1 НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты для иммуногематологии «Реагенты моноклональные анти-А, анти-В, анти-АВ для определения групп крови системы АВ0» (далее моноклональные реагенты) предназначены для определения групп крови человека системы АВ0 в прямых реакциях гемагглютинации и применяются взамен или параллельно с поликлональными иммунными гемагглютинирующими сыворотками.

Моноклональные реагенты – это новое поколение типирующих реагентов для определения антигенов эритроцитов человека. Для изготовления моноклональных реагентов анти-А, анти-В, анти-АВ используются моноклональные антитела, которые продуцируются двумя мышиными гибридомами и принадлежат к иммуноглобулинам класса М. Технология изготовления моноклональных реагентов исключает возможность их контаминации патогенными для человека вирусами. Приготовленные растворы реагентов содержат консервирующие вещества и окрашены в соответствии с групповой принадлежностью реагента.

2 КОМПЛЕКТНОСТЬ

В комплект поставки входят:
– один флакон по 10 мл с реагентом анти-А;
– один флакон по 10 мл с реагентом анти-В;
– один флакон по 10 мл с реагентом анти-АВ;
– инструкция по применению.

3 ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

Персонал, использующий моноклональные реагенты, должен быть обеспечен в установленном порядке средствами индивидуальной защиты и спецодеждой, должен соблюдать правила личной гигиены и асептики, принятые в медицинских учреждениях в отношении препаратов крови, в соответствии с действующим законодательством Республики Беларусь. Меры предосторожности при работе с кровью больных требуют соблюдения правил работы с условно патогенным материалом.

Утилизация брака и отходов от моноклональных реагентов после их использования проводится в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.14-20.

4 СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

4.1 Техника определения

Определение производится в крови с консервантом, без консерванта, венозной или капиллярной. Используется метод прямой гемагглютинации на плоскости (на пластине или планшете). Определение групп крови производится в помещении с хорошим освещением при температуре + 15 – +25 °С.

Нанесите на планшет или пластину индивидуальными пипетками реагенты анти-А, анти-В, анти-АВ по одной большой капле (0,1 мл) под соответствующими

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

надписями.

Рядом с каплями реагентов нанесите по одной маленькой капле исследуемой крови (0,01-0,03 мл).

Смешайте кровь с реагентом (на планшете – тщательно вымытым сухим шариком, покачивая планшет; на пластине – чистой индивидуальной сухой палочкой).

Наблюдайте за ходом реакции с реагентами визуально при легком покачивании пластины или планшета в течение 5 мин. Агглютинация эритроцитов обычно наступает в первые 3-5 с, но наблюдение следует вести 5 мин ввиду более позднего появления агглютинации с эритроцитами, содержащими слабые разновидности антигенов А или В.

Результат реакции в каждой капле может быть положительным или отрицательным. Положительный результат выражается в агглютинации (склеивании) эритроцитов. Агглютинаты видны невооруженным глазом в виде мелких красных агрегатов, быстро склеивающихся в крупные хлопья. При отрицательной реакции капля остается равномерно окрашенной в красный цвет, агглютинаты в ней не обнаруживаются.

При положительном результате реакции агглютинации со всеми реагентами необходимо исключить спонтанную неспецифическую агглютинацию исследуемых эритроцитов. Для этого смешайте на плоскости 1 каплю физиологического раствора с одной каплей исследуемых эритроцитов. Кровь можно отнести к группе АВ(IV) только при отсутствии агглютинации эритроцитов в физиологическом растворе.

4.2 Учет результатов реакции агглютинации

Учет реакции агглютинации			**Группа крови АВ0**
анти-А	**анти-В**	**анти-АВ**	
–	–	–	**0(I)**
+	–	+	**А(II)**
–	+	+	**В(III)**
+	+	+	**АВ(IV)**

Знаком плюс (+) обозначено наличие агглютинации, знаком минус (–) – отсутствие агглютинации.

АВ0 принадлежность крови доноров устанавливается только по результатам перекрестного определения: антигенов А и В в эритроцитах и изогемагглютинов в сыворотке.

В большинстве случаев при определении групп крови моноклональными реагентами достаточно вести учет реакции по наличию или отсутствию агглютинации с двумя реагентами: анти-А и анти-В. Дополнительное введение в реакцию реагента анти-АВ необходимо в диагностических лабораториях при возникновении затруднений при определении групп крови.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

5 СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности моноклональных реагентов – 1 год от даты их изготовления.

6 УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Условия транспортирования моноклональных реагентов должны соответствовать условиям их хранения.

Моноклональные реагенты транспортируют всеми видами транспорта в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на каждом виде транспорта.

Моноклональные реагенты должны храниться в сухом, защищенном от света месте при температуре от плюс 2 до плюс 8 °С в течение всего срока годности.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1 НАЗНАЧЕНИЕ

Реагент для иммуногематологии «Реагент моноклональный анти-D для определения антигена D системы резус» (далее моноклонального реагента анти-D) предназначен для определения антигена D системы резус в эритроцитах человека.

