

АНТИ-HG, ПОЛІСПЕЦИФІЧНИЙ/МОНОКЛОНАЛЬНИЙ

Anti-HG, polyspecific/monoclonal

Кат. №: **B05181**

Дата випуску інструкції: **2021-08-18**
Версія **08**



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

Кат. № **Вміст**
B05181 1 x 10 мл (мл) анти-HG, поліспецифічний/моноклональний

Тільки для професійного використання в діагностиці in vitro!

ПРИЗНАЧЕННЯ

Ці реагенти є поліспецифічними реагентами для визначення груп крові, призначеними для якісного виявлення наявності або відсутності сенсibilізуючих антитіл IgG (всі 4 підкласи) і факторів комплементу C3d і C3b на еритроцитах людини при тестуванні відповідно до рекомендованих методів, зазначених у цій інструкції.

ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

У 1945 році Кумбс, Мурант і Рейс описали використання сироватки проти глобуліну людини для виявлення неаглютинуючих антитіл, зв'язаних з еритроцитами. У 1957 році Dacie et al показали, що антитіла, присутні в антиглобулінових сироватках, були спрямовані проти певних компонентів комплементу. Реагенти проти глобуліну людини виявляють неаглютинуючі молекули антитіл, а також молекули комплементу, приєднані до еритроцитів після реакцій антиген-антитіло in vivo або in vitro.

ПРИНЦИП ТЕСТУ

При використанні рекомендованих методів реагенти будуть реагувати з імуноглобулінами IgG та/або факторами комплементу C3 (C3d і C3b), прикріпленими до поверхні червоних клітин, що призведе до аглютинації (злипання) сусідніх сенсibilізованих клітин. Нечутливі клітини не аглютинуються (див. ОБМЕЖЕННЯ).

СКЛАД РЕАГЕНТУ

Анти-HG, поліспецифічний/моноклональний реагент від DIALAB містить анти-IgG, отриманий від кроликів з неспецифічною активністю, видаленою шляхом поглинання, і мишачий моноклональний IgM анти-C3d, клон BRIC-8. Антитіла розводять у буферному розчині, що містить бичачий альбумін. Реагенти не містять і не складаються з речовин CMR, речовин, що порушують роботу ендокринної системи, або які можуть призвести до сенсibilізації або алергічної реакції у користувача. Кожен реагент постачається в оптимальному розведенні для використання з усіма рекомендованими методами, наведеними нижче, без необхідності додаткового розведення або додавання. Референсний номер лоту та термін придатності див. на **етикетці флакону**.

Реагент	Колір	Використаний барвник
Анти-HG, поліспецифічний / моноклональний	Зелений	Патентний синій і тартразин

НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ В НАБОРІ

- Омивач клітин Кумбса
- Скляні пробірки (10 x 75 мм (мм) або 12 x 75 мм (мм))
- IgG сенсibilізовані еритроцити
- Інертне антитіло (інертна АВ сироватка)
- Розчин з низькою іонною силою (LISS): містить 0.03 M NaCl, 0.003 M Na₂HPO₄; NaH₂PO₄ буфер pH 6.7 при 22°C (°C) ± 1°C (°C) і 0.24 M гліцин
- Розчин PBS (pH 6.8 – 7.2) або ізотонічний сольовий розчин (pH 6.5 – 7.5)
- Об'ємні піпетки
- Водяна баня або інкубатор сухого тепла, налаштований до 37°C (°C) ± 2°C (°C)
- Слабкий анти-D

ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

Реагент готовий до використання.

Перед використанням дайте реагенту нагрітися до кімнатної температури. Як тільки реагент буде використаний, помістіть реагент знову на зберігання при 2-8 °C (°C).

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Після отримання флакони з реагентами слід зберігати при 2-8 °C (°C). Тривале зберігання при температурах поза цим діапазоном може призвести до прискореної втрати реакційної здатності реагенту. Цей реагент пройшов дослідження стабільності при транспортуванні при 37°C (°C) та -25°C (°C), як описано в документі EN 23640:2015.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

- Укажіть небезпеки щодо зберігання, використання або утилізації.
- Реагент призначений лише для діагностики in vitro.
- Якщо флакон для реагенту тріснув або протікає, негайно утилізуйте його вміст.
- Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності (див. етикетку флакону).
- Не використовуйте реагенти, якщо є осад.
- Під час роботи з реагентами слід носити захисний одяг, наприклад одноразові рукавички та лабораторний халат.
- Реагент був відфільтрований через капсулу 0.2 мкм (µm), щоб зменшити біологічне навантаження, але не постачається стерильним. Після відкриття флакону, вміст повинен залишатися дійсним до закінчення терміну придатності, доки немає помітного помутніння, що може свідчити про погіршення або забруднення реагенту.
- Реагент містить < 0.1% азиду натрію. Азид натрію може бути токсичним при попаданні всередину і може вступати в реакцію зі свинцевими та мідними трубами, утворюючи вибухонебезпечні азиди металів. Після утилізації змити великою кількістю води.
- Матеріали, використані для виробництва реагенту, були протестовані на джерелі та дали негативний результат на антитіла до ВІЛ 1+2 та ВГС та HBsAg за допомогою затверджених мікробіологічних тестів.
- Жодні відомі тести не можуть гарантувати, що продукти людського або тваринного походження, не містять інфекційних агентів. Необхідно бути обережними при використанні та утилізації кожного флакону та його вмісту.
- У ПРОЦЕДУРІ ТЕСТУВАННЯ один об'єм становить приблизно 50 мкл (µL) при використанні наданої в комплекті піпетки для флакону.
- Використання реагентів та інтерпретація результатів повинні виконуватися належним чином підготовленим та кваліфікованим персоналом відповідно до вимог країни, де використовуються реагенти. Користувач повинен визначити придатність реагентів для використання в інших методах.

