АНТИ-E, МОНОКЛОНАЛЬНИЙ

Моноклональні реагенти для визначення групи крові
Для методів пробірки, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue, мікропланшетів і пластинок

Anti-E, monoclonal

Кат. №: ***B06412*** *Дата випуску інструкції:* ***2020-11-26***
Версія ***05***

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

Кат. №	Вміст
B06411	1 x 5 мл (mL) Анти-C, моноклональний
B06412	1 x 5 мл (mL) Анти-E, моноклональний
B06413	1 x 5 мл (mL) Анти-c, моноклональний
B06414	1 x 5 мл (mL) Анти-e, моноклональний

Тільки для професійного використання в діагностиці in vitro!

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

Метод	Аглютинація
Термін придатності	24 місяці з дати виготовлення
Зберігання	2 – 8 °C (°C)

ПРИЗНАЧЕННЯ

Реагенти Rh – це реагенти для визначення групи крові, призначені для якісного визначення наявності або відсутності антигенів Rh-антигенів на еритроцитах донорів крові або пацієнтів, які потребують переливання крові, під час тестування відповідно до рекомендованих методів, зазначених у цій інструкції з використання.

ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

Левін і Стетсон відкрили систему груп крові резус у 1940 році. Крім D, іншими основними Rh-антигенами є C, E, c і e. Антиген D має високу імуногенність; антигени C і e менш імуногенні, ніж антигени E і c. Усі відповідні антитіла є клінічно значущими, оскільки вони можуть викликати як реакції при переливанні крові, так і гемолітичну хворобу новонароджених.

ПРИНЦИП ТЕСТУ

Реагенти містять антитіла до відповідного Резус-антигену на еритроцитах людини і викликають пряму аглютинацію (злипання) тестових еритроцитів, які несуть відповідний антиген резус. Відсутність аглютинації (немає злипання) зазвичай свідчить про відсутність відповідного Rh-антигену (див. **ОБМЕЖЕННЯ**).

СКЛАД РЕАГЕНТУ

Моноклональні реагенти для визначення групи крові IgM анти-резус від DIALAB — це реагенти з низьким вмістом білка, що містять моноклональні антитіла людини, розведені хлоридом натрію, бичачим альбуміном та макромолекулярними потенціаторами (4.0 г%). Реагенти не містять і не складаються з речовин CMR, речовин, що порушують роботу ендокринної системи, або які можуть призвести до сенсибілізації 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	Клітинна лінія/Клон
Анти-C	MS-24
Анти-E	MS-258
Анти-c	MS-33
Анти-e	MS-16 + MS-63

НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ В НАБОРІ

Метод пробірки

- Скляні тест-пробірки (10 x 75 мм (mm) або 12 x 75 мм (mm)
- Центрифуга зі здатністю обертання на 1000 g протягом 20 секунд
- PBS розчин (pH 6.8-7.2) або ізотонічний соляний розчин (pH 6.5 – 7.5)
- Позитивний або негативний контроль еритроцитів
  Анти-C, моноклональний: R_1r (позитивний контроль) та rr (негативний контроль)
  Анти-E, моноклональний: R_2r (позитивний контроль) та rr (негативний контроль)
  Анти-c, моноклональний: R_1r (позитивний контроль) та R_1R_1 (негативний контроль)
  Анти-e, моноклональний: R_2r (позитивний контроль) та R_2R_2 (негативний контроль)

Метод Мікро типування Bio-Rad ID

- ID-картки Bio-Rad (NaCl, ферментний та холодова аглютинація)
- ID Центрифуга Bio-Rad
- Bio-Rad ID-CellStab або ID-Ділюент 2

Метод типування Ortho BioVue

- Касети системи Ortho BioVue (нейтральні)
- Центрифуга системи Ortho BioVue
- Ділюент еритроцитів Ortho 0.8%

Метод мікротитрового планшету

- Перевірені мікропланшети з лунками з «U»-подібним дном
- Центрифуга мікротитрового планшету
- Шейкер мікротитрового планшету

Метод пластинок

- Скляні пластинки для мікроскопа або білі карткові плитки
- Палички-аплікатори
- Таймер або секундомір

Усі методи

- Об'ємні піпетки

ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

Реагенти готові до використання.
Перед використанням дайте реагентам 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

1. Реагенти призначені лише для діагностики *in vitro*.
2. Якщо флакон для реагенту тріснув або протікає, негайно утилізуйте його вміст.
3. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності (див. **Етикетку флакону**).
4. Не використовуйте реагенти, якщо є осад.
5. Під час роботи з реагентами слід носити захисний одяг, наприклад одноразові рукавички та лабораторний халат.
6. 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.
7. Регент 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.
8. 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.
9. 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.

