклонального реагенту анти-D дозволяє виявляти на еритроцитах не тільки нормальний антиген D, але і його слабкі варіанти - Du.

Моноклональний реагент анти-D специфічний, тобто не зв'язується з D-еритроцитами. Моноклональний реагент анти-D має високу аглютинуючу активність, а саме, здатність при титруванні викликати повну аглютинацію D еритроцитів в перших трьох розведеннях. Титр реагенту в непрямому антиглобуліновому тесті з резус-позитивними еритроцитами вказан в Сертифікаті якості (Аналітичному паспорті). У складі реагенту не міститься добавок, здатних викликати неспецифічну поліаглютинацію еритроцитів, тому не потрібно проведення контролю розчинника.

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

- пробірки центрифужні градузовані;
- пробірки круглодонні серологічні місткістю 5.0-10.0 ml (мл);
- 96-лунковий круглодонний планшет для імунологічних реакцій;
- піпетки мірні місткістю 10 ml (мл) ;
- піпетки напівавтоматичні одноканальні зі змінними наконечниками, що дозволяють відбирати об'єми рідини 50 і 100 µl (мкл);
- центрифуга настільна з адаптерами для пробірок і мікроплат, 100-3000 г/min (об/хв) ;
- шейкер для мікроплат;
- термостат лабораторний або баня водяна, які підтримують температуру $37 \pm 1^\circ\text{C}$ і $48 \pm 1^\circ\text{C}$;
- секундомір;
- 0.9% фізіологічний розчин;
- розчин з низькою іонною силою LISS або аналог;
- антиглобулінова сироватка;
- розчин желатину 10%;
- стандартні еритроцити D+, D- (2-5%);
- рукавички медичні одноразові.

Підготовка реагентів для аналізу

Реагенти готові до використання. Реагенти дістати з холодильника і витримати при кімнатній температурі 15 min (хв). Використовуйте реагент прямо з флаконів. Досліджувані еритроцити відмийте тричі 0.9% фізіологічним розчином (ФР) і приготуйте 2-5% суспензію еритроцитів в ФР або в розчині з низькою іонною силою (LISS).

Проведення аналізу**1. Проведення реакції непрямой аглютинації за допомогою антиглобулінової сироватки.**

1.1. Внесіть 100 µl (мкл) 2-5% суспензії еритроцитів в промарковану круглодонну пробірку або 50 µl (мкл) до лунки круглодонного планшета.

1.2. Додайте в пробірку 2 краплі (100 µl (мкл)), а до лунки - 1 краплю (50 µl (мкл)) моноклонального реагенту анти-D з флакона-крапельниці і змішайте.

1.3. Інкубуйте суміш 45-60 min (хв) при 37°C, якщо еритроцити розведені в ФР, і 15 min (хв), якщо еритроцити розведені в розчині LISS.

1.4. Відмийте суміш один раз ФР, щоб повністю зняти супернатант після відмивання.

1.5. До осаду в пробірці додайте 2 краплі (100 µl (мкл)), а до лунки планшета 1 краплю (50 µl (мкл)) антиглобулінової сироватки і ретельно змішайте.

1.6. негайно центрифугуйте пробірку або планшет 1 min (хв) при 1500 g/min (об/хв).

1.7. М'яко похитуючи пробірку, відокремте осад від дна і визначте наявність аглютинації. При нечіткому результаті проінкубуйте пробірку або планшет 10-15 min (хв) при кімнатній температурі, після чого повторіть центрифугування 1 min (хв) при 1500 g/min (об/хв), знову м'яко похитуйте пробірку або планшет і визначте наявність аглютинації.

Оцінка результатів

Результат реакції може бути позитивним або негативним.

В пробірці при позитивному результаті еритроцити утворюють один або кілька грудочок (аглютинатів) на тлі просвітленої рідини. При негативному результаті - спостерігається гомогенна непрозора суспензія еритроцитів.

У планшеті при позитивному результаті еритроцити вистилають все дно лунки, при негативному - збираються на дні лунки у вигляді маленької чіткої точки.

Позитивний результат свідчить про наявність на еритроцитах D антигену. У сумнівних випадках вдаються до допомоги мікроскопа. Еритроцити зі слабким варіантом антигену D (DVI) можуть давати результат у вигляді дрібної аж до пилоподібної аглютинації.

2. Реакція конглоютинації з желатином.

2.1. У круглодонну пробірку внесіть 1 краплю (50 μ l (мкл)) відмитих еритроцитів.

2.2. Додайте 1 краплю (50 μ l (мкл)) моноклонального реагенту анти-D.

2.3. Додайте 2 краплі 10% розчину желатину, попередньо підігрітого при 45-50°C до розрідження.

2.4. Суміш ретельно перемішайте та інкубуйте 10-15 min (хв) на водяній бані при 48°C або 30 min (хв) в термостаті.

2.5. Додайте в пробірку 5-6 ml (мл) ФР і після обережного перевертання пробірки візуально оцініть наявність аглютинатів у вигляді, як правило, декількох щільних грудочок або суспензії дрібних аглютинатів.

Оцінка результатів

Результат реакції може бути позитивним або негативним.

Позитивний результат свідчить про наявності на еритроцитах D антигену. Дуже дрібна аглютинація свідчить про наявність на еритроцитах одного з слабких варіантів D антигену - Du.

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

Контроль якості (специфічності)

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

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 02.10.2013 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

	REF 15.005
Вміст	10 ml (мл)
Моноклональний реагент анти-D	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

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