

# Anti-HG

## ПОЛИСПЕЦИФИЧЕСКИЙ АНТИЧЕЛОВЕЧЕСКИЙ ГЛОБУЛИНОВЫЙ РЕАГЕНТ (Anti-IgG and Anti-C3d)

Тест по Кумбсу

REF

Cont.

B05181 1x 10 mL Anti-HG, полиспецифический/моноклональный

Только для профессиональной диагностики.

### КРАТКОЕ ВВЕДЕНИЕ

В 1945 году Кумбс, Мурант и Раса описали использование античеловеческой глобулиновой сыворотки для выявления неагглютинирующих антител, связанных с эритроцитами. В 1957 г., Dacie показал, что антитела, присутствующие в антиглобулиновой сыворотке, были направлены против определенных компонентов комплемента. Реагент с античеловеческим глобулином обнаруживает неагглютинирующие молекулы антител, а также молекулы комплемента, присоединенные к эритроцитам в результате реакций антиген-антитело in vivo или in vitro.

### ПРИНЦИП ОПРЕДЕЛЕНИЯ

При использовании рекомендуемых методов, реагенты вступая в реакцию с иммуноглобулинами и/или комплектом, присоединенными к поверхности эритроцитов, приводят к образованию сгустка (агглютинации) соседних сенсibilизированных клеток. Не сенсibilизированные клетки не будут, соответственно, вступать в реакцию и агглютинировать (см. ОГРАНИЧЕНИЯ)..

### РЕАГЕНТЫ

Dialab полиспецифический анти-человеческий глобулин, содержит anti-IgG, полученный из кроликов с неспецифической активностью, удаленные абсорбцией и мышинные моноклональные IgM анти-C3d, Клон БРИК-8. Антитела разводятся в буферном растворе, содержащем бычий альбумин. Каждый реагент поставляется в оптимальном разбавлении для использования всеми рекомендуемыми способами, указанными ниже, без необходимости дальнейших разбавлений или добавок. Референсные значения, номер партии и даты истечения срока годности смотрите на этикетке флакона.

| Reagent             | Colour | Dye Used                   |
|---------------------|--------|----------------------------|
| Anti-Human Globulin | Green  | Patent Blue and Tartrazine |

### ХРАНЕНИЕ

Флаконы для реагентов должны храниться при 2-8 ° C при получении. Длительное хранение при температурах вне этого диапазона может привести к ускоренной потере реакционной способности реактива. Реагент подвергался исследованиям стабильности при транспортировке в температурном диапазоне от 37 ° C до -25 ° C, полученные данные описаны в документе EN13640:2002.

### СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Образцы следует отбирать стерильно в пробирки с ЭДТА, как можно скорее, чтобы предотвратить контакт с внешней средой in vitro. Если пробирки с EDTA недоступны, то образцы, взятые с ACD, CPD или CPDA-1, предпочтительнее образцов, взятых без антикоагулянта, т.е. свернутых. Если доступны только свернутые образцы, то их не следует сразу тестировать. Все образцы крови предварительно следует промыть, по крайней мере, дважды с помощью PBS или изотонического солевого раствора перед тестированием..

### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Реагент предназначен только для диагностики in vitro.
2. Если флакон с реагентом треснул или протекает, содержимое следует немедленно утилизировать.
3. Не используйте реагент после истечения срока годности (см. Этикетку флакона).
4. Не используйте реагент, если присутствует осадок.
5. При обращении с реагентами следует использовать защитную одежду, такую как одноразовые перчатки и лабораторные халаты.
6. Реагент фильтруется через капсулу 0,2 мкм для уменьшения бионагрузки. После того, как флакон был вскрыт, содержимое должно оставаться стабильным до истечения срока годности указанного на этикетке, если нет заметной мутности, что может указывать на ухудшение или загрязнение реагента.
7. Реагент содержит <0,1% азид натрия. Азид натрия может быть токсичным при попадании внутрь и может вступать в реакцию с свинцовой и медной сантехникой с образованием взрывчатых азидов металлов. При утилизации смывайте большим объемом воды.
8. Материалы, используемые для производства продуктов, были протестированы с помощью одобренных микробиологических тестов, на наличие у источника антител к ВИЧ 1 + 2 и HCV и HBsAg и признаны отрицательными.
9. Ни один из известных тестов не дают гарантии, что продукты, полученные из человеческих или животных источников, не содержат инфекционных агентов, к ним следует относиться как потенциально опасным. Необходимо проявлять осторожность при использовании и