Моноклональный реагент анти-D может быть использован для выявления антнгена D в любых вариантах прямой реакции агглютинации: на плоскости, в пробирках, в микроплате.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА И ОСНОВНЫЕ СВОЙСТВА

Действующим началом реагента анти-D являются моноклональные человеческие анти-D антитела, которые продуцируются гетерогибридомой, полученной в результате слияния человеческой лимфобластоидной линии с миеломной клеточной линией мыши.

Моноклональные антитела принадлежат к одному классу иммуноглобулинов IgM, полностью идентичны по структуре и биологической активности. Антитела анти-D класса IgM являются полными антителами, т.е. вызывают прямую агглютинацию эритроцитов, содержащих D-антиген.

В связи с тем, что IgM антитела не вызывают агглютинации некоторых образцов эритроцитов со слабовыраженным D-антигеном (D^u), определение резус-принадлежности реципиентов и доноров отличаются. Реципиенты с группой крови D^u рассматриваются как резус-отрицательные и определение их резус-принадлежности ограничивается только тестированием моноклональным реагентом анти-D.

Доноры, в отличие от реципиентов, содержащие D^u антиген, рассматриваются как резус-положительные и определение их резус-принадлежности идет в два этапа.

Образцы донорской крови, которые при исследовании реагентом анти-D класса IgM были определены как D-отрицательные, необходимо дополнительно исследовать с помощью других анти-D реагентов, содержащих неполные антитела класса IgG: поликлональной сывороткой или моноклональным анти-D IgG реагентом на присутствие D^u антигена.

3 КОМПЛЕКТНОСТЬ

В комплект поставки входят:

– один флакон по 10 мл с реагентом анти-D;

– инструкция по применению.

4 ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

Персонал, использующий моноклональный реагент, должен быть обеспечен в установленном порядке средствами индивидуальной защиты и спецодеждой, должен соблюдать правила личной гигиены и асептики, принятые в медицинских учреждениях в отношении препаратов крови, в соответствии с действующим законодательством Республики Беларусь. Меры предосторожности при работе с кровью больных требуют соблюдения правил работы с условно патогенным

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

материалом.

Утилизация брака и отходов от моноклонального реагента после его использования проводится в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.14-20.

5 ОПРЕДЕЛЕНИЕ D-АНТИГЕНА СИСТЕМЫ РЕЗУС

5.1 Реакция агглютинации на плоскости

На пластинку со смачиваемой поверхностью нанесите большую каплю (около 0,1 мл) моноклонального реагента анти-D. Рядом поместите маленькую каплю (0,01-0,05 мл) исследуемой крови и смешайте кровь с моноклональным реагентом анти-D. Четко выраженная агглютинация наступает через 30-60 с. Результаты реакции учитывайте через 5 мин.

5.2 Реакция агглютинации в пробирках

В круглодонную пробирку внесите одну каплю (около 0,1 мл) моноклонального реагента анти-D и добавьте одну каплю 5 % суспензии исследуемых эритроцитов в физиологическом растворе. Содержимое пробирки тщательно перемешайте встряхиванием и инкубируйте 30 мин при комнатной температуре. После инкубации пробирку центрифугируйте при 1500-2000 об/мин в течение 1 мин. Мягко покачивая пробирку, отслоите осадок от дна. При отрицательном результате осадок эритроцитов разбивается, образуя непрозрачную гомогенную суспензию. При положительном результате в пробирке видны агглютинаты на фоне прозрачной жидкости.

5.3 Реакция агглютинации в микроплате

В лунку 96-ячеечной круглодонной микроплаты внесите 0,05 мл моноклонального реагента анти-D и 0,05 мл 2 % суспензии исследуемых эритроцитов в физиологическом растворе (эритроциты предварительно дважды отмойте). Через 45-60 мин инкубации при комнатной температуре визуально оцените результат реакции по рисунку осадка эритроцитов на две лунки: при отрицательном результате осадок эритроцитов собирается в точку, при положительном – имеет большой диаметр, располагается неравномерным слоем, имеет неровные или завернутые края.

5.4 Трактовка результатов определения

Исследуемые эритроциты	Результат реакции с реагентами		Резус принадлежность
	Моноклональные анти-D полные антитела	Моноклональные анти-D неполные антитела	
Реципиенты	–		Отрицательная
	+		Положительная
Доноры	+		Положительная
	–	+	Положительная D^u
	–	–	Отрицательная

Знаком плюс (+) обозначено наличие агглютинации, знаком минус (–) – отсутствие агглютинации.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

5.5 Контроль специфичности

Для контроля специфичности реакции необходимо включать стандартные D-положительные и D-отрицательные эритроциты.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

6 СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности моноклонального реагента анти-D – 1 год от даты его изготовления.

7 УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Условия транспортирования моноклонального реагента анти-D должны соответствовать условиям его хранения.

Моноклональный реагент анти-D транспортируют всеми видами транспорта в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на каждом виде транспорта.

Моноклональный реагент анти-D должен храниться в сухом, защищенном от света месте при температуре от плюс 2 до плюс 8 °С в течение всего срока годности.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru