|  |  |
| --- | --- |
|  | **ЗАТВЕРДЖУЮ**  **директор ПП «ГРУПОТЕСТ»**  /підписано/ С.М. Іванов.  20.09.2021 р. Версія 01-005 |

**Інструкція для медичного застосування**

Діагностичні реагенти «ГРУПОТЕСТ»® для визначення групи крові людини

за системами АВ0, Rhesus, Kell та імунних антитіл ТУ У 21.2-36816271-005:2021.

**Діагностичний моноклональний реагент aнти-Е**

**Назва** Діагностичний моноклональний реагент анти-Е.

**Склад** Діагностичний моноклональний реагент анти-Е для визначення групи крові людини за системою Rhesus містить моноклональні анти-Е антитіла IgM проти антигену Е еритроцитів людини. Анти-Е - людський моноклональний IgM.

**Призначення**/**експлуатаційні характеристики**

Діагностичний моноклональний реагент анти-Е призначений для визначення Е антигену еритроцитів людини за допомогою реакції прямої аглютинації у будь-якій її модифікації (в пробірках, на площині, в мікроплаті та гелевих картах).

***Увага!*** *Використання гелевих карт дозволяє більш* *точно встановити групу крові новонароджених та пацієнтів, у яких можлива слабка експресія антигенів.*

Моноклональний реагент анти-Е специфічний і не дає перехресних реакцій з невідповідними антигенами.

Відтворюваність результатів складає 100%. Призначено для діагностики in vitro.

При застосуванні діагностичного моноклонального реагенту анти-Е для визначення групи крові людини за системою Rhesus слід керуватися даною Інструкцією, інструкцією виробника гелевих карт, а також «Інструкцією з визначення груп крові за системами АВ0, Резус та імунних антитіл», затвердженої наказом МОЗ України від 05.07.1999 р. № 164.

**Форма випуску** Діагностичний моноклональний реагент у рідкому вигляді.

**Обладнання та матеріали (не входять до поставки)**

- холодильник;

***Визначення на площині, в пробірках, в мікроплаті Визначення в гелевих картах***

- центрифуга лабораторна/для мікроплат;; - центрифуга для гелевих карт;

- планшети для визначення груп крові/круглодонні мікроплати;; - карти з нейтральним гелем та штативи для карт;

- одноразові піпетки Пастера; - дозатори на 10 мкл, 50 мкл, 1000 мкл;

- палички для перемішування; - одноразові наконечники для дозаторів;

- секундомір або пісочний годинник - Ділюент «ГРУПОТЕСТ»®

- пробірки лабораторні та штативи для них - пробірки для приготування суспензії еритроцитів;

- 20% суспензія стандартних еритроцитів Е+поз., - 0,8 % суспензія стандартних еритроцитів групи

Е - нег. «ГРУПОТЕСТ»® (Набір №1-20; 9-20) Е+поз., Е - нег. «ГРУПОТЕСТ»® (Набір №9-08)

- розчин натрію хлориду 0,9% або LISS «ГРУПОТЕСТ»®

**Вимоги до зразка крові**

***Увага!*** *Кожна лабораторія**самостійно встановлює процедуру заготівлі зразка крові та підготовки його до дослідження.*

