



УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «Медиклон»
Н.А. Викторов

«16» 07 2018 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения антигенов крови человека систем
MNS и Kell
(Цоликлоны анти-M, анти-N, анти-k (челлано))

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для определения антигенов крови человека систем MNS и Kell (Цоликлоны анти-M, анти-N, анти-k (челлано)) предназначен для определения антигенов крови человека систем MNS и Kell в случае типирования крови доноров и реципиентов. Определение антигенов проводится с помощью прямой реакции агглютинации на плоскости.

1.2. По антигенам MNSs все люди делятся на группы: MS, NS, MNS, Ms, Ns, MNs. Эти агглютиногены в условиях нормы не имеют одноименных агглютининов и при переливании крови обычно не учитываются, так как обладают слабой антигенной активностью. В большинстве изученных популяций частота M-антигена - 50-60%, N антиген - 40-50%.

Аллельность генов K и k (челлано) подтверждена популяционными и посемейными исследованиями. Лица, не содержащие антигена K, всегда содержат k и, наоборот. Оба антигена могут присутствовать на эритроцитах вместе - фенотип Kk. Отсутствие обоих антигенов (фенотип K0) встречается редко и, как правило, сочетается с патологией. Антиген k (челлано) встречается у 99,8% европеоидов. Таким образом, определение антигена k необходимо для точного определения фенотипа.

1.3. Окончательный диагноз должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

1.4. Набор предназначен для диагностики ин витро.

1.5. Область применения - клиническая лабораторная диагностика. Потенциальным потребителем является медицинский персонал клиничко-диагностических лабораторий.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

При взаимодействии антител с антигеном происходит агглютинация эритроцитов. Если эритроциты не содержат исследуемые антигены, или сыворотка крови — антитела, то агглютинации не происходит.

2.2. В состав реагентов входят:

- Цоликлон анти-M - моноклональные антитела класса IgM, продуцируемые клетками мышинной гетерогридомы, 1,8% раствор хлористого натрия (ТУ 9398-101-51203590-2009), борная кислота (Россия) в конечной концентрации 3%, этилендиаминтетрауксусная кислота (Panreac, Испания) в конечной концентрации 13,4 мМ, глицин (Panreac, Испания) в конечной концентрации 0,45%, альбумин бычий сывороточный (Panreac, Испания) в конечной концентрации 0,5%, декстран (Panreac, Испания) в конечной концентрации 4,2% (регламент № 07/2016, ООО «Медиклон»);

- Цоликлон анти-N - моноклональные антитела класса IgM, продуцируемые клетками мышинной гетерогибридомы, 1,8% раствор хлористого натрия (ТУ 9398-101-51203590-2009), борная кислота (Россия) в конечной концентрации 3%, этилендиаминтетрауксусная кислота (Panreac, Испания) в конечной концентрации 13,4 мМ, глицин (Panreac, Испания) в конечной концентрации 0,45%, альбумин бычий сывороточный (Panreac, Испания) в конечной концентрации 0,5%, декстран (Panreac, Испания) в конечной концентрации 4,2% (регламент №07/2016, ООО «Медиклон»);
- Цоликлон анти-k(челлано) - моноклональные антитела класса IgM, продуцируемые клетками гетерогибридомы человека, 1,8% раствор хлористого натрия (ТУ 9398-101-51203590-2009), борная кислота (Россия) в конечной концентрации 3%, этилендиаминтетрауксусная кислота (Panreac, Испания) в конечной концентрации 13,4 мМ, глицин (Panreac, Испания) в конечной концентрации 0,45%, альбумин бычий сывороточный (Panreac, Испания) в конечной концентрации 0,5%, декстран (Panreac, Испания) в конечной концентрации 4,2% (регламент № 07/2016, ООО «Медиклон»);
- Контрольный раствор для цоликлонов - среда для приготовления цоликлонов -1,8% раствор хлористого натрия (ТУ 9398-101-51203590-2009), борная кислота (Россия) в конечной концентрации 3%, этилендиаминтетрауксусная кислота (Panreac, Испания) в конечной концентрации 13,4 мМ, глицин (Panreac, Испания) в конечной концентрации 0,45%, альбумин бычий сывороточный (Panreac, Испания) в конечной концентрации 0,5%, декстран (Panreac, Испания) в конечной концентрации 4,2% (регламент № 07/2016, ООО «Медиклон»);
- Планшет серологический многоцветный - пластиковый планшет с лунками, обеспечивающими активное формирование агглютинатов, (регламент № 08/2016, ООО «Медиклон»);
- Палочка для перемешивания - пластиковая палочка длиной 12 см, полнотелая, диаметром 2мм (регламент № 08/2016, ООО «Медиклон»);

Набор поставляется в двух комплектах, в которые входят следующие компоненты:

Цоликлон анти-M	1фл.	× 5 мл	
Цоликлон анти-N	1фл.	× 5 мл	
Цоликлон анти-k (челлано)	1фл.	× 5 мл	x10мл
Контрольный раствор для цоликлонов	1фл	× 5 мл	x5мл
Планшет серологический многоцветный	10шт		10шт
Палочка для перемешивания	250 шт	.	250 шт

Комплект №1

Цоликлон анти-M	1фл.	× 5 мл
Цоликлон анти-N	1фл.	× 5 мл
Цоликлон анти-k (челлано)	1фл.	× 5 мл
Контрольный раствор для цоликлонов	1 фл	× 5 мл
Планшет серологический многоцветный	10шт	

Палочка для перемешивания 250 шт.

Комплект №2

Цоликлон анти-k (челлано) 1 фл. × 10 мл

Контрольный раствор для цоликлонов 1 фл × 5 мл

Планшет серологический многоцветный 10шт

Палочка для перемешивания 250 шт.

Стандартный флакон содержит 5 мл или 10 мл реагента и рассчитан соответственно на 100 или 200 определений при расходе 50 мкл каждого реагента на одно определение.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Цоликлоны — растворы моноклональных антител, продуцируемых клетками соответствующих гетерогридом, и принадлежащих к иммуноглобулинам класса М.

Цоликлон анти-M — вызывает агглютинацию эритроцитов, содержащих антиген M; титр: 1:32.

не вызывает агглютинацию с эритроцитами не содержащими антиген M.

Цоликлон анти-N — вызывает агглютинацию эритроцитов, содержащих антиген N; титр: 1:32.

не вызывает агглютинацию с эритроцитами не содержащими антиген N.

Цоликлон анти-k (челлано) — вызывает агглютинацию эритроцитов, содержащих антиген k;

титр: 1:8

не вызывает агглютинацию с эритроцитами не содержащими антиген k

Контрольный раствор - не вызывает агглютинацию с эритроцитами, содержащими M, N и k

С помощью набора реагентов для определения антигенов крови человека систем MNS и Kell «Цоликлоны анти-M, анти-N, анти-k (челлано)» проанализировано 7620 образцов, из них:

содержащих антиген M - 5944

не содержащих антиген M - 1676

содержащих антиген N - 5486

не содержащих антиген N - 2134

содержащих антиген k (челлано) - 7605

не содержащих антиген k (челлано) - 15

Таким образом, диагностическая чувствительность набора по антигену M составила 99,95%; диагностическая специфичность набора по антигену M — 99,82% с доверительной вероятностью 95% (доверительный интервал 95 — 100%). Диагностическая чувствительность набора по антигену N составила 99,95%; диагностическая специфичность набора по антигену N — 99,86% с доверительной вероятностью 95% (доверительный интервал 95 — 100%). Диагностическая чувствительность набора по антигену k (челлано) составила 99,96%; диагностическая специфичность набора по антигену k (челлано) — 81,90% с доверительной вероятностью 95% (доверительный интервал 95 — 100%).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Компоненты реагентов в используемых концентрациях являются нетоксичными.

В связи с тем, что исследуемые образцы крови следует рассматривать как потенциально инфицированные и способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита и другие вирусные инфекции, при проведении анализов следует использовать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, а также одноразовые палочки и специальные серологические планшеты (одноразовые или многоразовые).

Определение группы крови производится в помещении с хорошим освещением при температуре от 15°C до 25°C.

Потенциальный риск применения набора – класс 3 (приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

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 клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г. и в методических указаниях МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения», утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998. При использовании набора образуются отходы классов Б, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе с реагентами требуются следующие оборудование и материалы:

- секундомер (ГОСТ 5072-79);
- пробирки градуированные центрифужные 10 мл (ГОСТ 25336-82Е);
- автоматические одноканальные пипетки объемом на 10–200 мкл, 100–1000 мкл (BIONIT, Финляндия);
- центрифуга настольная на 3000 об/мин;
- 0,9% и 1.8% раствор хлористого натрия (ТУ 9398-101-51203590-2009)
- раствор низкой ионной силы (ТУ 9398-102-51203590-2012);
- дистиллированная вода (ГОСТ 6709-72);
- перчатки резиновые (ГОСТ 3-88);
- стандартные эритроциты, содержащие антигены групп MNS и Kell

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Определение производится в цельной крови, взятой с использованием ЭДТА или цитрата натрия в качестве консерванта; в крови, взятой без консерванта; в капиллярной и венозной крови. Для исследования используют эритроциты не более двухдневного срока хранения при температуре от +2°C до +8°C.

Во избежание ошибок необходимо использовать плотно упакованный осадок эритроцитов, максимально освобожденный от взвешивающей среды. Хранят анализируемые образцы от +2°C до +8°C, не более 2-х суток.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА.

