



МОНОКЛОНАЛНИ РЕАКТИВИ ЗА ОПРЕДЕЛЯНЕ НА КРЪВНИ ГРУПИ

ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА

Anti-A, Anti-B и Anti-A,B Monoclonal: За техники с епруветки, Bio-Rad ID, Ortho BioVue, микроплаки и предметни стъкла.

РЕЗЮМЕ

През 1900 г. Ландщайнер открива, че серумът от някои хора предизвиква аглутинация на еритроцитите на други. Днес са познати четири основни фенотипа: О, А, В и АВ. По-късно са идентифицирани подгрупи на А и В.

По еритроцити			По серум				АВО Фенотип	Европейска раса % ¹
A	B	A, B	A ₁	A ₂	B	O		
+	0	+	0	0	+	0	A	43
0	+	+	+	+	0	0	B	9
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

ПРЕДВИДЕНА УПОТРЕБА

Реактивите АВО са реактиви за определяне на кръвни групи, предвидени за употреба при качествено определяне на присъствието или отсъствието на антигените А и/или В при еритроцитите на кръводарители или пациенти, нуждаещи се от кръвопреливане, при тестване по препоръчителните техники, посочени в тези инструкции за употреба.

ПРИНЦИП

Реактивите съдържат антитела срещу съответния антиген А и/или В при човешки еритроцити и предизвикват пряка аглутинация (слепване) на еритроцитите, които носят съответния антиген АВО. Липсата на аглутинация обикновено означава отсъствие на съответния антиген АВО при човешки еритроцити (вижте **Ограничения**).

РЕАКТИВИ

Реактивите Lorne Monoclonal IgM АВО за определяне на кръвни групи съдържат миши моноклонални антитела, разредени във фосфатен буфер, съдържащ натриев хлорид, EDTA и 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 сенсibilизация 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**.

Изделие	Клетъчна линия/клонинг	Цвят	Използван оцветител
Anti-A	9113D10	Син	Patent Blue
Anti-B	9621A8	Жълто	Tartrazine
Anti-A, B	152D12 + 9113D10 + ES15	Безцветен	Няма

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

Кръвни проби могат да се взимат в антикоагуланти EDTA, цитрат, CPDA (цитрат, фосфат, декстроза, аденин) или като съсирена проба. Пробите трябва да се тестват възможно най-бързо след взимането. Ако тестването ще се забави, съхранявайте пробите при 2–8°C. Проби с явна хемолиза или микробиологична контаминация не трябва да се използват за тестване. Кръвни проби с признаци на лизис може да дадат ненадеждни резултати. Препоръчително (но не задължително) е всички кръвни проби да се промиват с фосфатно буферирани (PBS) или изотоничен физиологичен разтвор, преди да се тестват.

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Реактивите са предвидени само за *инвитро* 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. Няма известни тестове, които могат да гарантират, че изделията от човешки или животински източници не съдържат заразносниители. 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 реактива 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 и отрицателен контрол да се тестват успоредно с всяка серия тестове. Тестовите трябва да се считат за невалидни, ако контролите не дават очакваните резултати.
2. Тъй като тези реактиви не съдържат макромолекулни подобрители на сенсibilизацията (потенциатори), е много малко вероятно грешни положителни реакции да бъдат предизвикани от покрити с IgG клетки.
3. Кръвни проби от слаби подгрупи А или В (например Ах) могат да предизвикат грешни отрицателни или слаби реакции при тестване с предметни стъкла, микроплаки или гел-карти. Препоръчително е слабите подгрупи да се тестват повторно по техника с епруветки.
4. При лица на възраст над шест месеца резултатите за определяне на кръвна група АВО трябва да се потвърждават с тестване на техни серум или плазма с клетки с известни групи А₁ и В, преди да може да се потвърди тяхната кръвна група АВО.
5. Преди употреба оставете реактива да се темперира до стайна температура. Веднага след използването на реактива го върнете отново на съхранение при 2–8°C.
6. В **Препоръчителните техники** един обем е приблизително 50 µl, когато се използва предоставеният капкомер към шишето.
7. 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.
8. Потребителят трябва да определя годността на реактивите за употреба с други техники.

