

АНТИ-D (IgG/IgM), МОНОКЛОНАЛЬНИЙ

Anti-D (IgG/IgM), monoclonal

Кат. №: **B08408**

Дата випуску інструкції: **2021-10-18**
Версія **03**



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

Кат. №	Вміст
B05408	1 x 10 мл (ml) анти-D (IgM/IgG), моноклональний
B08408	1 x 1000 мл анти-D (IgM/IgG), моноклональний

Тільки для професійного використання в діагностиці in vitro.

ПРИЗНАЧЕННЯ

Реагент Анти-D від DIALAB – це реагент для визначення групи крові, призначений для якісного визначення наявності або відсутності антигену резус-фактору D на еритроцитах донорів крові або пацієнтів, які потребують переливання крові, під час тестування відповідно до рекомендованих методів, зазначених в інструкції.

ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

Систему груп крові Rh було відкрито в 1940 році. Антиген D є найбільш клінічно значущим антигеном еритроцитів, не пов'язаним з ABO, і бере участь у спричиненні гемолітичних реакцій при переливанні крові та гемолітичної хвороби новонароджених.

Анти-D	Фенотип	Кавказці % ³	Афроамериканці % ³
+	Rh D позитивний	83	92
0	Rh D негативний	17	8

ПРИНЦИП ТЕСТУ

Реагенти, що містять антитіла до антигену D на еритроцитах людини, викликають пряму аглютинацію (злипання) еритроцитів людини, які несуть антиген D, і непрямую аглютинацію еритроцитів людини категорії D^{VI} на антиглобуліновій фазі тестування. Відсутність аглютинації (немає злипання) зазвичай свідчить про відсутність антигену D на еритроцитах людини (див. ОБМЕЖЕННЯ).

СКЛАД РЕАГЕНТУ

Реагент анти-D (IgM/IgG), моноклональний від DIALAB для визначення груп крові — це змішаний реагент з низьким вмістом білка, що містить людський моноклональний IgM і IgG анти-D, розведений у фосфатному буфері, що містить хлорид натрію (0.9 г% (g%)), бичачий альбумін (2.0 г% (g%)) та макромолекулярні потенціатори (1.5 г% (g%)). Під час введення зразків пацієнта цей реагент безпосередньо аглютинує Rh-D-позитивні клітини, включаючи більшість варіантів (але не D^{VI}) і високу частку слабких фенотипів D (D^{VI}) при використанні рекомендованих методів. Реагенти не містять і не складаються з CMR речовин, речовин, що порушують роботу ендокринної системи, або які можуть призвести до сенсibilізації або алергічної реакції у користувача. Реагент постачається в оптимальному розведенні для використання на зразках пацієнтів з усіма рекомендованими методиками, наведеними нижче, без необхідності додаткового розведення або додавання. Референсний номер партії та термін придатності див. на етикетці флакону.

IgM/IgG	Лінії клітин/Клони
IgM	RUM-1
IgG	MS-26

ОСЛАБЛЕНА ЕКСПРЕСІЯ АНТИГЕНУ Rh D:

Збірний термін D^{VI} широко використовується для опису еритроцитів, які мають меншу експресію антигену D, ніж звичайні. Термін "слабкий D" позначає осіб зі зменшеною кількістю повних ділянок антигену D на еритроциті. Термін "частковий D" позначає осіб з відсутніми епітопами антигену D. D^{VI} є категорією часткового D, в якій відсутні більшість епітопів D. Моноклональний реагент анти-D (IgM/IgG) від DIALAB виявляє більшість прикладів часткових і слабких еритроцитів D шляхом прямої аглютинації, але не виявляє клітини D^{VI}. Цей реагент виявить D^{VI} та клітини часткового D у фазі ІАТ.

НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВХОДЯТЬ ДО НАБОРУ

- Реагент проти глобуліну людини, наприклад реагент DIALAB анти-НГ
- Палички-аплікатори
- Автоматичний зчитувач планшетів
- Вошер клітин Кумбса
- ID-картки Bio-Rad (LISS/Coombs) і (NaCl, ферментний тест і холодні аглютиніни)
- ID-центрифуга Bio-Rad
- Bio-Rad ID-CellStab або ID-Ділюент 2
- Bio-Rad ID-інкубатор з температурою до 37°C (°C) ± 2°C (°C)
- Пластинки для мікроскопу або білі карткові плиточки
- Скляні пробірки (10 x 75 мм (mm)) або 12 x 75 мм (mm))
- Сенсibilізовані IgG еритроцити
- Центрифуга мікропланшети
- Касети системи Ortho BioVue (AHG/Coombs) і (нейтральні).
- Центрифуга системи Ortho BioVue
- Теплоблок системи Ortho BioVue з температурою до 37°C (°C) ± 2°C (°C).
- Розчинник для еритроцитів Ortho 0.8 %
- Планшетний шейкер
- Розчин PBS (pH 6.8 – 7.2) або ізотонічний сольовий розчин (pH 6.5 – 7.5)
- Позитивні (в ідеалі R1r) і негативні (rr) контрольні еритроцити
- Центрифуга для пробірок
- Перевернені мікропланшети з лунками «U-подібним дном».
- Об'ємні піпетки
- Водяна баня або інкубатор сухого тепла з температурою до 37°C (°C) ± 2°C (°C).

ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТУ

Реагент готовий до використання.

Перед використанням дайте реагенту нагрітися до кімнатної температури. Після використання, знову зберігайте реагент при 2-8 °C (°C).

СТАБІЛЬНІСТЬ І ЗБЕРІГАННЯ РЕАГЕНТУ

Після отримання, флакони з реагентами слід зберігати при температурі 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 ISO 23640:2015.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

- Реагент призначений лише для діагностики in vitro.
- Якщо ємність для реагенту тріснула або протікає, негайно утилізуйте вміст.
- Не використовуйте реагент після закінчення терміну придатності (див. етикетку флакону).
- Не використовуйте реагент, 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 джерел 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.

ЗАБІР ТА ЗБЕРІГАННЯ ЗРАЗКА

Зразки крові можуть бути зібрані в ЕДТА, цитрат, CPDA антикоагулянти або у вигляді згорнутого зразка. Зразки слід протестувати якомога швидше після збору. Якщо зразки не вдається одразу протестувати, то їх слід зберігати 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. Перед тестуванням бажано (але не обов'язково) промити всі зразки крові PBS або ізотонічним фізіологічним розчином.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТУВАННЯ

НЕ КАТЕГОРІЯ D^v:

А. Метод пробірки

1. Приготуйте суспензію еритроцитів (2-3%) у PBS або ізотонічному розчині.
2. Помістіть в марковану пробірку: 1 об'єм DIALAB анти-D (IgM/IgG), моноклональний реагент і 1 об'єм суспензії еритроцитів.
3. Ретельно перемішайте та центрифугуйте всі пробірки протягом 20 секунд при 1000 rcf або за відповідний альтернативний час та силу.
4. Акуратно струсіть пробірку, щоб перемішати еритроцити і огляньте макроскопічно на наявність аглютинації.
5. Будь-які пробірки, які показують негативний або сумнівний результат (що може статися з D^v або слабкими D зразками), слід інкубувати протягом 15 хвилин при кімнатній температурі.
6. Після інкубації повторіть пункти 3 і 4.

В. ID-метод Bio-Rad (NaCl, ферментний тест і картки холодних аглютининів)

1. Приготуйте 0.8% суспензію еритроцитів в ID-CellStab або ID-розчиннику 2.
2. Зніміть алюмінієву фольгу з необхідної кількості мікропробірок.
3. Помістіть у відповідну мікропробірку: 50 мкл (μL) суспензії еритроцитів і 25 мкл (μL) моноклонального реагенту DIALAB анти-D (IgM/IgG).
4. Центрифугувати ID-картку(и) у центрифугу з гелевою картою Bio-Rad.
5. Огляньте макроскопічно на наявність аглютинації.

С. Метод Ortho BioVue (Нейтральні картки)

1. Приготуйте 0.8 % еритроцитарну суспензію у 0.8 % Ortho розчиннику еритроцитів.
2. Зніміть алюмінієву фольгу з необхідної кількості реакційних камер.
3. Помістіть у відповідну реакційну камеру: 50 мкл (μL) суспензії еритроцитів і 40 мкл (μL) моноклонального реагенту DIALAB анти-D (IgM/IgG).
4. Центрифугувати касету (-и) в центрифугу системи Ortho BioVue.
5. Прочитайте макроскопічно на наявність аглютинації.

