



МОНОКЛОНАЛЕН РЕАКТИВ ЗА ОПРЕДЕЛЯНЕ НА КРЪВНИ ГРУПИ ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА

Anti-C+D+E Monoclonal: За техники с епруветки, Bio-Rad ID, Ortho BioVue, микроплаки и предметни стъкла.

РЕЗЮМЕ

Ливайн и Стетсън откриват системата Rh при кръвните групи през 1940 г. Освен D другите основни антигени Rh са C, E, с и е. Антигенът D е силно имуногенен; антигените C и е са по-слабо имуногенни от E и с. Всички съответни антитела са клинично значими, тъй като могат да предизвикат както реакции при кръвопреливане, така и хемолитична болест на новороденото.

ПРЕДВИДЕНА УПОТРЕБА

Реактивът е реактив за определяне на кръвни групи, предвиден за употреба при качествено определяне на присъствието или отсъствието на антигена C (RH2), антигена D (RH1) и/или антигена E (RH3) при еритроцитите на кръводарители или пациенти, нуждаещи се от кръвопреливане, при тестване по препоръчителните техники, посочени в тези инструкции за употреба.

ПРИНЦИП

Реактивът съдържа антитела срещу антигените C, D и E при човешки еритроцити и предизвиква пряка аглутинация (слепване) на човешки еритроцити, които носят антигена C, D и/или E. Липсата на аглутинация (слепване) обикновено означава отсъствие на съответния антиген Rh (вижте **Ограничения**).

РЕАКТИВИ

Реактивите Lorne Monoclonal IgM Anti-Rh за определяне на кръвни групи са нископротеинови реактиви, съдържащи човешки моноклонални антитела, разредени с натриев хлорид, говежди албумин и макромолекулни подобрители на сенсibiliзацията (потенциатори) (4,0 g%). 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
Anti-C+D+E	MS-24 + RUM-1 + MS-258

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. 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 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 контрол (в идеалния случай хетерозиготни клетки) 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. Когато се определя кръвна група на еритроцити от пациент, е важно да се включи реактив за отрицателен контрол (Mono Rh Control, каталожен номер на Lorne 640010), тъй като макромолекулярните подобрители на сенсibiliзацията (потенциатори) в реактива може да предизвикат грешни положителни реакции с покрити с IgG клетки.
3. Слаби резус-фактор антигени може да не се откриват добре с техниките с гел-карти, микроплаки и предметни стъкла. Препоръчително е слабите резус-фактор антигени да се тестват по техниката с епруветки.
4. Преди употреба оставете реактива да се темперира до стайна температура. Веднага след използването на реактива го върнете отново на съхранение при 2–8°C.
5. В **Препоръчителните техники** един обем е приблизително 50 µl, когато се използва предоставеният капкомер към шишето.
6. 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.
7. Потребителят трябва да определя годността на реактивите за употреба с други техники.

НЕОБХОДИМИ, НО НЕПРЕДОСТАВЕНИ РЕАКТИВИ И МАТЕРИАЛИ

Техника с епруветки

- Стъклени епруветки (10 × 75 mm или 12 × 75 mm).
- Центрофуга, която може да върти при 1000g в продължение на 20 секунди.
- Фосфатно буферирани (PBS) (pH 6,8–7,2) или изотоничен физиологичен разтвор (pH 6,5–7,5).
- Положителни (в идеалния случай R_{1r}) и отрицателни (rr) контролни еритроцити.

Техника с микроепруветки Bio-Rad ID

- Карти Bio-Rad ID (NaCl, ензимни тестове и студени аглутиници).
- Центрофуга Bio-Rad ID.
- Bio-Rad ID-CellStab или ID-Diluent 2.

Техника с Ortho BioVue

- Касети за система Ortho BioVue (неутрални).
- Центрофуга за система Ortho BioVue.
- Дилуент за еритроцити Ortho 0,8%.

Техника с микроплаки

- Валидирани микроплаки с ямки с обло дъно.
- Центрофуга за микроплаки.
- Шейкър за микроплаки.

Техника с предметни стъкла

- Предметни стъкла или бели плочки за микроскоп.
- Апликатори.
- Таймер или хронометър.

Всички техники

- Градуирани пипети.