* Для визначення групи крові за системою Rhesus за допомогою діагностичного моноклонального реагенту анти-Е використовувати зразки венозної або капілярної крові.
* Зразки крові можуть бути заготовлені як з використанням консервантів так і без них.
* У випадку використання пуповинної крові необхідно запобігти утворенню «вартонова студня» шляхом встановлення процедури заготівлі зразка крові та/або використання попередньо відмитих еритроцитів.
* Для заготівлі зразка крові використовувати пробірки без наповнювача або з наповнювачем ЕДТА. Можливо використання пробірок з іншими наповнювачами, які призначені для проведення імуногематологічних досліджень згідно інструкції виробника*.* ***Увага!*** *Не використовувати пробірки з активатором згортання, гелем або іншими субстанціями, призначеними для прискорення процесу згортання або розділення крові на плазму/сироватку та формені елементи.*
* У разі визначення групи крові у зразку крові, взятої з пальця або взятої без консерванту, необхідно забезпечити достатньо велику кількість еритроцитів (без надмірної кількості сироватки).
* Термін придатності зразків крові для досліджень, незалежно від способу заготівлі, не більше 48 годин. ***Увага!*** *Експресія ряду антигенів може знижуватись під час зберігання зразка крові, що може вплинути на результат дослідження (отримання хибнонегативних результатів).*
* Зразки крові зберігати за температури від 2 ˚С до 8 ˚С.
* Донорська кров, заготовлена у відповідні контейнери з консервантом, може бути використана для дослідження протягом терміну придатності еритроцитовмісного компоненту крові.
* Не використовувати зразки крові з ознаками гемолізу, бактеріального проросту та зразки крові з високим ступенем згортання. ***Увага!*** *При проведенні дослідження в гелевих картах не використовувати вкрай ліпемічні зразки! Це може вплинути на достовірність результату внаслідок забруднення гелю.*

**Особливості застосування**

Кожна нова партія або поставка діагностичних моноклональних реагентів підлягає верифікації та/або валідації функціональних характеристик, які можуть вплинути на якість досліджень. Валідацію проводити відповідно до параметрів Аналітичного паспорту, який додається до кожної партії діагностичного моноклонального реагенту, використовуючи методи, викладені в даній Інструкції. Дослідження проводять за допомогою стандартних еритроцитів Е+позитивних та Е–негативних. Стандартні еритроцити мають бути призначені для методу, який використовує лабораторія. ***Увага!*** *Кожна лабораторія**самостійно встановлює процедуру верифікації/валідації.*

**Необхідні застереження /заходи безпеки**

Вихідний матеріал, з якого отримані клітинні лінії, був тестований та дав негативну реакцію на НІV, HbsAg та HCV.

Робота із зразками крові, що досліджуються діагностичним моноклональним реагентом, потребує дотримання заходів безпеки, які передбачені для роботи з необстеженою кров´ю. Відходи, що утворюються під час роботи із зразками крові відносяться до відходів категорії В. Поводження з відходами категорії В проводити відповідно до процедур, затверджених у закладі.

**Кваліфікаційні вимоги до виконавців** Визначення групи крові людини за системою Rhesus проводять фахівці з повною вищою освітою (спеціаліст, магістр) або неповною вищою освітою (молодший спеціаліст) відповідного напрямку, які пройшли підготовку з питань імуногематології та мають відповідний сертифікат. Оцінку результату дослідження - висновок про групу крові за системою Rhesus - проводять тільки фахівці з повною вищою освітою.

**Умови проведення досліджень** Визначення групи крові проводити у приміщенні з достатнім освітленням за температури від 18 ºС до 25 ºС. Діагностичні реагенти «ГРУПОТЕСТ»® не слід зберігати відкритими, тому що при висиханні їх активність знижується. Не слід користуватися реагентами, якщо вони мають осад, помутніння або ознаки бактеріального проросту.

***Увага!*** *Після розкриття флакону реагент можна використовувати до закінчення терміну придатності при відсутності змін, що можуть виникнути в процесі використання реагенту − помутніння, утворення осаду, бактеріального забруднення.*

Для кожного реагенту (в разі необхідності) використовувати окрему одноразову піпетку або окремий одноразовий наконечник для дозатора. Перед проведенням досліджень діагностичні реагенти «ГРУПОТЕСТ»® витримати 15 хвилин на лабораторному столі за температури від 18 ºС до 25 ºС.

**Спосіб застосування** Визначення антигену Е системи Rhesus проводити загальноприйнятими методами виявлення антигенів еритроцитів. Діагностичний моноклональний реагент анти-Е для визначення групи крові людини за системою Rhesus придатний для використання в будь-якій модифікації реакції прямої аглютинації: в пробірках, на площині, мікроплаті, гелевих картах.

