



АНТИ-А, МОНОКЛОНАЛЬНИЙ РЕАГЕНТ

Anti-A, monoclonal

Кат. №: **LUA-BG.405**

Дата випуску інструкції: **2022-07-11**
Версія **1**

Кат. №	Вміст
LUA-BG.405	- 1 x 10 мл (мл) анти-А, моноклональний
LUA-BG.406	- 1 x 10 мл (мл) анти-В, моноклональний
LUA-BG.407	- 1 x 10 мл (мл) анти-АВ, моноклональний

Тільки для професійного використання в діагностиці *in vitro*

ПРИЗНАЧЕННЯ

Реагенти АВО - це реагенти, що визначають групу крові і призначені для якісного визначення наявності або відсутності антигенів А та/або В на еритроцитах донорів крові або пацієнтів, які потребують переливання крові, під час тестування відповідно до рекомендованих методів, зазначених у цій Інструкції, а також відповідно до «Інструкції з визначення груп крові за системою АВО», затвердженої наказом Міністерства охорони здоров'я України від 05.07.1999 р. № 164.

ПРИНЦИП ТЕСТУ

Реагенти містять антитіла до відповідного антигену А та/або В на еритроцитах людини і викликають пряму аглютинацію (злипання) еритроцитів, які несуть відповідний антиген АВО. Відсутність аглютинації зазвичай вказує на відсутність відповідного антигену АВО на еритроцитах людини.

СКЛАД РЕАГЕНТУ

Реагенти для визначення груп крові IgM АВО містять моноклональні антитіла мишей, розведені у фосфатному буфері, що містить хлорид натрію, ЕДТА та біачий альбумін. Реагенти не містять і не складаються з канцерогенних, мутагенних чи репротоксичних речовин, котрі здатні порушувати роботу ендокринної системи, або які можуть призвести до сенсibilізації чи алергічної реакції у користувача.

Референсний номер партії та термін придатності див. на етикетці флакону.

Продукт	Клітинна лінія/клон	Колір	Використаний барвник
Анти-А	9113D10	Синій	Патентований синій
Анти-В	9621A8	Жовтий	Тартразин
Анти-АВ	152D12 + 9113D10 + ES15	Безбарвний	Немає

ОБЛАДНАННЯ ТА МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВХОДЯТЬ ДО НАБОРУ

- Планшети або пластинки для визначення груп крові
- Палички та кульки для перемішування
- Ізотонічний розчин (рН 6.5 - 7.5) або розчин фосфатно-сольового буфера (рН 6.8 - 7.2)
- Піпетки (дозатори)
- Позитивні та негативні контрольні еритроцити
- Пробірки та штативи для їх розміщення
- Центрифуга для пробірок

Специфічно для методу гелевих ID-карт Bio-Rad:

- ID-картки Bio-Rad (NaCl, ферментний тест і холодові аглютиніни)
- ID-центрифуга Bio-Rad
- Bio-Rad ID-CellStab або ID-розчинник 2
- Bio-Rad ID-інкубатор з температурою до 37 °C (°C) ± 2 °C (°C)

Специфічно для методу касет Ortho BioVue:

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

Специфічно для методу мікропланшетів з «U»-подібним дном:

- Валідовані мікропланшети з «U»-подібним дном
- Центрифуга для мікропланшетів
- Шейкер для мікропланшетів
- Автоматичний зчитувач для мікропланшетів

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. Термін придатності реагенту становить 36 місяців від дати виробництва. Цей реагент пройшов дослідження стабільності під час транспортування 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 стабільним 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. При утилізації змити великою кількістю води.
- 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

Визначення груп крові за системою АВО проводиться в крові, як стабілізованій за допомогою консервантів (глюцир, цитроглюкофосфат, гепарин, натрію цитрат), так і в крові без консерванту. 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 розчином фосфатно-сольового буфера (PBS) або ізотонічним фізіологічним розчином.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТУВАННЯ

УВАГА!

Одна крапля становить приблизно 50 мкл (µL), якщо використовувати піпетку, що постачається з флаконом.

1. Техніка визначення груп крові за системою АВО за допомогою моноклональних антитіл (МКА) відповідно до «Інструкції з визначення груп крові за системою АВО», затвердженої наказом Міністерства охорони здоров'я України від 05.07.1999 р. № 164

1. На планшет або пластинку МКА анти-А і анти-В нанесіть по 0.1 мл (мл) (дві краплі піпеткою, що постачається з флаконом) під відповідними написами: «анти-А» або «анти-В».
2. Поряд з краплями антитіл нанесіть досліджувану кров по одній маленькій краплі, приблизно в 10 разів меншій від краплі антитіл (0.01 мл (мл)).
3. Під час визначення групи крові на планшеті антитіла і кров змішуйте ретельно вимитою сухою кулькою, погойдуючи планшет; у разі визначення на пластинці - скляною паличкою, яку необхідно промивати і насухо витирати після розмішування кожної краплі.
4. Спостереження за перебігом реакцій з МКА проведіть за легкого погойдування пластинки чи планшета не більше 3 хвилин.
5. Результат реакції в кожній краплі може бути позитивним або негативним:
Позитивний результат виражається в аглютинації (склеюванні) еритроцитів. Аглютинати помітні неозброєним оком у вигляді дрібних червоних агрегатів, що швидко зливаються і утворюють більш пластівці аж до великого аглютинату.
У разі негативної реакції крапля залишається рівномірно забарвленою, аглютинати в ній не виявляються.
Аглютинація з МКА анти-А і анти-В звичайно настає в перші 3 сек (sec).

