



МОНОКЛОНАЛНИ РЕАКТИВИ ЗА ОПРЕДЕЛЯНЕ НА КРЪВНИ ГРУПИ ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА

Anti-M Monoclonal: За техники с епруветки, Bio-Rad ID, Ortho BioVue и микроплаки.

РЕЗЮМЕ

Антигенът М е част от системата MNS и е открит през 1927 г. Изразяването на антиген М при еритроцитите може да прояви ефект на дозата. Анти-М рядко се свързва с хемолитична болест на новороденото или хемолитични реакции при кръвопреливане.

| Anti-M | Anti-N | Фенотип | Европейска раса ¹ | Афроамериканци ¹ |
|--------|--------|---------|------------------------------|-----------------------------|
| + | 0 | M+N- | 28% | 25,4% |
| + | + | M+N+ | 50% | 48,4% |
| 0 | + | M-N+ | 22% | 26,7% |

ПРЕДВИДЕНА УПОТРЕБА

Реактивът е реактив за определяне на кръвни групи, предвиден за употреба при качествено определяне на присъствието или отсъствието на антигена М 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 антигена М при човешки еритроцити и предизвиква директна аглутинация (слепване) на човешки еритроцити, които носят антигена М. Липсата на аглутинация (слепване) обикновено означава отсъствие на антигена М (вижте **Ограничения**).

РЕАКТИВИ

Реактивът Lorne Monoclonal Anti-M за определяне на кръвни групи е реактив, съдържащ миши моноклонални антитела IgG (клонинг № LM110/140), разредени в буфер, съдържащ натриев хлорид (0,6 g%), говежди албумин (4,0 g%) и консервант. Реактивът не съдържа канцерогенни, мутагенни и токсични за репродукцията (CMR) вещества, вещества, нарушаващи функцията на ендокринните жлези, или вещества, които могат да предизвикат сензибилизация или алергична реакция при потребителя. Реактивът 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**.

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 небуферизиран 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 реактивите 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 изделията 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 разливи 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 с диагноза заболяване, което предизвиква покряване на еритроцитите с антитела или други протеини (от рода на хемолитична болест на новороденото и аутоимунна хемолитична анемия), е важно еритроцитите на пациента да се тестват с реактив Lorne за отрицателен контрол (каталожен номер 650010). Тестовите трябва да се считат за невалидни, ако еритроцитите са аглутинирани с реактива Lorne за отрицателен контрол.
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 реактивът се използва.
6. Потребителят трябва да определя годността на реактивите за употреба с други техники.

НЕОБХОДИМИ, НО НЕПРЕДОСТАВЕНИ РЕАКТИВИ И МАТЕРИАЛИ

Техника с епруветки

- Центрофуга, която може да върти при 1000g в продължение на 20 секунди.
- Стъклени епруветки (10 x 75 mm или 12 x 75 mm).
- Положителни (в идеалния случай M+N+) и отрицателни (N+N+) контролни еритроцити.

Техника с микроепруветки Bio-Rad ID

- Карти Bio-Rad ID (NaCl, ензимни тестове и студени аглутинини).
- Центрофуга Bio-Rad ID.

Техника с Ortho BioVue

- Касети за система Ortho BioVue (неутрални).
- Центрофуга за система Ortho BioVue.

Техника с микроплаки

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

Всички техники

- Градуирани пипети.
- Небуферизиран физиологичен разтвор.

ПРЕПОРЪЧИТЕЛНИ ТЕХНИКИ

A. Техника с епруветки

1. Пригответе 2–3% суспензия на еритроцити в небуферизиран физиологичен разтвор (вижте **Ограничения**).
2. Поставете в етикетирани епруветка: 1 обем реактив Lorne и 1 обем суспензия на еритроцити.
3. Центрофугирайте 20 секунди всички епруветки при относителна центробежна сила (RCF) 1000 или други подходящи време и сила.
4. Ресусендирайте внимателно еритроцитния агрегат и отчетете макроскопски аглутинацията.