При проведенні реакції прямої аглютинації в пробірках або на площині одиницею виміру реагентів і зразка крові є крапля. З метою отримання правильного співвідношення реагент-кров (реагент-еритроцити) рекомендовано для отримання краплі використовувати однакові прилади (одноразові піпетки Пастера, мікродозатори, тощо). В разі неможливості використання однакових приладів необхідно забезпечити візуально ідентичний розмір крапель, що має бути відповідним чином задокументовано. ***Увага!*** *При використанні одноразових піпеток Пастера, діаметр вихідного отвору має бути однаковим.*

***Процедура визначення антигену Е***

1 НА ПЛОЩИНІ

1.1 На планшет для визначення групи крові нанести дві краплі діагностичного моноклонального реагенту анти-Е.

1.2 Поруч нанести краплю крові, що досліджується.

1.3 Реагенти та кров ретельно змішати сухою паличкою та спостерігати за реакцією при слабкому похитуванні пластинки протягом 5 хвилин, тому що з еритроцитами, які несуть слабкий Е-антиген, реакція відбувається повільніше.

1.4 Провести облік результатів. Результат реакції в кожній краплі може бути негативним або позитивним.

Позитивний результат (від 4+ до +) виражається в аглютинації (склеюванні) еритроцитів. Аглютинацію можна спостерігати неозброєним оком у вигляді дрібних червоних агрегатів, які швидко зливаються, утворюють великі пластівці або один великий аглютинат. Негативний результат (-): крапля залишається рівномірно забарвленою у червоний колір, аглютинати в ній не спостерігаються. ***Увага!*** *При отриманні сумнівного результату реакцією аглютинації на площині рекомендовано повторити дослідження реакцією аглютинації в пробірках, в мікроплаті або в гелевих картах.*

2 В ПРОБІРКАХ

2.1 Приготувати 2-3 % суспензію досліджуваних еритроцитів.

2.1.1 Помістити 0,5 мл розчину натрію хлориду 0,9% або LISS «ГРУПОТЕСТ»® в чисту пробірку (Розчин низької іонної сили - LISS «ГРУПОТЕСТ»® - збільшує рівень взаємодії антитіл і, таким чином, посилює реакцію аглютинації (антиген/антитіло).

2.1.2 Додати 10,0-15,0 мкл досліджуваних еритроцитів.

2.1.3 Обережно перемішати.

2.2 Провести визначення

2.2.1 Одну краплю 3-5% суспензії досліджуваних еритроцитів змішати з краплею діагностичного моноклонального реагенту анти-Е.

2.2.2 Пробірку обережно струсити до повного перемішування реагентів.

2.2.3 Центрифугувати при 500g протягом 60 секунд.

2.2.4 Обережно струсити осад в пробірці.

2.2.5 Провести облік результатів.

Негативний результат: осад еритроцитів легко розбивається, створюючи гомогенну непрозору суспензію.

Позитивний результат: осад не розбивається, залишаючись у вигляді одного або декількох великих аглютинатів на тлі прозорої рідини.

3 В МІКРОПЛАТІ

3.1 У лунку круглодонної мікроплати помістити краплю діагностичного моноклонального реагенту анти-Е та краплю 3-5% суспензії еритроцитів (п.2.1), що досліджуються, ретельно перемішати.

3.2 Центрифугувати при швидкості 500g протягом 60 секунд. Допускається попередня (перед центрифугуванням) інкубація 30 хвилин за температури від 20 ˚С до 25 ˚С.

3.3 Обережно струсити мікроплату. Провести облік результату макроскопічно (у прохідному світлі з дзеркалом) або з використанням спеціального обладнання, наприклад, апарату автоматичного обліку мікроплат.

Негативний результат: осад розбивається, спостерігається рівномірне забарвлення рідини.

Позитивний результат: осад залишається у вигляді великих аглютинатів.