утилизации каждого флакона и его содержимого.

### КОНТРОЛЬ И РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендуется проводить тестирование положительного (слабый анти-D 0.1 ME / мл) и отрицательного (инертная сыворотка) контролей параллельно с каждой партией тестов. Тесты не признаются действительными, если контроли не показывают ожидаемых результатов.
2. Тест на антиглобулины признается действительным, только в том случае, если все отрицательные тесты дают положительную реакцию с IgG. сенсibilизированными эритроцитами.
3. В РЕКОМЕНДУЕМЫХ МЕТОДАХ проведения анализа, один объем равен приблизительно 50 мкл при условии использования капельницы флакона.
4. Использование реагентов и интерпретация результатов должны проводиться обученным и квалифицированным персоналом в соответствии с требованиями той страны, в которой используются реагенты. Пользователь должен сам определить пригодность данных реагентов для использования другими методами.

### НЕОБХОДИМЫЕ РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ

- Камерная ячейка Coombs.
- Стеклянные пробирки (10 x 75 мм или 12 x 75 мм).
- IgG сенсibilизированные эритроциты.
- Инертные антитела (нейтральная сыворотка AB).
- Слабый ионный раствор (LISS): содержащий 0,03M NaCl, 0,003M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> буфер NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pH 6,7 при 22°C ± 1°C и 0,24M глицина.
- Раствор PBS (pH 6,8 - 7,2) или изотонический солевой раствор (pH 6,5 - 7,5)
- Пипетки с переменным объемом.
- Водяная баня или сухой термостат, с установленной температурой до 37°C ± 2°C.
- Слабая анти-D сыворотка.

### РЕКОМЕНДУЕМЫЕ МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

#### A. Прямой антиглобулиновый метод (DAT)

1. Возьмите 1 объем тестируемых эритроцитов (2 - 3%-я суспензия эритроцитов) и промойте его 4 раза изотоническим солевым раствором, заботясь о максимальном удалении солевого раствора между промывками. Полностью удалите солевой раствор после последней промывки.
2. Добавьте 2 объема Dialab Anti-Human Globulin к каждому сгустку промытых клеток.
3. Тщательно перемешайте и центрифугируйте пробирки в течение 20 секунд при 1000 оборотах в минуту или другим альтернативным способом по времени и силе.
4. Аккуратно ресуспендируйте осадок эритроцитов и считайте макроскопически результат на наличие агглютинации.

#### B. Непрямой антиглобулиновый метод (NISS IAT)

1. Подготовьте 2 - 3% суспензию промытых эритроцитов в изотоническом физиологическом растворе.
2. Поместите в промаркированную пробирку: 2 объема тест-сыворотки и 1 объем эритроцитарной суспензии.
3. Тщательно перемешайте и инкубируйте при температуре 37 ° C в течение 15 минут.
4. Промойте эритроциты 4 раза изотоническим солевым раствором, заботясь о декантировании раствора между промывками и повторно суспендируйте каждую эритроцитарную пробу после каждой промывки. Полностью удалите солевой раствор после последней промывки.
5. Добавьте 2 объема Dialab Anti-Human Globulin к каждой пробе промытых клеток.
6. Тщательно перемешайте и центрифугируйте все пробирки в течение 20 секунд при 1000 оборотах в минуту или при подходящем альтернативном времени и силе.
7. Аккуратно ресуспендируйте пробу и считайте макроскопически результат на наличие агглютинации.