B. Техника с Ortho BioVue (неутрални касети)

1. Пригответе 0,8% суспензия на еритроцити в небуферизиран физиологичен разтвор (вижте **Ограничения**).

2. Свалете алуминиевото фолио от необходимия брой реакционни камери на неутрални касети.
3. Поставете в подходяща реакционна камера: 50 µl суспензия на еритроцити и 40 µl реактив Lorne.
4. Центрофугирайте касетите в центрофуга за Ortho BioVue.
5. Отчетете макроскопски аглутинацията.

C. Техника с микроепруветки Bio-Rad ID

1. Пригответе 0,8% суспензия на еритроцити в небуферизиран физиологичен разтвор (вижте **Ограничения**).
2. Свалете алуминиевото фолио от необходимия брой микроепруветки на карти ID-card – NaCl, ензимни тестове и студени аглутинини.
3. Поставете в подходяща микроепруветка: 50 µl суспензия на еритроцити и 25 µl реактив Lorne.
4. Центрофугирайте картите ID-Card в центрофуга Bio-Rad ID.
5. Отчетете макроскопски аглутинацията.

D. Техника с микроплаки с ямки с обло дъно

1. Пригответе 2–3% суспензия на еритроцити в небуферизиран физиологичен разтвор (вижте **Ограничения**).
2. Поставете в подходящата ямка: 1 обем реактив Lorne 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.

ИНТЕРПРЕТИРАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ ОТ ТЕСТОВЕТЕ

1. **Положителен:** Аглютинация на еритроцитите означава положителен резултат от теста и в рамките на приемливите ограничения на тестовата процедура означава присъствие на антигена M при еритроцитите.
2. **Отрицателен:** Липсата на аглютинация на еритроцитите означава отрицателен резултат и в рамките на приемливите ограничения на тестовата процедура означава отсъствие на антигена M при еритроцитите.

СТАБИЛНОСТ НА РЕАКЦИТЕ

1. Резултатите от тестовете на епруветки трябва да се отчитат непосредствено след центрофугирането. Забавяне може да предизвика разделяне на комплексите антиген-антитяло, което може да доведе до грешни отрицателни или слаби положителни реакции.
2. Трябва да се внимава при интерпретирането на резултатите от тестове, извършени при температури, различни от препоръчителните.

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Този реактив реагира оптимално с антигени M при pH 8,5. Въпреки че реактивът съдържа идеален буфер за тази pH, трябва да се спазват следните изисквания:
 - Суспензиите на еритроцити в буферизирани среди (например разтвор на Alsever) трябва да се промиват най-малко 3 пъти в небуферизиран физиологичен разтвор преди употреба.
 - Употребата на буферизирани среди за промиване или приготвяне на суспензии на еритроцити може да доведе до грешни резултати от тестовете и трябва да се избягва.
 - Небуферизиран физиологичен разтвор с pH под 6 не трябва да се използва за промиване или приготвяне на суспензии на еритроцити.
2. Клетки, модифицирани с протеолитични ензими, не трябва да се използват, защото антигените MN може да са разрушени.
3. Супресирани или намалено изразяване на определени антигени от системата на кръвните групи може да доведе до нежелани грешни отрицателни реакции и затова винаги трябва да се внимава при определянето на фенотиповете въз основа на резултатите от тестовете.
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. Тестовете 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 реактивите е извършен с еритроцити с фенотипове, проверени от център по кръвопреливане в Обединеното кралство и промити с небуферизиран 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. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 190.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 14.
3. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
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.

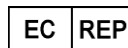
ПРЕДЛАГАНИ РАЗФАСОВКИ НА РЕАКТИВИТЕ

| | Размер на шишето | Каталожен номер | Теста на шише |
|-------------------|------------------|-----------------|---------------|
| Anti-M Monoclonal | 2 ml | 772002 | 40 |
| | 1000 ml | 772000* | 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, Малта