ЗАБІР ТА ЗБЕРІГАННЯ ЗРАЗКА

Зразки крові можуть бути зібрані в ЕДТА, цитрат, антикоагулянти CPDA або у вигляді згорнутого зразка. Зразки слід перевірити якомога швидше після збору. Якщо тестування затримується, зберігайте зразки при 2-8°C (°C). Зразки, які демонструють сильний гемоліз або мікробне забруднення, не слід використовувати для тестування. Зразки крові, що показують ознаки лізису, можуть дати недостовірні результати. Бажано

(але не обов'язково) промити всі зразки крові PBS або ізотонічним фізіологічним розчином перед тестуванням.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТУВАННЯ

A. Метод пробірки

1. Приготуйте 2-3% суспензію відмитих досліджуваних еритроцитів у PBS або ізотонічному розчині.
2. Помістіть в марковану пробірку: 1 об'єм реагенту від DIALAB анти-Rh і 1 об'єм суспензії еритроцитів.
3. Ретельно перемішайте та центрифугуйте всі пробірки протягом 20 секунд при 1000 rcf або для відповідного альтернативного часу та сили.
4. Акуратно ресуспендуйте кнопку еритроцитів і перевірте макроскопічно на наявність аглютинації.
5. Будь-які пробірки, які показують негативний або сумнівний результат, слід інкубувати протягом 15 хвилин при кімнатній температурі.
6. Після інкубації, повторіть кроки 3 та 4.

B. Метод Bio-Rad -ID (Картки NaCl, ензим і аглютиніни холоду):

1. Приготуйте 0.8% суспензію еритроцитів у ID-CellStab або ID-Ділюент 2.
2. Зніміть алюмінієву фольгу з необхідної кількості мікропробірок на ID-картці NaCl/Ензим/Холодові аглютиніни.
3. Помістіть у пробірку з маркуванням: 50 мкл (µL) суспензії еритроцитів та 25 мкл (µL) анти-Rh реагенту від DIALAB.
4. Центрифугувати ID-картку(-и) в центрифузі Bio-Rad ID.
5. Зчитати макроскопічно на наявність аглютинації.

C. Метод Ortho BioVue (Нейтральні касети):

1. Приготуйте 0.8% суспензію еритроцитів у 0.8% розчиннику для еритроцитів Ortho.
2. Зніміть алюмінієву фольгу з необхідної кількості реакційних камер на нейтральній касеті.
3. Помістіть у відповідну реакційну камеру: 50 мкл (µL) досліджуваної суспензії еритроцитів і 40 мкл (µL) реагенту від DIALAB Анти-Rh.
4. Центрифугувати касети протягом 5 хвилин у центрифузі системи Ortho BioVue.
5. Зчитати макроскопічно на наявність аглютинації.

D. Метод мікропланшету з використанням лунок з «U»-подібним дном:

1. Приготуйте 2-3 % суспензію еритроцитів у PBS або ізотонічному розчині.
2. Помістіть у відповідну лунку: 1 об'єм реагенту від DIALAB Анти-Rh і 1 об'єм суспензії еритроцитів.
3. Ретельно перемішайте, бажано за допомогою шейкера для мікропланшету, обережно, щоб уникнути перехресного забруднення.
4. Інкубуйте при кімнатній температурі протягом 15 хвилин (час залежить від користувача).
5. Центрифугувати мікропланшет протягом 1 хвилини при 140 rcf або для відповідного альтернативного часу та сили.
6. Ресуспендуйте кнопки клітин, використовуючи ретельно контрольоване перемішування на шейкері для мікропланшетів.
7. Зчитати макроскопічно або за допомогою перевіреного автоматичного зчитувача.
8. Будь-які слабкі реакції слід повторити за допомогою методу пробірки.

E. Метод пластинок:

1. Приготуйте 35-45% суспензію досліджуваних еритроцитів у сироватці, плазмі або PBS або ізотонічному фізіологічному розчині. Якщо це неможливо, в якості зразка можна також використовувати цільну антикоагуляційну кров.
2. Помістіть на промарковану пластинку: 1 об'єм реагенту від DIALAB Анти-Rh і 1 об'єм суспензії еритроцитів.
3. За допомогою чистої палички-аплікатора змішайте реагент і клітини на площі приблизно 20 x 40 мм (mm).
4. Повільно нахиляйте пластинку вперед-назад протягом 1 хвилини, підтримуючи пластинку при кімнатній температурі.
5. Зчитайте макроскопічно через 1 хвилину під розсіяним світлом і помилково не зарахуйте нитки фібрину як аглютинацію.
6. Будь-які слабкі реакції слід повторити за допомогою методу пробірки.