Д. Метод мікропланшета з використанням лунок з U-подібним дном

1. Приготуйте суспензію еритроцитів у PBS або ізотонічному розчині.
2. Помістіть у відповідну лунку: 1 об'єм DIALAB анти-D (IgM/IgG), моноклональний реагент і 1 об'єм тестової суспензії еритроцитів.
3. Ретельно перемішайте, бажано за допомогою шейкера для мікропланшет, 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 за відповідний альтернативний час та силу.
6. Повторно розчиніть згустки клітин, використовуючи контрольоване перемішування на шейкері для мікропланшетів.
7. Огляньте макроскопічно або за допомогою перевіреного автоматичного зчитувача.
8. Будь-які слабкі реакції слід повторити за допомогою методу пробірки.

Е. Метод пластинок

1. Приготуйте 35-45% суспензію еритроцитів у сироватці, плазмі або PBS чи ізотонічному розчині, або використовуйте цільну кров (у власній плазмі) з антикоагулянтами.
2. Помістіть на мічені пластинки: 1 об'єм DIALAB анти-D (IgM/IgG), моноклональний реагент і 1 об'єм суспензії еритроцитів.
3. За допомогою чистого аплікатора, змішайте реагент і клітини на площі приблизно 20 x 40 мм (mm).
4. Повільно нахилийте пластинки вперед-назад протягом 30 секунд, періодично перемішуючи протягом 1 хвилини, підтримуючи пластинки при кімнатній температурі.
5. Огляньте макроскопічно через 1 хвилину під розсіяним світлом і не сприймайте фібринові нитки як аглютинацію.
6. Будь-які слабкі реакції слід повторити за допомогою методу пробірки.

ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ КАТЕГОРІЇ D^v:

А: Метод непрямого антиглобуліну (ІАТ)

1. Приготуйте 2-3% суспензію еритроцитів у PBS або ізотонічному розчині.
2. Помістіть у марковану пробірку: 1 об'єм DIALAB анти-D (IgM/IgG), моноклонального та 1 об'єм суспензії еритроцитів.

3. Ретельно перемішати та інкубувати при 37°C (°C) протягом 15 хвилин.
4. Промийте еритроцити принаймні один раз PBS або ізотонічним фізіологічним розчином, зливайте фізіологічний розчин між промиваннями та повторно розчиніть кожен згусток клітини після кожного промивання. Після останнього промивання повністю злийте фізіологічний розчин.
5. Додайте 2 краплі реагенту анти-HG або анти-IgG на кожен згусток сухої клітини.
6. Ретельно перемішайте та центрифугуйте всі пробірки протягом 20 секунд при 1000 rcf або за відповідний альтернативний час та силу.
7. Повторно розчиніть кожен згусток клітини та огляньте макроскопічно.
8. Підтвердіть правильність усіх негативних реакцій за допомогою сенсibiliзованих IgG еритроцитів.

В. ID-методи Bio-Rad (ЛІСС/Картки Кумбса)

1. Приготуйте 0.8% суспензію еритроцитів в ID-CellStab або ID-розчинник 2.
2. Зніміть алюмінієву фольгу з необхідної кількості мікропробірок.
3. Помістіть у відповідну мікропробірку: 50 мкл (μL) суспензії еритроцитів і 25 мкл (μL) DIALAB анти-D (IgM/IgG), моноклонального.
4. Інкубуйте ID-картку (-и) протягом 15 хвилин при 37°C.
5. Центрифугувати ID-картку(и) у центрифугу з гелевою картою Bio-Rad.
6. Огляньте макроскопічно на наявність аглютинації.

С. Метод Ortho BioVue (АНГ/Картки Кумбса)

1. Приготуйте 0.8% суспензію еритроцитів у 0.8% розчиннику еритроцитів Ortho.
2. Зніміть алюмінієву фольгу з необхідної кількості реакційних камер.
3. Помістіть у відповідну реакційну камеру: 50 мкл (μL) досліджуваної суспензії еритроцитів і 40 мкл (μL) DIALAB анти-D (IgM/IgG), моноклонального.
4. Інкубуйте касету (-касети) протягом 15 хвилин при 37°C (°C).
5. Центрифугувати касету (-и) у центрифугу системи Ortho BioVue.
6. Огляньте макроскопічно на наявність аглютинації.

ПРИМІТКА:

- Одразу після центрифугування зчитайте всі тести пробірки та мікропланшета.
- Завершіть етапи промивання без перерви, центрифугуйте та зчитайте тести відразу після додавання анти-людського глобуліну, оскільки затримки можуть призвести до дисоціації комплексів антиген-антитіло, що призведе до хибнонегативних або слабких позитивних реакцій.
- Тести пластинок слід інтерпретувати максимум через одну хвилину, щоб забезпечити специфічність та уникнути ймовірності негативного результату, який можна інтерпретувати як позитивний через висихання реагенту.
- Слід бути обережним при інтерпретації результатів тестів, проведених при температурах, що відрізняються від рекомендованих.

ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

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

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

- Рекомендується тестувати позитивний контроль (в ідеалі клітини R_{1r}), негативний контроль (в ідеалі клітини rr) та реагент негативного контролю (наприклад, DIALAB анти-D Негативний контроль) паралельно з кожною партією тестів. Тести повинні вважатися недійсними, якщо контроль не показує очікуваних результатів.
- Під час введення еритроцитів від пацієнта, у якого діагностовано захворювання, яке призводить до того, що еритроцити покриваються антитілами або іншими білками (наприклад, HDN, АІНА), важливо перевірити еритроцити пацієнта за допомогою анти-D негативного контролю DIALAB. Тести слід вважати недійсними, якщо еритроцити аглютинують за допомогою анти-D негативного контролю DIALAB.

- Тест-зразки для визначення категорії D^{VI} тільки за допомогою непрямого антиглобулінового тесту, методів Кумбса Bio-Rad-ID і Кумбса Ortho BioVue.
- Слабкі та змінні антигени D погано виявляються за допомогою гелевої картки, мікротитрового планшету та пластинок. Рекомендується перевіряти слабкі та часткові варіанти за допомогою методу пробірки.
- Метод антиглобулінової пробірки може вважатися дієвим, лише якщо всі негативні тести позитивно реагують на сенсibilізовані IgG еритроцити.
- У ПРОЦЕДУРІ ТЕСТУВАННЯ один об'єм становить приблизно 50 мкл (μL), якщо використовувати піпетку, що постачається з флаконом на 10 мл (ml).
- Використовувати реагенти та інтерпретувати результати повинні підготовлені та кваліфіковані працівники відповідно до вимог країни, де використовуються реагенти.
- Користувач повинен визначити придатність реагентів для використання в інших методах.

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Перед випуском кожна партія моноклонального реагенту DIALAB анти-D (IgM/IgG) була протестована за допомогою рекомендованих методів тестування, наведених у цій інструкції. Тести відповідали вимогам до тестування, що зазначені в поточній версії/випуску «Керівних принципів для служб переливання крові у Сполученому Королівстві» та «Загальних технічних специфікаціях».
- Контроль якості реагенту проводився з використанням еритроцитів із фенотипами, які були підтверджені центром переливання крові Великобританії та були промиті PBS або ізотонічним сольовим розчином перед використанням.
- Специфічність вихідних моноклональних антитіл демонструється за допомогою панелі антиген-негативних клітин.

ВІДСТЕЖУВАНІСТЬ

Ефективність реагенту була протестована відповідно до наступного стандарту мінімальної ефективності, отриманого від Національного інституту біологічних стандартів та контролю (NIBSC): Анти-D референція 99/836.

ОЧІКУВАНІ РЕЗУЛЬТАТИ

Очікувані результати показані у таблиці у розділі ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ.

ОБМЕЖЕННЯ

- Користувач несе відповідальність використання реагентів будь-яким методом, окрім тих, що зазначені в ПРОЦЕДУРІ ТЕСТУВАННЯ.
- Будь-які відхилення від ПРОЦЕДУРИ ТЕСТУВАННЯ слід перевірити перед використанням.
- DIALAB Анти-D (IgM/IgG), моноклональний, не підходить для використання з клітинами, які оброблені ферментами, або клітинами, суспендованими в ЛІСС.
- Використання розчинів для приготування суспензії еритроцитів, що відрізняються від тих, які описані в розділі ПРОЦЕДУРА ТЕСТУВАННЯ в документі, має бути перевірено перед використанням. Деякі розчини можуть викликати хибнопозитивні або хибнонегативні реакції.
- Консервована кров може давати більш слабкі реакції, ніж свіжа.
- При тестуванні сенсibilізованих IgG клітин можна спостерігати хибнопозитивну аглютинацію.
- Помилково позитивні або помилково негативні результати також можуть виникати через:
 - Забруднення тест-матеріалів
 - Неправильне зберігання, концентрацію клітин, час інкубації або 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. Marion E. Reid and Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens and Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 192.
4. 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

5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. 6th Edition 2002. The Stationary Office.
6. 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 ІЗ
 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