



ИНСТРУКЦИЯ
по применению Анти-RhD IgG моноклонального реагента
для определения резус-принадлежности крови человека
(ЭРИТРОТЕСТ™-Цоликлон Анти-D IgG)
ТУ 9398-215-27575295-00

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Анти-RhD IgG моноклональный реагент для определения резус-принадлежности крови человека (ЭРИТРОТЕСТ™-Цоликлон Анти-D IgG) предназначен для выявления антигена D (Rh1) системы Резус в эритроцитах человека.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИНЦИП МЕТОДА

Стандартный комплект состоит из реагента - 10 флаконов по 5 мл или 10 мл, инструкции по применению и паспорта. Реагенты разлиты в пластиковые или стеклянные флаконы с капельницами.

Расход реагента ЭРИТРОТЕСТ™-Цоликлон Анти-D IgG – 0,1 мл на одно определение при исследовании в пробирке и 0,05 мл на одно определение при исследовании в планшете. Флакон с реагентом 5 мл рассчитан на 50 определений в пробирке и 100 определений в планшете. Флакон с реагентом 10 мл рассчитан на 100 определений в пробирке и 200 определений в планшете.

По согласованию с заказчиком число флаконов может быть изменено.

Действующим началом реагента являются моноклональные Анти-D антитела, принадлежащие к классу иммуноглобулинов IgG1, молекулы которых полностью идентичны между собой по структуре и биологической активности, не содержат антител иной специфичности, и поэтому могут быть использованы для выявления D антигена в эритроцитах любой группы крови.

В основе диагностического действия ЭРИТРОТЕСТ™- Цоликлона Анти-D IgG лежит реакция непрямой агглютинации D+ эритроцитов. Поскольку антитела анти-D класса IgG1 после связывания с D+ эритроцитами не вызывают их агглютинации, необходимо добавить антиглобулиновую сыворотку или раствор желатина, которые вызывают образование агглютинатов из эритроцитов, наблюдаемые невооруженным глазом. Реакция непрямой агглютинации с помощью антиглобулиновой сыворотки является наиболее чувствительным методом выявления D-антигена и его слабых вариантов.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Реагент ЭРИТРОТЕСТ™-Цоликлон Анти-D IgG обеспечивает высокочувствительное и специфичное связывание с D+ эритроцитами. Использование ЭРИТРОТЕСТ™-Цоликлон Анти-D IgG позволяет выявлять на эритроцитах не только нормальный антиген D, но и его слабые варианты – D^u.

Реагент ЭРИТРОТЕСТ™-Цоликлон Анти-D IgG специфичен, то есть не связывается с D(-) эритроцитами. ЭРИТРОТЕСТ™-Цоликлона Анти-D IgG обладает высокой агглютинирующей активностью, а именно, способностью при титровании вызывать полную

агглютинацию D(+) эритроцитов в первых трех разведениях. Титр реагента в непрямом антиглобулиновом тесте с резус-положительными эритроцитами не ниже 1:512.

В составе реагента не содержится добавок, способных вызвать неспецифическую полиагглютинацию эритроцитов, поэтому не требуется проведения контроля растворителя. Для контроля специфичности и активности препаратов в каждую серию исследований необходимо включать стандартные D+ и D- эритроциты, а в случае использования реакции конгломинации с желатином также проводить контроль эритроцитов с раствором желатина без Цоликлона Анти-D (контроль на ауто- и панагглютинацию эритроцитов).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все компоненты реагента в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Технология изготовления реагента исключает возможность его контаминации патогенными для человека вирусами. Однако при работе с реагентом следует надевать одноразовые перчатки, так как исследуемая кровь человека является потенциально опасным материалом и может содержать ВИЧ, вирус гепатита или возбудителей других инфекций.

При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г.

Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с реагентом, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

Запрещается приём пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с реагентом.

5. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Пробирки центрифужные градуированные (ГОСТ 1770-74);

Пробирки круглодонные серологические вместимостью 5,0-10 мл (ГОСТ 23932-90);

96-луночный круглодонный планшет для иммунологических реакций (Фирма Costar, США, кат. № 3798 или аналог);

Пипетки мерные вместимостью 10 мл (ГОСТ 29227-91);

Пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 50 и 100 мкл (погрешность измерения не более 3%);

Центрифуга настольная с адаптерами для пробирок и микроплат, 100-3000 об/мин, (LMC-3000, BioSan, Латвия, или аналог)

Шейкер для микроплат BioSan PSU-2T, Латвия или аналог;

Термостат лабораторный или баня водяная, поддерживающие температуру $+ 37 \pm 1$ °C и $+ 48 \pm 1$ °C;

Секундомер;

0,9 % раствор натрия хлорида (ФС.2.2.0014.15) (ФР);

Раствор с низкой ионной силой ЭРИТРОТЕСТ™-LISS (ТУ 9398-018-27255295-2011) или аналог.

Антиглобулиновая сыворотка (ТУ 9398-018-27255295-2011) или аналог;

Раствор желатина 10 %;

Стандартные эритроциты D+, D(-) (2-5%);

Перчатки медицинские одноразовые (ГОСТ Р 52239-2004);

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Нативная кровь, стабилизированная консервантом, или без консерванта; кровь, взятая из пальца.

