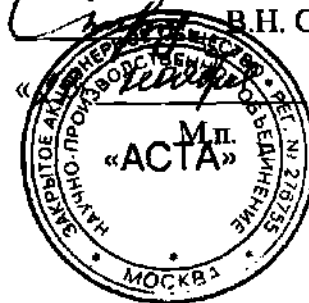




«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ЗАО «НПО АСТА»


В.Н. Спиридонов
200 7 г.


ИНСТРУКЦИЯ по применению

Реагенты для иммуногематологического анализа *in vitro*

DIAGAST

ScreenLys

**Набор для скрининга антител при использовании E.M.®
Технологии**

ВВЕДЕНИЕ

ScreenLys – это медицинские устройства для диагностики *in vitro* (IVDMD) для профессионального использования. ScreenLys используется для скрининга антител в сыворотке или плазме человека. Этот набор применяется только при работе по технологии E.M.® (Технология намагниченных эритроцитов) на рабочей станции FREELYS® Nano и полностью автоматизированном устройстве QWALYS®.

ПРИНЦИП

Скрининг-тест на антитела для технологии E.M.® основан на намагничивании эритроцитов. В этом методе используется Непрямой антиглобулиновый тест (IAT) в сочетании с магнитным полем.

- Плазма или сыворотка исследуемого образца инкубируется вместе с препаратом HEMASCREEN. (перед запаковкой производится предварительное фенотипирование намагниченных эритроцитов группы «О»). Эти эритроциты сенсibilизированы к различным антителам. Более подробная информация находится на листках-вкладышах.

- При помещении в магнитное поле, намагниченные эритроциты перемещаются ко дну ячейки.

- Ячейки микропланшета ScreenLys покрыты моноклональным анти-IgG антиглобулином.

Иммуноглобулины IgG присоединяются к поверхности эритроцитов. Это, в свою очередь, приводит к образованию эритроцитарного слоя на дне ячейки.

СОСТАВ

Набор ScreenLys (DIAGAST Ref.: 79853) состоит из:

- 6 микропланшетов покрытых крысиным антиглобулином анти- IgG. Каждый микропланшет отдельно упакован, снабжен адгезивной пленкой и десикантом и помещен в вакуумный контейнер.
- 9 пробирок, содержащих 8 мл раствора NanoLys, раствор, содержащий альбумин бычьей сыворотки (BSA) и консервант проклин (0,03%)
- 1 пробирку, с 50 мл разжижителя, фосфатного буфера содержащего альбумин бычьей сыворотки (BSA) и консервант проклин (0,03%).
- 6 адгезивных пленок

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Рекомендуется использовать перчатки и защитные очки, а также осторожно работать с образцами человеческой ткани. Все материалы, которые имели контакт с образцами, должны считаться потенциально зараженными. Следует применять специальные защитные меры и условия по утилизации и дезинфекции данных материалов в соответствии с правилами местных нормативных актов. Не используйте поврежденные или протекшие реагенты.

НЕОБХОДИМЫЕ РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ

-HEMASCREEN (DIAGAST ссылка: см. каталог) – это набор намагниченных эритроцитов для скрининга антител при использовании технологии E.M.®

- Внутренний контроль качества для скрининга антител, например SERA CQI (DIAGAST ссылка: см. каталог)

- Центрифуга с относительной силой центрифугирования, регулируемой до 2500 G

- Автоматический инструмент QWALYS®, CleanLys 10X, очищающий раствор (DIAGAST ссылка: см. каталог)

- FREELYS® Nano рабочая станция (DIAGAST ссылка: см. каталог) и Автоматические пипетки с регулируемой скоростью.

КОНТРОЛЬНЫЕ ОБРАЗЦЫ

Образцы крови, предназначенные для исследования

Контрольные образцы крови, собранные в EDTA, цитрат или гепарин в стерильную пробирку с притертой пробкой, хранятся при температуре + 2 °C...+ 8 °C, и должны быть исследованы в течение 48 часов до момента видимого гемолиза.

Образцы внутреннего контроля качества для скрининга антител

Валидация системы должна проводиться этими образцами. Они предназначены для выявления каких-либо отклонений, связанных с процедурой исследования, например, реагентами, средой, или материалами, и принятия соответствующих мер по их корректировке.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРИ РАБОТЕ НА QWALYS®

ХРАНЕНИЕ

ScreenLys должен храниться при температуре от + 2 до +8 °C. Активность реагента гарантируется с момента первого пользования до даты истечения срока годности, обозначенной на этикетке.

- После выполнения теста на некоторых микропланшетах могут оставаться неиспользованные ячейки. Эти микропланшеты могут быть использованы повторно в течение последующих 8 дней с момента вскрытия упаковки, при условии работы на автоматическом оборудовании при температуре от +18 °C и +25 °C.

-Пробирки с раствором NanoLys и разжижителем можно использовать в течение 20 дней после вскрытия упаковки. В конце рабочего дня наборы следует убирать и хранить при температуре от + 2 до +8 °C.

ПРОЦЕДУРА

- Пожалуйста, ознакомьтесь с руководством пользователя QWALYS® перед использованием инструмента, проведением теста, проверкой отдельных элементов устройства и его обеззараживанием.

- Выберите программу для выполнения требуемого анализа. Эта программа определит реагенты, которые следует использовать с этим инструментом.

- Пробирки с образцами крови подвергаются центрифугированию в течение 5 минут при относительной силе центрифугирования 2500 G
- Набор следует выдержать при комнатной температуре, как минимум 30 минут перед использованием
- Разбавьте раствор CleanLys (10X) в соответствии с техническими инструкциями
- Осторожно поместите набор и образцы на автоматический инструмент, предварительно откупорив их. Поместите штрих-коды таким образом, чтобы их можно было прочитать (см. руководство пользователя к QWALYS®).
- Освободите микропланшеты от упаковки и поместите их на соответствующее место инструмента.
- Начинайте работать с инструментом

- Прочтение результатов осуществляется QWALYS®. Однако можно оценить реакцию и результаты невооруженным глазом в каждой лунке.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРИ РАБОТЕ НА FREELYS® Nano

ХРАНЕНИЕ

ScreenLys должен храниться при температуре от +2 до +8 °C. Он не должен подвергаться заморозке. Активность реагента гарантируется с момента первого пользования до даты истечения срока годности, обозначенной на этикетке.

- После выполнения теста на некоторых микропланшетах могут оставаться неиспользованные ячейки. Эти микропланшеты могут быть использованы повторно в течение последующих 8 дней с момента вскрытия упаковки, при условии работы на автоматическом оборудовании при температуре от +18°C и +25°C.

- Пробирки с раствором NanoLys и разжижителем можно использовать в течение 4 месяцев после вскрытия упаковки. В конце рабочего дня наборы следует убирать и хранить при +2 до +8 °C.

ПРОЦЕДУРА

- Набор перед использованием следует выдержать при комнатной температуре.

- Включите рабочую станцию FREELYS Nano в розетку или активируйте его, если он находится в режиме временной остановки. (см. руководство пользователя к FREELYS Nano)

- Через 10 минут температурный дисплей на рабочей станции приобретет зеленый цвет. Температура инкубатора выставлена на значение +37°

- Пробирки с образцами крови подвергаются центрифугированию в течение 5 минут при относительной силе центрифугирования 2500 G

- Поместите пробирки с образцами исследуемой крови на рабочую станцию FREELYS Nano

- Освободите микропланшеты от упаковки и поместите их на центральную часть FREELYS Nano.

- Осторожно встряхивая флаконы с HEMASCREEN и NanoLys, перемешайте их содержимое до полной гомогенизации.

Все реагенты должны добавляться к образцу крови осторожно по стенке пробирки.

- Аккуратно нанесите 60 мкл раствора NanoLys в ячейки для выполнения теста.

- Добавьте 60 мкл разжижителя в ячейки.

- Добавьте последовательно в три ячейки 12 мкл плазмы или сыворотки из пробирки с отцентрифугированным образцом.

- Добавьте из каждого флакона с HEMASCREEN по 15 мкл в каждую из соответствующих 3 ячеек, использовавшихся для скрининга плазмы пациентов

- Накройте использованные ячейки адгезивной пленкой необходимого размера, отрезанной заранее.

- Поместите в инкубатор на 20 минут, +37°

- Снимите адгезивную пленку

- Поместите магнитную пластину на один из шейкеров.

- В конце инкубации немедленно поместите микропланшет на магнитную пластину, лежащую на шейкере, включите программу. (P3)

- В конце программы раздастся звуковой сигнал. Перенесите микропланшет на центральную часть рабочей станции и начните оценку результатов. Реакцию следует оценивать в течение 4 часов после встряхивания. Результаты будут доступны для интерпретации в течение 48 часов при условии, если микропланшет был накрыт адгезивной пленкой, хранился при температуре от +2 до +8 °C и используется впервые.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

• Положительная реакция

Позитивная реакция указывает на присутствие антител. Они соответствуют антигенам, которые используются для данной группы эритроцитов. Интенсивность реакции может варьироваться от 4 до (+) в зависимости от уровня антител, присутствующих в образце.

- При положительной реакции 4+ эритроциты образуют однородный слой на дне ячейки.

- При положительной реакции 3+, 2+, 1+ или (+) частично может наблюдаться клеточный слой. Он может выглядеть в виде незамкнутого кольца.

• Отрицательная реакция

Отрицательная реакция указывает на отсутствие антител. При группировке эритроцитов на дне ячейки образуются точки.

Если ячейка остается прозрачной, это говорит об отсутствии эритроцитов, поэтому эти результаты не подлежат интерпретации. Это может быть вызвано проблемами связанными с процедурой выполнения теста, гемолизом эритроцитов или клиническим состоянием испытуемого образца.

-Интерпретация:

• Реакция оценивается только в том случае, если была проведена валидация аналитической системы на образцах внутреннего контроля качества.

- Если во всех ячейках одного пациента наблюдается отрицательная реакция, это говорит о том, что у данного пациента нет транзиторных антител, которые определяются при помощи системы Hemascreen.
- Наличие одной и более положительных ячеек говорит о том, что исследуемый образец антитела, соответствующие антигенам, присутствующим в системе Hemascreen. Следует произвести идентификацию антител.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

- Использование системы разрешается только квалифицированному персоналу, ознакомившемуся с содержанием листовки и руководства к рабочей станции FREELYS® Nano
 - С набором ScreenLys для определения антител по технологии E.M. . Должна быть использована только система Hemascreen
 - Только система Hemascreen может определить антитела, соответствующие антигенам, присутствующим в группе.
 - Может быть определен только человеческим IgG
 - Должны строго соблюдаться условия хранения, сроки годности и процедура проведения теста.
 - Не используйте микропланшеты ScreenLys, NanoLys или Разжижитель при работе с QWALYS® если они уже использовались при работе на рабочей станции FREELYS® Nano.
- Ошибочные результаты могут наблюдаться в случае, если:

- В образцах присутствуют следы фибрина или произошел гемолиз
- Образец был собран в коагулянт, не указанный в рекомендациях
- Образец был отцентрифугирован при неправильных условиях
- Использовались эритроциты не системы HEMASCREEN
- Объем сыворотки или плазмы при исследовании на QWALYS® был меньше 1 мл
- Значение на индикаторе не достигло оптимальной температуры
- При использовании метода FREELYS® Nano промежуток между введением раствора NanoLys и инкубацией микропланшета составляет 15 минут. Реагенты должны наноситься в ячейки очень осторожно.

Необходимо:

- Использовать только рекомендуемые наборы при работе с QWALYS® or the FREELYS® Nano.
- Использовать руководство к QWALYS® или FREELYS® Nano, для получения информации об установке, работе и т.д.
- Не использовать микропланшеты в поврежденной алюминиевой упаковке. Негерметичность может вызвать регидратацию реагентов на микропланшете и, следовательно, снижение их активности
- Предварительно центрифугировать в течение 5 мин при относительной силе центрифугирования 2500 G
- Работать с чистым оборудованием и чистыми продуктами (без бактериального или какого-либо другого заражения).