2. Метод пробірок

1. Приготуйте суспензію еритроцитів (2-3%) у ізотонічному розчині або фосфатно-сольовому буфері (PBS).
2. Помістіть в марковану пробірку: 1 краплю анти-AB0 реагенту і 1 краплю суспензії еритроцитів.
3. Ретельно перемішайте та інкубуйте при кімнатній температурі протягом 1 хвилини.
4. Центрифугуйте всі пробірки протягом 10 секунд при 1000 RFC (відносне прискорення центрифуги) або за відповідний альтернативний час і силу.
5. Обережно ресуспендуйте згусток еритроцитів і оцініть макроскопічно на наявність аглютинації.
6. Будь-які пробірки, які показують негативний або сумнівний результат, слід інкубувати протягом 15 хвилин при кімнатній температурі.
7. Після інкубації повторіть пункти 4 і 5.

3. Метод пластинок (на площині)

1. Приготуйте 35-45% суспензію еритроцитів у сироватці, плазмі або фосфатно-сольовому буфері (PBS) чи ізотонічному розчині, або використовуйте цільну кров (у власній плазмі) з антикоагулянтами.
2. Помістіть на мічені пластинки: 1 краплю моноклонального реагенту анти-AB0 і 1 краплю суспензії еритроцитів.
3. За допомогою чистої палички змішайте реагент і клітини на поверхні розміром приблизно 20 x 40 мм (mm).
4. Повільно нахиліть пластинки вперед-назад протягом 30 секунд, періодично перемішуючи протягом 1 хвилини, підтримуючи пластинки при кімнатній температурі.
5. Оцініть макроскопічно через 1 хвилину під розсіяним світлом. Не сприймайте фібринові нитки як аглютинацію.
6. Будь-які слабкі реакції слід повторити за допомогою методу пробірок.

4. Метод гелевих ID-карт Bio-Rad

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 анти-AB0.
4. Центрифугуйте ID-картку (-и) в центрифусі для гелевих карток Bio-Rad.
5. Оцініть макроскопічно на наявність аглютинації.

5. Метод касет Ortho BioVue

1. Приготуйте 0.8 % суспензію еритроцитів 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 анти-AB0.
4. Центрифугуйте касету (-и) в центрифусі системи Ortho BioVue.
5. Оцініть макроскопічно на наявність аглютинації.

6. Метод мікропланшетів з «U»-подібним дном

1. Приготуйте 2-3% суспензію еритроцитів у ізотонічному розчині або фосфатно-сольовому буфері (PBS).
2. Помістіть у відповідну лунку: 1 краплю моноклонального реагенту анти-AB0 і 1 краплю суспензії еритроцитів.
3. Ретельно перемішайте, бажано за допомогою шейкера для мікропланшетів, обережно, щоб уникнути перехресного забруднення.
4. Інкубуйте при кімнатній температурі протягом 15 хвилин (час залежить від користувача).
5. Центрифугуйте мікропланшет протягом 1 хвилини при 140 RFC (відносне прискорення центрифуги) або за альтернативний час та силу.
6. Повторно розчиніть згустки клітин, використовуючи контрольоване перемішування на шейкері для мікропланшетів.
7. Оцініть макроскопічно або за допомогою валідованого автоматичного зчитувача.
8. Будь-які слабкі реакції слід повторити за допомогою методу пробірок.

ПРИМІТКА:

- Визначення групи крові проводять у приміщенні з добрим освітленням при температурі від +15 до +25 °C (°C). Слід бути обережним під час інтерпретації результатів тестів, проведених при температурах, що відрізняються від рекомендованих.
- Реагенти не можна зберігати у відкритому вигляді, тому що у разі висихання активність антитіл знижується.
- Заборонено користуватися реагентами, якщо в них знаходяться нерозчинні пластівці або є помутніння.
- При роботі методом пробірок чи методом мікропланшетів оцінку результатів слід провести одразу після центрифугування, щоб забезпечити специфічність та уникнути ймовірності негативного

результату, який можна інтерпретувати як позитивний через висихання реагенту.

ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Позитивний: Аглютинація еритроцитів є позитивним результатом тесту і в межах прийнятних обмежень процедури тестування вказує на наявність відповідного антигену AB0 у досліджуваних еритроцитах.