ПРИМІТКА:

1. Зчитайте всі тести пробірки та мікропланшету відразу після центрифугування.
2. Для забезпечення специфічності та уникнення ймовірності, що негативний результат може бути неправильно інтерпретований як позитивний через висихання реагенту, тести на пластинці слід інтерпретувати протягом однієї хвилини.
3. Слід бути обережними при інтерпретації результатів тестів, проведених при температурах, що відрізняються від рекомендованих.

ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

1. **Позитивний:** Аглютинація досліджуваних еритроцитів є позитивним результатом тесту і в межах прийнятих обмежень процедури тестування, вказує на наявність відповідного Rh-антигену на досліджуваних еритроцитах.
2. **Негативний:** Відсутність аглютинації досліджуваних еритроцитів є негативним результатом і в межах прийнятих обмежень процедури тестування, вказує на відсутність відповідного Rh-антигену на досліджуваних еритроцитах.
3. Результати тесту клітин, які аглютинували за допомогою реагент-негативного контролю, слід виключити, оскільки аглютинація, швидше за все, спричинена дією макромолекулярних потенціаторів на сенсибілізовані клітини у реагенті.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ТА КАЛІБРУВАННЯ

1. Позитивний контроль (в ідеалі гетерозиготний) і негативний контроль рекомендується тестувати паралельно з кожною партією тестів. Тести повинні вважатися недійсними, якщо контроль не показує очікуваних результатів.
2. Під час забору еритроцитів у пацієнтів, про які відомо або підозрюється, що вони мають аутоантитіла, аномалії білка або позитивний прямий антиглобуліновий тест (DAT), важливо, щоб негативний контроль реагенту (Анти-D негативний контроль, Кат №: B09936) тестувався паралельно.
3. Слабкі резус-антигени можуть бути погано виявлені за допомогою методу гелевої карти, мікротитрового планшету та пластинки. Рекомендується досліджувати слабкі резус-антигени за допомогою методу тест-пробірки.
4. У **ПРОЦЕДУРІ ТЕСТУВАННЯ** один об'єм становить приблизно 50 мкл (µL) при використанні наданої в наборі піпетки для флакону.
5. 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.

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

1. Перед випуском кожен лот Rh-реагентів був протестований за допомогою рекомендованих методів тестування, зазначених у цій інструкції. Тести відповідали вимогам до тестування, як зазначено в поточній версії/випуску «Керівних принципів для служб переливання крові у Сполученому Королівстві» та «Загальних технічних специфікацій».
2. Специфічність вихідних моноклональних антитіл демонструється за допомогою панелі антигеннегативних клітин.
3. Контроль якості реагентів проводився з використанням еритроцитів із фенотипами, які були підтверджені центром переливання крові Великобританії та були промиті PBS або ізотонічним сольовим розчином перед використанням.

ОБМЕЖЕННЯ

1. Користувач несе відповідальність за роботу реагенту будь-яким методом, окрім тих, що зазначені в **ПРОЦЕДУРІ ТЕСТУВАННЯ.**
2. Будь-які відхилення від **ПРОЦЕДУРИ ТЕСТУВАННЯ** повинні бути перевірені перед використанням.
3. Реагенти від DIALAB Анти-Rh не підходять для використання з клітинами, обробленими ферментами, або для непрямих антиглобулінових методів.
4. Було показано, що багато моноклональних людських IgM анти-Rh антитіл мають активність анти-i/I холодового аглютиніну, особливо це стосується клітин пуповини або клітин, оброблених ферментом. Це може стати очевидним, якщо тести інкубувати нижче рекомендованої температури.
5. Деякі еритроцити експресують варіанти Rh-антигенів і можуть давати слабші реакції, ніж у випадково відібраних позитивних контрольних клітин. Анти-C може давати слабші реакції з антигеном C у R_2R_Z індивідуумів. Аналогічно, Анти-e може давати дещо слабші реакції за відсутності антигену C, напр. R_2r, r"r і rr.
6. Пригнічена або знижена експресія певних антигенів груп крові може, навпаки, викликати хибнонегативні реакції. З цих причин завжди слід бути обережним при призначанні генотипів на основі результатів тесту.
7. 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
- Відхилення від рекомендованих методів

ПОВОДЖЕННЯ З ВІДХОДАМИ

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

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 10.
2. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
3. Jones J, Scott ML, Voak D. Monoclonal anti-D specificity and Rh D structure: criteria for selection of monoclonal anti-D reagents for routine typing of patients and donors. Transfusion Medicine 1995. 5, 171-184
4. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. 6th Edition 2002. The Stationary Office.
5. 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.

ВИРОБНИК

Діалаб ГмбХ
Виробництво та продаж хіміко-технічної продукції та лабораторних приладів в І3
НОЕ-Зюд, Хондастрас, Обджект М55, 2351
Вінер-Нойдорф
Тел.: +43 (0) 2236 660910-0,
Факс: +43 (0) 2236 660910-30,
e-mail: office@dialab.at