



## СМЕСЕНИ АНГ (ЗАЕШКИ) ПОЛИСПЕЦИФИЧНИ АНТИ-IgG И АНТИ-C3d ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА

### АНГ Elite (Clear или Green): За антиглобулинови техники.

#### РЕЗЮМЕ

През 1945 г. Кумбс, Мурант и Рейс описват използването на серум с античовешки глобулин (АНГ) за откриване на свързани с еритроцити неаглутиниращи антитела. През 1957 г. Дейси и други демонстрират, че антителата на антиглобулиновите серуми се насочват към определени компоненти на комплемента. Реактивите АНГ откриват както молекули на неаглутиниращи антитела, така и молекули на комплемента, свързани с еритроцити, след *in vivo* или *in vitro* реакции антиген-антитело.

#### ПРЕДВИДЕНА УПОТРЕБА

Тези реактиви са полиспецифични реактиви за определяне на кръвни групи, предвидени за употреба при качествено откриване на присъствието или отсъствието на сенсibiliзиращи антитела IgG (от всички 4 подкласа) и комплементни фактори C3d и C3b при човешки еритроцити при тестване по препоръчителните техники, посочени в тези инструкции за употреба.

#### ПРИНЦИП

Реактивите съдържат антитела срещу човешки антитела IgG и комплементни фактори C3 (C3d и C3b) при човешки еритроцити и предизвикват пряка аглутинация (слепване) на еритроцити, които са сенсibiliзирани с човешки антитела IgG и/или комплементни фактори C3 (C3d и C3b). Липсата на аглутинация обикновено означава отсъствие на сенсibiliзиращи човешки антитела IgG и комплементни фактори C3 (C3d и C3b) при човешки еритроцити (вижте **Ограничения**).

#### РЕАКТИВИ

Реактивите Lorne ANГ Elite Clear и ANГ Elite Green съдържат анти-IgG от зайци с отстранена чрез адсорбция неспецифична активност и миши моноклонални IgM анти-C3d, клонинг BRIC-8. Антителата са разредени в буфериран разтвор, съдържащ говежди албумин. Реактивите не съдържат канцерогенни, мутагенни и токсични за репродукцията (CMR) вещества, вещества, нарушаващи функцията на ендокринните жлези, или вещества, които могат да предизвикат сенсibiliзация или алергична реакция при потребителя. Всеки реактив се доставя оптимално разреден за употреба с всички препоръчителни техники, посочени по-долу, без необходимост от допълнително разреждане или добавяне. Информация за номера на партидата и срока за годност ще намерите в **Етикет на шишето**.

Реактив	Клетъчна линия/клонинг	Цвят	Използван оцветител
АНГ Elite Clear	Заешки анти-човешки IgG BRIC-8 (анти-C3d)	Безцветен	Няма
АНГ Elite Green	Заешки анти-човешки IgG BRIC-8 (анти-C3d)	Зелен	Patent Blue и Tartrazine

#### СЪХРАНЕНИЕ

Шишетата с реактивите трябва да се съхраняват при 2–8°C след получаване. Продължително съхранение при температури извън този диапазон може да доведе до ускорена загуба на реактивоспособност на реактива. Този реактив е изпитан за стабилност при транспортиране при 37°C и –25°C, както е описано в документ BS EN ISO 23640:2015.

#### ВЗИМАНЕ И ПОДГОТОВКА НА ПРОБИ

Пробите трябва да се вземат асептично в EDTA, за да се предотврати *in vitro* свързване на комплемента, и да се тестват възможно най-бързо. Ако няма на разположение EDTA, пробите, взети в ACD, CPD или CPDA-1, са за предпочитане пред съсирените. Ако разполагате само със съсирени проби, не ги поставяйте в хладилник преди тестването.

#### ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Реактивите са предвидени само за *in vitro* диагностична употреба.
2. Ако шише с реактив е спукано или тече, незабавно изхвърлете съдържанието.
3. Не използвайте реактивите след срока на годност (вижте **Етикет на шишето**).
4. Не използвайте реактивите, ако има утайка.
5. При боравенето с реактивите трябва да се носи предпазно облекло – например ръкавици за еднократна употреба и лабораторна престилка.
6. Реактивите са филтрирани през 0,2 µm капсула за намаляване на биологичното натоварване, но не се доставят стерилни. След отварянето на шишето съдържанието би следвало да остане използваемо до срока на годност, стига да няма явно помътняване,

което може да означава влошаване на състоянието или контаминация на реактива.

7. Реактивите съдържат < 0,1% натриев азид. Натриевият азид може да бъде токсичен при поглъщане и може да реагира с медни и оловни канализационни тръби и да образува взривоопасни метални азиди. След изхвърляне промивайте с голямо количество вода.
8. Използваните за производството на изделия материали са тествани при източника и е установено, че са отрицателни за антитела срещу HIV 1+2, HCV и HBsAg с одобрени микробиологични тестове.
9. Няма известни тестове, които могат да гарантират, че изделия от човешки или животински източници не съдържат заразители. Трябва да се внимава при употребата и изхвърлянето на всяко шише и неговото съдържание.

#### ИЗХВЪРЛЯНЕ НА РЕАКТИВ И ПОЧИСТВАНЕ НА РАЗЛИВИ

Информация за изхвърлянето на реактивите и деконтаминацията на разлив ще намерите в **Информационните листове за безопасност на материалите**, които се предоставят по заявка.

#### КОНТРОЛИ И СЪВЕТИ

1. Препоръчително е положителен контрол (слаб анти-D < 0,1 IU/ml) и отрицателен контрол (инертен серум) да се тестват успоредно с всяка серия тестове. Тестовите трябва да се считат за невалидни, ако контролите не дават очакваните резултати.
2. Антиглобулиновите техники могат да се считат за валидни, само ако всички отрицателни тестове реагират положително със сенсibiliзираните с IgG еритроцити.
3. Преди употреба оставете реактива да се темперира до стайна температура. Веднага след използването на реактива го върнете отново на съхранение при 2–8°C.
4. В **Препоръчителните техники** един обем е приблизително 50 µl, когато се използва предоставеният капкомер към шишето.
5. Реактивите трябва да се използват и резултатите трябва да се интерпретират от персонал с необходимата подготовка и квалификация в съответствие с изискванията на страната, където реактивите се използват.
6. Потребителят трябва да определя годността на реактивите за употреба с други техники.

#### НЕОБХОДИМИ РЕАКТИВИ И МАТЕРИАЛИ

- Центрофуга за тест на Кумбс.
- Стъклени епруветки (10 × 75 mm или 12 × 75 mm).
- Сенсibiliзирани с IgG еритроцити – например Lorne Coombs Control Cells (каталожен номер 970010).
- Инертни антитела – например Lorne Inert AB Serum (каталожен номер 110010).
- Разтвор с ниска йонна сила (LISS): Съдържа 0,03M NaCl, 0,003M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> буфер, pH 6,7 при 22°C ± 1°C и 0,24M глицин.
- Фосфатно буфериран (PBS) (pH 6,8–7,2) или изотоничен физиологичен разтвор (pH 6,5–7,5).
- Градуирани пипети.
- Инкубатор с водна баня или суха топлина, темперирани до 37°C ± 2°C.
- Слаб анти-D – например Lorne Precise Weak Anti-D (каталожен номер 209005).