ПРЕПОРЪЧИТЕЛНИ ТЕХНИКИ

A. Техника с епруветки

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

3. Разбъркайте добре и центрофугируйте 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.
5. Всички епруветки с отрицателен или съмнителен резултат трябва да се инкубират 15 минути при стайна температура.
6. След инкубирането повторете стъпки 3 и 4.

B. 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 на карта ID-card – NaCl, ензимни тестове и студени аглутинини.
3. Поставете в подходяща микроепруветка: 50 µl суспензия на еритроцити и 25 µl реактив Lorne Anti-Rh.
4. Центрофугируйте картите ID-Card в центрофуга Bio-Rad ID.
5. Отчетете макроскопски аглутинацията.

C. 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 на неутрална касета.
3. Поставете в подходяща реакционна камера: 50 µl суспензия на еритроцити и 40 µl реактив Lorne Anti-Rh.
4. Центрофугируйте 5 минути касетите в центрофуга за система Ortho BioVue.
5. Отчетете макроскопски аглутинацията.

D. Техника с микроплаки с ямки с обло дъно

1. Пригответе 2–3% суспензия на еритроцити във фосфатно буфериран (PBS) или изотоничен физиологичен разтвор.
2. Поставете в подходящата ямка: 1 обем реактив Lorne Anti-Rh и 1 обем суспензия на еритроцити.
3. Разбъркайте добре – препоръчително с шейкър за микроплаки, – като внимавате да предотвратите кръстосана контаминация между ямките.
4. Инкубирайте 15 минути при стайна температура (времето зависи от условията при потребителя).
5. Центрофугируйте 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.

E. Техника с предметни стъкла

1. Пригответе 35–45% суспензия на еритроцити в серум, плазма, фосфатно буфериран (PBS) или изотоничен физиологичен разтвор. Ако това не е възможно, за пробата може да се използва и пълна антикоагулирана кръв.
2. Поставете на етикетирано предметно стъкло или плочка: 1 обем реактив Lorne Anti-Rh 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 1 минута, като 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 Rh 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 Rh при еритроцитите.
3. **Контрол:** Резултатите от тестове на клетки, които са аглутинирани с реактива за отрицателен контрол, трябва да се изключват, тъй като аглутинацията най-вероятно се дължи на действието на макромолекулните подобрители на сенсibiliзацията (потенциатори) в реактива върху сенсibiliзираните клетки.

СТАБИЛНОСТ НА РЕАКЦИИТЕ

1. Отчитайте всички резултати от тестовите на епруветки и микроплаки непосредствено след центрофугирането.
2. Тестовите с предметни стъкла трябва да се интерпретират в рамките на 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. Реактивите Lorne Anti-Rh не са подходящи за употреба с ензимно обработени клетки или индиректни антиглобулинови техники.
2. Някои еритроцити изразяват варианти на антигени Rh и могат да имат по-слаби реакции от наблюдаваните при клетки за положителен контрол, избрани на случаен принцип. Anti-C може да има по-слаби

реакции с антиген C при лица с R₂R₂. Съответно Anti-e може да има малко по-слаби реакции при отсъствие на антиген C – например R₂r, r^{rr} и rr.

3. Супресирано или намалено изразяване на определени антигени от системата на кръвните групи може да доведе до нежелани грешни отрицателни реакции. Затова винаги трябва да се внимава при определянето на генотиповете въз основа на резултатите от тестовите.
4. 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

СПЕЦИФИЧНИ РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

1. Преди да бъде пусната в продажба, всяка партида от тези реактиви е тествана по препоръчителните тестови методи, изброени в тези инструкции за употреба. Тестовите изпълняват изискванията в текущата редакция/издание на „Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom (Указанията за кръвопреливане в Обединеното кралство)“.
2. Специфичността на изходните моноклонални антитела е демонстрирана с панел от антиген-отрицателни клетки.
3. Качественият контрол на реактива е извършен с еритроцити с фенотипове, проверени от център по кръвопреливане в Обединеното кралство и промити с фосфатно буфериран (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 употреба⁵.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 10.
2. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
3. Jones J, Scott ML, Voak D. Monoclonal anti-D specificity and Rh D structure: criteria for selection of monoclonal anti-D reagents for routine typing of patients and donors. Transfusion Medicine 1995. 5, 171–184.
4. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
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-C+D+E Monoclonal	10 ml	700010	200
	1000 ml	700000*	20 000

* 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, 2nd Flr.,
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta