

НЕГАТИВНИЙ КОНТРОЛЬ

NEG CONTROL

Каталог. №: 79000

Дата випуску інструкції: травень, 2021



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

ВСТУП

Ці реагенти є медичними приладами для діагностики *in vitro* (IVDMD) для професійного використання. АНТИ-А (АВО1), АНТИ-В (АВО2), АНТИ-А,В (АВО3) використовуються для визначення еритроцитів групи крові за системою АВО. Вони дозволяють визначити наявність еритроцитарних антигенів А та/або В на поверхні еритроцитів людини. АНТИ-D (RH1) IgM I, АНТИ-Д (RH1) IgM II, АНТИ-Д (RH1) ТОТЕМ і АНТИ-Д (RH1) IgG використовуються для визначення груп крові. Вони дозволяють визначити наявність антигену D (RH1) на поверхні еритроцитів людини. АНТИ-DCE (RH1,2,3) дозволяють виявити наявність принаймні одного з еритроцитарних антигенів: D (RH1), С (RH2) і Е (RH3). НЕГАТИВНИЙ КОНТРОЛЬ використовується для визначення груп крові за системою АВО. Він позбавлений активності антитіл. Протестовано в тих же умовах, що й використовуваний реагент, контроль дає змогу інтерпретувати отриманий результат.

ПРИНЦИП

Ручна техніка, що використовується на планшеті або в пробірці, використовує принцип гемаглютинації. Перевірте еритроцити, що несуть аглютинат антигену в присутності реагенту, що містить відповідне антитіло:

- або методом прямої гемаглютинації, коли вони контактують з реагентом, що містить антитіло (тип: IgM);
- або методом непрямої гемаглютинації: антиглобуліновий тест у разі використання антитіл IgG. Відбувається реакція у два етапи: досліджувані еритроцити піддаються впливу антитіл IgG. Антитіла зв'язуються з еритроцитами, що несуть відповідний антиген. Після промивання, додавання антиглобуліну «AGH MAESTRIA IGG» індукує аглютинацію сенсифікованих еритроцитів, що несуть відповідний антиген.

Визначення групи крові за системою АВО визначається як демонстрацією антигенів А та/або В на поверхні еритроцитів людини так і за наявністю чи відсутністю або анти-А та/або анти-В антитіл у плазмі. Тому доречно ідентифікувати еритроцитарні антигени за допомогою відомих анти-А, анти-В і анти-А,В реагентів (тест на еритроцити), а потім підтвердити попередні результати шляхом перевірки наявності відповідних антитіл у плазмі досліджуваної крові за допомогою відомих еритроцитів А1, В і, можливо, А2 і О (плазмовий тест).

Для визначення групи крові RH1 необхідно використовувати реагент АНТИ-Д (RH1) і реагент НЕГАТИВНИЙ КОНТРОЛЬ.

СКЛАД

Реагенти готують з моноклональних антитіл у середовищі для зберігання. Моноклональні антитіла, що виробляються компанією DIAGAST отримують із супернатантів *in vitro* культур гібридом мишачого або людського походження.

Ці реагенти містять азид натрію (< 0.1 %), арсеніт натрію (0.02 %) та бичачий альбумін.

Реагенти упаковані у флакони з відкаліброваною крапельницею, а також входять до набору GROUPAKIT.

Набір **GROUPAKIT** (Кат. №: DIAGAST 70888) складається з флакона АНТИ-А (АВО1), флакона АНТИ-В (АВО2), флакона з АНТИ-А,В (АВО3), флакона АНТИ-Д (RH1) IgM I та флакона НЕГАТИВНИЙ КОНТРОЛЬ.

НЕГАТИВНИЙ КОНТРОЛЬ, вироблений компанією DIAGAST, позбавлений антитіл.

Опис реагентів див. на останній сторінці.

ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Рекомендується носити рукавички та захисні окуляри, та обережно поводитися з досліджуваними зразками людського походження. З усіма субстратами, які контактували зі зразками, слід поводитися як з потенційно інфекційними продуктами. Спеціальні захисні заходи, умови щодо утилізації

Перекладач Романюк Н.П.

та дезінфекції повинні виконуватися відповідно до місцевих правил. Не використовувати пошкоджені або такі, що протікають ємності з реагентами.

ЗБЕРІГАННЯ

Реагенти повинні зберігатися при температурі від +2 °C (°C) до +8 °C (°C). Їх ефективність гарантується рекомендованим методом від першого використання до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці. Реагенти не можна використовувати після закінчення цієї дати. Рекомендується звести до мінімуму перебування реагентів поза холодильником і не залишати їх при кімнатній температурі між двома використаннями.

РЕАГЕНТИ ТА НЕОБХІДНИЙ МАТЕРІАЛ

- Ізотонічний сольовий розчин (0.9 % NaCl)
- Інкубатор або водяна баня при 37°C (°C)
- Пробірки скляні, 10 або 12 x 75 мм (mm), штатив для пробірок
- Механічний змішувач
- Опаліновий планшет
- Точні автоматичні регульовані піпетки
- Центрифуга з відносною силою 100-1200 g.
- Контрольні зразки крові відомих фенотипів, такі як НЕМА CQI (DIAGAST реф.: див. каталог).
- Антиглобуліни 'AGH MAESTRIA IGG' (DIAGAST реф.: див. каталог)
- IgG-сенсифіковані еритроцити
- Набір часткової ідентифікації D для дослідницького використання: D-SCREEN (DIAGAST реф.: див. каталог).

ЗРАЗКИ – КОНТРОЛІ

Зразки крові для дослідження

Кров, зібрану в антикоагулянті: ЕДТА, гепарин або цитрат у закритій стерильній пробірці, яка зберігається при температурі від 2 до 8 °C (°C), слід протестувати протягом 48 годин, якщо не видно ознак гемолізу. Під час тесту центрифугувати зразок крові при 1200 g протягом 3 хвилин.

Зразки крові з відомими фенотипами: НЕМА CQI

Аналітичну систему слід тестувати за допомогою зразків з відомими фенотипами:

- зразок, що містить антиген, відповідний антитілу у використовуваному реагенті,
- зразок, позбавлений антигену, відповідний антитілу у використовуваному реагенті.

Використання тих зразків або НЕМА CQI дозволяє виявляти аномалії (обробка, реагенти, апаратура та середовище) та виконувати коригувальні дії.

Контроль реагенту

Для кожного зразка, при визначенні групи RH1 контрольний реагент тестується за тих самих умов, замінивши АНТИ-Д (RH1) на **НЕГАТИВНИЙ КОНТРОЛЬ**.

У разі відхилення під час визначення групи крові за системою АВО, контрольний реагент тестується в тих же умовах лише із заміною реагенту для визначення групи крові за системою АВО на **НЕГАТИВНИЙ КОНТРОЛЬ**.

ПРОЦЕДУРА

а) Метод планшета при кімнатній температурі (+18... +25°C (°C)) за винятком АНТИ-Д (RH1) IgG

- На ретельно чистий планшет за допомогою крапельниці флакона внесіть 1 краплю реагенту.
- Візьміть 25 мкл (µL) немитої клітинної маси і внесіть її біля кожної краплі реагенту, стежте за тим, щоб краплі не контактували між собою.
- Змішайте кров і реагент спіральним рухом на кінці змішувача так, щоб утворити звичайне коло діаметром 2-3 см (cm).
- Інкубуйте планшет при кімнатній температурі та без перемішування протягом 30 секунд.
- Тримайте планшет і покрутіть його протягом 3 хвилин, макроскопічно спостерігаючи за можливістю появи аглютинатів.
- Одразу зчитайте реакцію.

б) Прямий метод у пробірці при кімнатній температурі, за винятком АНТИ-Д (RH1) IgG

- Приготуйте 5% суспензію еритроцитів в ізотонічному сольовому розчині.
- За допомогою крапельниці для флакона додайте краплю реагенту в

- пробірку.
 - Додайте 50 мкл (µL) суспензії еритроцитів.
 - Збовтайте для гомогенізації суміші, потім центрифугуйте при 500 г протягом 1 хвилини.
 - Зчитайте макроскопічно, обережно збовтуючи пробірки, щоб відокремити осад еритроцитів.
 - Зверніть увагу на появу будь-яких аглютинатів.
- c) Антиглобуліновий непрямий метод лише для АНТИ-D (RH1) TOTEM**
- Після негайного центрифугування та зчитування, як описано вище, якщо реакція слабка або негативна, потрусіть пробірки та інкубуйте при 37 °C (°C) протягом 15 хвилин.
 - Двічі промийте еритроцити ізотонічним сольовим розчином і видаліть останню рідину для промивання.
 - Додайте 50 мкл (µL) антиглобуліну «AGH MAESTRIA IGG» до осаду еритроцитів. Змішайте, потім центрифугуйте при 120 г протягом 1 хвилини.
 - Проведіть зчитування, як зазначено в розділі b).
- d) Антиглобуліновий непрямий метод тільки для АНТИ-D (RH1) IgG**
- Приготуйте 5 % суспензію еритроцитів в ізотонічній сольовому розчині.
 - За допомогою крапельниці для флакона перенесіть 1 краплю реагенту в пробірку.
 - Додайте 50 мкл (µL) суспензії еритроцитів.
 - Потрусіть пробірки для гомогенізації суміші та інкубуйте при 37 °C (°C) протягом 15 хвилин.
 - Промийте еритроцити двічі ізотонічним сольовим розчином і видаліть останню рідину для промивання.
 - Додайте 50 мкл (µL) антиглобуліну «AGH MAESTRIA IGG» до осаду еритроцитів. Змішайте, потім центрифугуйте при 120 г протягом 1 хвилини.
 - Проведіть зчитування, як зазначено в розділі b).

ІНТЕРПРЕТАЦІЯ

- Якщо є аглютинація (еритроцити утворюють один або кілька згустків), реакція позитивна і антиген або принаймні один з антигенів, що відповідає використаному реагенту, присутній на досліджених еритроцитах. Якщо немає аглютинації (еритроцити перетворюють гомогену суспензію), реакція негативна, а антиген не присутній на еритроцитах.
- Групу ABO суб'єкта можна однозначно визначити лише за умови чіткої відповідності між результатами аналізу еритроцитів і аналізу плазми крові.
- Якщо є розбіжності, не повідомляйте результат і проводьте визначення групи крові відповідно до поточних рекомендацій та протоколів, або передайте зразок до експертної лабораторії.
- Контроль «авто», контроль «алло» та контроль «реагент», а також клінічний контекст можуть допомогти з'ясувати відхилення.
- «Авто» контроль: за тих самих умов перевірте плазму суб'єкта на його власні еритроцити.
- «Алло» контроль: за тих самих умов перевірте плазму суб'єкта по відношенню до панелі відомих еритроцитів O (виявлення анти-еритроцитарних антитіл, відмінних від анти-A або анти-B).
- «Реагент» контроль: за тих самих умов перевірте еритроцити суб'єкта порівняно з негативним контролем.
- При методі прямої гемаглютинації на планшеті або в пробірці: якщо є аглютинація з АНТИ-D (RH1) IgM або TOTEM, присутній антиген D. Якщо аглютинації немає, можна використовувати АНТИ-D (RH1) TOTEM або АНТИ-D (RH1) IgG в непрямому антиглобуліновому тесті, якщо потрібно виявити слабкі та/або часткові антигени D.
- Негативну реакцію, отриману в результаті непрямого антиглобулінового тесту, можна перевірити за допомогою еритроцитів, сенсibilізованих до IgG (див. інструкцію для відповідного реагенту).
- Реакція піддається інтерпретації, лише якщо:
 - контроль реагентів з використанням НЕГАТИВНОГО КОНТРОЛЮ є негативним,
 - аналітична система перевірена за допомогою зразків з відомими фенотипами.
- Крім того, реакція в непрямому антиглобуліновому тесті інтерпретується тільки в тому випадку, якщо прямий антиглобуліновий тест при тестуванні еритроцитів негативний.