ЗАБІР ТА ЗБЕРІГАННЯ ЗРАЗКА

Цей тест можна використовувати зі свіжими зразками цільної крові людини.

Зразки повинні бути зібрані асептично в ЕДТА, щоб запобігти зв'язуванню комплементу in vitro, і якомога швидше протестовані. Якщо ЕДТА недоступна, зразки, зібрані в ACD, CPD або CPDA-1, є кращими, ніж згорнуті. Якщо доступні лише згорнуті зразки, не охолоджуйте їх перед тестуванням.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТУВАННЯ

А. Прямий антиглобуліновий тест (DAT)

1. Промийте 1 об'єм досліджуваних еритроцитів (2-3% суспензії в PBS або ізотонічному фізіологічному розчині) 4 рази PBS або ізотонічним фізіологічним розчином, подбайте про декантацию фізіологічного розчину між промиваннями та ресуспендуйте кожну кнопку клітини після кожного промивання. Після останнього миття повністю злийте фізіологічний розчин.
2. Додайте 2 об'єми DIALAB антилюдського глобуліну до кожної кнопки сухої клітини.
3. Ретельно перемішайте та центрифугуйте всі пробірки протягом 20 секунд при 1000 gsf або для відповідного альтернативного часу та сили.
4. Акуратно ресуспендуйте кнопку еритроцитів і перевірте макроскопічно на наявність аглютинації.

В. Непрямий антиглобуліновий тест (NISS IAT):

1. Приготуйте 2-3% суспензію промитих досліджуваних еритроцитів у PBS або ізотонічному розчині.
2. Помістіть у пробірку з маркуванням: 2 об'єми досліджуваної сироватки та 1 об'єм досліджуваної суспензії еритроцитів.
3. Ретельно перемішайте та інкубуйте при 37°C (°C) протягом 15 хвилин.

- Промийте досліджувані еритроцити 4 рази розчином PBS, подбайте про декантацію фізіологічного розчину між промиваннями та ресуспендуйте кожну кнопку еритроцитів після кожного промивання. Після останнього миття повністю злийте фізіологічний розчин.
- Додайте 2 об'єми DIALAB антилюдського глобуліну до кожної кнопки сухої клітини.
- Ретельно перемішайте та центрифугуйте всі пробірки протягом 20 секунд при 1000 rcf або для відповідного альтернативного часу та сили.
- Обережно ресуспендуйте кнопку кожного еритроцита та перевірте макроскопічно на наявність аглютинації.

C. LISS Непрямий антиглобуліновий тест (LISS IAT)

- Приготуйте 1.5-2 % суспензію промитих досліджуваних еритроцитів у LISS.
- Помістіть у пробірку з маркуванням: 2 об'єми досліджуваної сироватки та 2 об'єми досліджуваної суспензії еритроцитів.
- Ретельно перемішайте та інкубуйте при 37°C (°C) протягом 15 хвилин.
- Виконайте кроки з 4 по 7 NISS IAT вище.

ПРИМІТКА: Етапи промивання слід виконувати без перерви, а тести центрифугувати та зчитувати одразу після додавання реагенту. Затримки можуть призвести до дисоціації комплексів антиген-антитіло, викликаючи хибно негативні або слабко позитивні результати.

ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

- Позитивний:** Аглютинація досліджуваних еритроцитів є позитивним результатом тесту і в межах прийнятих обмежень процедури тестування, вказує на наявність IgG та/або комплементу (C3d/C3b) на досліджуваних еритроцитах.
- Негативний:** Відсутність аглютинації досліджуваних еритроцитів є негативним результатом і в межах прийнятих обмежень процедури тестування, вказує на відсутність IgG та/або комплементу (C3d/C3b) на досліджуваних еритроцитах.

ПРИМІТКА: Слід бути обережними при інтерпретації результатів тестів, проведених при температурах, що відрізняються від РЕКОМЕНДОВАНИХ.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ТА КАЛІБРУВАННЯ

- Рекомендується тестувати позитивний (слабкий анти-D < 0.1 МО/мл (IU/mL)) та негативний контроль (інертна сироватка) паралельно з кожною партією тестів. Тести повинні вважатися недійсними, якщо контроль не показує очікуваних результатів.
- Антиглобулінові методи можна вважати дійсними лише в тому випадку, якщо всі негативні тести позитивно реагують на сенсифіковані IgG еритроцити.

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Перед випуском кожен лот реагентів був перевірений за допомогою рекомендованих методів тестування, перерахованих у цій інструкції, на еритроцити, покриті анти-D, анти-K та анти-Fy_a, щоб перевірити відповідну реакційну здатність. Тести відповідали вимогам до тестування, як зазначено в поточній версії/випуску «Керівництва для служб переливання крові у Сполученому Королівстві».
- Ефективність анти-C3d продемонстрована в тестах із застосуванням клітин, покритих C3d і C3b.
- Наявність контамінуючих гетероспецифічних аглютининів або антитіл до C4d була виключена в тестах із застосуванням еритроцитів усіх груп ABO та клітин, покритих C4d.
- Реакційна здатність будь-яких компонентів анти-IgM, анти-IgA або анти-легкого ланцюга, які можуть бути присутніми, не встановлена.

ВІДСТЕЖУВАНІСТЬ

Ефективність анти-IgG та анти-C3d була перевірена відповідно до наступного стандарту мінімальної ефективності, отриманого від Національного інституту біологічних стандартів та контролю (NIBSC): Анти-ANG референсний стандарт 96/666.

ОЧІКУВАНІ РЕЗУЛЬТАТИ

Контроль якості реагентів проводили з використанням еритроцитів із фенотипами, які були підтверджені центром переливання крові Великої Британії та були промиті PBS або ізотонічним сольовим розчином перед використанням.

ОБМЕЖЕННЯ

- Користувач несе відповідальність за роботу реагенту будь-яким методом, окрім тих, що зазначені в ПРОЦЕДУРІ ТЕСТУВАННЯ.
- Будь-які відхилення від ПРОЦЕДУРИ ТЕСТУВАННЯ повинні бути

перевірені перед використанням.

- Еритроцити, які мають позитивний DAT через покриття IgG, не можуть бути введені за допомогою непрямих антиглобулінових методів.
- Недостатнє промивання еритроцитів за допомогою непрямих антиглобулінових методів може нейтралізувати реагент антилюдського глобуліну.
- Після завершення фази промивання залишки фізіологічного розчину може розвести глобулін проти людини, знижуючи його дію.
- Негативний результат прямого антиглобулінового тесту не обов'язково виключає клінічний діагноз ABO гемолітичної хвороби новонароджених або аутоімунної гемолітичної анемії. Він також може не виключати HDN, особливо якщо підозрюється несумісність ABO.
- Хибно позитивні або хибно негативні результати можуть також виникати через:
 - Забруднення тестового матеріалу
 - Неправильне зберігання, концентрація клітин, час інкубації та температуру
 - Неправильне або надмірне центрифугування

ПОВОДЖЕННЯ З ВІДХОДАМИ

Інформацію про утилізацію реагенту та знезараження місця розливу див. у **Паспорті безпеки хімічних матеріалів**, який доступний за запитом.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Coombs RRA, Mourant AE, Race RR. A new test for the detection of weak and "incomplete" Rh antibodies. *Brit J Exp Pathol.* 1945; 26:255.
- Wright MS, Issit PD. Anti-complement and the indirect antiglobulin test. *Transfusion* 1979; 19:688-694.
- Howard JE, Winn LC, Gottlieb CE, Grumet FC, Garratty G, Petz LD. Clinical significance of the anti-complement components of anti-globulin antisera. *Transfusion* 1982; 22:269.
- Howell P, Giles CM. A detailed serological study of five anti-Jka sera reacting by the antiglobulin technique. *Vox. Sang.* 1983; 45: 129-138.
- Issitt PD, Smith TR. Evaluation of antiglobulin reagents. A seminar on performance evaluation. Washington, DC. American Association of Blood Banks. 1976; 25-73.
- The Department of Health and Social Security. Health Services Management Antiglobulin Test. False negative results, HN (Hazard) (83) 625 Nov 1983.
- Bruce M, Watt AH, Hare W, Blue A, Mitchell R. A serious source of error in antiglobulin testing. *Transfusion* 1986; 26: 177-181.
- The anti-complement reactivity low ionic methods as published by FDA. Recommended Methods for Anti-Human Globulin Evaluation (revision October 1984).
- Dynan PK. Evaluation of commercially available low ionic strength salt (LISS) solutions. *Med Lab Sci* (1981) 381: 13-20.
- Voak D, Downie DM, Moore BPL, Ford DS, Engelfreit CP, Case J. Replicate tests for the detection and correction of errors in anti-human globulin (AHG) tests: optimum conditions and quality control. *Haematologia* 1988; 21(1): 3-16.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
- British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. *Transfusion Medicine*, 1995, 5, 145-150.

ВИКОРИСТАНІ СИМВОЛИ

Символ	Опис
	Вміст



ВИРОБНИК

Діалаб ГмБХ
 Виробництво та продаж хіміко-технічної
 продукції та лабораторних приладів в ІЗ НОЕ-
 Зюд, Хондаштрассе, Обджект М55, 2351
 Вінер-Нойдорф
 Тел.: +43 (0) 2236 660910-0,
 Факс: +43 (0) 2236 660910-30,
 e-mail: office@dialab.at