#### C. Непрямой антиглобулиновый метод LISS (LISS IAT)

1. Подготовьте 1,5 - 2% суспензию промытых эритроцитов в LISS (0,03M NaCl, 0,003M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)
2. Поместите в промаркированную пробирку: 2 объема тестовой сыворотки и 2 объема суспензии эритроцитов.
3. Тщательно перемешайте и инкубируйте при температуре 37°C в течение 15 минут.
4. Выполните шаги с 4 по 7 из метода NISS IAT описанный выше.

### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ИСПЫТАНИЙ

1. **Положительный:** наличие агглютинации тестовых эритроцитов представляет собой положительный результат теста и, в пределах принятых ограничений в методе тестирования, указывает на присутствие IgG и / или комплемента (C3) в тестируемых эритроцитах.
2. **Отрицательный:** отсутствие агглютинации тестируемых эритроцитов является отрицательным результатом и, в пределах принятых ограничений в методе тестирования, указывает на отсутствие IgG и / или комплемента (C3) в тестируемых эритроцитах.

### СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1. Этапы промывки должны быть завершены без перерывов и пробы центрифугируются и считываются сразу после добавления реагента. Задержки могут приводить к распаду комплексов антиген-антитело, вызывая ложные отрицательные или слабые положительные результаты.
2. Следует проявлять осторожность при интерпретации результатов исследований, проводимых при температурах, отличных от **рекомендованных**.

**ОГРАНИЧЕНИЯ**

1. Эритроциты, которые имеют положительный результат при прямом антиглобулиновом методе определения (DAT) из-за покрытия IgG, не могут быть типированы **Непрямыми методами антиглобулина**
2. Положительный результат при прямом антиглобулиновом методе определения DAT из-за сенсибилизации комплемента может не отражать фиксацию комплемента in vivo, если контрольные клетки из образца с охлажденным сгустком.
3. Недостаточная промывка эритроцитов в методах непрямого определения антиглобулина может нейтрализовать античеловеческий глобулиновый реагент.
4. После завершения фазы промывки, избыток остаточного физиологического раствора может привести к разведению античеловеческого глобулина, снижая его активность.
5. Отрицательный результат прямого антиглобулинового теста не исключает клинический диагноз АВО-гемолитической болезни новорожденных или аутоиммунной гемолитической анемии. Это также не исключает АВО-гемолитической болезни новорожденных, особенно в тех случаях, если есть подозрения на АВО несовместимость.
6. Ложные положительные или ложные отрицательные результаты могут также возникнуть в случае если:
  - Имеет место загрязнение тестируемых материалов
  - Неправильное хранение, неподходящая концентрация клеток, неподходящее время инкубации или температуры
  - Неправильное или чрезмерное центрифугирование

**ОСОБЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВЫПОЛНЕНИЯ**

1. Характеристика реагентов описана в разделе РЕКОМЕНДУЕМЫЕ МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА
2. Перед выпуском каждая партия Dialab Anti-Human Globulin тестируется РЕКОМЕНДУЕМЫЕ МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА против эритроцитов, покрытых Anti-D, Anti-K и Anti-Fya, для проверки подходящей реакционной способности.
3. Эффективность анти-IgG и анти-C3d была протестирована в сравнении со стандартным эталоном эффективности, полученным от Национального института биологических стандартов и контроля (NIBSC):  
Эталонный стандарт AHG 96/666
4. Эффективность Anti-C3d продемонстрирована в тестах с использованием клеток, покрытых C3
5. В тестах с использованием эритроцитов всех групп АВО и клеток, покрытых C4d, было исключено присутствие загрязняющих гетероспецифических агглютининов или антител к C4d.
6. Реакционная способность любых других компонентов цепи Anti-IgM, Anti-IgA или Anti-light, которые могут присутствовать, не была установлена.
7. Контроль качества реагентов проводили с использованием эритроцитов, которые перед использованием были промыты PBS раствором.
8. Реагенты соответствуют рекомендациям, содержащимся в последнем выпуске «Руководство для служб переливания крови в Великобритании».

