

МОНОКЛОНАЛЬНІ РЕАГЕНТИ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ГРУПИ КРОВІ АНТИ-А, АНТИ-В, АНТИ-АВ

Для методик визначення в пробірці, DiaMed-ID, Ortho BioVue, з використанням мікропланшету та предметного скла

B05405, Anti-A, Anti-B, Anti-AB

Каталог. №: **B05405**

Виробник : **DIALAB (Австрія)**

Методика від **05-2008**

Версія **02**



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

Кат. №		
B05405	1 x 10 мл	Anti-A, моноклональний
B08405	1 x 1000 мл	Anti-A, моноклональний
B05406	1 x 10 мл	Anti-B, моноклональний
B08406	1 x 1000 мл	Anti-B, моноклональний
B05407	1 x 10 мл	Anti-AB, моноклональний
B08407	1 x 1000 мл	Anti-AB, моноклональний

Тільки для використання в in-vitro діагностиці!

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

У 1900 році Ландштейнер відкрив, що сироватка деяких людей може з'єднувати еритроцити інших. Чотири загальних фенотипи в даний час визнаються: O, A, B і AB. Підгрупи A і B з тих пір були ідентифіковані.

Forward Group			Reverse Group				ABO Phenotype	Caucasians %
A	B	AB	A ₁	A ₂	B	O		
+	0	+	0	0	+	0	A	42
0	+	+	+	+	0	0	B	10
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

ПРИНЦИП

Реагенти спричиняють пряму аглютинацію (злипання) тестових червоних клітин, які несуть відповідний антиген ABO. Відсутність аглютинації зазвичай вказує на відсутність відповідного антигену ABO (див. **ОБМЕЖЕННЯ**).

РЕАГЕНТ

Моноклональні реагенти Dialab IgM ABO для визначення групи крові містять мишачі моноклональні антитіла, розведені в фосфатному буфері, що містить хлорид натрію, EDTA і бічачий альбумін. Кожен реагент поставляється в оптимальному розведенні для використання з усіма рекомендованими методиками, викладеними нижче, без необхідності подальшого розведення або додавання. Номер лоту і термін придатності зазначені на **Етикетці**.

Product	Cell Line/Clone	Colour	Dye Used
Anti-A	9113D10	Blue	Patent Blue
Anti-B	9621A8	Yellow	Tartrazine
Anti-AB	152D12 + 9113D10	Colourless	None

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.

ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

- Для діагностичного in vitro використання.
- Вдягати захисні рукавички при роботі з компонентами набору і зразками для аналізу.
- Зразки пацієнтів та інактивованій позитивний контроль можуть містити інфекційні агенти і повинні бути оброблені і утилізовані як потенційно біологічно небезпечні.
- Не використовуйте компоненти набору після закінчення терміну придатності.
- Утилізуйте всі використані матеріали у відповідному контейнері. Розглядайте як потенційну біонебезпеку.

КОНТРОЛІ І ЗАУВАЖЕННЯ

- Рекомендується тестування позитивного і негативного контролю 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.
- Зразки крові слабких підгруп A чи B (наприклад A_x) можуть привести до помилкових негативних або слабких реакцій при тестуванні з використанням слайдів, мікротитрувальних пластин або гелевих карт. Бажано повторно перевірити слабкі підгрупи, використовуючи техніку визначення в пробірці.
- Особи старше шести місяців повинні мати їх результати визначення групи крові ABO підтвердженими за допомогою тестування їх сироватки або плазми проти відомих клітин групи A₁ і B до остаточного встановлення групи крові ABO.
- У **РЕКОМЕНДОВАНИХ МЕТОДИКАХ** один об'єм це приблизно 50 мкл при використанні піпетки, яка постачається з флаконом.
- 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

- Аплікатурні палички
- Автоматичний планшетний рідер
- DiaMed ID-карти (Нейтральні)
- DiaMed ID-Центрифуга
- DiaMed ID-Розчинник: наприклад, ID-CellStab
- Сляні предметні скла
- Сляні пробірки (10 x 75 мм або 12 x 75 мм)
- Мікропланшетна центрифуга
- Касети Системи Ortho BioVue (Нейтральні)
- Центрифуга Системи Ortho BioVue
- Розчинник еритроцитів Ortho 0.8%
- Планшетний шейкер
- Фосфатно-сольовий буфер (PBS): NaCl 0.9%, pH 7.0 ± 0.2 при 22 °C ± 1 °C
- Позитивні (в ідеалі групи A₂B) і негативні (групи O) контрольні еритроцити
- Центрифуга для пробірок
- Затверджені мікропланшети з "U" лунками
- Об'ємні дозатори

