

## ИНСТРУКЦИЯ

### по применению Набора для фенотипирования крови человека по групповым системам Резус, Келл и Кидд («ЭРИТРОТЕСТ™ – ЦОЛИКЛОНЫ»)

TU 9398-022-27575295-2011

Рег. удостоверение № ФСР 2012/12983 от 03 февраля 2012 г.

#### 1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор «ЭРИТРОТЕСТ™–Цоликлоны» предназначен для фенотипирования эритроцитов человека по системам Резус, Келл и Кидд.

#### 2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА И ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

##### Принцип действия.

ЭРИТРОТЕСТ™–Цоликлоны представляют собой реагенты на основе моноклональных антител, которые продуцируются «in vitro» гибридомными клеточными линиями. Технология производства реагентов исключает возможность их контаминации патогенными для человека вирусами.

В основе принципа действия реагентов лежит реакция агглютинации эритроцитов соответствующими антителами, наблюдаемая невооруженным глазом. Определение проводится на плоскости, в планшете или в пробирках.

В набор входят ЭРИТРОТЕСТ™–Цоликлоны, выявляющие клинически важные антигены систем Резус, Келл и Кидд, сенсбилизация к которым приводит к тяжелым посттрансфузионным осложнениям.

Каждый реагент может быть использован как в составе набора, так и в отдельности. На одно определение расходуется 1 капля (около 0,05 мл) реагента.

##### Состав набора.

В состав набора входят:

##### ЭРИТРОТЕСТ™–Цоликлоны к антигенам системы Резус:

- Цоликлон анти- DCE Супер – 1 флакон;
- Цоликлон анти-CE Супер – 1 флакон;
- Цоликлон анти- D Супер – 1 флакон;
- Цоликлон анти- D Микс – 1 флакон;
- Цоликлон анти-С Супер – 1 флакон;
- Цоликлон анти-С<sup>w</sup> Супер – 1 флакон;
- Цоликлон анти-с Супер – 1 флакон;
- Цоликлон анти-Е Супер – 1 флакон;
- Цоликлон анти-е Супер – 1 флакон .

##### ЭРИТРОТЕСТ™–Цоликлоны к антигенам системы Келл:

- Цоликлон анти-Келл(К) Супер – 1 флакон;
- Цоликлон анти-Челлано(к) Супер – 1 флакон;

##### ЭРИТРОТЕСТ™–Цоликлоны к антигенам системы Кидд:

- Цоликлон анти-Кидд(Jk<sup>a</sup>) – 1 флакон;
- Цоликлон анти-Кидд(Jk<sup>b</sup>) – 1 флакон;

Вспомогательные компоненты:

- Контрольный раствор I (для Эритротест™–Цоликлонов анти-с Супер и анти-е Супер) – 1 флакон;
- Контрольный раствор II (для Эритротест™–Цоликлонов анти-Келл Супер и анти-С<sup>w</sup> Супер) – 1 флакон;
- Планшет пластиковый 80-луночный для реакции агглютинации.

Реагенты расфасованы во флаконы-капельницы по 2,0; 5,0 или 10 мл.

#### АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

ЭРИТРОТЕСТ™–Цоликлоны представляют собой прозрачные бесцветные, бледно-желтые или розовые растворы. Цоликлоны обладают высокой гемагглютинирующей актив-

ностью и надежно выявляют соответствующие антигены на эритроцитах как гомо-, так и гетерозиготных фенотипов в течение 3 минут (в прямой реакции на плоскости). Цоликлоны специфичны и не дают перекрестных реакций с несоответствующими антигенами.

Не следует анализировать образцы лизированной и старой крови.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

Воспроизводимость результатов составляет 100%.

#### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или других вирусных инфекций.

#### ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- пробирки центрифужные вместимостью 5,0 – 10,0 мл;
- пробирки круглодонные вместимостью 2,0 – 5,0 мл;
- пипетки вместимостью 5,0 мл или 10,0 мл;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменяемыми наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,01; 0,05 и 0,1 мл;
- водяная баня или термостат, поддерживающий температуру +37 – 48°C;
- центрифуга настольная на 3000 об/мин;
- 0,9 % раствор хлористого натрия;
- перчатки резиновые хирургические;
- контрольные эритроциты (+) и (–) фенотипа для каждого реагента.

#### АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ.

Цельная кровь, взятая без консерванта; цельная кровь, взятая с консервантом; эритроцитарная масса.

#### ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ.

##### Подготовка реагентов

Реагенты готовы к применению.

##### Подготовка эритроцитов.

Стандартные эритроциты, хранящиеся в консерванте, трижды отмойте 0,9% раствором хлористого натрия. Исследуемые эритроциты для постановки реакции агглютинации на плоскости, в планшете и пробирках отмывать не обязательно. Реакция с использованием ЭРИТРОТЕСТ™–Цоликлона анти-D Микс проводится с отмытыми исследуемыми эритроцитами.

##### Приготовление 5% суспензии эритроцитов.

К 1 мл 0,9% раствора хлористого натрия добавьте 2 капли крови или 1 каплю осадка эритроцитов.

#### ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА.

Все Цоликлоны, входящие в набор, кроме Цоликлонов анти-Кидд(Jk<sup>a</sup>) и анти-Кидд(Jk<sup>b</sup>), применяются для проведения реакции на плоскости, в планшете, в пробирках.

Цоликлоны анти-Кидд( $Jk^a$ ) и анти-Кидд( $Jk^b$ ) предназначены только для проведения реакции в пробирках.

### **1. Реакция агглютинации на плоскости и в планшете**

1.1. На пластинку или в лунку планшета Набора нанесите 1 - 2 капли Цоликлона (примерно 0,05 - 0,1 мл), 1 маленькую каплю исследуемой крови или эритроцитов (примерно 0,02 - 0,05 мл) и смешайте. Смешивание на плоскости производится с помощью палочек, а в планшете - путем его покачивания до полного перемешивания эритроцитов с реагентом.

1.2. Через 20-30 сек после смешивания покачайте пластинку или планшет.

#### **Регистрация и учет результатов.**

1.3. Результат оцените визуально по наличию или отсутствию агглютинации.

Положительная реакция агглютинации означает наличие на эритроцитах антигена, соответствующего одноименному Цоликлону, отрицательная - его отсутствие. Четкая реакция наступает через 30 - 60 сек после смешивания реагента с эритроцитами. При использовании эритроцитов в высокой концентрации четкая агглютинация наступает быстрее. Агглютинация эритроцитов с гетерозиготным фенотипом может развиваться несколько медленнее, чем агглютинация с гомозиготным фенотипом. Окончательный результат реакции следует учитывать через 3 мин, но не позднее, т.к. при подсыхании капли может наблюдаться мелкая неспецифическая агглютинация.

1.4. В сомнительных случаях следует провести контроль растворителя. Для этого смешайте 1 каплю соответствующего Контрольного раствора (I или II) с 1 маленькой каплей исследуемой крови. Если агглютинация наступает одновременно в контроле и в опыте, это означает, что она неспецифическая и вызвана растворителем. Контроль с растворителем проводится только для Цоликлонов анти-с, анти-е и анти-Келл и анти-С<sup>w</sup>.

1.5. Вместо контроля растворителя можно по истечении 3 мин добавить к каплям с сомнительной реакцией физиологический раствор (1 - 2 капли) и покачать пластинку или планшет. Неспецифическая агглютинация исчезнет.

1.6. Реакцию учитывают при положительной реакции агглютинации со стандартными положительными и отсутствии ее с отрицательными эритроцитами.

### **2. Реакция прямой агглютинации в пробирках.**

2.1. Внесите в круглодонную пробирку вместимостью 5,0 мл 1 каплю Цоликлона.

2.2. Затем добавьте 1 каплю 5% суспензии эритроцитов, тщательно перемешайте встряхиванием.

2.3. Инкубируйте пробирку в течение 15 мин при комнатной температуре (+18 - 25°C).

2.4. Центрифугируйте пробирку в течение 1 мин при 1500 об/мин при комнатной температуре.