Негативний: Відсутність аглютинації еритроцитів є негативним результатом і в межах прийнятних обмежень процедури тестування вказує на відсутність відповідного антигену AB0 на досліджуваних еритроцитах.

Інтерпретація результатів реакції аглютинації досліджуваної крові з моноклональними реагентами представлена в таблиці нижче:

№	Результат реакції з моноклональним реагентом*			Досліджувана кров належить до групи
	Анти-А	Анти-В	Анти-AB	
1	-	-	-	0 (I)
2	+	-	+	A (II)
3	-	+	+	B (III)
4	+	+	+	AB (IV)

*Знаком плюс (+) позначена наявність аглютинації, знаком мінус (-) відсутність аглютинації.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

- Рекомендується тестувати позитивний контроль і негативний контроль паралельно з кожною партією тестів. Тести повинні вважатися недійсними, якщо контроль не показує очікуваних результатів.
- Оскільки ці реагенти не містять макромолекулярних потенціаторів, дуже мало ймовірно, що хибнопозитивні реакції викликаються клітинами, вкритими IgG.
- Зразки крові слабких підгруп А або В (наприклад, Ах) можуть викликати хибнонегативні або слабкі реакції при тестуванні за допомогою методів пластин, мікропланшетів, гелевих карт або касет. Слабкі підгрупи доцільно повторно тестувати за допомогою методу пробірок.
- Для осіб віком від шести місяців результати визначення груп крові за системою AB0 повинні бути підтверджені шляхом тестування їх сироватки або плазми на відомі клітини груп А₁ і В, перш ніж можна буде підтвердити їх групу крові AB0.
- Використовувати реагенти та інтерпретувати результати повинні підготовлені та кваліфіковані працівники відповідно до вимог країни, де використовуються реагенти.
- Користувач повинен самостійно визначити придатність реагентів для використання в інших методах.

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Специфічність вихідних моноклональних антитіл демонструється за допомогою панелі антиген-негативних клітин.
- Моноклональний реагент анти-В не реагує з еритроцитами «Acquired-В».
- Моноклональні реагенти AB0 не виявляють крипти антигенів, такі як Т, Тn або Cad.
- Контроль якості реагенту проводився з використанням еритроцитів із фенотипами, які були підтверджені центром переливання крові Великої Британії та були промиті перед використанням розчином фосфатно-сольового буфера (PBS) або ізотонічним сольовим розчином.

ВІДСТЕЖУВАНІСТЬ

Ефективність реагенту була протестована відповідно до референсного стандарту мінімальної ефективності, отриманого від Національного інституту біологічних стандартів та контролю (NIBSC): Анти-А референсний стандарт 03/188 та/або Анти-В референсний стандарт 03/164.

ОБМЕЖЕННЯ

- Виробник не несе відповідальності за використання реагентів будь-яким іншим методом, крім тих, що зазначені в ПРОЦЕДУРІ ТЕСТУВАННЯ.
- Виробник не несе відповідальності за будь-які відхилення від ПРОЦЕДУРИ ТЕСТУВАННЯ.
- Антигени AB0 не повністю розвинені при народженні, тому можуть виникати слабші реакції зі зразками пуповини або новонароджених.
- При використанні моноклонального анти-AB, зразки крові слабких підгруп А або В (наприклад, Ах) можуть викликати хибнонегативні або слабкі реакції при тестуванні за допомогою методів пластин, мікропланшетів, гелевих карт або касет. Слабкі підгрупи доцільно

- повторно тестувати за допомогою методу пробірок.
- Моноклональний анти-А і моноклональний анти-В не протестовані на виявлення антигенів А_х і А_з або В_х і В_з відповідно, і тому ми не стверджуємо реактивність моноклонального анти-А або анти-В реагенту проти цих слабких А і В підгруп.
- Консервована кров може давати більш слабкі реакції, ніж свіжа.
- 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
 - Зразки пуповини, забруднені желе Уортона

ПОВОДЖЕННЯ З ВІДХОДАМИ

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

СИМВОЛИ

	Кат. номер продукту		Температура зберігання
	Реагенти для діагностики <i>in vitro</i>		Дивіться інструкцію з використання
	Номер партії		Виробник
	Термін придатності		Вміст флакону
 UA.TR.116	Знак відповідності технічним регламентам з ідентифікаційним номером призначеного органу з оцінки відповідності, який був залучений на етапі контролю виробництва		

Вся продукція IVD, вироблена компанією, перебуває під контролем сертифікованої Системи управління якістю, схваленої Уповноваженим органом з оцінки відповідності. Кожна партія проходить контроль якості та випускається на ринок лише за умови відповідності технічним регламентам та критеріям прийнятності.



ВИРОБНИК:

ТОВ «ЛАБЮЕЙ»
Україна, 76018
м. Івано-Франківськ, вул. Петлюри, 25
Моб.: +38 (067) 000-20-22
E-mail: info@labua.com.ua



UA.TR.116