ОБМЕЖЕННЯ МЕТОДУ

- Реагент повинен використовувати тільки кваліфікований персонал.
- Для дозування краплі реагенту необхідно використовувати

- відкалібровану крапельницю, яка входить до флакона IVDMD.
- Реакції необхідно зчитувати відразу після центрифугування та ресуспендування.
- Обов'язково потрібно працювати з чистим обладнанням та незабрудненими продуктами (бактеріальними чи іншими забрудненнями).
- Необхідно ретельно дотримуватись таких моментів:
 - умов зберігання та терміну придатності,
 - процедур,
 - калібрування рекомендованого обладнання.
- Слабкі фенотипи A та/або B можуть не виявитися планшетним методом, оскільки він менш чутливий, ніж метод пробірки. Таким чином, у разі невідповідності між тестом еритроцитів і тестом плазми, і, оскільки може бути присутнім слабкий фенотип, тест слід повторити за допомогою більш чутливого методу.
- Необхідно використовувати AGH MAESTRIA IGG для непрямого антиглобулінового тесту.
- Необхідно використовувати НЕГАТИВНИЙ КОНТРОЛЬ як негативний контроль.
- АНТИ-D (RH1) не можна використовувати в методах, що включають ферментативну обробку еритроцитів.
- АНТИ-D (RH1) IgM не можна використовувати в непрямому антиглобуліновому тесті.
- Певні розбіжності (негативна реакція для прямого методу гемаглютинації та позитивна реакція для непрямого антиглобулінового методу) може виникнути з АНТИ-D (RH1) TOTEM. Може бути присутнім слабкий та/або частковий антиген D.
- Можлива помилково позитивна реакція:
 - коли реагент використовується для методу прямої гемаглютинації з суб'єктом, який має холодні аглютиніни,
 - коли реагент використовується в непрямому антиглобуліновому тесті з еритроцитами, які мають позитивну реакцію у прямому антиглобуліновому тесті.
- Ці можливості є обґрунтуванням для одночасного використання НЕГАТИВНОГО КОНТРОЛЮ.

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- У рекомендованих методах ці реагенти відповідають Загальним технічним характеристикам IVDMD.
- Оцінка ефективності АНТИ-A (ABO1), АНТИ-B (ABO2) і АНТИ-A,B (ABO3) була проведена на більше 15 000 зразках всіх бажаних (донорів крові, пацієнтів та новонароджених), взятих на кожен із рекомендованих антикоагулянтів (ЕДТА, гепарин, цитрат). Оцінювання показало 100% специфічність кожного з реагентів порівняно з очікуваними результатами щодо загальновідомих фенотипів A1, A2, A1B, A2B, B і O. Тести, проведені на окремих еритроцитах слабого фенотипу ABO, показали хорошу специфічність по відношенню до фенотипів A3 і B3.
- АНТИ-A,B (ABO3) розпізнає еритроцити Ax.
- АНТИ-B (ABO2) не аглютинуює «придбані B» еритроцити, які досліджували.
- У деяких випадках (реципієнти переливання, певні слабкі фенотипи A або B (A3, B3...), певні гемопатологічні модифікації, мозаїки чи химери тощо), може спостерігатися зображення подвійної популяції.
- Антитіло АНТИ-A і, додатково, антитіло АНТИ-A,B викликають перехресну реакцію з антигеном T_n, яка призводить до образу подвійної популяції (виключне явище).
- Оцінку ефективності АНТИ-D (RH1) IgM I, IgM II, IgG, TOTEM та АНТИ-DCE (RH1,2,3) було проведено на панелі від 1000 до 200 000 зразків для всіх бажаних (донорів крові, пацієнтів та новонароджених). Зразки були зібрані на кожен із рекомендованих антикоагулянтів (ЕДТА, гепарин, цитрат). Оцінювання показало 100 % специфічність кожного із реагентів у порівнянні з очікуваними результатами по відношенню до відомих поширених фенотипів резусу.
- Інтенсивність реакцій, отриманих з АНТИ-D (RH1) IgM, може залежати від кількості сайтів антигену, присутніх на еритроцити.
- АНТИ-D (RH1) TOTEM і АНТИ-D (RH1) IgG дозволяють проводити скринінг слабких еритроцитів D (RH1) у непрямому методі гемаглютинації з антиглобуліном.
- Випробування, проведені на окремих фенотипах, хоча і є задовільними, але не можуть забезпечити розпізнавання всіх слабких або варіантів суб'єктів, через мінливість антигенних мотивів.
- АНТИ-D (RH1) IgM I і TOTEM мають особливість розпізнавання певних рідкісних антигенних мотивів типу RH33 (D_{Har}) і, таким чином, може призвести до дискордантних реакцій з поліклональними реагентами,