#### ПРЕПОРЪЧИТЕЛНИ ТЕХНИКИ

##### A. Директна антиглобулинова техника (DAT)

1. Промийте 1 обем еритроцити (2–3% суспензия във фосфатно буфериран (PBS) или изотоничен физиологичен разтвор) 4 пъти с фосфатно буфериран (PBS) или изотоничен физиологичен разтвор, като задължително преливайте физиологичния разтвор между промивките и ресуспендирайте всеки клетъчен агрегат след всяка промивка. Прелейте изцяло физиологичния разтвор след последната промивка.
2. Добавете 2 обема Lorne ANГ Elite към всеки сух клетъчен агрегат.
3. Разбъркайте добре и центрофугирайте 20 секунди всички епруветки при относителна центробежна сила (RCF) 1000 или други подходящи време и сила.
4. Ресуспендирайте внимателно еритроцитния агрегат и отчетете макроскопски аглутинацията.

##### B. Индиректна антиглобулинова техника (NISS IAT)

1. Пригответе 2–3% суспензия на еритроцити във фосфатно буфериран (PBS) или изотоничен физиологичен разтвор.
2. Поставете в етикетирани епруветка: 2 обема тестов серум и 1 обем суспензия на еритроцити.
3. Разбъркайте добре и инкубирайте 15 минути при 37°C.

- Промийте еритроцитите 4 пъти с фосфатно буферизиран (PBS) или изотоничен физиологичен разтвор, като задължително преливайте физиологичния разтвор между промивките и ресуспендирайте всеки еритроцитен агрегат след всяка промивка. Прелейте изцяло физиологичния разтвор след последната промивка.
- Добавете 2 обема Lorne AHG Elite към всеки сух клетъчен агрегат.
- Разбъркайте добре и центрофугирайте 20 секунди всички епруветки при относителна центробежна сила (RCF) 1000 или други подходящи време и сила.
- Ресуспендирайте внимателно еритроцитния агрегат и отчетете макроскопски аглутинацията.

### C. Индиректна антиглобулинова техника в LISS (LISS IAT)

- Пригответе 1,5–2% суспензия на еритроцити в разтвор с ниска йонна сила (LISS).
- Поставете в етикетирани епруветки: 2 обема тестов серум и 2 обема суспензия на еритроцити.
- Разбъркайте добре и инкубирайте 15 минути при 37°C.
- Изпълнете стъпки от 4 до 7 от **NISS IAT** по-горе.

### ИНТЕРПРЕТИРАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ ОТ ТЕСТОВЕТЕ

- Положителен:** Аглутинация на еритроцити означава положителен резултат от теста и в рамките на приемливите ограничения на тестовата процедура означава присъствие на IgG и/или комплемент (C3d/C3b) при еритроцитите.
- Отрицателен:** Липсата на аглутинация на еритроцитите означава отрицателен резултат и в рамките на приемливите ограничения на тестовата процедура означава отсъствие на IgG и/или комплемент (C3d/C3b) при еритроцитите.

### СТАБИЛНОСТ НА РЕАКЦИИТЕ

- Стъпките за промиване трябва да се извършват без прекъсване, тестовите трябва да се центрофугират и резултатите да се отчитат непосредствено след добавянето на реактива. Забавяне може да предизвика разделяне на комплексите антиген-антитяло, което може да доведе до грешни отрицателни или слаби положителни резултати.
- Трябва да се внимава при интерпретирането на резултатите от тестове, извършени при температури, различни от препоръчителните.

### ОГРАНИЧЕНИЯ

- Еритроцитите с положителен резултат от DAT поради покриване с IgG не могат да се тестват за група с **индиректните антиглобулинови техники**.
- Положителен резултат от DAT поради сенсбилизация от комплемент може да не отразява *in vivo* фиксация на комплемента, ако тестваните клетки са от съсирена проба от хладилник.
- Недостатъчно промиване на еритроцитите при индиректните антиглобулинови техники може да неутрализира реактива AHG.
- След приключването на фазата за промиване излишен остатъчен физиологичен разтвор може да разрежи AHG Elite и да намали неговата ефикасност.
- Отрицателен резултат от директния антиглобулинов тест не винаги изключва клинична диагноза АВО хемолитична болест на новороденото или автоимунна хемолитична анемия. Той също така не изключва хемолитична болест на новороденото, особено при предполагаема несъвместимост с АВО.
- Грешни положителни или грешни отрицателни резултати могат да се получат също така поради:
  - Контаминация на тестови материали
  - Неправилни условия на съхранение, концентрация на клетките, време или температура за инкубиране
  - Неправилно или наднормено центрофугиране