**ОТКАЗ ОТ ОТВЕТСТВЕННОСТИ**

1. Если пользователь использует любой другой способ не указанный в разделе РЕКОМЕНДУЕМЫЕ МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА, то он несет ответственность за эффективность работы реагента.
2. Любые отклонения от раздела РЕКОМЕНДУЕМЫЕ МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА должны быть валидированы перед использованием.

**УТИЛИЗАЦИЯ РЕАГЕНТОВ**

Информацию об утилизации реагента и обеззараживании места утечки см. в Паспорте безопасности материалов, которые предоставляются по запросу.

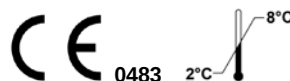
**ЛИТЕРАТУРА**

1. Coombs RRA, Mourant AE, Race RR. Новый тест для выявления слабых и «неполных» Rh-антител. Brit J Exp Патрол. 1945; 26: 255.
2. Wright MS, Issitt PD. Анти-дополнение и косвенный антиглобулиновый тест. Трансфузия 1979; 19: 688-694.
3. Говард Дж. Э., Винн ЛК, Готтлиб К.Э., Грумет Ф.К., Гарратти Г., Петц Л.Д.  
Клиническое значение антикомплексных компонентов анти-глобулиновой антисыворотки. Трансфузия 1982; 22: 269.
4. Howell P, Giles SM. Подробное серологическое исследование пяти сывороток анти-Jka, реагирующих методом антиглобулина. Вокс. Sang. 1983; 45: 129-138.
5. Issitt PD, Smith TR. Оценка антиглобулиновых реагентов. Семинар по оценке эффективности. Вашингтон. Американская ассоциация банков крови. 1976; 25-73.
6. Департамент здравоохранения и социального обеспечения. Проверка антиглобулинов. Ложные отрицательные результаты, HN (Hazard) (83) 625 нояб. 1983.
7. Брюс М, Батт АН, Хейл В, Блю А, Митчелл Р. Серьезный источник ошибок при тестировании антиглобулина. Трансфузия 1986; 26: 177-181.
8. Низкоионные методы реактивности с анти-комплементами, опубликованные FDA. Рекомендуемые методы оценки человеческого глобулина (пересмотр октября 1984 г.).
9. Дунап РК. Оценка коммерчески доступных растворов соли низкой ионной силы (LISS). Med Lab Sci (1981) 381: 13-20.

10. Voak D, Downie DM, Moore BPL, Ford DS, Engelfreit CP, Case J. Репликативные тесты для обнаружения и исправления ошибок в тестах против человеческого глобулина (AHG): оптимальные условия и контроль качества. Haematologia 1988; 21 (1): 3-16.
11. Рекомендации для службы переливания крови в Соединенном Королевстве. Н.М.С.О. Текущая версия.
12. Британский комитет по стандартизации в гематологии, Целевая группа по переливанию крови. Рекомендации по оценке, валидации и внедрению новых методов группировки крови, скрининга антител и перекрестного сопоставления. Transfusion Medicine, 1995, 5, 145-150.

**TABLE OF SYMBOLS**

|              |                     |               |                  |
|--------------|---------------------|---------------|------------------|
|              |                     |               |                  |
| Batch Number | In-vitro Diagnostic | Reference Nr. | Content          |
|              |                     |               |                  |
| Expiry Date  | Store At            | Manufacturer  | Read Pack Insert |



DIALAB Produktion und Vertrieb von chemisch – technischen Produkten und Laborinstrumenten Gesellschaft m.b.H.  
A – 2351 Wiener Neudorf, Austria  
IZ-NÖ Süd, Hondastrasse, Objekt M55  
Phone: ++43 (0) 2236 660910-0  
Fax: ++43 (0) 2236 660910-30  
e-mail: [office@dialab.at](mailto:office@dialab.at)