ЭФФЕКТИВНОСТЬ

- Антиглобулин на микропланшете ScreenLys является моноклональным антиглобулином. Моноклональные антитела взяты от крыс и имеют соответствующую специфичность для человеческих иммуноглобулинов анти-IgG, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.
- Исследования эффективности использования ScreenLys с HEMASCREEN проводились с использованием системы QWALYS® и FREELYS® Nano. В совокупности, для более, чем 3000 образцов крови был получен отрицательный результат при скрининге антител. Было исследовано более 200 образцов с известными транзиторными антителами. Образцы крови собирались в EDTA или цитрат. Эти исследования показали 98%-ное соответствие специфичности и сенсibilизации по сравнению с результатами метода «гель-фильтрации»

CE
0459



DIAGAST BP 9 - 59374 LOOS CEDEX - FRANCE



HEMASCREEN

Группы эритроцитов для скрининга антител, при использовании использую Технологии Е.М.®

ВВЕДЕНИЕ

HEMASCREEN - диагностическое медицинское изделие для диагностики *in vitro* (IVDMD) для профессионального использования.

HEMASCREEN используется для скрининга транзиторных антител, обнаруженных в человеческой сыворотке или плазме. Эти реагенты должны использоваться только при использовании Технологии Е.М.® (Технология намагниченных эритроцитов) на полностью автоматизированном инструменте QWALYS® или на рабочем месте FREELYS® Nano.

ПРИНЦИП

Принцип Технологии Е.М.® основан на намагничивании эритроцитов. Этот метод использует непрямой антиглобулиновый тест (IAT), в сочетании с магнитным полем.

HEMASCREEN 1, 2 и 3 содержит намагниченные эритроциты с известным фенотипом.

Эти клетки инкубируются вместе с исследуемой плазмой или сывороткой. Далее эти эритроциты, содержащие на своей поверхности специфический иммуноглобулин, сенсibiliзируются. При помещении эритроцитов в магнитное поле, происходит их миграция к центру.

Антиглобулин, помещенный в ячейки микропланшет комплектов ScreenLys, ScreenQwalys или ScreenNano показывает наличие или отсутствие иммуноглобулинов на поверхности эритроцитов. При сенсibiliзации эритроцитов наблюдается положительная реакция. Если эритроциты не сенсibiliзированы – реакция отрицательная. Для получения более подробной информации см. вкладыши к пакетам ScreenLys, ScreenQwalys или комплектам ScreenNano

СОСТАВ

HEMASCREEN (Сноска: DIAGAST: 59852), комплект состоит из:

- 3 флакона, содержащих по 6 мл эритроцитов группы O: HEMASCREEN 1, HEMASCREEN 2 и HEMASCREEN 3.

Каждый флакон содержит 1%-ую взвесь эритроцитов в асиде натрия (< 0,1 %) и консервирующий раствор.

- 1 перечень результатов, описывающий антигенные характеристики панелей эритроцитов, используемых для выполнения теста. Они могут использоваться как дополнительный справочный материал при интерпретации результатов.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Образцы SERA CQI человеческого происхождения. Исходные образцы тестировались, показав при этом отрицательную реакцию на антитела 1 и 2 anti-HIV, антитела anti-HCV, и антиген HBs. К тому же был проведен серологический тест на сифилис (результаты тоже отрицательные). Тем не менее, ни один из известных методов не может дать абсолютную гарантию отсутствия в данных продуктах транзиторных патогенных агентов.

Исходя из этого, настоятельно рекомендуется использовать перчатки и защитные очки, а также осторожно работать с образцами человеческой ткани. Все материалы, которые имели контакт с образцами, должны считаться потенциально зараженными. Следует применять специальные защитные меры и условия по утилизации и дезинфекции данных материалов в соответствии с правилами местных нормативных актов. Не используйте поврежденные или протекшие реагенты.

ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА

- HEMASCREEN не должен использоваться по окончании срока действия, указанного на этикетке. Он должен храниться при температуре от 2 °C, и 8 °C. НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ. Активность реагента гарантируется с момента первого пользования до даты истечения срока годности, обозначенного на этикетке. Рекомендуется максимально сократить время пребывания реагента вне холодильника, а также избегать нахождения флакона при комнатной температуре в промежутке между использованиями.

- Если тесты выполняются на QWALYS®, флаконы HEMASCREEN могут использоваться в течение 5 дней после вскрытия, при условии, что они хранятся при температуре от 2 °C до 8 °C после использования в конце рабочего дня.

- Если тесты выполняют на FREELYS® Nano, флаконы HEMASCREEN, используемого вместе с рабочей станцией, могут использоваться в течение 10 дней после вскрытия при условии, что они хранятся при температуре от 2 °C к 8 °C.

ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ РЕАГЕНТЫ

HEMASCREEN должен использоваться исключительно с устройствами, указанными ниже, и в соответствии с процедурами и материалами, рекомендованными в соответствующих приложениях пакета.

- Наборы **ScreenLys** содержащие микропланшеты **ScreenLys**, покрытые неорганическим глобулином, один флакон разжижителя РБК и один флакон передаточного разжижителя (DIAGAST Ссылка.: см. каталог).

- Наборы **ScreenQwalys** содержат микропланшеты **ScreenLys**, покрытые неорганическим глобулином, флаконов NanoLys и одного флакона разжижителя для скрининга(Ссылка. DIAGAST: См. Каталог).

- Наборы **ScreenNano** содержат микропланшеты, покрытые неорганическим глобулином, один флакон NanoLys и одного флакон разжижителя для скрининга (Ссылка. DIAGAST: См. Каталог).

ОБРАЗЦЫ КРОВИ, КОТОРЫЕ БУДУТ ПРОВЕРЕНЫ – УСТРОЙСТВА УПРАВЛЕНИЯ – ПРОЦЕДУРА - ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

См. инструкции к ScreenLys, ScreenQwalys или ScreenNano.

Перед использованием перемешайте содержимое флаконов HEMASCREEN легким встряхиванием до получения гомогенной жидкости.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

- эти устройства и реагенты могут применять только квалифицированные специалисты, прочитавшие и понявшие инструкции к ScreenLys, ScreenQwalys, и ScreenNano, а также руководство по использованию QWALYS® или FREELYS® Nano
- для скрининга антител должны использоваться только эритроциты HEMASCREEN, в соответствии с Технологией E.M.®, .
- Специфичные антитела, соответствующие антигенам, не присутствующим на эритроцитарных панелях, не могут быть обнаружены.
- Ошибочные результаты могут быть, если:
 - проверенный экземпляр содержит следы фибрина или гемолизирован
 - образец был взят с использованием нерекommenованного антикоагулянта,
 - образец расслоился недостаточно хорошо,
 - используются не HEMASCREEN эритроциты,
- Важно:
 - использовать только QWALYS® инструмент или FREELYS® Nano (Автоматизированное) рабочее место и рекомендованные растворы и реагенты,
 - обратиться к руководству пользователя QWALYS® по поводу эксплуатации, параметров настройки или дальнейшей информации или к руководству FREELYS® Nano,
 - центрифугировать исследуемые образцы крови в течение 5 минут при относительной силе центрифугирования 2500 G.
 - работать с чистыми материалами и незагрязненной продукцией (бактериальное загрязнение и т.п.).
- Условия хранения, даты окончания срока действия и ход процедуры должны быть строго соблюдены.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Эффективность HEMASCREEN исследовалась посредством экспертного анализа наборов ScreenLys, ScreenQwalys и ScreenNano.

Экспертная оценка показала 100%-ую чувствительность по отношению к ожидаемым результатам для сыворотки или образцов плазмы, содержащих транзиторные антитела, и показывала специфичность > 96 % по сравнению с методом гель-фильтрации для образцов с отрицательными результатами скрининга антител.

Пожалуйста, обратитесь к инструкциям к комплектам ScreenLys, ScreenQwalys ScreenNano для получения дополнительной информации.

- Концентрированный глобулин, используемый для подготовки HEMASCREEN был взят, фенотипирован и проконтролирован *Etablissement Français du Sang*. Это соответствует французским нормативным документам для использования переливания этой продукции:
- в соответствии с хорошей производственной практикой для продуктов крови и практикой донорства;
- относительно биологических исследований и выявления заболеваний, передающихся через кровь и ее составляющие.
- Все проверенные эритроциты при проведении прямого антиглобулинового теста показали отрицательный результат.
- Эритроцитарные панели взяты из крови донора. Реактивность и аллергенность различны в зависимости от антигенных характеристик каждого донора.
- Антигенные характеристики эритроцитарных панелей изменяется от одной серии к другой. Необходимо использовать перечень результатов, прилагаемый к каждому набору.

CE

0459



DIAGAST BP 9 - 59374 LOOS CEDEX - FRANCE

DuoLys – GroupaLys

PhenoLys – Pheno 1,2 Lys

Duo 2 Lys – Groupa 2 Lys

Реактивы для определения группы крови по системе ABO-RH-K и фенотипирования ручным методом (E.M.[®] Technology)

ПРЕДИСЛОВИЕ

Эти наборы реактивов представляют собой профессиональные медицинские устройства для диагностики *in vitro* (IVDMD). Они применяются для определения групп крови по системе ABO и фенотипирования человеческих эритроцитов RH-K.

Данные устройства позволяют определить наличие эритроцитарных антигенов A,B,D (RH1), C (RH2), E(RH3), c (RH4), e (RH5) и K(KEL1) на поверхности человеческих эритроцитов. ANTI-D (RH1) I и II не предназначены для обнаружения слабовыраженного антигена D (RH1).

Эти устройства предназначены для использования ручного метода E.M.[®] Technology с использованием рабочей станции FREELYS[®].

ПРИНЦИПЫ

Принцип действия Технологии магнетизированных эритроцитов (EM[®] Technology) основан на магнетизации эритроцитов. Метод гемагглютинации используется в сочетании с магнитным полем. Бромелин, протеолитический фермент, вызывает значительно снижение электроотрицательного заряда на поверхности эритроцитов и приводит к их агглютинации с помощью «не-агглютинирующих» в норме антител в физиологическом растворе.

Исследуемые эритроциты сначала помещаются в магнетизирующий раствор MagneLys, затем в раствор BROMELINE. Эритроциты, несущие на себе антиген, агглютинируют в присутствии реагента микропланшета, содержащего соответствующие антитела. При помещении в магнитное поле намагниченные эритроциты мигрируют и образуют розетки на дне ячейки. После встряхивания свободные эритроциты снова образуют однородную взвесь. Наличие агглютината (-ов) дает положительную реакцию, а отсутствие агглютината – отрицательную.

Определение группы крови по системе ABO производится на основании экспрессируемых антигенов A и/или B на поверхности человеческих эритроцитов и присутствия или отсутствия в плазме крови анти-A и/или анти-B антител. Поэтому имеет смысл определять эритроцитарные антигены известными реагентами анти-A, анти-B и анти-AB (стандартные эритроциты, титрование групп крови), а затем подтверждать эти результаты, проверяя присутствие соответствующих антител в плазме крови с помощью эритроцитов HEMALIS A1, B и, возможно, A2 и O (серологический тест, определение групп крови обратной реакцией).