РЕКОМЕНДОВАНІ МЕТОДИКИ

A. Методика визначення в пробірці:

1. Приготувати 2-3% суспензію промитих в PBS аналізованих еритроцитів.
2. Помістити в пробірку з написом: 1 об'єм реагенту Dialab Анти-ABO і 1 об'єм суспензії еритроцитів, що аналізуються.
3. Ретельно перемішати та інкубувати при кімнатній температурі протягом 1 хвилини.
4. Центрифугувати всі пробірки протягом 10 секунд при 1000 rcf або протягом відповідного альтернативного часу і сили.
5. Обережно ресуспендувати згусток еритроцитів і зчитати макроскопічно аглютинацію.
6. Будь-які пробірки, які показують негативний або сумнівний результат, повинні інкубуватись протягом 15 хвилин при кімнатній

- температурі.
7. Після інкубації повторити кроки 4 і 5.

В. Методика DiaMed-ID Micro Typing Technique:

1. Приготувати 0.8% 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-ABO.
4. Центрифугувати ID-Карту(и) в центрифугу гелі-карток Diamed.
5. Зчитати аглютинацію макроскопічно.

С. Методика Ortho BioVue Typing Technique:

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-ABO.
4. Центрифугувати касету(и) в центрифугу Ortho BioVue System.
5. Зчитати аглютинацію макроскопічно.

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

1. Приготувати 2-3% суспензію промитих в PBS аналізованих еритроцитів.
2. Помістити в пробірку з підписом: 1 об'єм реагенту Dialab Анти-ABO 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.

Е. 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-ABO 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 ABO 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 ABO на еритроцитах, що тестуються.
3. **Сумнівний:** Якщо результати, отримані із зворотною групою (reverse group), не корелюють з прямою групою (forward group), потрібне подальше дослідження.
4. Результати випробувань клітин, які аглютинуються при використанні негативного контролю реагенту, повинні бути виключені, оскільки аглютинація найбільш ймовірно обумовлена ефектом макромолекулярних підсилювачів в реагенті на сенсифікованих клітинах.

СТАБІЛЬНІСТЬ РЕАГЕНТІВ

1. Зчитувати результати всіх тестів в пробірці і на мікропланшеті відразу після центрифугування.
2. Слайдові тести слід інтерпретувати протягом двох хвилин, щоб забезпечити специфічність і щоб уникнути можливості неправильної інтерпретації негативного результату як позитивного через

висихання реагенту.

3. Слід проявляти обережність в інтерпретації результатів випробувань, проведених при інших температурах, ніж ті, які рекомендовані.

ОБМЕЖЕННЯ

1. ABO антигени в повному обсязі не розвинені при народженні, і тому слабші реакції можуть виникати зі зразками пуповини або неонатальними зразками.
2. При використанні моноклональних Анти-AB, зразки крові слабких підгруп А чи В (наприклад, Ах) можуть привести до помилкових негативних або слабких реакцій при тестуванні з використанням слайдів, мікропланшетів або гелевих карт. Рекомендується повторна перевірка слабких підгруп, використовуючи техніку визначення в пробірці.
3. Dialab Моноклональні анти-А і моноклональні анти-В не перевірені на виявлення антигенів Ах і А3 або Вх і В3, відповідно, і тому ми не претендуємо на реактивність моноклонального реагенту Анти-А або Анти-В проти цих слабких підгруп А і В.
4. Консервована кров може давати слабші реакції, ніж свіжа кров.
5. 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
 - Зразки пуповини забруднені желе Уортона.

СПЕЦИФІЧНІ ТЕХНІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

1. Реагенти оцінювались зі всіма процедурами, згаданими у **РЕКОМЕНДОВАНИХ МЕТОДИКАХ**.
2. Перед випуском кожна партія Моноклональних Реагентів Dialab Анти-А, Анти-В та Анти-AB перевіряється **РЕКОМЕНДОВАНИМИ МЕТОДИКАМИ** проти панелі антиген-позитивних еритроцитів, щоб забезпечити відповідну реакційну здатність.
3. Специфічність вихідних моноклональних антитіл продемонстрована з використанням панелі антиген-негативних клітин.
4. Ефективність реагенту була протестована проти наведених нижче еталонів мінімальної потенції, отриманих з Національного Інституту Біологічних Стандартів і Контролів (NIBSC):
 - Довідковий стандарт Анти-А 03/188 **Та/Або**
 - Довідковий стандарт Анти-В 03/164
5. Dialab Анти-В не взаємодіє з "Набутими-В" еритроцитами.
6. Dialab моноклональні реагенти ABO не виявляють криптові антигени, такі як T, Tn або Cad.
7. Контроль Якості реагенту проводили з використанням еритроцитів, які були двічі промиті з PBS перед використанням.
8. 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