4 В ГЕЛЕВИХ КАРТАХ

4.1 Приготувати 0,8 % суспензію досліджуваних еритроцитів.

4.1.1 Помістити 1,0 мл Ділюенту «ГРУПОТЕСТ»® в чисту пробірку.

4.1.2 Додати 10,0-12,5 мкл досліджуваних еритроцитів.

4.1.3 Обережно перемішати. ***Увага!*** *Готову суспензію використати протягом 10-20 хвилин.*

4.2 Позначити мікропробірку гелевої карти символом а-Е, вказати серію реагенту (за потребою).

4.3 Позначити на карті номер або ПІБ пацієнта/донора

4.4 Зняти фольгу з мікропробірки.

4.5 Помістити в позначену мікропробірку 50 мкл 0,8 % суспензії досліджуваних еритроцитів.

4.6 Додати 50 мкл моноклонального реагенту анти-Е. ***Увага!*** *Гелеву карту тримати вертикально!*

4.7 Інкубувати карту 5 хвилин за температури від 18 ºС до 25 ºС.

4.8 Центрифугувати карту (згідно інструкції виробника карт).

4.9 Провести облік результатів

Позитивний результат (від 4+ до +): аглютиновані клітини утворюють червону лінію на поверхні гелю або аглютинати розсіяні в гелі. Негативний результат (-): компактний осад клітин на дні мікропробірки. ***Увага!*** *При позитивному результаті 3+, 2+ допускається наявність незначної кількості еритроцитів на дні мікропробірки одночасно з аглютинатами, які розсіяні в гелі.*

**Контроль специфічності реакції**

Обовʾязковим є щоденний контроль функціональних характеристик діагностичних моноклональних реагентів з використанням Е + позитивних та Е - негативних стандартних еритроцитів. Контроль проводити методами, які використовуються під час проведення досліджень.

**Умови зберігання та транспортування** Зберігати в сухому захищеному від світла місці за температури від 2 °С до 8 °С.

Транспортувати з дотриманням вимог «холодового ланцюга» у спеціальних термоконтейнерах або у контейнерах з термоізоляцією, які здатні підтримувати температуру зберігання. Допускається зберігання та/або транспортування при температурі до 25 °С за умови загальної витримки за цієї температури не більше 10 діб.

**Термін придатності −** не менше 2 років (24 місяці).

**Пакування** Діагностичні моноклональні реагенти розлиті по 5 мл у флакони, які герметично перекриті ковпачками.

Флакони з реагентами разом з інструкцією для медичного застосування вкладені в коробку з картону.

**Виробник** ПП «ГРУПОТЕСТ» Україна, Харків.

**Сертифікат № UA.SM.221-21 про відповідність системи управління якістю ДСТУ EN ISO 13485:2018**

**ТУ У 21.2-36816271-005:2021**

**Місце знаходження виробництва: Україна, 62572, Харківська обл., Чугуївський р-н, с. Хотімля, вул. Підлісна, буд.13; телефон офісу: +380 (57) 717 50 44.**

 **UA.TR.099**

**ОПИС СИМВОЛІВ**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | «ВИРОБНИК» назва та адреса виробника |  | «ВИКОРИСТАТИ ДО» рік, місяць | **UA.TR.099** | знак відповідності Технічному регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro, затвердженому постановою Кабінету Міністрів України 02.10.2013 № 754 |
|  | «КОД ПАРТІЇ» |  | «МЕДИЧНИЙ ВИРІБ ДЛЯ  ДІАГНОСТИКИ  IN VITRO» |  | «ОЗНАЙОМЛЕННЯ З ІНСТРУКЦІЯМИ ДЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ» |
|  | «ДАТА ВИГОТОВЛЕННЯ» |  | «ТЕМПЕРАТУРНЕ ОБМЕЖЕННЯ» |  | «ЗАСТОРОГА! ОЗНАЙОМИТИСЯ ІЗ СУПРОВІДНИМИ ДОКУМЕНТАМИ» |