Все реагенты готовы к использованию.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

8.1 Подготовка эритроцитов

- Образцы исследуемой крови в объеме 1-2 мл, а также стандартных эритроцитов в объеме 0,5-1 мл, содержащих антигены М, N и k, перенести в центрифужные пробирки.
- **Пробирки с образцами крови центрифугировать при 2000 об/мин при комнатной температуре от 18 °С до 25°С в течение 5 мин.**
- Удалить супернатант.
- К осадку добавить 5 мл 0,9% раствора хлористого натрия.
- Пробирки с образцами крови центрифугировать при 2000 об/мин при комнатной температуре от 18 °С до 25°С в течение 5 мин.
- Такую процедуру повторить трижды, используя во всех дальнейших операциях осадок отмытых таким образом эритроцитов.
- После последнего центрифугирования к осадку добавить раствор 0,9% хлористого натрия или раствор низкой ионной силы до концентрации 5% эритроцитов.

8.2 Техника типирования крови человека по системам MNS и Kell

8.2.1. Метод прямой гемагглютинации на плоскости с цоликлонами анти-М, анти-N и анти- k(челлано),

- В 4 лунки серологического планшета внести по 50 мкл цоликлонов анти-М, анти-N и анти-k(челлано) и контрольного раствора
 - В каждую лунку с реагентами добавить по 50мкл 5% взвеси исследуемых эритроцитов.
 - Смесь тщательно перемешать одноразовой пластиковой палочкой
 - Наблюдать агглютинацию 3 минуты невооруженным глазом или с помощью лупы
 - При подозрении на неспецифическую агглютинацию добавить 100мкл 0,9% раствора хлористого натрия, при этом ложная агглютинация должна разойтись.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА.

Наличие агглютинации с исследуемыми эритроцитами указывает на присутствие соответствующих антигенов в исследуемой крови. Для контроля специфичности (независимо от применимой методики исследования) необходимо использовать соответствующие стандартные (+) и (–) эритроциты.

10. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наличие агглютинации свидетельствует о положительном результате, отсутствие агглютинации – отрицательный результат.

11. ОГРАНИЧЕНИЕ МЕТОДА

Набор реагентов «Цоликлоны анти-М, анти-N, анти-k (челлано)» предназначен для диагностических целей, однако окончательный диагноз не должен основываться только на результатах данного теста. Диагноз должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

12. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВКИ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

12.1. Транспортирование.

12.1.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на

транспорте данного вида, при температуре от минус 20 до 25 °С не более 10 суток без применения специальных условий.

12.1.2. Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

12.2. Хранение.

12.2.1. Хранение набора должно осуществляться в упаковке предприятия-изготовителя в сухом месте при температуре от 2°С до 8°С в течение всего срока годности. При необходимости допускается хранение реагентов при температуре до 25°С не более 10 суток. Вскрытый и закрытый флакон с реактивом или контрольным раствором сохраняет при условии правильного хранения качество реактива или раствора в течение всего указанного срока годности. Контролем вскрытия является срываемое кольцо на крышке.

Срок годности набора – 24 месяца со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

12.2.2. Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

12.3. Эксплуатация.

12.3.1. При использовании набора необходимо придерживаться следующих правил:

- не использовать Набор после окончания срока годности.
- не использовать Набор реагентов, если упаковка повреждена.
- использовать только оборудование, прошедшее метрологическую поверку.
- после использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона.

Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

12.3.2. Все компоненты Набора реагентов при соблюдении требований данной Инструкции стабильны в течение всего срока годности. Не используйте Набор с истекшим сроком годности. Срок годности набора указан на внешней стороне упаковки.

12.3.3 Неправильное обращение с образцами и изменение процедуры постановки анализа могут повлиять на результаты. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению.

12.4. Утилизация.

12.4.1. Изделия, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации.

12.4.2. Медицинские отходы класса Б. Утилизацию или уничтожение наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

12.4.3. Утилизация проводится специализированными организациями, которые имеют лицензию на право утилизации медицинских отходов.

13. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

13.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

13.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

13.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием

скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

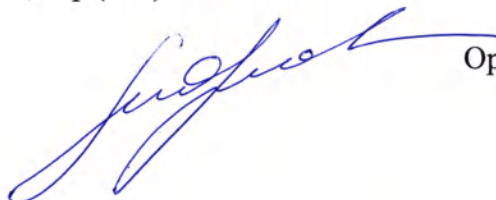
13.4. Основаниями для рекламации являются: отсутствие активности, неспецифичность, нарушение целостности флакона, наличие хлопьев. При составлении рекламации необходимо указать дату получения, номер серии, причины, по которым реагент признан негодным. Необходимо приложить протокол с результатами проверки реагента. Вместе с рекламацией направляют 2–3 невскрытых флакона с реагентом данной серии.

По вопросам, касающимся качества Набора реагентов «Цоликлоны анти-М, анти-N, анти-k (челлано)», следует обращаться на предприятие-изготовитель ООО

«Медиклон» по адресу:

127276, г. Москва, Ботаническая д. 35, т/ф (499)502-12-14

Заведующий производством
ООО «Медиклон»



Орлова М.С.

« 16 » 07 2018г

«СОГЛАСОВАНО»
Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

« ____ » 31.07.2018 г.

..



П.К. Варнавичус

Прошито в количестве **7** листов.

16 июля 2018 г.

Генеральный директор
ООО "Медиклон"

H. A. Viktorov

Викторов Н.А.

