

МОНОКЛОНАЛЬНІ РЕАГЕНТИ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ГРУПИ КРОВІ ANTI-D (IgM/IgG)

Для методик визначення в пробірці, DiaMed-ID, з використанням мікропланшета та предметного скла

B05408, Anti-D (IgM/IgG)

Каталог. №: B05408

Виробник : DIALAB (Австрія)

Методика від 06-2008

Версія 02



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

Кат. №		
B05408	1 x 10 мл	Anti-D (IgM/IgG), моноклональний
B08408	1 x 100 мл	Anti-D (IgM/IgG), моноклональний

Тільки для використання в in-vitro діагностиці!

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

Систему групи крові (у тому числі Резус-фактор) було розроблено в 1940 році. Антиген D є найбільш клінічно значущим не-ABO антигеном еритроцитів і бере участь у виникненні реакції Гемолітичного Переливання і Гемолітичної Хвороби новонароджених.

Анти-D	Фенотип	Кавказці %	Афро-американці %
+	Rh D позитивний	85	72
0	Rh D негативний	15	28

Таблиця 1: Частота кожного антигену в популяції.

ПРИНЦИП

Реагенти спричиняють пряму аглютинацію (злипання) тестових червоних клітин, які несуть антиген D, і непряму аглютинацію тестових червоних клітин, які відносяться до Категорії D^{VI} в антиглобуліновій фазі тестування. Відсутність аглютинації зазвичай вказує на відсутність антигену D (див. ОБМЕЖЕННЯ).

РЕАГЕНТ

Моноклональний реагент Dialab анти-D (IgM/IgG) для визначення групи крові є реагентом з низьким вмістом білка, змішаний реагент, що містить людські моноклональні IgM і IgG анти-D, розбавлені в фосфатному буфері, що містить хлорид натрію (0.9 г %), бичачий альбумін (3 г %) і високомолекулярні підсилювачі. При введенні зразка пацієнта, цей реагент безпосередньо аглютинує Rh D позитивні клітини, в тому числі більшість варіантів (але не D^{VI}) і високу частку фенотипів слабого D (D^U) при використанні рекомендованих методик. Реагент поставляється в оптимальному розведенні для використання на зразках пацієнтів з усіма рекомендованими методиками, викладених нижче, без необхідності подальшого розведення або додавання. Номер лоту і термін придатності зазначені на Етикетці.

IgM/IgG	Клітинна лінія/Клон
IgM	RUM-1
IgG	MS-26

Таблиця 2: Клітинні лінії/клони IgM/IgG людини, які використовуються

ПОСЛАБЛЕНА ЕКСПРЕСІЯ АНТИ-D

Збірний термін D^U широко використовується для опису еритроцитів, які мають слабку експресію антигену D, ніж зазвичай. Термін «слабкий D» позначає осіб із зменшеною кількістю повних сайтів антигену D на еритроцитах. Термін «частковий D» позначає осіб з відсутніми епітопами антигену D. D^{VI} є категорією часткового D, в якій відсутня більшість епітопів D. Реагент Анти-D (IgM/IgG) Dialab виявляє більшість часткових і слабких D еритроцитів шляхом безпосередньої аглютинації, але не виявляє клітини D^{VI}. Цей реагент виявляє клітини D^{VI} і часткові D клітини в фазі ІАТ.

ЗБЕРІГАННЯ

Не заморожувати. Флакон з реагентом слід зберігати при температурі 2-8

°C після отримання. Тривале зберігання при температурах за межами цього діапазону може привести до прискореної втрати реактивності реагентів.

ЗБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Зразки крові, зібрані з або без антикоагулянту, можуть бути використані для визначення антигену. Якщо тестування відкладається, зберігати зразки при температурі 2-8 °C. EDTA або цитратні зразки повинні бути аналізовані протягом 48 годин. Зразки, зібрані в ACD, CPD або CPDA-1, можуть аналізуватись протягом до 35 днів від дати забору. Всі зразки крові слід мити принаймні двічі з PBS перед тестуванням. Зразки крові з ознаками лізису можуть давати недостовірні результати.