НЕОБХОДИМИ РЕАКТИВИ И МАТЕРИАЛИ

- Градуирани пипети.
- Карти Bio-Rad ID (NaCl, ензимен тест и студени аглутинини).
- Центрофуга Bio-Rad ID.
- Bio-Rad ID-CellStab или ID-Diluent 2.
- Касети за система Ortho BioVue (неутрални).
- Центрофуга за система Ortho BioVue.
- Дилуент за еритроцити Ortho 0,8%.
- Предметни стъкла или бели плочки за микроскоп.
- Апликатори.
- Стъклени епруветки (10 x 75 mm или 12 x 75 mm).
- Центрофуга за епруветки.
- Валидирани микроплаки с ямки с обло дъно.
- Центрофуга за микроплаки.
- Шейкър за плаки.
- Фосфатно буферирани (PBS) (pH 6,8–7,2) или изотоничен физиологичен разтвор (pH 6,5–7,5).
- Положителни и отрицателни контролни еритроцити: Anti-A: група А (положителен контрол) и група О (отрицателен контрол). Anti-B: група В (положителен контрол) и група О (отрицателен контрол). Anti-A, B: група А и група В (положителни контроли) и група О (отрицателен контрол).

ПРЕПОРЪЧИТЕЛНИ ТЕХНИКИ

A. Техника с епруветки

1. Пригответе 2–3% суспензия на еритроцити във фосфатно буферирани (PBS) или изотоничен физиологичен разтвор.
2. Поставете в етикетирани епруветка: 1 обем реактив Lorne Anti-ABO и 1 обем суспензия на еритроцити.

3. Разбъркайте добре и инкубирайте 1 минута при стайна температура.
4. Центрофугирайте 10 секунди всички епруветки при относителна центробежна сила (RCF) 1000 или други подходящи време и сила.
5. Ресуспендирайте внимателно еритроцитния агрегат и отчетете макроскопски аглутинацията.
6. Всички епруветки с отрицателен или съмнителен резултат трябва да се инкубират 15 минути при стайна температура.
7. След инкубирането повторете стъпки 4 и 5.

В. Техника с карти Bio-Rad ID (NaCl, ензимен тест и студени аглутинини)

1. Пригответе 0,8% суспензия на еритроцити в ID-CellStab или ID-Diluent 2.
2. Свалете алуминиевото фолио от необходимия брой микроепруветки.
3. Поставете в подходяща микроепруветка: 50 µl суспензия на еритроцити и 25 µl реактив Lorne Anti-ABO.
4. Центрофугирайте картите ID-Card в центрофугата Bio-Rad за гел-карти.
5. Отчетете макроскопски аглутинацията.

С. Техника с Ortho BioVue (неутрални касети)

1. Пригответе 0,8% суспензия на еритроцити в дилуент за еритроцити Ortho 0,8%.
2. Свалете алуминиевото фолио от необходимия брой реакционни камери.
3. Поставете в подходяща реакционна камера: 50 µl суспензия на еритроцити и 40 µl реактив Lorne Anti-ABO.
4. Центрофугирайте касетите в центрофуга за система Ortho BioVue.
5. Отчетете макроскопски аглутинацията.

Д. Техника с микроплаки с ямки с обло дъно

1. Пригответе 2–3% суспензия на еритроцити във фосфатно буферизиран (PBS) или изотоничен физиологичен разтвор.
2. Поставете в подходящата ямка: 1 обем реактив Lorne Anti-ABO и 1 обем суспензия на еритроцити.
3. Разбъркайте добре – препоръчително с шейкър за микроплаки, – като внимавайте да предотвратите кръстосана контаминация между ямките.
4. Инкубирайте 15 минути при стайна температура (времето зависи от условията при потребителя).
5. Центрофугирайте 1 минута микроплаката при относителна центробежна сила (RCF) 140 или други подходящи време и сила.
6. Ресуспендирайте клетъчните агрегати с внимателно контролирано разбъркване на шейкър за микроплаки.
7. Отчетете макроскопски или с валидиран автоматичен четец.
8. Всички слаби реакции трябва да се повторят по техниката с епруветки.

Е. Техника с предметни стъкла

1. Пригответе 35–45% суспензия на еритроцити в серум, плазма, фосфатно буферизиран (PBS) или изотоничен физиологичен разтвор или използвайте антикоагулирана пълна кръв (в нейната собствена плазма).
2. Поставете на етикетирано предметно стъкло или плочка: 1 обем реактив Lorne Anti-ABO и 1 обем суспензия на еритроцити.
3. С чист апликатор разбъркайте реактива и клетките на площ около 20 x 40 mm.
4. Накланяйте бавно предметното стъкло напред-назад в продължение на 30 секунди, като разбърквате периодично през 1-минутния период и поддържате предметното стъкло при стайна температура.
5. Отчетете макроскопски след 1 минута под разсеяна светлина и внимавайте да не определите погрешно нишки фибрин за аглутинация.
6. Всички слаби реакции трябва да се повторят по техниката с епруветки.

ИНТЕРПРЕТИРАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ ОТ ТЕСТОВЕТЕ

1. **Положителен:** Аглутинация на еритроцитите означава положителен резултат от теста и в рамките на приемливите ограничения на тестовата процедура означава присъствие на съответния антиген АВО при еритроцитите.
2. **Отрицателен:** Липсата на аглутинация на еритроцитите означава отрицателен резултат и в рамките на приемливите ограничения на тестовата процедура означава отсъствие на съответния антиген АВО при еритроцитите.
3. **Несъответствия:** Ако получените резултати за групата по серум не съответстват с резултатите по еритроцити, е необходимо допълнително проучване на причините.

СТАБИЛНОСТ НА РЕАКЦИИТЕ

1. Отчитайте всички резултати от тестовете на епруветки и микроплаки непосредствено след центрофугирането.
2. Тестовете с предметни стъкла трябва да се интерпретират след не повече от една минута, за да се осигури специфичност и да се предотврати възможността отрицателен резултат погрешно да се интерпретира като положителен поради изсъхване на реактива.
3. Трябва да се внимава при интерпретирането на резултатите от тестове, извършени при температури, различни от препоръчителните.

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Антигените АВО не са напълно развити при раждането и затова реакциите могат да бъдат по-слаби при проби от пълна връв или новородени.

2. При използването на Monoclonal Anti-A,B кръвни проби от слаби подгрупи А или В (например Ах) могат да предизвикат грешни отрицателни или слаби реакции при тестване с предметни стъкла, микроплаки или гел-карти. Препоръчително е слабите подгрупи да се тестват повторно по техниката с епруветки.
3. Lorne Monoclonal Anti-A и Monoclonal Anti-B не са валидирани за откриване на антигени Ах и А3 и респективно Вх и В3 и затова не декларираме реактивоспособност на реактива Monoclonal Anti-A или Anti-B с тези слаби подгрупи на А и В.
4. При съхранявана кръв реакциите могат да бъдат по-слаби от тези при прясната.
5. 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
 - Отклонение от препоръчителните техники
 - Проби от пълна връв, контаминирани с желе на Уортън

СПЕЦИФИЧНИ РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

1. Преди да бъде пусната в продажба, всяка партида реактиви Lorne ABO Monoclonal е тествана по препоръчителните тестови методи, изброени в тези инструкции за употреба. Тестовете изпълняват изискванията в текущата редакция/издание на „Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom (Указанията за кръвопреливане в Обединеното кралство)“³ и „Общите технически спецификации“.
2. Специфичността на изходните моноклонални антитела е демонстрирана с панел от антиген-отрицателни клетки.
3. Ефикасността на реактивите е тествана по следните референтни стандарти за минимална ефикасност от Националния институт за биологични стандарти и контроли (NIBSC):
 - Референтен стандарт за Anti-A 03/188 и/или
 - Референтен стандарт за Anti-B 03/164
4. Lorne Anti-B не реагира с „придобити В“ еритроцити.
5. Реактивите Lorne Monoclonal ABO не откриват криптоантигени от рода на Т, Тп или Cad.
6. Качественият контрол на реактивите е извършен с еритроцити с феноטיפове, проверени от център по кръвопреливане в Обединеното кралство и промити с фосфатно буферизиран (PBS) или изотоничен физиологичен разтвор преди употреба.

ОСВОБОЖДАВАНЕ ОТ ОТГОВОРНОСТ

1. Потребителят носи отговорността за работните характеристики на реактивите, ако използва метод, различен от изброените в **Препоръчителните техники**.
2. Всички отклонения от **Препоръчителните техники** трябва да се валидират преди употреба*.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 181.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6.
3. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
4. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
5. 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
Anti-A Monoclonal	10 ml	600010	200
	1000 ml	600000*	20 000
	5000 ml	600000x5*	100 000
Anti-B Monoclonal	10 ml	610010	200
	1000 ml	610000*	20 000
	5000 ml	610000x5*	100 000
Anti-A,B Monoclonal	10 ml	620010	200
	1000 ml	620000*	20 000
	5000 ml	620000x5*	100 000

* 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@lomelabs.com



Advena Ltd. Tower Business Centre, 2nd Flr.,
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Малта