Для исследования берут эритроциты, не более двухдневного срока хранения при температуре хранения +2 - +8 С°, цельную кровь, взятую непосредственно перед исследованием. Нельзя анализировать гемолизированную кровь.

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ К АНАЛИЗУ

Реагент ЭРИТРОТЕСТ™-Цоликлон Анти-D IgG готов к применению. Используйте реагент прямо из флаконов.

Исследуемые эритроциты отмойте трижды 0,9% раствором хлористого натрия (ФР) и приготовьте 2-5% суспензию эритроцитов в ФР или в растворе с низкой ионной силой (LISS).

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

8.1. Реакция непрямой агглютинации с помощью антиглобулиновой сыворотки.

Внесите 0,1 мл взвеси эритроцитов в круглодонную пробирку или 0,05 мл в ячейку круглодонного планшета.

Добавьте в пробирку 2 капли (0,1 мл), а в ячейку – 1 каплю (0,05 мл) ЭРИТРОТЕСТ™-Цоликлон Анти-D IgG из флакона-капельницы и смешайте.

Инкубируйте смесь 45-60 мин при 37°C, если эритроциты взвешены в ФР, и 15 мин, если эритроциты взвешены в растворе LISS.

Отмойте смесь один раз (ФР), полностью удалите супернатант после отмывки.

К осадку в пробирке добавьте 2 капли (0,1 мл), а в ячейку 96-луночной платы 1 каплю (0,05 мл) антиглобулиновой сыворотки и тщательно смешайте.

Немедленно центрифугируйте пробирку или планшет 1 мин при 1500 об/мин.

Мягко покачивая пробирку, отделите осадок от дна и определите наличие агглютинации. При нечетком результате проинкубируйте пробирку или планшет 10-15 мин при комнатной температуре, после чего повторите центрифугирование, снова мягко покачайте пробирку или планшет и определите наличие агглютинации.

При положительном результате в пробирке эритроциты образуют один или несколько комочков (агглютинаты) на фоне просветленной жидкости. При отрицательном результате в пробирке наблюдается однородная непрозрачная суспензия эритроцитов. В планшете при положительном результате эритроциты выстилают все дно лунки, при отрицательном – собираются на дне лунки в виде маленькой четкой точки.

Эритроциты со слабым вариантом антигена D (D^u) могут давать результат в виде мелкой вплоть до пылевидной агглютинации.

Положительный результат свидетельствует о наличии на эритроцитах D антигена. В сомнительных случаях прибегают к помощи микроскопа.

8.2. Реакция конглоутинации с желатином.

В круглодонную пробирку внесите одну каплю (0,05 мл) отмытых эритроцитов.

Добавьте одну каплю (около 0,05 мл) ЭРИТРОТЕСТ™-Цоликлона Анти-D IgG.

Добавьте 2 капли 10% раствора желатина, предварительно подогретого при 45-50°C до разжижения. Смесь тщательно перемешайте и инкубируйте 10-15 мин в водяной бане при 48°C или 30 мин в термостате. Добавьте в пробирку 5-6 мл ФР и после осторожного переворачивания пробирки визуально оцените наличие агглютинатов в виде, как правило, нескольких неразбивающихся комочков или взвеси мелких агглютинатов. Положительный результат свидетельствует о наличии на эритроцитах D антигена. Очень мелкая агглютинация свидетельствует о наличии на эритроцитах одного из слабых вариантов D антигена - D^u .

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Хранение реагента ЭРИТРОТЕСТ™-Цоликлон Анти-D IgG должно производиться в упаковке предприятия-изготовителя в сухом месте при температуре 2-8°C в течение всего срока годности. Допускается хранение при температуре до 25°C не более 10 сут.

Транспортирование реагента должно производиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре 2-8°C. Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 дней.

Гарантийный срок годности реагента - 2 года со дня приемки ОККП предприятия-изготовителя.

Реагент после вскрытия флакона необходимо хранить в закрытом виде при температуре 2-8°C и использовать в течение всего срока годности.

10. УТИЛИЗАЦИЯ

Реагент, а также отходы, содержащие кровь и ее компоненты (отходы класса Б), образующиеся в результате использования реагента, должны быть утилизированы в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

11. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие реагентов требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, указанных в настоящей инструкции.

12. РЕКЛАМАЦИИ

Основаниями для рекламации являются: отсутствие активности, неспецифичность реагента, нарушение целостности флакона, истекший срок годности или недостаточные сведения. При составлении рекламации необходимо указать дату получения, номер серии, причины, по которым реагент признан негодным. Вместе с рекламацией направляют образцы данной серии реагент и протокол с результатами проверки. Рекламацию следует направить на предприятие-изготовитель.

ООО «ГЕМАТОЛОГ», 125167, Москва, Новый Зыковский пр., д.4, стр.1. тел/факс (495)614-40-51, 8-800-777-07-72, hematologltd@vandex.ru

Прошито и пронумеровано

1 листов

Директор ООО «ГЕМАТОЛОГ»

Митерев Г.Ю.