- які розпізнають їх мало або зовсім не розпізнають.
- Тільки АНТИ-D (RH1) TOTEM може дозволити виявлення D часткового DVI в методі прямої гемаглютинації в пробірці.
- Крім того, клони АНТИ-D можуть специфічно розпізнавати певні епітопи антигену D (див. таблицю на останній сторінці).
- Загалом, для ідентифікації часткового D рекомендується використовувати набір D-SCREEN.



ВИРОБНИК

ДІАГАСТ

251

Av. Avinée, 59120 Loos, Франція

www.diaqast.com

ЛІТЕРАТУРА

- BETREMIEUX C., BEOLET M., KEYSER L.
A new strategy for D phenotyping with TOTEM® multimonoclonal ANTI-D reagent, XXIII rd I.S.B.T. Congress, July 1994.
- ARAMBURU E., RABASA P., ESQUIROZ R., GALARRETA T., OLCOZ B.
Valoracion de un antisuero anti-D IgM-IgG monoclonal (DIAGAST) en donantes de sangre con expresividad debil del antígeno D. Hematology Congress, Madrid, October 1990.
- MANNESSIER L. Blood Transfusion Centre, Lille, France. The use of monoclonal antibodies as blood grouping reagents: applications, advantages and problems. Congress of the Italian society for blood transfusion, Rome, June 1992.



УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»
вул. Симона Петлюри, 25
м. Івано-Франківськ, 76014
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua

РЕАГЕНТ		КАТ. №:	КЛОН	ТИП	ПОХОДЖЕННЯ
АНТИ-A (ABO1)	5 x 10 мл	70501	9113D10	IgM	Миша
	100 x 10 мл	70540			
АНТИ-B (ABO2)	5 x 10 мл	70502	9621A8	IgM	Миша
	100 x 10 мл	70541			
АНТИ-A,B (ABO3)	5 x 10 мл	70503	9113D10+ 152D12	IgM	Миша
	100 x 10 мл	70542			
АНТИ-D (RH1) IgM I	5 x 10 мл	71000	P3X61	IgM	Людина
	100 x 10 мл	70543			
АНТИ-D (RH1) IgM II	5 x 10 мл	71005	HM10	IgM	Людина
АНТИ-D (RH1) TOTEM	5 x 10 мл	71010	P3X61 + P3X21223B10+ P3X290 + P3X35	IgM IgM IgG IgG	Людина
	100 x 10 мл	70544			
АНТИ-D (RH1) IgG	5 x 10 мл	71020	HM16	IgG	Людина
АНТИ-DCE (RH1,2,3)	5 x 5 мл	74111	P3X61 + P3X25513G8 + P3X234	IgM	Людина
НЕГ. КОНТРОЛЬ	5 x 10 мл	79000			
	100 x 10 мл	70545			



Клони	Тип	DI I	DIII a DIII b DIII c	DIV a	DIV b	DV a	DV I	DVI I	DF R	DB T	DNA R	DHM i
P3X61	IgM	+	+	+	+	+	-	+	+/-	+	+	+
HM10	IgM	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+
HM16	IgG	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
P3X21223B10	IgM	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+
P3X290	IgG	+	+	+/-	-	+	+/-	+	+	-	-	+
P3X35	IgG	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+

+ вказує на позитивний результат, інтенсивність якого може змінюватися в залежності від кількості сайтів антигену, присутніх на досліджуваних еритроцитах.
+/- вказує на те, що можна отримати позитивний або негативний результат. Результат залежить від антигенності.

ІСТОРІЯ ЗМІН

Опис змін	Вплив на верифікацію методу відповідно до стандарту NF EN ISO 15189
ЅРОБОЧИ ХАРАКТЕРИСТИКИ: Виправлення терміну «непряма гемаглютинація» на «пряма гемаглютинація» для виявлення DVI в іспанській версії.	Hi