КОНТРОЛІ І ЗАУВАЖЕННЯ

- Рекомендується тестування позитивного контролю (в ідеалі клітини R_{1r}), негативного контролю (в ідеалі клітини rr) і негативного контролю реагенту паралельно з кожною серією тестів. Результати вважати недійсними, якщо контролю не показують очікуваних результатів.
- При тестуванні еритроцитів від пацієнта важливо, щоб негативний контроль реагенту був включений, так як макромолекулярні потенціатори в реагенті можуть викликати помилкові позитивні реакції з IgG покритими клітинами, наприклад, у випадках A1HA або HDN.
- Тестування зразків для визначення категорії D^{VI} проводити тільки методикою Непрямого Антиглобуліну і методикою Coombs DiaMed-ID.
- Слабкі і варіативні антигени D погано виявляються за допомогою методики гель-карти, мікروتитраційного планшета і методики слайдів. Рекомендується тестування слабких і часткових варіацій з використанням техніки в пробірці.
- Методика визначення антиглобуліну в пробірці може вважатись дійсною тільки якщо всі негативні тести реагують позитивно з IgG сенсibilізованими еритроцитами.
- У РЕКОМЕНДОВАНИХ МЕТОДИКАХ один об'єм це приблизно 50 мкл при використанні піпетки, яка постачається з флаконом 10 мл.
- Застосування реагентів і інтерпретація результатів повинні здійснюватися спеціально навченим і кваліфікованим персоналом відповідно до вимог країни, в якій реагенти знаходяться у використанні.
- Користувач повинен визначити придатність реагентів для використання в інших методиках.

НЕОБХІДНІ РЕАГЕНТИ ТА МАТЕРІАЛИ

- Реагент Анти-людського глобуліну або Анти-IgG
- Аплікатурні палички
- Автоматичний планшетний рідер
- Вошер клітин Кумбса
- DiaMed ID-карти (LISS/Кумбс)
- DiaMed ID-карти (Нейтральні)
- DiaMed ID-Центрифуга
- DiaMed ID-Розчинник: наприклад, ID-CellStab
- DiaMed ID-Інкубатор з температурою 37 °C ± 2 °C
- Скляні предметні скла
- Скляні пробірки (10 x 75 мм або 12 x 75 мм)
- IgG сенсibilізовані еритроцити
- Мікропланшетна центрифуга
- Касети Системи Орто BioVue (АНГ/Кумбс)
- Касети Системи Орто BioVue (Нейтральні)
- Центрифуга Системи Орто BioVue
- Тепловий Блок Системи Орто BioVue з температурою 37 °C ± 2 °C
- Розчинник еритроцитів Орто 0.8%
- Планшетний шейкер
- Фосфатно-сольовий буфер (PBS): NaCl 0.9%, pH 7.0 ± 0.2 при 22 °C ± 1 °C
- Позитивні (в ідеалі R_{1r}) і негативні (rr) контрольні еритроцити
- Центрифуга для пробірок
- Затверджені мікропланшети з "U" лунками
- Об'ємні дозатори
- Водяна баня або сухий теплий інкубатор з температурою 37 °C ± 2 °C

РЕКОМЕНДОВАНІ МЕТОДИКИ

А. Методика визначення в пробірці:

- Приготувати 2-3% суспензію промитих в PBS аналізованих еритроцитів.
- Помістити в пробірку з написом: 1 об'єм реагенту Dialab Анти-D (IgM/IgG) і 1 об'єм суспензії еритроцитів, що аналізуються.
- Ретельно перемішати і центрифугувати все пробірки протягом 20

секунд при 1000 rcf або протягом відповідного альтернативного часу і сили.

4. Обережно ресуспендувати згусток еритроцитів і зчитати макроскопічно аглютинацію.
5. Будь-які пробірки, які показують негативний або сумнівний результат (який може статися зі зразками D^a або зразками слабого D), повинні інкубуватись протягом 15 хвилин при кімнатній температурі.
6. Після інкубації повторити кроки 4 і 5.