### СПЕЦИФИЧНИ РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Преди да бъде пусната в продажба, всяка партида от тези реактиви е тествана по препоръчителните тестови методи, изброени в тези инструкции за употреба, с еритроцити, покрити с анти-D, анти-K и анти-Fy<sup>a</sup>, за да се провери необходимата реактивоспособност. Тестовите изпълняват изискванията в текущата редакция/издание на „Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom (Указанията за кръвопреливане в Обединеното кралство)“.
- Ефикасността на Anti-IgG и Anti-C3d е тествана по следния референтен стандарт за минимална ефикасност от Националния институт за биологични стандарти и контроли (NIBSC):
  - Референтен стандарт за анти-AHG 96/666
- Ефикасността на Anti-C3d е демонстрирана на тестове с клетки, покрити с C3d и C3b.
- Присъствието на контаминиращи хетероспецифични аглутинини или антитела срещу C4d е изключено на тестове с еритроцити от всички групи АВО и клетки, покрити с C4d.
- Реактивоспособността на евентуално присъстващи компоненти анти-IgM, анти-IgA или анти-лека верига не е установена.
- Качественият контрол на реактивите е извършен с еритроцити с фенотипове, проверени от център по кръвопреливане в Обединеното кралство и промити с фосфатно буферизиран (PBS) или изотоничен физиологичен разтвор преди употреба.

### ОСВОБОЖДАВАНЕ ОТ ОТГОВОРНОСТ

- Потребителят носи отговорността за работните характеристики на реактивите, ако използва метод, различен от изброените в **Препоръчителните техники**.

- Всички отклонения от **Препоръчителните техники** трябва да се валидират преди употреба<sup>6</sup>.

### БИБЛИОГРАФИЯ

- Voak D, Downie DM, Moore BPL, and Engelfreit CP. Anti-Human Globulin reagent specification. The European and ISBT/ICSH View. *Biotest Bulletin* 1: 7–22 (1986).
- The Department of Health and Social Security. Health Services Management Antiglobulin Test. False negative results, HN (Hazard) (83) 625 Nov 1983.
- Bruce M, Watt AH, Hare W, Blue A, Mitchell R. A serious source of error in antiglobulin testing. *Transfusion* 1986; **26**: 177–181.
- Voak D, Downie DM, Moore BPL, Ford DS, Engelfreit CP, Case J. Replicate tests for the detection and correction of errors in AHG (AHG) tests: optimum conditions and quality control. *Haematologia* 1988; **21**(1): 3–16.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6<sup>th</sup> Edition 2002. The Stationary Office.
- British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. *Transfusion Medicine*, 1995, **5**, 145-150.

### ПРЕДЛАГАНИ РАЗФАСОВКИ НА РЕАКТИВИТЕ

	Размер на шишето	Каталожен номер	Теста на шише
Lorne AHG Elite (Clear)	10 ml	415010	100
	1000 ml	415000*	10 000
Lorne AHG Elite (Green)	10 ml	435010	100
	1000 ml	435000*	10 000

\* Тази разфасовка е за употреба само за по-нататъшно производство (FFMU) и затова няма маркировка CE.



**Lorne Laboratories Limited**  
 Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate  
 Danehill  
 Lower Earley  
 Berkshire, RG6 4UT  
 Обединено кралство  
 Тел.: +44 (0) 118 921 2264  
 Факс: +44 (0) 118 986 4518  
 Имейл: info@lornelabs.com



Advena Ltd. Tower Business Centre, 2<sup>nd</sup> Flr.,  
 Tower Street, Swatar, BKR 4013, Малта