

МОНОКЛОНАЛНИ РЕАКТИВИ ЗА ОПРЕДЕЛЯНЕ НА КРЪВНИ ГРУПИ ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА

Anti-D Clone 1 и Clone 2 Monoclonal: За техники с епруветки, Bio-Rad ID, Ortho BioVue, микроплаки и предметни стъкла.

РЕЗЮМЕ

Системата Rh при кръвните групи е открита през 1940 г. Антигенът D има най-голямо клинично значение при еритроцитите извън антигените ABO и е свързан с предизвикването на хемолитични реакции при кръвопреливане и хемолитична болест на новороденото.

Anti-D	Фенотип	Европеидна раса, % ³	Афроамериканци, % ³
+	Rh D +ve	83	92
0	Rh D -ve	17	8

ПРЕДВИДЕНА УПОТРЕБА

Реактивите Anti-D са реактиви за определяне на кръвни групи, предвидени за употреба при качествено определяне на присъствието или отсъствието на антигена Rh D 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 антигена D при човешки еритроцити и предизвикват пряка аглутинация (слепване) на човешки еритроцити, които носят антигена D. Липсата на аглутинация (слепване) обикновено означава отсъствие на антигена D при човешки еритроцити (вижте **Ограничения**).

РЕАКТИВИ

Реактивите Lorne Monoclonal IgM Anti-D Clone 1 и Clone 2 за определяне на кръвни групи са нископротеинови реактиви, съдържащи човешки моноклонални антитела IgM, разредени с натриев хлорид (0,9 g%), говежди албумин (2,0 g%) и макромолекулни подобрители на сенсбилизацията (потенциатори) (1,5 g%). Когато се определя кръвна група на проби от пациенти, всеки реактив директно аглутиниращ Rh D-положителни клетки, включително повечето варианти (**без D^v**) и голяма част от слабите фенотипове D (D^u) при използването на препоръчителните техники. Реактивите не съдържат канцерогенни, мутагенни и токсични за репродукцията (CMR) вещества, вещества, нарушаващи функцията на ендокринните жлези, или вещества, които могат да предизвикат сенсбилизация или алергична реакция при потребителя. Всеки реактив се доставя оптимално разреден за употреба с проби от пациенти 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
Anti-D Clone 1	RUM-1
Anti-D Clone 2	MS-201

ОТСЛАБЕНО ИЗРАЗЯВАНЕ НА АНТИГЕНА Rh D

Събирателното обозначение D^u често се използва за еритроцити с по-слабо от нормалното изразяване на антигена D. Понятието „слаби D“ се използва за лица с намален брой места на свързване с антиген D на един еритроцит. Понятието „частични D“ се използва за лица с липсващи епитопи на антиген D. Клетките DVI са категория „частични D“, при които липсват повечето епитопи на D. И двата реактива – Clone 1 и Clone 2 – откриват повечето видове „частични“ и „слаби D“ еритроцити с директна аглутинация, но не откриват клетки DVI.

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 хемоллиза 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 буферизиран (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 слукано 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 промийте 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 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 клетки R_{1r}) и отрицателен контрол (в идеалния случай клетки r) 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 с диагноза заболяване, което предизвиква покриване на еритроцитите с антитела или други протеини (от рода на хемолитична болест на новороденото и автоимунна хемолитична анемия), е важно еритроцитите на пациента да се тестват с реактив Lorne за отрицателен контрол (Monoclonal D Negative Control (каталожен номер 650010)).
3. „Слаби“ и „частични D“ варианти не се откриват добре с техниките с гел-карти, микроплаки и предметни стъкла. Препоръчително е „слаби“ и „частични D“ варианти 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 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 буферизиран (PBS) (pH 6,8–7,2) или изотоничен физиологичен разтвор (pH 6,5–7,5).
- Положителни (в идеалния случай R_{1r}) и отрицателни (r) контролни еритроцити.

ПРЕПОРЪЧИТЕЛНИ ТЕХНИКИ

A. Техника с епруветки

1. Пригответе 2–3% суспензия на еритроцити във фосфатно буферизиран (PBS) или изотоничен физиологичен разтвор.
2. Поставете в етикетирани епруветка: 1 обем реактив Lorne Anti-D и 1 обем суспензия на еритроцити.
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.
5. Всички епруветки с отрицателен или съмнителен резултат (както може да се случи при „слаби D“ проби) 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.
3. Поставете в подходяща микроепруветка: 50 µl суспензия на еритроцити и 25 µl реактив Lorne Anti-D.
4. Центрофугирайте картите ID-Card в центрофуга Bio-Rad за гел-карти.
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.
3. Поставете в подходяща реакционна камера: 50 µl суспензия на еритроцити и 40 µl реактив Lorne Anti-D.
4. Центрофугирайте 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 буферизиран (PBS) или изотоничен физиологичен разтвор.
2. Поставете в подходящата ямка: 1 обем реактив Lorne Anti-D 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. 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.

E. 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 етикетирани предметно стъкло или плочка: 1 обем реактив Lorne Anti-D 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 антигена D при еритроцитите.
2. **Отрицателен:** Липсата на аглутинация на еритроцитите означава отрицателен резултат и в рамките на приемливите ограничения на тестовата процедура означава отсъствие на антигена D 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 тестове 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. Lorne Anti-D не е подходящ за употреба с ензимно обработени клетки, клетки, ресуспендирани в LISS, или индиректни антиглобулинови техники (IAT).
2. При съхранявана кръв реакциите могат да бъдат по-слаби от тези при пряката.
3. Аглутинация с грешен положителен резултат може да се наблюдава поради присъствието на макромолекулни подобрители на сенсibiliзацията (потенциатори) в реактива, когато се тестват сенсibiliзирани с IgG клетки – например при автоимунна хемолитична анемия и хемолитична болест на новороденото.
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 реактиви Lorne Anti-D Monoclonal 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)“ и „Общите технически спецификации“.
2. Реактивите Anti-D за определяне на група D при пациенти не би следвало да реагират с клетки DVI при използването на препоръчителните методи.
3. Специфичността на изходните моноклонални антитела е демонстрирана с панел от антиген-отрицателни клетки.
4. Ефикасността на реактивите е тествана по следния референтен стандарт за минимална ефикасност от Националния институт за биологични стандарти и контроли (NIBSC):
 - Референтен стандарт за анти-D 99/836.
5. 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

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 употреба⁶.

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. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 192.
4. 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.
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
6. 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

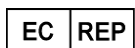
	Размер на шишето	Каталожен номер	Теста на шише
Anti-D Clone 1 Monoclonal	10 ml	730010	200
	1000 ml	730000*	20 000
	5000 ml	730000x5*	100 000
Anti-D Clone 2 Monoclonal	10 ml	710010	200
	1000 ml	710000*	20 000
	5000 ml	710000x5*	100 000

* 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 Fl.,
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Малта