2.5. Осторожно встряхивая пробирку, отделите осадок от дна.

#### **Регистрация и учет результатов.**

2.6. Результат реакции оцените визуально. При отрицательном результате осадок эритроцитов разбивается и образует однородную непрозрачную суспензию. При положительном результате осадок остается в виде одного или нескольких крупных агглютинатов на фоне прозрачной жидкости.

### **3. Определение антигена D системы резус с помощью ЭРИПРОТЕСТ™ -Цоликлона анти-D Микс**

Цоликлон анти-D Микс представляет собой смесь моноклональных антител класса IgM и IgG, что позволяет с его помощью выявлять как нормальный антиген D, так и его слабые варианты и категории. Определение проводится

пробирочным методом в два этапа: первый - прямая агглютинация; второй - непрямой антиглобулиновый тест конгломинация с желатином. Непрямой антиглобулиновый тест является наиболее чувствительным методом выявления антигена D и его слабых вариантов.

#### **Первый этап: Реакция прямой агглютинации в пробирке**

3.1. Внесите 1 каплю Цоликлона анти-D Микс в круглодонную пробирку вместимостью 10 мл. Добавьте 1 каплю 5% суспензии исследуемых эритроцитов и тщательно перемешайте встряхиванием.

3.2. Центрифугируйте пробирку в течение 1 мин при 1500 об/мин при комнатной температуре.

#### **Регистрация и учет результатов реакции на первом этапе**

Осторожно встряхивая пробирку, отделите осадок от дна. Результат реакции оцените визуально. При отрицательном результате осадок эритроцитов разбивается и образует однородную непрозрачную суспензию. При положительном результате осадок остается в виде одного или нескольких крупных агглютинатов на фоне прозрачной жидкости.

Положительный результат свидетельствует о наличии антигена D. При отрицательном или сомнительном результате следует продолжить исследование и перейти ко второму этапу.

#### **Второй этап: Непрямой антиглобулиновый тест (немая проба Кумбса).**

3.4. Инкубируйте пробирку при температуре +37°C не менее 15 мин.

3.5. Осадок эритроцитов отмойте один раз 0,9% раствором хлористого натрия, полностью удалите супернатант после отмывки.

3.6. К осадку добавьте 2 капли антисыворотки к глобулинам человека и тщательно смешайте.

3.7. Центрифугируйте пробирку 1 мин при 1500 об/мин.

#### **Регистрация и учет результатов реакции**

3.8. Осторожно встряхивая пробирку, отделите осадок от дна и оцените результат реакции невооруженным глазом на наличие или отсутствие агглютинации.

Положительный результат после второго этапа свидетельствует о наличии антигена D<sup>c</sup> на исследуемых эритроцитах. Отрицательный результат о его отсутствии.

### **4. Контроль специфичности**

При проведении любого варианта реакции агглютинации для контроля агглютинирующей активности применяем Цоликлон в каждой серии исследований необходимо использовать стандартные эритроциты, несущие соответствующий антиген, для контроля специфичности - стандартные эритроциты, не несущие соответствующего антигена. Результаты учитывают только в случае правильной реакции Цоликлона со стандартными эритроцитами.

### **УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА.**

Хранение набора должно производиться в упаковке предприятия-изготовителя в темном месте при температуре +2 - 8°C в течение всего срока годности набора. Допускается хранение набора при температуре до +25°C не более 5 дней.

Срок годности набора - 1 год.

Вскрытые флаконы можно хранить в темном месте при температуре +2 - 8°C не более 1 мес.

По вопросам, касающимся качества Набора ЭРИПРОТЕСТ™ ЦОЛИКЛОНЫ и рекламации следует обращаться на предприятие-изготовитель ООО «ГЕМАТОЛОГ» по адресу: 125167, Москва, Новый Зыковский пр-д., д. 4, стр. 1, Тел.: (495) 504-90-98; бесплатная линия для регионов РФ: 8-800-777-07-72, e-mail: [hematologltd@yandex.ru](mailto:hematologltd@yandex.ru). Сайт ООО «Гематолог»: [www.gematolog.com](http://www.gematolog.com).