V. Методика DiaMed-ID Micro Typing Technique (Нейтральні карти):

1. Приготувати 2-3% суспензію промитих в ID-розчиннику аналізованих еритроцитів.
2. Видалити алюмінієву фольгу з необхідної кількості мікропробірок.
3. Додати у відповідну мікропробірку: 50 мкл суспензії еритроцитів, що аналізуються, і 25 мкл реагенту Dialab Анти-D (IgM/IgG).
4. Центрифугувати ID-Карту(и) в центрифугі гель-карток Діамед.
5. Зчитати аглютинацію макроскопічно.

C. Методика Ortho BioVue Typing Technique (Нейтральні карти):

1. Приготувати 0.8% суспензію промитих в 0.8% Ortho розчиннику аналізованих еритроцитів.
2. Видалити алюмінієву фольгу з необхідної кількості реакційних камер.
3. Додати у відповідну реакційну камеру: 50 мкл суспензії еритроцитів, що аналізуються, і 40 мкл реагенту Dialab Анти-D (IgM/IgG).
4. Центрифугувати касету(и) в центрифугі Ortho BioVue System.
5. Зчитати аглютинацію макроскопічно.

D. Методика визначення на мікропланшеті, з використанням "U" лунок:

1. Приготувати 2-3% суспензію промитих в PBS аналізованих еритроцитів.
2. Помістити в пробірку з написом: 1 об'єм реагенту Dialab Анти-D (IgM/IgG) і 1 об'єм суспензії еритроцитів, що аналізуються.
3. Ретельно перемішати, бажано з використанням мікропланшетного шейкера, уникаючи перехресного забруднення лунок.
4. Інкубувати при кімнатній температурі протягом 15 хвилин (в залежності від оператора).
5. Центрифугувати мікропланшет протягом 1 хвилини при 140 rcf або протягом відповідного альтернативного часу і сили.
6. Ресуспендувати згустки еритроцитів з використанням ретельного контрольованого струшування на мікропланшетному шейкері.
7. Зчитати результати мікроскопічно або з затвердженням автоматичним зчитувачем.
8. Будь-які слабкі реакції слід перевірити за допомогою методики визначення в пробірці.

E. Методика визначення з використанням предметного скла:

1. Підготувати 35-45% суспензію аналізованих еритроцитів в сироватці, плазмі або PBS.
2. Помістити на предметне скло з підписом: 1 об'єм реагенту Dialab Анти-D (IgM/IgG) і 1 об'єм суспензії еритроцитів, що аналізуються.
3. Використовуючи чистий аплікатор, змішати реагент і клітини на площі близько 20x40 мм.
4. Повільно нахилити скло назад і вперед протягом 30 секунд, при періодичному подальшому змішуванні протягом 2-хвилинного періоду, підтримуючи скло при кімнатній температурі.
5. Зчитати результат макроскопічно через 2 хвилини у розсіяному світлі і не переплутати нитки фібрину з аглютинацією.
6. Будь-які слабкі реакції слід перевірити за допомогою методики визначення в пробірці.

ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ТЕСТУ

1. **Позитивний:** Аглютинація досліджуваних еритроцитів являє собою позитивний результат тесту і в межах прийнятих обмежень процедури випробувань, і свідчить про наявність антигену D на еритроцитах, що тестуються.
2. **Негативний:** Відсутність аглютинації досліджуваних еритроцитів являє собою негативний результат, який знаходиться в межах прийнятих обмежень процедури випробування, і вказує на відсутність антигену D на еритроцитах, що тестуються.
3. Результати випробувань клітин, які аглютинуються при використанні негативного контролю реагенту, повинні бути виключені, оскільки аглютинація найбільш ймовірно обумовлена ефектом макромолекулярних підсилювачів в реагенті на сенсibilізованих клітинах.

СТАБІЛЬНІСТЬ РЕАГЕНТІВ

1. Зчитувати результати всіх тестів в пробірці і на мікропланшеті

відразу після центрифугування.

2. Виконувати всі кроки промивки без перерви; центрифугувати і зчитувати результати відразу після додавання анти-людського глобуліну, оскільки затримки можуть привести до дисоціації комплексів антиген-антитіло, що призводить до помилкових негативних або слабо позитивних реакцій.
3. Слайдові тести слід інтерпретувати протягом двох хвилин, щоб забезпечити специфічність і щоб уникнути можливості неправильної інтерпретації негативного результату як позитивного через висихання реагенту.
4. Слід проявляти обережність в інтерпретації результатів випробувань, проведених при інших температурах, ніж ті, які рекомендовані.

ОБМЕЖЕННЯ

1. Dialab Анти-D (IgM/IgG) не підходить для використання з оброблених ферментом клітин або клітин, підвішених в LISS.
2. Консервована кров може давати слабші реакції, ніж свіжа кров.
3. Хибно позитивна аглютинація може бути отримана при тестуванні сенсibilізованих IgG клітин.
4. Помилкові позитивні або помилкові негативні результати можуть також виникати через:
 - Забруднення тестових матеріалів
 - Неправильне зберігання, концентрацію клітин, час інкубації або температуру
 - Неправильне або надмірне центрифугування
 - Відхилення від рекомендованих методів

СПЕЦИФІЧНІ ТЕХНІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

1. Реагент оцінювався зі всіма процедурами, згаданими у **РЕКОМЕНДОВАНИХ МЕТОДИКАХ**.
2. Перед випуском кожна партія Моноклональних Реагентів Dialab Анти-D (IgM/IgG) перевіряється **РЕКОМЕНДОВАНИМИ МЕТОДИКАМИ** проти панелі антиген-позитивних еритроцитів, щоб забезпечити відповідну реакційну здатність.
3. Групові реагенти Анти-D для групи D пацієнтів не повинні вступати в реакцію з клітинами D^v з використанням методу(iv), рекомендованого(их) для використання. "Наступні" тести негативних результатів з використанням антиглобулінової процедури не рекомендуються.
4. Специфічність вихідних моноклональних антитіл продемонстрована з використанням панелі антиген-негативних клітин.
5. Ефективність реагенту була протестована проти наведених нижче еталонів мінімальної потенції, отриманих з Національного Інституту Біологічних Стандартів і Контролів (NIBSC):
 - Довідковий Анти-D 99/836
6. Контроль Якості реагенту проводили з використанням еритроцитів, які були двічі промиті з PBS перед використанням.
7. Реагент відповідає рекомендаціям, що містяться в останньому випуску Керівництва для Установ по переливанню крові Великобританії.

ОБМЕЖЕННЯ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ

1. Користувач несе відповідальність за використання реагенту будь-яким іншим способом, окрім тих, які згадані в **РЕКОМЕНДОВАНИХ МЕТОДИКАХ**.
2. Будь-які відхилення від **РЕКОМЕНДОВАНИХ МЕТОДИК** повинні бути підтверджені перед використанням.

ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

1. Реагент призначений тільки для діагностичного використання in vitro.
2. Якщо контейнер з реагентом має тріщини або протікання, відмовитись від його використання.
3. Не використовуйте реагент після закінчення терміну придатності (див. етикетку).
4. Не використовуйте реагент якщо присутній осад.
5. Вдягати захисний одяг при роботі з реагентами, такий як одноразові рукавички і халат.
6. Реагент був відфільтрований через капсулу 0.2 мкм, щоб зменшити біо-вагу. Після того, як контейнер було відкрито, вміст повинен залишатися життєздатним аж до закінчення терміну придатності до тих пір, поки немає помітного помутніння, яке може вказувати на псування реагентів або забруднення.
7. Реагент містить < 0.1% азиду натрію. Азид натрію може бути токсичний при контакті і може реагувати зі свинцем і міддю і формувати вибухонебезпечні азиди металів. При видаленні змити з великими обсягами води.
8. Матеріали, які використовуються для виробництва реагенту, були перевірені на джерело і виявилися негативними на ВІЛ 1+2 і антитіла

до HCV і HBsAg з використанням затверджених мікробіологічних тестів.

9. Жоден з відомих тестів не може гарантувати, що продукти, отримані з джерел людини або тварин, вільні від інфекційних агентів. Необхідно дотримуватися обережності при використанні і утилізації кожного контейнера і його вмісту.

УТИЛІЗАЦІЯ РЕАГЕНТІВ І ДІЇ ПРИ ПРОЛИВАННЯХ

Для отримання інформації про утилізацію реагентів і знезараження зон, де відбулося проливання реагенту, див. **Паспорти Безпеки**, який надається на вимогу.



УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ»
вул.Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com

