ИНСТРУКЦИЯ
ИЗДЕЛИЯ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ
по применению Реагентов диагностических жидких для определения групп крови человека систем АВ0, Резус и Kell (Цоликлоны анти-А, анти-В, анти-АВ, анти-А1, анти-Асл, анти-D супер, анти-D (IgG), анти-С супер, анти-с супер, анти-Е супер, анти-е супер, анти-Kell супер)

ТУ 9398-101-51203590-2009 **Рег. Удостоверение № XXXXX от XX.XX.XXXX г.**

1. НАЗНАЧЕНИЕ, ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ И СОСТАВ

ЦОЛИКЛОНЫ Анти-**А**, Анти-**А1**, Анти-**Асл**, Анти-**В** и Анти-**АВ** предназначены для определения групп крови человека системы АВ0.

ЦОЛИКЛОНЫ Анти-**D** супер, Анти-**D (IgG)**, Апти-**С** супер, Анти-**с** супер, Анти-**Е** супер, и Анти-**е** супер предназначены для определения групп крови человека системы Резус.

ЦОЛИКЛОН Анти-**Kell** супер, предназначен для определения группы крови человека системы Kell.

ЦОЛИКЛОНЫ - реагенты на основе моноклональных антител IgM и IgG (МКА), продуцируемых гибридомными клеточными линиями. В основе принципа действия реагентов лежит реакция агглютинации эритроцитов с соответствующими антителами, наблюдаемая невооруженным глазом. Определение проводится на плоскости, в планшете или в пробирках с помощью прямой реакции, а также реакции конглютинации с желатином в случае Цоликлона анти-D(IgG).

В состав цоликлонов входят соответствующие моноклональные антитела (IgM и IgG), хлорид натрия, этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА), полиэтиленгликоль, глицин, альбумин бычий сывороточный, красители и азид натрия. Технология производства реагентов исключает возможность их контаминации патогенными для человека вирусами.

2. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

ЦОЛИКЛОНЫ представляет собой бесцветные или окрашенные в соответствующие цвета растворы, обладающие высокой гемагглютинирующей активностью и надежно выявляющие соответствующие антигены на эритроцитах в течение трех минут в прямой реакции на плоскости. ЦОЛИКЛОНЫ специфичны и не дают перекрестных реакций с несоответствующими антигенами.

3. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе с реагентами требуются следующие оборудование и материалы:
- планшет для серологических исследований;
- 96-луночная микроплата;
- секундомер;
- пластиковые одноразовые или стеклянные палочки;
- пробирки градуированные центрифужные 10,0 мл.
- пробирки круглодонные 5,0 - 10,0 мл.
- автоматические одноканальные пипетки объемом на 10 -200 мкл, 100-1000 мкл;
- центрифуга настольная на 3000 об/мин;
- магнитная мешалка ММ-20;
- 0,9% раствор натрия хлористого;
- дистиллированная вода (0,9% физиологический раствор)
- перчатки резиновые или пластиковые;

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

- контрольные эритроциты (+) и (-) фенотипа для каждого реагента.

Допускается использование аналогичного оборудования с метрологическими, техническими характеристиками не хуже тех которые указаны выше.

3. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Определение антигенов может производится в нативной крови, взятой с консервантом или без консерванта, в том числе взятой из пальца, в том числе в эритроцитарной массе, однако следует учитывать, что для получения надежного результата требуется высокая концентрация эритроцитов. Во избежание ошибок рекомендуется использовать плотно упакованный осадок эритроцитов, максимально освобожденный от взвешивающей среды.

4. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

4.1. ТЕХНИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГРУПП КРОВИ СИСТЕМЫ АВ0, РЕЗУС и KELL

4.1.1. МЕТОД ПРЯМОЙ ГЕМАГГЛЮТИНАЦИИ НА ПЛОСКОСТИ

4.1.1.1. В лунки одноразового или многоразового планшета нанести цоликлоны по одной большой капле (0,05 мл) под соответствующими надписями.

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

4.1.1.3. Разными палочками смешайте кровь с реагентом.

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

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

Для определения группы крови системы АВ0 и подгруппы антигена А следует пользоваться таблицами 1 и 2.

Таблица 1

Результат реакции с цоликлоном			**Группа крови**
Анти-А	**Анти-В**	**Анти-АВ**	
0	0	0	0(I)
+	0	+	A(II)
0	+	+	B(III)
+	+	+	AB(IV)

Таблица 2

Цоликлон	**Варианты антигена А**			
	А1	**А2**	**А3**	**Ах**
Анти-А	++++	+++/++++	++	----
Анти-А1	++++	-----	-----	----
Анти-Асл	++++	++++	++/+++	+

\+ наличие положительной реакции

0,-- отсутствие положительной реакции

4.1.2. РЕАКЦИЯ ПРЯМОЙ АГГЛЮТИНАЦИИ В ПРОБИРКАХ

4.1.2.1. Из отмытых исследуемых эритроцитов приготовить 5-% суспензию в физиологическом растворе (0,9% раствор натрия хлористого).