СОСТАВ

-DuoLys (Diagast Ref: 79660) – набор, состоящий из:

- 12 планшетов DuoMicro для определения групп крови 12 x 8 ABO-RH1 и 12 x 8 RH-K. Каждый микропланшет содержит 8 лунок с ANTI-A (ABO1), ANTI-B (ABO2), ANTI-A,B (ABO3), ANTI-D (RH1) I, ANTI-C (RH2), ANTI-c (RH4), ANTI-E (RH3), ANTI-e (RH5), ANTI-K (KEL1) и отрицательный контроль, а также 8 x 2 пустых ячейки
- BROMELINE, 100 мл во флаконе – 1
- MagneLys, 40 мл во флаконе – 1

-GroupaLys (DIAGAST Ref.: 79651) – набор, состоящий из:

- 8 микропланшет PhenoMicro для 8 x 12 RH-K фенотипирований. Каждый микропланшет содержит 12 ячеек отрицательного контроля, ANTI-D (RH1) I, ANTI-C (RH2), ANTI-E (RH3), ANTI-c (RH4), ANTI-e (RH5), ANTI-K (KEL1) и 12 пустых ячеек.
- BROMELINE, 100 мл во флаконе – 1
- MagneLys, 40 мл во флаконе – 1

Pheno 1,2 Lys (DIAGAST Ref.: 79666) – набор, состоящий из:

- 12 микропланшет Pheno 1,2 Micro для 12 x 8 RH-K двукратных фенотипирований. Каждый микропланшет содержит 8 x 12 ячеек с различными клонами ANTI-C (RH2), ANTI-c (RH4), ANTI-E (RH3), ANTI-e (RH5), ANTI-K (KEL1), 1 ячейкой, содержащей отрицательный контроль и 1 пустой ячейкой. Этот микропланшет позволяет провести 2 RH-K фенотипирования

- BROMELINE, 100 мл во флаконе – 1
- MagneLys, 40 мл во флаконе – 1

Duo 2 Lys (DIAGAST Ref.: 79663) – набор, состоящий из:

- 12 микропланшет Duo 2D для 12 x 8 ABO-RH1 эритроцитарных тестов и 12 x 8 RH-K фенотипирований. Каждый микропланшет содержит 8 ячеек с ANTI-A (ABO1), ANTI-B (ABO2), ANTI-A,B (ABO3), ANTI-D (RH1) I, ANTI-D (RH1) II, отрицательный контроль, ANTI-C (RH2), ANTI-c (RH4), ANTI-E (RH3), ANTI-e (RH5) и ANTI-K (KEL1), а также 8 ячеек для отрицательного контроля
- BROMELINE, 100 мл во флаконе – 1
- MagneLys, 40 мл во флаконе – 1

Groupa 2 Lys (DIAGAST Ref.: 79654) – набор, состоящий из:

- 12 микропланшет Groupa 2D Micro для 12 x 8 ABO-RH1. Каждый микропланшет содержит 8 ячеек с ANTI-A (ABO1), ANTI-B (ABO2), ANTI-A,B (ABO3), ANTI-D (RH1) I, ANTI-D (RH1) II и отрицательный контроль, а также 8 x 6 пустых ячеек.
- BROMELINE, 100 мл во флаконе – 1
- MagneLys, 40 мл во флаконе – 1

Реактивы	1-е определение		2-е определение		Происхождение
	Клоны	Типы	Клоны	Типы	
ANTI-A (ABO1)	9113D10	IgM			Крысиные
ANTI-B (ABO2)	9621A8	IgM			
ANTI-A,B (ABO3)	9113D10 + 152D12	IgM			
ANTI-D (RH1) I	P3X61	IgM			Человеческие
ANTI-D (RH1) II	HM10	IgM			
ANTI-C (RH2)	P3X25513G8 + MS24	IgM	DGC02 + MS24	IgM	
ANTI-E (RH3)	906	IgM	P3X234	IgM	
ANTI-c (RH4)	MS33	IgM	951	IgM	
ANTI-e (RH5)	P3GD521 = MS63	IgM	BS260 + MS63	IgM	
ANTI-K (KEL1)	MS56	IgM	601	IgG	

- микропланшеты содержат реагенты с моноклональными антителами в среде для хранения. Моноклональные антитела получены из супернатантных культур *in vitro* гибридом??? крысы или человека. Реагенты содержат натрия азид (< 0,1 %) и натрия мета-арсенит (0,02 %). Реагенты предварительно высушены и нанесены на микропланшет.

Каждый микропланшет запакован с адгезивной пленкой и десикантом в пакетик из алюминиевой фольги.

- BROMELINE представляет собой раствор бромелина. Этот реагент содержит натрия азид (< 0,1 %), натрия мета-арсенит (0,02 %), бычий альбумин и готов к использованию.

- MagneLys представляет собой низко-ионный магнетизирующий раствор. Этот реагент готов к использованию и содержит натрия азид (< 0,1 %).

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Рекомендуется использовать перчатки и защитные очки, а также осторожно работать с образцами человеческой ткани. Все материалы, которые имели контакт с образцами, должны считаться потенциально зараженными. Следует применять специальные защитные меры и условия по утилизации и дезинфекции данных материалов в соответствии с правилами местных нормативных актов. Не используйте поврежденные или протекшие реагенты.

При непосредственном контакте раствора BROMELINE с кожей может наблюдаться аллергическая реакция.

ХРАНЕНИЕ

Эти медицинские изделия не должны использоваться после истечения срока годности, указанного на этикетке.

Микропланшеты, BROMELINE и MagneLys должны храниться при температуре + 2-8, °C. Рекомендуется максимально сократить время пребывания реагента вне холодильника, а также избегать нахождения флакона при комнатной температуре в промежутке между использованиями. Активность микропланшет гарантируется до даты истечения срока годности, указанной на этикетке без вскрытия. После вскрытия, микропланшет следует осторожно накрыть адгезивной пленкой и хранить при температуре + 2-8 °C. Допустимо повторное использование в течение 8 дней после вскрытия.

Активность раствора BROMELINE гарантируется до даты истечения срока годности, указанной на этикетке, без вскрытия, или в течение 15 дней после вскрытия флакона.

Активность раствора MageLys гарантируется с момента вскрытия флакона до даты истечения срока годности, указанной на этикетке.

НЕОБХОДИМЫЕ РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ

- HEMALYS: эритроциты A1, B, A2 или O для серологического теста (DIAGAST Ref.: см. каталог).
- Рабочая станция HEMALYS® (DIAGAST Ref.: см. каталог)
- Нано-рабочая станция HEMALYS® (DIAGAST Ref.: см. каталог)
- Пластиковые капилляры
- Автоматические пипетки с регулируемой точностью
- Адсорбирующая бумага
- Центрифуга с относительной силой центрифугирования, регулируемой до 2500 G
- Образцы крови с известным фенотипом, например: HEMA CQI (DIAGAST Ref.: каталог).
- Реагенты для обнаружения слабо выраженного антигена D (RH1), например: ANTI-D (RH1) TOTEM или ANTI-D (RH1) IgG (DIAGAST Ref.: см. каталог)

КОНТРОЛЬНЫЕ ОБРАЗЦЫ

Образцы крови, предназначенные для исследования

Контрольные образцы крови, собранные в EDTA, цитрат или гепарин в стерильную пробирку с притертой пробкой, хранятся при температуре + 2-8°C, и должны быть исследованы в течение 48 часов до момента видимого гемолиза.

Образцы крови с известным фенотипом

Аналитическая система должна быть подтверждена использованием образцов с известными фенотипами:

- образец, имеющий антиген, соответствующий антителу используемого реагента,
- образец, не имеющий антигена, соответствующего антителу используемого реагента.

Использование этих образцов позволяет определить аномалии (манипуляций, реагентов, приборов и среды) и принять соответствующие меры по их устранению.

ПРОЦЕДУРА

- Пробирки с образцами крови подвергаются центрифугированию в течение 5 минут при относительной силе 2500 G
- Поместите держатель с пробирками на рабочую станцию FREELYS®.
- Поместите пластиковую пробирку перед каждым образцом крови в держатель для пробирок.
- Поместите флаконы с растворами BROMELINE и MagneLys в предназначенные для них держатели рабочей станции.
- Встряхните раствор MagneLys.
- Поместите 250 мкл раствора MagneLys в каждую пластиковую пробирку.
- С помощью пипетки наберите 10 мкл клеточной массы из пробирки с отцентрифугированными образцами крови.
- Промокните конец пипетки абсорбирующей бумагой.
- Поместите 10 мкл клеточной массы в 240 мкл раствора MagneLys, затем втяните и выпустите раствор через пипетку, чтобы перемешать.
- Тщательно перемешайте эритроцитарную взвесь, встряхивая пробирки.
- Добавьте 750 мкл раствора BROMELINE в каждую эритроцитарную взвесь.
- Нанесите 40 мкл эритроцитарной взвеси в ячейки микропланшета.
- Сразу же после этого поместите микропланшет в мешалку рабочей станции и начните смешивание (программа P1). Убедитесь перед этим, что мешалка не накрыта пластиной Nano-Mag, в случае, если используется FREELYS® Nano.
- Поместите микропланшет на центральный держатель рабочей станции и выдержите при комнатной температуре (+18-+25 °C)
- Поместите микропланшет на 96-магнитную пластину рабочей станции на 5 минут.

- Немедленно переместите микропланшет в мешалку рабочей станции и начните перемешивание (программа P2). Пожалуйста, проверьте, чтобы мешалка не была накрыта 96-магнитной пластиной Nano-Mag в случае, если используется FREELYS Nano.
- Переместите микропланшет на центральный держатель рабочей станции и оцените реакцию немедленно, или, по крайней мере, в течение 2 минут после последнего перемешивания, микроскопически определяя присутствие агглютинатов.
- Накройте неиспользуемые ячейки адгезивной пенкой и поместите микропланшет в холодильник при температуре +2-8°C. В данных условиях микропланшет может храниться в течение 8 дней и может быть повторно использован в течение этого срока.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

- При наличии агглютинации (эритроциты собираются в 1 или несколько блоков) реакция считается положительной, и антиген соответствует реагенту, используемому в настоящем образце эритроцитов.
- При отсутствии агглютинации (эритроциты возвращаются обратно в состояние гомогенной взвеси) реакция считается отрицательной, и антиген на данных эритроцитах отсутствует. Если используется взвесь гетерогенных эритроцитов и во время реакции формируются точки седиментации, такая реакция не оценивается.
- Реакция оценивается только в том случае, если:
 - В ячейках микроплшета, содержащих отрицательный контроль, не наблюдается агглютинации.
 - Аналитическая система тестировалась с применением образцов известных фенотипов. Определение группы крови по системе ABO может быть проведено с высокой степенью определенности только при условии строгого соответствия между результатами эритроцитарного теста (прямой реакции) и результатами определения групп крови обратной реакцией (серологический тест). Если наблюдается расхождение между прямой и обратной реакцией или в случае невозможности интерпретации реакции RH-K, следует сообщить об этих результатах. Определение группы крови должно быть подтверждено при проведении другого метода в соответствии с требованиями и протоколами данной лаборатории или образцы должны быть переданы для дальнейшего исследования в экспертную лабораторию.
- агглютинации с ANTI-D (RH1) I и/или II свидетельствует о присутствии антигена D. Если агглютинация отсутствует, следует подтвердить наличие или отсутствие слабовыраженного антигена D(RH1). Для этого применяется тест с непрямым антиглобулином, с использованием ANTI-D (RH1) TOTEM (DIAGAST Ref.) или ANTI-D (RH1) IgG (DIAGAST Ref.), следуя инструкциям к указанным реагентам.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

- Использование реагента разрешается только квалифицированному персоналу, ознакомившемуся с содержанием листовки и руководства к рабочей станции FREELYS.
- В серологическом тесте по определению групп крови по системе ABO могут использоваться только эритроциты HEMALYS.
- При отступлении от рекомендуемой процедуры могут наблюдаться неоднозначные реакции. Повторите тест, четко следуя указаниям параграфа, где описана процедура проведения теста, и соблюдая следующие меры предосторожности:
Ошибочные результаты могут наблюдаться, если:
 - Образцы крови были помещены в раствор SAG-Mannito (раствор соли, аденина, глюкозы и маннитола).
 - Эритроциты были заморожены.
 - Образцы крови были взяты более чем за 2 суток до проведения теста.

Настоятельно рекомендуется:

- Работать с рабочей станцией FREELYS и использовать исправное оборудование, растворы BROMELINE и MagneLys.
- Не использовать микропланшеты в поврежденной алюминиевой упаковке. Негерметичность может вызвать регидратацию реагентов на микропланшете и, следовательно, снижение их активности.
- Не ставить и не хранить раствор MagneLys в мешалке или на 96-магнитной пластине.
- Четко соблюдать значения, данные в рекомендациях по проведению процедуры: 10 мкл клеточной массы, относительная сила центрифугирования 2500 G, центрифугирование в течение 5 минут.
- Промокать конец пипетки адсорбирующей бумагой при переносе 10 мкл эритроцитов в раствор MagneLys для удаления остатков сыворотки.

- Четко следовать рекомендуемой очередности: сначала раствор MagneLys, затем BROMELINE.
- Использовать смесь взвеси эритроцитов с растворами MagneLys и BROMELINE немедленно после его приготовления.
- Работать с чистым оборудованием и чистыми продуктами (без бактериального или какого-либо другого заражения). Интерпретация результатов должна производиться в течение 2 минут после последнего смешивания. После того как планшет поместили на центральный держатель станции, интерпретация результатов должна проводиться невооруженным глазом. Стадии процедуры должны выполняться последовательно, без остановок.
- Необходимо соблюдать **строгое соответствие** рекомендациям по хранению, сроку годности, калибровке оборудования и проведению процедуры.
- При проведении процедуры определения групп крови рекомендуется:
 - Начинать с нанесения на ячейки микропланшета сыворотки испытуемого объекта.
 - Подтверждать результат проведением эритроцитарного теста (прямая реакция).
 - Завершать серологическим тестом (обратная реакция), помещая эритроциты HEMALYS в ячейки с плазмой.

ВЫПОЛНЕНИЕ

- При использовании рекомендуемой технологии данные реагенты соответствуют большинству стандартных технических характеристик IVDMD.
- Оценка эффективности anti-A (ABO1), anti-B (ABO2), anti-A,B (ABO3), anti-D (RH1) I, anti-D (RH1) II, отрицательного контроля, anti-C (RH2), anti-c (RH4), anti-E (RH3) и anti-K (KEL1) для первичного определения проводилась на 460 донорах крови, 3000 клинических и 90 неонатальных образцах. Оценка эффективности anti-e (RH5) проводилась с использованием рекомендованного метода с более чем 1050 образцами, (750 клинических и 50 – образцов крови новорожденных).
- Оценка эффективности anti-C (RH2), anti-c (RH4), anti-E (RH3) и anti-K (KEL1) для второго определения с использованием рекомендованного метода, проводилась на 19 донорах крови, 99 клинических и 12 неонатальных образцах. Кроме того, оценка проводилась на 250 донорах и 753 клинических образцах с использованием аналитической системы QWALYS.
- Образцы были собраны в соответствии с использованием рекомендуемых антикоагулянтов (EDTA, гепарина и цитрата). Эта экспертная оценка показала 100 %-ную специфичность наиболее распространенных фенотипов ABO-RH1 и RH-K.
- Тестировались образцы слабых фенотипов D(RH1), 79 % из которых были отобраны правильно.
- Выраженность полученных реакций может зависеть от количества антигенных сайтов на поверхности эритроцитов.
- Определение всех редких, слабых или вариантных фенотипов не гарантировано.
- Двойственная реакция может наблюдаться у лиц, перенесших переливание крови, у лиц со слабовыраженным фенотипом А или В, при изменениях, связанных с определенными заболеваниями крови, при мозаичности или химерных организмах
- ANTI-A, B (ABO3) распознает эритроциты Ax.
 - ANTI-B (ABO2) не распознает эритроциты B.
 - ANTI-D (RH1) I и II не распознает фенотип D VI, вариантную категорию D (RH1).
 - Сильная опалесценция плазмы может повлиять на интерпретацию результатов серологического теста.

HEMALYS 1 A1, B**59659****1 флакон HEMALYS 1 A1
1 флакон HEMALYS 1 B****HEMALYS 1 A1, A2, B, O 59661****1 флакон HEMALYS 1 A1
1 флакон HEMALYS 1 A2
1 флакон HEMALYS 1 B
1 флакон HEMALYS 1 O**

ВВЕДЕНИЕ

Эти наборы реагентов представляют собой медицинские устройства для диагностики *in vitro* (IVDMD) для профессионального использования. Они предназначены для исследования биологических проб человека.

HEMALYS используется для проведения серологического теста при определении групп крови по системе ABO. После исследования эритроцитарных антигенов в ходе эритроцитарного теста, HEMALYS используется для подтверждения присутствия соответствующих антител в ходе серологического теста. Эти препараты готовы к применению и могут непосредственно использоваться в технологии EM[®] (Технология намагниченных эритроцитов) при работе автоматическим анализаторе и QWALYS[®] рабочей станции FREELYS[®].

ПРИНЦИП

Принцип действия Технологии магнетизированных эритроцитов (EM[®] Technology) основан на магнетизации эритроцитов. В ней используется метод гемагглютинации в сочетании с магнитным полем.

Предварительно намагниченные эритроциты, несущие антиген, агглютинируют в присутствии плазмы исследуемого объекта, содержащей соответствующие антитела. При помещении в магнитное поле намагниченные эритроциты перемещаются и образуют осадок на дне ячейки. После встряхивания сводные эритроциты возвращаются в состояние суспензии. Наличие агглютината свидетельствует о положительной реакции, отсутствие агглютината – об отрицательной.

Определение группы крови по системе ABO происходит на основании экспрессируемых антигенов A и/или B на поверхности человеческих эритроцитов и присутствия или отсутствия в плазме крови анти-A и/или анти-B антител. Поэтому имеет смысл определять эритроцитарные антигены известными реагентами анти-A, анти-B и анти-AB (стандартные эритроциты, типирование групп крови), а затем подтверждать эти результаты проверяя присутствие соответствующих антител в плазме крови с помощью эритроцитов "HEMALYS" A1, B и, возможно, A2 и O (серологический тест, определение групп крови обратной реакцией).

СОСТАВ

Препарат HEMALYS получают из смеси человеческих эритроцитов известных групп A1 RH-1, B RH1, A2 RH1 и O RH1

Намагниченные эритроциты представляют собой готовую к применению 1% (объем/объем) суспензию в консервирующем растворе, содержащем натрия азид (< 0,1%). Они упакованы во флаконы по 5 мл.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Эритроциты, которые использовались для приготовления препарата HEMALYS, – человеческого происхождения. Исходные образцы тестировались, показав при этом отрицательную реакцию на антитела 1 и 2 anti-HIV, антитела anti-HCV, и антиген HBs. К тому же был проведен серологический тест на сифилис (результаты тоже отрицательные). Тем не менее, ни один из известных методов не может дать абсолютную гарантию отсутствия в данных продуктах транзиторных патогенных агентов.

Рекомендуется использовать перчатки и защитные очки, а также осторожно работать с образцами человеческой ткани. Все материалы, которые имели контакт с образцами, должны считаться потенциально зараженными. Следует применять специальные защитные меры и условия по утилизации и дезинфекции данных материалов в соответствии с правилами местных нормативных актов. Не используйте поврежденные или протекающие реагенты

ХРАНЕНИЕ

Препарат должен храниться при температуре от + 2 до + 8 °C. Рекомендуется сократить время пребывания реагента вне холодильника, а также избегать нахождения флакона при комнатной температуре в промежутке между использованиями при работе с анализаторами QWALYS®. По истечении срока годности не следует использовать реагент.. НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ.

Активность препарата при использовании ручного метода FREELYS® гарантируется с момента первого пользования до даты истечения срока годности, обозначенного на этикетке

Активность препарата гарантируется до даты истечения срока годности, указанной на этикетке, без вскрытия или в течение 5 дней после вскрытия флакона для использования с анализатором QWALYS®

В конце рабочего дня препарат следует убирать и хранить при температуре от + 2 до + 8 °C

НЕОБХОДИМЫЕ РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ

- Центрифуга с относительной силой центрифугирования, регулируемой до 1200 G
- Образцы крови с известным фенотипом, например HEMA CQI (DIAGAST Ref.: см. каталог).
- CleanLys 10X, дезинфицирующий раствор ((DIAGAST Ref.: см. каталог).

Реагенты и материалы, необходимые для использования с QWALYS®

- Автоматический анализатор QWALYS® (DIAGAST Ref.: см. каталог).
- Микропланшеты для определения групп крови на анализаторе QWALYS® (DIAGAST Ref.: см. каталог).
- CleanLys 10X, дезинфицирующий раствор (DIAGAST Ref.: см. каталог)

Реагенты и материалы, необходимые для использования с FREELYS®

- рабочая станция FREELYS® (DIAGAST Ref.: см. каталог)
- рабочая станция FREELYS® Nano (DIAGAST Ref.: см. каталог)
- Автоматические пипетки с регулируемой точностью
- Микропланшеты для определения групп крови на анализаторе FREELYS® (DIAGAST Ref.: см. каталог).

КОНТРОЛЬНЫЕ ОБРАЗЦЫ

Образцы крови, предназначенные для исследования

Контрольные образцы крови, собранные в EDTA, цитрат или гепарин в стерильную пробирку с притертой пробкой, хранятся при температуре + 2 C...+ 8°C, и должны быть исследованы в течение 48 часов до момента видимого гемолиза.

Образцы крови с известным фенотипом

Аналитическая система должна быть подтверждена использованием образцов с известными фенотипами:

- образец, имеющий антиген, соответствующий антителу используемого реагента,
- образец, не имеющий антигена, соответствующего антителу используемого реагента.

ПРОЦЕДУРА ПРИ РАБОТЕ С АВТОМАТИЧЕСКИМ АНАЛИЗАТОРОМ QWALYS®

- Пожалуйста, ознакомьтесь с руководством пользователя QWALYS® перед использованием инструмента, проведением теста, проверкой отдельных элементов устройства и его обеззараживанием.
- Выберите программу для выполнения требуемого анализа. Эта программа определит позицию реагентов на анализаторе.
- Помещая реагенты на анализатор, аккуратно встряхните их для гомогенизации содержимого.
- Поместите раскупоренные реагенты и образцы крови на автоматический анализатор QWALYS® в соответствующие места (см. руководство пользователя к QWALYS®)
 - HEMALYS: флаконы и крышечки поместите в соответствующие места

- Пробирки с образцами крови подвергаются центрифугированию в течение 5 минут при относительной силе центрифугирования 2500 G. Правильно разместите штрих-код для удобства прочтения.
- Микропланшеты: поместите на соответствующие полки для хранения.

ПРОЦЕДУРА ПРИ РАБОТЕ С АВТОМАТИЧЕСКИМ АНАЛИЗАТОРОМ FREELYS®

- Пробирки с образцами крови подвергаются центрифугированию в течение 5 минут при относительной силе центрифугирования 2500 G
- Пожалуйста, поместите пробирки в пробиркодержатель рабочей станции.
- Поместите флаконы с HEMALYS в предназначенные для этого места.
- Освободите микропланшеты от упаковки и поместите их на соответствующее место инструмента.
- Все время тестирования встряхивайте флакон с HEMALYS, чтобы перемешать содержимое.
- Поместите 25 мкл исследуемой плазмы на пустые ячейки микропланшета
- Добавьте 25 мкл суспензии эритроцитов HEMALYS
- Поместите микропланшеты на шейкер и включите программу (P1). Пожалуйста, проверьте, не лежит ли на шейкере магнитная пластина, если используется рабочая станция FREELYS Nano
- Выдержите микропланшет при комнатной температуре в течение 10 минут (от +18 до +25°)
- Поместите микропланшет на 96-магнитную пластину рабочей станции на 5 минут
- Немедленно переместите микропланшет на шейкер рабочей станции и включите программу (P2). Пожалуйста, проверьте, чтобы шейкер не была накрыт 96-магнитной пластиной если используется рабочая станция FREELYS Nano
- Переместите микропланшет на центральный держатель станции и оцените результаты немедленно или максимум в течение 2 минут после встряхивания, макроскопически оценивая агглютинацию.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

- Прочтение результатов и их интерпретация осуществляются анализатором QWALYS®. Однако можно оценить результаты невооруженным глазом в каждой ячейке микропланшета.

- Интерпретация результатов производится специалистом или биологом:

- При наличии агглютинации (эритроциты собираются в 1 или несколько блоков), реакция считается положительной, и в плазме присутствует антитело, соответствующее эритроцитам HEMALYS.
- При отсутствии агглютинации, эритроциты образуют гомогенную суспензию. Реакция считается отрицательной, соответствующие антитела в плазме отсутствуют.
- В случае гетерогенной суспензии с точками седиментации результаты не оцениваются.
- Реакция оценивается только в случае, если система проходила валидацию с образцами с известными фенотипом.
- Гемолиз не может расцениваться как отрицательная реакция

- Использование эритроцитов A2 и O может свидетельствовать о наличии каких-либо аномалий при определении группы крови по системе ABO

- Определение группы крови по системе ABO может быть проведено с высокой степенью определенности только при условии строгого соответствия между результатами эритроцитарного теста (прямой реакции) и результатами определения групп крови обратной реакцией (серологический тест). Если выявлено несоответствие, не сообщайте о результатах, повторите определение групп крови в соответствии с рекомендациями и протоколами данной лаборатории или передайте образцы для исследования в экспертную лабораторию.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

- Использование системы разрешается только квалифицированному персоналу, ознакомившемуся с содержанием листовки и руководства к рабочей станции FREELYS Nano
Настоятельно рекомендуется:

- Использование системы разрешается только квалифицированному персоналу, ознакомившемуся с содержанием листовки и руководства к рабочей станции FREELYS Nano

- Не помещать флаконы или наборы HEMALYS на магнитную пластину
- Не меняйте местами крышки от флаконов с HEMALYS
- Не используйте образцы крови, собранные более, чем за 48 часов до проведения теста

- Используйте в работе чистое оборудование и незагрязненные продукты (бактериальное загрязнение и т.д.)
- При работе с анализаторами FREELYS[®] и QWALYS[®], или при замене реагентов, не встряхивайте флаконы с HEMALYS слишком интенсивно.
- Должны быть тщательно соблюдены следующие требования:
 - условия хранения и срок годности реагентов,
 - пошаговость описанной процедуры,
 - стандартизированное или рекомендуемое оборудование.
- Для получения информации о настройке, работе и других действиях – см. инструкцию пользователя к FREELYS[®] и QWALYS[®].
- При проведении теста на анализаторе рекомендуется:
 - Использовать только исправное оборудование
 - Не прерывать ход процедуры
 - Начинать с нанесения исследуемой плазмы в пустые ячейки микропланшета, затем проводить эритроцитарный тест, завершать серологическим тестом (определение групп крови по обратной реакции), помещая HEMALYS в ячейки с плазмой.
 - Реакции следует оценивать в течение 2 минут после последнего встряхивания. Прочтение результатов должно проводиться невооруженным глазом в момент помещения микропланшета на центральную часть рабочей станции.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Эритроцитарный концентрат, использовавшийся в подготовке HEMALYS был собран и проверен Французской Службой Крови (French Blood Service) в соответствии с указаниями для продуктов, предназначенных для переливания крови:

- Указания Надлежащей Медицинской Практики, касающиеся продуктов, используемых для переливания крови в соответствии с Надлежащей Донорской практикой
- Указания, касающиеся проведения лабораторных исследований, в отношении заболеваний, передающихся с кровью и ее составляющими.

- Оценка эффективности HEMALYS проводилась на 3463 образцах, из которых 2900 были клиническими. Образцы собирались в цитрат, EDTA, и/или гепарин

Оценка эффективности HEMALYS проводилась на автоматическом анализаторе на QWALYS[®] 684 образцах крови, из которых 422 были клиническими. Образцы собирались в цитрат, EDTA, и/или гепарин.

Эти оценки показали 99% соответствие между определением групп крови прямой и обратной реакциями, при использовании технологии EM (FREELYS[®] и QWALYS[®]). 1% несоответствия был обусловлен слабым или неопределяемым уровнем естественных антител.

- Ложная положительная реакция может наступать в случае, если в образце присутствовали холодные агглютинины или непредвиденные антитела.

- Интенсивность наблюдаемой реакции может зависеть от уровня анти-А и/или анти-В антител.

- Слабая или отрицательная реакция приводит к несоответствию между эритроцитарным тестом и сывороточным тестом и может наблюдаться у лиц с компрометированным иммунитетом или у новорожденных.

- интенсивность реакции, полученной при использовании HEMALYS A2 может быть слабее, чем при использовании HEMALYS A1.



DIAGAST BP 9 - 59374 LOOS CEDEX – FRANCE

SERA CQI – SERA CQI FYA DIAGAST

inspiring innovation

ПРЕДИСЛОВИЕ

SERA CQI и SERA CQI FYA предназначены для профессиональной диагностики *in vitro* медицинскими диагностическими инструментами (IVDMD). SERA CQI и SERA CQI FYA являются агентами для контроля качества исследования. Они добавляются в серию тестовых образцов для проверки наличия транзиторных антител (TIA) и применяются в технологии E.M.[®] (Метод намагничивания эритроцитов) в полностью автоматизированном аппарате QWALYS[®], рабочей станции FREELYS[®] Nano, а также в методе гель-фильтрации с использованием папаина или антиглобулина. Использование данных реагентов позволяет выявить отклонения (манипуляций, реагентов, приборов и среды) и принять соответствующие меры по их устранению.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Контроль качества тестирования на транзиторные антитела (TIA) основан на использовании известных и подтвержденных образцов, содержащих или не содержащих транзиторные антитела. Образцы SERA CQI исследуются при таких же самых условиях, что и текущие биологические образцы в наборе эритроцитов для скрининг-анализа или идентификации. Эритроциты вступают в реакцию в присутствии SERA CQI, если в образце содержатся соответствующие антитела. Результаты, наблюдаемые при использовании SERA CQI, должны отвечать ожидаемым, которые указаны на этикетке пробирки с SERA CQI.

СОСТАВ

- SERA CQI, производства компании «ДИАГАС» (DIAGAST) (см. 59502), набор, состоящий из трех пробирок емкостью 5 мл с сывороткой крови человека:
 - SERA CQI D: сыворотка крови человека, содержащая anti-D (RH1),
 - SERA CQI FYA: сыворотка крови человека, содержащая низкий титр anti Fya (FY1),
 - SERA CQI NEG: сыворотка крови человека, не содержащая каких-либо транзиторных антител.
- SERA CQI FYA, производства компании «ДИАГАС» (DIAGAST) (см. 59503), пробирка емкостью 5 мл с сывороткой крови человека, содержащей низкий титр anti Fya (FY1).

Образцы SERA CQI содержат натрия азид (< 0,1 %), натрия арсенит (0,02 %) и бычий альбумин.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Образцы SERA CQI человеческого происхождения. Исходные образцы тестировались, показав при этом отрицательную реакцию на антитела 1 и 2 anti-HIV, антитела anti-HCV и антиген HBs. Также был проведен серологический тест на сифилис (результаты отрицательные). Тем не менее ни один из известных методов не может дать абсолютную гарантию отсутствия в данных продуктах транзиторных патогенных агентов.

Исходя из этого, настоятельно рекомендуется использовать перчатки и защитные очки, а также осторожно работать с образцами человеческой ткани. Все материалы, которые имели контакт с образцами, должны считаться потенциально зараженными. Следует применять специальные защитные меры и условия по утилизации и дезинфекции данных материалов в соответствии с правилами местных нормативных актов. Не используйте поврежденные или протекающие реагенты.

ХРАНЕНИЕ

SERA CQI и SERA CQI FYA должны храниться при температуре + 2-8 °С. Активность реагента гарантируется с момента первого пользования до даты истечения срока годности, обозначенной на этикетке. По истечении срока годности не следует использовать реагент. Рекомендуется максимально сократить время пребывания реагента вне холодильника, а также избегать нахождения флакона при комнатной температуре в промежутке между использованиями.

ПРОЦЕДУРА

В процессе тестирования на транзитные антитела SERA CQI должен выдерживаться при таких же самых условиях, что и образцы, предназначенные для исследования. SERA CQI должен тестироваться в соответствии с инструкциями использования IVDMD, применяемыми в технологии Е.М. Это подходит для всех систем тестирования, включая полностью автоматизированный аппарат QWALYS, рабочую станцию FREELYS Nano и метод гель-фильтрации с применением папаина и антиглобулина.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Образец, содержащий реагент SERA CQI D, даст положительную реакцию всех эритроцитов с RH1 при проведении скрининг-анализа и определении клеточного набора.

Образец, содержащий реагент SERA CQI FYA, даст положительную реакцию всех эритроцитов с FY1 при проведении скрининг-анализа и определении клеточного набора.

Образец, содержащий реагент SERA CQI NEG, даст отрицательную реакцию эритроцитов с любым из агентов при проведении скрининг-анализа и определении клеточного набора.

Ожидаемые результаты, полученные от Sera CQI, помогают произвести аналитическое подтверждение результатов скрининг-анализа антител тестируемых образцов, который должен проводиться под контролем биолога.

Противоречащие результаты говорят о наличии определенных проблем, связанных с манипуляциями, реагентами, приборами или средой, и требуют проведения корректировочных действий.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

- Все пробирки с SERA CQI окрашены в цвет (пробки и сами пробирки) во избежание загрязнения.
- Необходимо работать только с чистым оборудованием, не имеющим каких-либо загрязнений (бактериальное загрязнение и т. д.).
- Использование реагента разрешается только квалифицированному персоналу.
- Должны тщательно соблюдаться следующие требования:
 - условия хранения и срок годности реагентов,
 - пошаговое выполнение описанной процедуры,
 - рекомендуется проводить калибровку, профилактическую диагностику и правильно обращаться с лабораторным оборудованием.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ

- Активность антител SERA CQI гарантирована с момента первого использования и до даты, указанной на этикетке.
- Каждая партия SERA CQI проходит строгий внутренний контроль проверки качества, гарантирующего:
 - Отрицательный результат при использовании SERA CQI NEG в скрининг-анализе и определении клеточного набора, применяя технологию Е.М. и метод гель-фильтрации с папаином и антиглобулином.
 - Положительный результат при использовании SERA CQI D во всех системах тестирования при использовании эритроцитов, содержащих RH1, для скрининг-анализа и идентификации, применяя технологию Е.М. и метод гель-фильтрации с папаином и антиглобулином.
 - Положительный результат при использовании SERA CQI FYA во всех системах тестирования при использовании эритроцитов, содержащих FY1, для скрининг-анализа и идентификации, применяя технологию Е.М. и технику гель-фильтрации с антиглобулином.

- Внутреннее исследование SERA CQI FYA с использованием техники гель-фильтрации при утилизации антиглобулина показывает положительные результаты на всех гомозиготных и/или гетерозиготных FY1 эритроцитах. При использовании эритроцитов, не содержащих антиген FY1, результаты были отрицательными. Немного измененные результаты наблюдались при повторном исследовании образцов эритроцитов в течение периода хранения клеток.
- Внутреннее исследование SERA CQI D и SERA CQI FYA с применением технологии Е.М.® на полностью автоматизированном аппарате QWALYS® и рабочей станции FREELYS® Nano, показали положительные результаты исследования всех гомозиготных и/или гетерозиготных эритроцитов, содержащих RH1 и/или FY1. По отношению к клеткам, не имеющим антигена RH1 или FY1, результаты исследования были отрицательными.
- Титр SERA CQI FYA ≤ 4 . Тем не менее возможны изменения в значении титра в результате:
 - антигенности эритроцитов: Fya + Fyb + (FY 1, 2) или Fya + Fyb - (FY 1, - 2),
 - длительности времени выдерживания клеточного набора,
 - типа подложки, используемой в методе.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Burin des Rosiers N., Nasr O.: Recherche des anticorps irréguliers érythrocytaires par la méthode du gel-test. Analyse de 35882 échantillons. Rev. Fr. Transfus. Hemobiol., 1993, 36, 391-399.

CE
0459

DIAGAST BP 9 - 59374 LOOS CEDEX - ФРАНЦИЯ

ВВЕДЕНИЕ

HEMA CQI является медицинским препаратом человеческого происхождения для диагностики *in vitro*, предназначенным для профессионального использования. HEMA CQI – это контроль внутреннего качества (КВК). Он входит в группу ABO-RH1 (тест на эритроциты и тест на плазму) или в фенотипическую группу RH-K. Его использование дает возможность выявлять аномалии (обращение, реагенты, приборы, среда) и вносить необходимые корректирующие действия.

ПРИНЦИП

Контроль качества основан на использовании образцов известных и проверенных фенотипов. Эти образцы используют в тех же условиях, что и применяемые к биологическим образцам предмета исследования. Результаты, полученные при помощи этих образцов, обязательно должны совпадать с результатами, которые можно предположить на основе группы и фенотипической информации, указанной на этикетке пробирки.

Принцип тестирования основан на технике гемагглютинации. Красные кровяные тельца несут антиген агглютината в присутствии реагента или плазмы, содержащей соответствующие антитела.

СОСТАВ

HEMA CQI (DIAGAST 59500) – это прибор, состоящий из четырех 4-мл пробирок.

НАЗНАЧЕНИЕ ПРОБИРКИ	ГРУППА	ФЕНОТИП			АНТИТЕЛА	
HEMA CQI 1	AB	rr	D-C-E-c-e+ RH-1,-2,-3,4,5	K- KEL-1		
HEMA CQI 2	B	R1R1	D+C-E-c-e+ RH1,2,-3,-4,5	K- KEL-1	Анти-А (ABO1)	
HEMA CQI 3	O	R1R2	D+C-E+c-e+ RH1,2,3,4,5	K+ KEL 1	Анти-А (ABO1)	Анти-В (ABO2)
HEMA CQI 4	A	R2R2	D+C-E+c-e- RH1,-2,3,4,-5	K- KEL-1		Анти-В (ABO2)

Данные реагенты HEMA CQI получены из смеси человеческих эритроцитов известных групп и фенотипов.

Эритроциты получают из человеческой плазмы той же группы.

Показатель гематокрита суспензий – 25 и 30%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Образцы SERA CQI человеческого происхождения. Исходные образцы тестировались, показав при этом отрицательную реакцию на антитела 1 и 2 anti-HIV, антитела anti-HCV, и антиген HBs. К тому же был проведен серологический тест на сифилис (результаты тоже отрицательные). Тем не менее, ни один из известных методов не может дать абсолютную гарантию отсутствия в данных продуктах транзитных патогенных агентов. Исходя из этого, настоятельно рекомендуется использовать перчатки и защитные очки, а также осторожно работать с образцами человеческой ткани. Все материалы, которые имели контакт с образцами, должны считаться потенциально зараженными. Следует

применять специальные защитные меры и условия по утилизации и дезинфекции данных материалов в соответствии с правилами местных нормативных актов. Не используйте поврежденные или протекшие реагенты.

ХРАНЕНИЕ

Препарат необходимо хранить при температуре 2-8 °С. Действие препарата гарантировано с момента первого использования до даты, указанной на этикетке. Не следует использовать препарат после истечения срока годности. Рекомендуется свести к минимуму пребывание препарата вне холодильника и избегать нахождения препарата при комнатной температуре в период между применениями. Не замораживайте медицинский препарат для диагностики *in vitro*.

ПРИМЕНЕНИЕ

- Во время анализа центрифугируйте пробирки с НЕМА CQI при относительной силе центрифугирования 1200G в течение 3 минут.
- НЕМА CQI необходимо использовать в тех условиях, в которых находятся биологические образцы предмета исследования при автоматическом тестировании или тестировании вручную и которые указаны на упаковке изделия.
- Для контроля тестирования плазмы (определение групп крови по обратной реакции) сыворотка НЕМА CQI не должна использоваться с эритроцитами, предварительно обработанными ферментами

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

Результаты, полученные при помощи НЕМА CQI, обязательно должны совпадать с результатами, которые можно предположить на основе группы и фенотипической информации, указанной на этикетке пробирки.

Достижение ожидаемых результатов с помощью НЕМА CQI, по мнению ученых, позволяет аналитически подтвердить результаты тестирования биологических образцов. Несоответствующий результат указывает на аномалии обращения, реагентов, оборудования или среды и требует внесения корректирующих действий.

ОГРАНИЧЕННОСТЬ МЕТОДА

- НЕМА CQI следует использовать только квалифицированным персоналом.
- Не используйте НЕМА CQI, если наблюдаются признаки гемолиза.
- При закупоривании пробирок с НЕМА CQI во избежание загрязнения следуйте цветовой маркировке (одинаковый цвет пробки и этикетки).
- Настоятельно рекомендуется работать с чистым оборудованием и незагрязненными продуктами (бактериальное или другое загрязнение).
- Следует строго подчиняться следующим требованиям:
 - Соблюдение условий хранения и срока годности,
 - методы применения, описанные на инструкциях к препарату,
 - придерживайтесь рекомендациям, касающимся калибровки, обращения с препаратом и технического обслуживания.

РАБОТА С НЕМА CQI

- Концентраты эритроцитов собираются и контролируются компанией French Blood service (Etablissement Français du Sang) в соответствии с французскими стандартами качества продуктов, используемых для переливания, а также в соответствии со законодательными актами французских властей, в частности:

- постановление о рациональных методах приготовления неустойчивых продуктов крови, в соответствии с рациональным использованием крови при добровольном донорстве, с поправками принятых указов,

- указ о лабораторных и скрининговых анализах для заболеваний, передающихся через кровь и ее составляющие.
- Чувствительность антигенов и активность антител НЕМА CQI гарантированы с момента первого использования, до даты, указанной на этикетке.
- Во время проверки серологического анализа (обратная группировка), используется сыворотка НЕМА CQI 2 и/или 3, интенсивность полученной реакции эритроцитов группы A2 может быть ниже интенсивности реакции эритроцитов группы A1.
- Исследования проводились на трех партиях НЕМА CQI при использовании метода, употребляемого для определения фенотипов ABO-RH1 и RH-K (метод на опаловой пластине, в пробирках, на микропланшете, и т.д.). Данное исследование не показало каких-либо расхождений с ожидаемыми результатами.
- Каждая партия НЕМА CQI подвергается строгому контролю качества, чтобы обеспечить надлежащее качество препарата.

DIAGAST**ЭТАЛОН****КЛОН****НАБОР
ФЕНОТИПОВ**

74911

ANTI-C (RH2)

74221

P3X25513G8 +
MS24**ANTI-E (RH3)**

74311

906

ANTI-c (RH4)

74011

951

ANTI-e (RH5)

74611

P3GD512 + MS63

ANTI-K (KEL1)

74711

MS56

**ПРЕДИСЛ
ОВИЕ**

Данные
реагенты
предназнач
ены для
профессион
альной
диагностики
in vitro
медицински
ми
диагностиче
скими
инструмента
ми (IVDMD).
Они
разработан
ы для
анализа

биологических образцов человека. Используются для RH-K фенотипирования эритроцитов крови человека. Этот метод позволяет определить присутствие на поверхности эритроцитов антигенов C (RH2), E (RH3), c (RH4), e (RH5) и K (KEL1).

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ручной метод с использованием тарелки или пробирки. Принцип основан на явлении геммагглютинации. Эритроциты исследуются путем проведения агглютинации антигенов в присутствии реагента, содержащего соответствующее антитело.

СОСТАВ

Реагенты готовят компанией «ДИАГАС» (DIAGAST) из антиэритроцитарных моноклональных антител в промежуточной консервации.

Моноклональные антитела IgM-типа получают из супернатантных гибридомных культур человеческого происхождения, выращенных *in vitro*.

Все реагенты содержат азид натрия (< 0,1 %). Антитела ANTI-C (RH2), ANTI-c (RH4) и ANTI-e (RH5) содержат натрия арсенит (0,02 %).

Все реагенты, за исключением ANTI-K (KEL1), содержат бычий сывороточный альбумин. ANTI-K (KEL1) содержит фетальную телячью сыворотку.

Реагенты упакованы в коробки по 4 флакона емкостью 5 мл с градуированными капельницами.

Набор фенотипов PHENOKIT состоит из 1 флакона ANTI-C (RH2), 1 флакона ANTI-E (RH3), 1 флакона ANTI-c (RH4), 1 флакона ANTI-e (RH5) и 1 флакона ANTI-K (KEL1).

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Рекомендуется надевать перчатки и защитные очки, а также осторожно работать с образцами человеческой ткани. Все материалы, которые имели контакт с образцами, должны считаться потенциально зараженными. Следует применять специальные защитные меры и условия по утилизации и дезинфекции данных материалов в соответствии с правилами местных нормативных актов. Не используйте поврежденные или протекшие реагенты.

ХРАНЕНИЕ

Реагент должен храниться при температуре + 2-8 °C. Активность реагента гарантируется с момента первого пользования до даты истечения срока годности, обозначенной на этикетке. По

истечении срока годности не следует использовать реагент. Рекомендуется максимально сократить время пребывания реагента вне холодильника, а также избегать нахождения флакона при комнатной температуре в промежутке между использованиями.

НЕОБХОДИМЫЕ РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ

- Изотонический физиологический раствор (0,9 % NaCl).
- Стеклонные пробирки, 10 или 12 x 75 мм, для тестирования, штатив для пробирок.
- Лабораторная мешалка.
- Опалиновая тарелка.
- Точные автоматически регулируемые пипетки.
- Центрифуга с относительной силой в 100-1200 тяготения.
- Образцы крови с известными фенотипами: RH2, RH-2, RH3, RH-3, RH4, RH-4, RH5, RH-5, K1 и K-1, такие как HEMA CQI (DIAGAST, см. Каталог).
- Контрольный образец: NEG CONTROL (DIAGAST, см. Каталог).

ОБРАЗЦЫ, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫЕ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ, И КОНТРОЛЬНЫЕ ОБРАЗЦЫ

ОБРАЗЦЫ КРОВИ, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫЕ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Кровь собирается в антикоагулянты (используется EDTA, гепарин или цитрат), в стерильную пробирку с притертой пробкой, хранится при температуре + 2-8 °C и должна быть исследована в течение 48 часов до момента видимого гемолиза.

Во время проведения теста поместите образец крови в центрифугу на 3 минуты при 1200 тяготениях.

ОБРАЗЦЫ КРОВИ С ИЗВЕСТНЫМИ ФЕНОТИПАМИ: HEMA CQI

Использование HEMA CQI позволяет определить аномалии (манипуляций, реагентов, приборов и среды) и принять соответствующие меры по их устранению.

Аналитическая система должна быть подтверждена использованием образцов с известными фенотипами:

- образец, имеющий антиген, соответствующий антителу используемого реагента,
- образец, не имеющий антигена, соответствующего антителу используемого реагента.

Для каждого образца крови, предназначенного для тестирования, необходимо исследовать контрольный реагент, действия с которым проводились при тех же условиях, что и при замене реагента NEG CONTROL.

ПРОЦЕДУРА

МЕТОД ТАРЕЛКИ, ВЫПОЛНЯЕМЫЙ ПРИ КОМНАТНОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ (+ 18-25 °C)

- На абсолютно чистую опалиновую тарелку, с помощью пузырьковой капельницы, капните 1 каплю реагента.
- Нанесите 25 мкл неочищенного сгустка крови возле каждой капли реагента, стараясь не смешивать капли реагентов и клетки между собой.
- Перемешайте кровь и реагенты, двигаясь по спирали концом мешалки, таким образом, чтобы образовалась смесь диаметром 2-3 см.
- Выдержите смесь 30 секунд при комнатной температуре без встряхивания.
- Держа тарелку, медленно вращайте ее в течение 3 минут под микроскопом, наблюдая возможное появление агглютинатов.

Примечание: агглютинация, наблюдаемая с ANTI-K (KEL1), может быть менее выраженная или слабая по сравнению с другими реагентами. Особую важность имеет медленное вращение тарелки.

- Немедленно изучите реакцию.

ПРОБИРОЧНЫЙ МЕТОД, ВЫПОЛНЯЕМЫЙ ПРИ КОМНАТНОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ (+ 18-25 °C)

- Подготовьте 5 %-ную суспензию неотмытых эритроцитов в изотоническом физиологическом растворе.
- В пробирку, с помощью капельницы флакона, добавьте 1 каплю реагента.
- Добавьте 50 кл взвеси клеток.
- Встряхивайте до полной гомогенизации, затем центрифугируйте 1 минуту при скорости 500 об./минуту.
- Мягко встряхните пробирку таким образом, чтобы рассоединить клеточные агрегаты,

- возникшие в результате возможного появления агглютинатов во время микроскопирования.
- Немедленно изучите реакцию.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При наличии агглютинации (эритроциты собираются в 1 или несколько блоков) реакция считается положительной, и антиген соответствует реагенту, используемому в настоящем образце эритроцитов.

При отсутствии агглютинации (эритроциты возвращаются обратно в состояние гомогенной взвеси) реакция считается отрицательной, и антиген на данных эритроцитах отсутствует.

Реакция подлежит интерпретации только в случае:

- использования в качестве контрольного реагента NEG CONTROL, при этом эритроциты дают отрицательную реакцию,
- аналитическая система подтверждается при использовании образцов с известными фенотипами.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Использование реагента разрешается только квалифицированному персоналу.

Обязательно использование градуированной пипетки, поставляемой вместе с флаконом IVDMD, для отделения капель реагента.

Результаты реакции должны быть изучены немедленно после центрифугирования и ресуспендирования.

Необходимо работать только с чистым оборудованием, не имеющим каких-либо загрязнений (бактериальное загрязнение и т. д.).

Должны тщательно соблюдаться следующие требования:

- условия хранения и срок годности реагентов,
- пошаговое выполнение описанной процедуры,
- стандартизированное или рекомендуемое оборудование.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ

При использовании рекомендуемой технологии данные реагенты соответствуют большинству стандартных технических характеристик IVDMD.

Оценка эффективности проводилась на клеточном наборе из 500-1400 образцов известных стандартных резусных фенотипов (доноров крови, пациентов и новорожденных). Образцы были собраны в соответствии с использованием рекомендуемых антикоагулянтов (EDTA, гепарина и цитрата). Оценка показала 100 %-ную специфичность каждого реагента по сравнению с ожидаемыми результатами.

Исследования проводились на частичных фенотипах. Однако, несмотря на удовлетворительный результат, из-за нестабильности антигена невозможно гарантированно произвести распознавание всех слабых или изменяющихся агентов.

В определенных случаях, при изучении трансфузионных образцов, могут наблюдаться явления удвоенного эффекта.

При тестировании образца холодными агглютинидами может наблюдаться ложная позитивная реакция.

БИБЛИОГРАФИЯ

- MANNESSIER L., HORBEZ C., BROLY H.
Caractérisation et validation d'un anticorps monoclonal humain anti-C.
Rev. Fr. Transfus. Hémodiol., 1991, 34, 403-408.
- Common Technical Specifications (C.T.S.) for the in vitro diagnostic medical devices of annex II, list A, of directive 98/79/EC are notified in the Official Journal of the European Communities under document No. C (2002) 1344, text with EEA relevance (2002/364/EC).

CE
0459

DIAGAST BP 9 - 59374 LOOS CEDEX – ФРАНЦИЯ

DIAGAST

ANTI-A (ABO1), ANTI-B (ABO2), ANTI-A,B (ABO3),
ANTI-D (RH1) IGM I, ANTI-D (RH1) IGM II,
ANTI-D (RH1) TOTEM, ANTI-D (RH1) IGG,
ANTI-DCE (RG1,2,3), NEG CONTROL, GROUPAKIT

ВВЕДЕНИЕ

Данные реагенты являются *in vitro* диагностическими медицинскими инструментами (IVDMD), предназначенными для профессионального использования. Они созданы для анализа биологических образцов человека.

ANTI-A (ABO1), ANTI-B (ABO2), ANTI-A,B (ABO3) применяются с эритроцитами для определения группы крови по системе ABO. Они дают возможность выявить присутствие эритроцитарных антигенов А и/или В на поверхности эритроцитов человека.

ANTI-D (RH1) IGM I, ANTI-D (RH1) IGM II, ANTI-D (RH1) TOTEM, ANTI-D (RH1) IgG применяются для определения группы крови. Они дают возможность выявить присутствие антигена D (RH1) на поверхности красных кровяных телец человека.

ANTI-DCE (RG1, 2, 3) обеспечивает выявление присутствия по крайней мере одного эритроцитарного антигена: D(RH1), C(RH2) и E (RH3).

NEG CONTROL используется для определения крови по системе ABO. Активность антител в нем отсутствует. Протестированный в тех же условиях, что и использованные реагенты, он позволяет интерпретировать полученные результаты.

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Ручной метод с использованием тарелки или пробирки. Принцип основан на явлении геммагглютинации. При исследовании эритроциты, содержащие антиген, склеиваются в присутствии реагента, содержащего соответствующие антитела:

- как с помощью метода прямой геммагглютинации, когда они вступают в контакт с реагентом, содержащим антитела (тип: IgM),
- так и с помощью метода непрямой геммагглютинации: анализ антиглобулина при использовании IgG антител. Реакция проходит две стадии: эритроциты подвергаются действию антител IgG. Антитела привязываются к эритроцитам, несущим соответствующий антиген.

Установление группы крови по системе ABO происходит как при экспрессии антигенов А- и/или В на поверхности эритроцитов человека, так и при присутствии, либо отсутствии анти-А и/или анти-В антител в плазме. Следовательно, реагенты можно использовать для распознавания эритроцитарных антигенов, используя известные анти-А, анти-В, и анти-А, В реагенты (анализ эритроцитов), и затем, для подтверждения предшествующих результатов, проверяя присутствие соответствующих антител в плазме при анализе крови, используя эритроциты А1, В и, возможно, А2 и О (анализ плазмы).

Для установления резус-фактора крови необходимо использование реагента ANTI-D (RH1) и реагента NEG CONTROL.

СОСТАВ

Реагенты изготовлены из моноклональных антител, культивированных в питательной среде. Моноклональные антитела, произведенные компанией «ДИАГАС» (DIAGAST), получены *in vitro* из культур гибридов крысиного и человеческого происхождения. NEG CONTROL, произведенный компанией «ДИАГАС» (DIAGAST), не содержит антител.

Данные реагенты содержат азид натрия (<0,1 %), арсенит натрия (0,02 %) и бычий альбумин.

Реагенты упакованы в ампулы с градуированной пипеткой и входят в набор GROUPAKIT. Набор GROUPAKIT (DIAGAST 70888) содержит ампулы с ANTI-A (ABO1), ANTI-B (ABO2), ANTI-A,B (ABO3), ANTI-D (RH1) IGM I и NEG CONTROL.

Смотрите последнюю страницу описания реагентов.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Рекомендуется надевать перчатки и защитные очки, а также осторожно работать с образцами человеческой ткани. Все материалы, которые имели контакт с образцами, должны считаться потенциально зараженными. Следует применять специальные

защитные меры и условия по утилизации и дезинфекции данных материалов в соответствии с правилами местных нормативных актов. Не используйте поврежденные или протекшие реагенты.

ХРАНЕНИЕ

Реагенты необходимо хранить при температуре +2-8 °С. При рекомендованном методе использования действие реагентов гарантировано с момента первого использования до даты, указанной на упаковке. Не следует использовать реагенты после истечения срока годности. Рекомендуется максимально сократить пребывание реагентов вне холодильника и избегать нахождения реагентов при комнатной температуре в период между применениями.

НЕОБХОДИМЫЕ РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ

- Изотонический соляной раствор (0,9 % NaCl).
- Инкубатор или водяная баня при температуре 37 °С.
- Стеклянные пробирки, 10 или 12 x 75 мм, штатив.
- Механическая мешалка.
- Опалиновая тарелка
- Точные автоматически приспособленные пипетки.
- Центрифуга с относительной мощностью 100-1200 г.
- Проверенные образцы крови известных фенотипов: А, В, О, RH1, RH2 и RH-2, RH3 и RH-3, такие как HEMA CQ1 (DIAGAST: см. каталог).
- Реагент NEG CONTROL (DIAGAST: см. каталог).
- Антиглобулины анти-IgG MAESTRIA IgG (DIAGAST: см. каталог).
- IgG-чувствительные эритроциты.
- Прибор для идентификации частичного D-антигена для научного использования: D-SCREEN (DIAGAST: см. каталог).

ПРОВЕРКА ОБРАЗЦОВ

ОБРАЗЦЫ КРОВИ ДЛЯ АНАЛИЗА

Кровь, собранную в антикоагулянте (ЭДТА, гепарин или цитрат) в закупоренной стерильной трубке, хранящейся при температуре 2-8 °С, необходимо проверить на видимые признаки гемолиза в течение 48 часов.

Во время анализа центрифугируйте образцы крови при 1200 г в течение 3 минут.

ОБРАЗЦЫ КРОВИ С ИЗВЕСТНЫМ ФЕНОТИПОМ: HEMA CQ1

Аналитическую систему следует подтвердить, используя образцы с известными фенотипами:

- образец с антигеном, соответствующим антителам в использованном реагенте,
- образец без антигена, соответствующего антителам в использованном реагенте.

Использование данных образцов дает возможность выявлять аномалии (обращение, реагенты, приборы, среда) и вносить необходимые корректирующие действия.

NEG CONTROL

Для каждого образца группы RH1 проводится проверка реакции в одинаковых условиях с помощью замены ANTI-D (RH1) препаратом NEG CONTROL.

В случае аномалии в группе крови по системе ABO проводится проверка реакции в одинаковых условиях с помощью замены реагента ABO-группы препаратом NEG CONTROL.

ПРИМЕНЕНИЕ

а) метод тарелки, выполняемый при комнатной температуре (+18-25 °С), кроме ANTI-D (RH1) IgG

- используя пипетку, капните 1 каплю реагента на стерильно чистое стекло.
- Возьмите 25 мл неочищенного клеточного вещества и добавьте к каждой капле реагента. Следите за тем, чтобы капли не соприкасались.
- Смешайте кровь и реагент спиральными движениями, пользуясь концом мешалки таким образом, чтобы получилась ромбовидная фигура диаметром 2-3 см.
- Держите стекло при комнатной температуре, не двигая, в течение 30 секунд.
- Возьмите стекло и медленно вращайте 3 минуты, наблюдая через микроскоп за возможным возникновением склеивания.
- Реакция будет видна сразу.

б) Прямой метод в пробирке, при комнатной температуре (+18-25 °С), кроме ANTI-D (RH1) IgG

- Приготовьте 5 %-ную суспензию красных кровяных телец в изотоническом соляном растворе.
- Используя пипетку, введите в пробирку каплю реагента.
- Добавьте 50 мл взвеси эритроцитов.
- Смешайте до однородной массы, затем центрифугируйте при 500 г в течение одной минуты.
- Наблюдайте через микроскоп, аккуратно встряхивая пробирку, чтобы отделить красный кровяной сгусток.
- Обратите внимание, появились ли склеивания.

в) метод непрямого антиглобулина только для ANTI-D (RH1) TOTEM

- Если реакция слабая или отрицательная, после немедленного центрифугирования и анализа данных способом, описанным выше, встряхните пробирки и оставьте их на 15 мин при температуре 37 °С.
- Промойте красные кровяные тельца изотоническим соляным раствором дважды и удалите раствор от последнего промывания.
- Добавьте 50 мг антиглобулина ANTI-IgG 'MAESTRIA IgG' к красному кровяному сгустку. Перемешайте и центрифугируйте при 120 г в течение 1 минуты.
- Получите результат, как это описано в пункте б).

г) метод непрямого антиглобулина только для ANTI-D (RH1) IgG

- Приготовьте 5 %-ную суспензию или эритроциты в изотоническом соляном растворе.
- Используя пипетку, введите 1 каплю реагента в пробирку.
- Добавьте 50 мг суспензии эритроцитов.
- Встряхните пробирки до получения однородной массы и оставьте на 15 минут при температуре 37 °С.
- Промойте эритроциты в изотоническом соляном растворе дважды и удалите раствор от последнего промывания.
- Добавьте 50 мг антиглобулина ANTI-IgG 'MAESTRIA IgG' к красному кровяному сгустку, смешайте и центрифугируйте при 120 г в течение 1 мин.
- Получите результат, как это описано в пункте б).

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

- Если наблюдается склеивание (эритроциты образуют один или несколько сгустков), реакция положительна, и антиген, или один из антигенов, соответствующих используемым реагентам, присутствует в тестируемых эритроцитах. Если же склеивания нет (эритроциты образуют однородную суспензию), реакция отрицательная, и антиген в эритроцитах отсутствует.
- Группа крови по системе АВО может быть однозначно определена только при строгом соответствии результатов анализа эритроцитов и результатов анализа плазмы.

Если есть расхождение, не регистрируйте результат и продолжайте идентификацию группы крови в соответствии с существующими рекомендациями и протоколами или отправьте образцы в экспертную лабораторию.

«Авто»-контроль, «алло»-контроль и «реагент»-контроль и клинические исследования могут помочь объяснить аномалию.

«Авто»-контроль: в одинаковых условиях тестируется плазма относительно ее эритроцитов.

«Алло»-контроль: в одинаковых условиях тестируется плазма относительно эритроцитов, протестированных так называемым методом О (выявление антиэритроцитарных антител, отличных от анти-А и анти-В).

«Реагент»-контроль: в одинаковых условиях тестируются эритроциты относительно отрицательного контроля.

- Метод прямой гемагглютинации на стекле или в пробирке: если есть склеивание с ANTI-D (RH1) IgM или TOTEM, антиген D присутствует. Если склеивания нет, можно использовать ANTI-D (RH1) TOTEM или ANTI-D (RH1) IgG методом непрямого антиглобулина, если предполагается, что антиген D должен быть обнаружен.

- Отрицательная реакция, полученная анализом непрямого антиглобулина, может быть утверждена эритроцитами, чувствительными к IgG (см. листовки к соответствующему реагенту).

- Реакцию можно интерпретировать, если только:

- Реагент контроль при использовании NEG CONTROL показывает отрицательный результат.
- Аналитическая система подтверждена при использовании образцов с известными фенотипами.
- Анализ прямого антиглобулина на анализ эритроцитов отрицательный.

ОГРАНИЧЕННОСТЬ МЕТОДА

- Реагент следует использовать только квалифицированным работникам.

- Во избежание проливания реагента настоятельно рекомендуется использовать капельницу соответствующей калибровки.

- Реакция должна наблюдаться сразу же после центрифугирования и ресуспензирования.

- Настоятельно рекомендуется работать с чистым оборудованием и незагрязненными продуктами (бактериальное или другое загрязнение).

- Следующие пункты должны строго соблюдаться:

- условия хранения и срок годности,
- методы применения,
- калибровка и рекомендованное оборудование.

- Слабые фенотипы А и/или В могут быть не обнаружены слайдовым методом, так как он менее точен, чем метод с пробиркой. Следовательно, в случае возникновения расхождения между анализами плазмы и эритроцитов и с учетом того, что слабый фенотип может присутствовать, анализ следует повторить более точным методом.

- Необходимо использовать MAESTRIA IgG для анализа непрямого антиглобулина.

- Необходимо использовать NEG CONTROL для проверки отрицательного результата.

- ANTI-D (RH1) нельзя использовать методами вручную, включая энзиматическое лечение красных кровяных телец.

- ANTI-D (RH1) IgM не следует использовать при анализе непрямого антиглобулина.

- Определенное расхождение (отрицательная реакция при использовании метода прямой гемагглютинации и положительная реакция при методе непрямого антиглобулина) могут возникать при использовании ANTI-D (RH1) TOTEM. Может присутствовать слабый или частичный антиген D.

- Ошибочная положительная реакция может возникнуть:

- когда реагент используется методом прямой гемагглютинации, если предмет анализа содержит холодные агглютинины,

- когда реагент используется при анализе непрямого антиглобулина, если красные кровяные тельца предмета анализа показывают положительную реакцию при прямом анализе антиглобулина.

Данная вероятность делает рациональным сопутствующее использование NEG CONTROL.

ДАННЫЕ О РАБОТЕ

- При рекомендованных методах данные реагенты подчиняются Общим техническим особенностям *in vitro* диагностических медицинских препаратов.
- Работа ANTI-A (ABO1), ANTI-B (ABO2), ANTI-A, B (ABO3) была проверена на более 15 000 различных образцов (донорская кровь, пациенты и новорожденные) на каждом из рекомендованных антикоагулянтах (ЭДТА, гепарин, цитрат). Исследования показали 100 %-ную точность каждого из реагентов против ожидаемых результатов по отношению к общеизвестным фенотипам A1, A2, A1B, A2B, B и O. Анализы, проведенные на определенных красных кровяных тельцах слабого фенотипа ABO, показали хорошую точность фенотипов A3 и B3.
- ANTI-A, B (ABO3) распознает красные кровяные тельца Aх.
- ANTI-B (ABO2) не агглютинирует «приобретенный B» тестируемых эритроцитов.
- В определенных случаях (переливание, определенные слабые фенотипы A или B (A3, B3...), определенно гемопатологические модификации мозаики или химеры и т.д.) можно наблюдать образ двойной популяции.
- Антитела ANTI-A и ANTI-B вызывают кросс-реакцию с антигеном Tn, что усиливает образ двойной популяции (исключительное явление).
- Работа ANTI-D (RH1) IgM I, IgM II, IgG, TOTEM и ANTI-DCE (RH1,2,3) была изучена на партиях от 1000 до 2000 различных образцов (доноры крови, пациенты, новорожденные). Образцы были набраны к каждому из рекомендованных антикоагулянтов (ЭДТА, гепарин, цитрат). Исследования показали 100 %-ную точность каждого из реагентов против ожидаемых результатов по отношению к известным общим резус-фенотипам.
- Интенсивность полученных реакций с ANTI-D (RH1) IgM может зависеть от количества участка антигенов, присутствующих на красных кровяных тельцах.
- ANTI-D (RH1) TOTEM и ANTI-D (RH1) IgG обеспечивают отсеивание слабых красных кровяных телец D (RH1) при методе непрямого гемагглютинации с антиглобулином.
- ANTI-D (RH1) IgM I и TOTEM обладают специфической способностью распознавать редкие мотивы антигена типа RH33 (RoHar) и тем самым вызвать несоответствующие реакции с поликлональными реагентами, которые плохо или совсем не распознают их.
- Только ANTI-D (RH1) TOTEM может помочь выявить D частичный DVI в пробирке методом прямой гемагглютинации.
- К тому же клоны ANTI-D могут распознавать определенные антигенные детерминанты антигена D (см. таблицу на последней странице).
- В общем, для распознавания частичного D рекомендуется набор D-SCREEN.
- Ошибочная положительная реакция может возникнуть, если исследуемый продукт содержит холодные агглютинины.
- Исследования, проведенные на определенных фенотипах, хотя и являются удовлетворительными, не обеспечивают распознавание всех слабых или вариативных субъектов из-за вариативности мотивов антигенов.

БИБЛИОГРАФИЯ

- BETREMIEUX C., BEOLET M., KEYSER L.
Новая стратегия D-фенотипирования мультимоклональным реагентом ANTI-D TOTEM XXIII I.S.B.T. Конгресс, июль 1994
- ARAMBURU E., RABASA P., ESQUIROZ R., GALARRETA T., OLCOZ B.
Оценка антисыворотки моноклонального анти-D IgM-IgG (DIAGAST) у доноров со слабой экспрессивностью антигена D
Конгресс по Гематологии – Мадрид – октябрь 1990.

- MANESSIER L. – ЦЕНТР ПЕРЕЛИВАНИЯ КРОВИ – ЛИЛЛЬ – Франция

Использование моноклональных антител в качестве реагентов группирования крови: применение, достоинства и проблемы.

Конгресс Итальянского общества переливания крови – Рим – июнь 1992

- Общие технические особенности для in vitro диагностических медицинских препаратов, приложение II, список А, директива 98/79/ЕС зарегистрирована в официальном журнале Европейского Сообщества под документом № С (2002) 1344, ЕЕА (2002/364/СЕ).

РЕАГЕНТ		ССЫЛКА	КЛОН	ТИП	ПРОИСХОЖДЕНИЕ
ANTI-A (ABO1)	5 × 10 mL	70501	9113D10	IgM	Крысиное
ANTI-B (ABO2)	5 × 10 mL	70502	9621A8	IgM	Крысиное
ANTI-A,B (ABO3)	5 × 10 mL	70503	9113D10 + 152D12	IgM	Крысиное
ANTI-D (RH1) IgM I	5 × 10 mL	71000	P3X61	IgM	Человеческое
ANTI-D (RH1) IgM II	5 × 10 mL	71005	HM10	IgM	Человеческое
ANTI-D (RH1) TOTEM	5 × 10 mL	71010	P3X61 + P3X21223B10 + P3X290 + P3X35	IgM IgM IgG IgG	Человеческое
ANTI-D (RH1) IgG	5 × 10 mL	71020	Hm16	IgG	Человеческое
ANTI-DCE (RH1,2,3)	5 × 5 mL	74111	P3X61 + P3X25513G8 + P3X234	IgM	Человеческое
NEG CONTROL	5 × 10 mL	79000			

КЛОН	Тип	ДII	D III a III b IIIc	D IVa	D IV b	D Va	D VI	D VII	D FR	D BT	Ro Ha r	H Mi
P3X61	IgM	+	+	+	+	+	-	+	+/-	+	+	+
HM10	IgM	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+
HM16	IgG	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
P3X212 23B10	IgM	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+
P3X290	IgG	+	+	+/-	-	+	+/-	+	+	-	-	+
P3X35	IgG	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+

- «+» указывает на положительный результат, интенсивность которого может меняться, как и функция количества участков антигенов на исследуемых красных кровяных тельцах.
- «-» указывает на то, что может быть получен положительный или отрицательный результат. Результат зависит от антигенности.