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

4.1.2.2. Внести в круглодонную пробирку по одной капле цоликлона и эритроцитарной взвеси, тщательно смешать.
4.1.2.3. Оставить пробирку на 30 мин. при комнатной температуре.
4.1.2.4. Центрифугировать пробирку 1 мин при 1500 -2000 оборотах в минуту.
4.1.2.5. Осторожно встряхивая пробирку, отслоить осадок от дна.
4.1.2.6.Результат оценить визуально. При отрицательном результате реакции осадок эритроцитов легко разбивается и образует гомогенную непрозрачную суспензию. При положительном результате, осадок остается в виде одного или нескольких агглютинатов на фоне прозрачной жидкости.

4.1.3. РЕАКЦИЯ АГГЛЮТИНАЦИИ В МИКРОПЛАТЕ

4.1.3.1. В лунку 96-ячеечной круглодонной микроплаты внести 0,05 мл цоликлона и 0,05 мл 2% суспензии исследуемых эритроцитов в физиологическом растворе.
Через 45-60 мин. инкубации при комнатной температуре визуально оцените результат реакции по рисунку осадка эритроцитов на дне лунки:
- при отрицательном результате осадок эритроцитов собирается в точку,
- при положительном — имеет больший диаметр, располагается неравномерным слоем, имеет неровные или завернутые края.

4.1.4. РЕАКЦИЯ КОНГЛЮТИНАЦИИ С ЖЕЛАТИНОМ

4.1.4.1. В пробирку внести одну каплю (100 мкл) свободных эритроцитов из сгустка свернувшейся крови или эритроцитов, отмытых от консерванта.
4.1.4.2. Добавить 2 капли (200мкл) 10% раствора желатина, предварительно подогретого при 45-50°С до разжижения, и одну каплю (100 мкл) Цоликлона Анти-D (IgG).
4.1.4.3. Инкубировать в течение 10-15 мин в водяной бане или 30 мин в термостате при 48°С. Прибавить 5-6 мл физиологического раствора и, после осторожного переворачивания пробирки, визуально определяют наличие агглютинатов.

4.2. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наличие агглютинатов указывает на присутствие соответствующих антигенов.
Для контроля специфичности (независимо от применимой методики исследования) необходимо использовать соответствующие стандартные (+) и (-) - эритроциты.

При подозрении на спонтанную неспецифическую агглютинацию исследуемых эритроцитов к образовавшимся агглютинатам следует добавить одну каплю физиологического раствора. Агглютинаты, образовавшиеся вследствие неспецифической реакции, должны раствориться.

5. ФОРМА ВЫПУСКА

Цоликлоны выпускаются в жидкой форме во флаконах-капельницах объемом 5 и 10 мл (1 капля составляет 0,05 - 0,1 мл). Цоликлон анти-А - красного цвета, анти-В – синего, остальные - бесцветные или слабоокрашенные. В качестве консерванта применяется азид натрия в конечной концентрации 0,1%.

6. ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВКА

Срок хранения — два года в холодильнике при 2-8°С. Вскрытый флакон годен к использованию при хранении в холодильнике в герметично закрытом виде в течение всего срока годности. Транспортировка и временное хранение (до 10 суток) разрешается при температуре до + 25 ^{0} С.

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

7. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все компоненты реактивов в используемых концентрациях являются нетоксичными, однако исследуемые образцы крови следует рассматривать потенциально инфицированными патогенными для человека вирусами. При проведении исследования следует работать в перчатках и не допускать попадания капель на открытые участки тела.

Утилизация отходов исследования проводится в соответствии с действующими нормативными документами.

8. РЕКЛАМАЦИЯ

Основаниями для рекламации являются: отсутствие активности, неспецифичность, нарушение целостности флакона, наличие хлопьев, истекший срок годности реагента. При составлении рекламации просим указать дату получения, поставщика (если Вы получили товар не от производителя), номер серии, причины, по которым реагент считается некачественным. Просим приложить протокол с результатами проверки реагента и 2-3 невскрытых флакона с реактивом Рекламацию следует направить на предприятие-изготовитель .

ООО «МЕДИКЛОН», 127276, Москва, ул. Ботаническая, 35
Тел. (499) 502-1214 www.metliclone.ru

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