

Anti-C Клетъчна линия: MS-24

Продуктов код: BN

Anti-E Клетъчна линия: MS-80/MS-258

Продуктов код: TA

Anti-c Клетъчна линия: MS-33

Продуктов код: TK

Anti-e Клетъчна линия: MS-16/MS-21/MS-63

Продуктов код: TU

Моноклонални човешки IgM реагенти за определяне на кръвна група

Техники с предметно стъкло, епруетка, микроплака, гел и колона



ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

BIOSCOT Rh-Hr моноклонални човешки реагенти за определяне на кръвна група разпознават следните антигени:

Anti-C клетъчна линия MS-24, продуктов код BN разпознава C антиген.

Anti-E клетъчни линии MS-80/MS-258, продуктов код TA разпознава E антиген.

Anti-c клетъчна линия MS-33, продуктов код TK разпознава c антиген.

Anti-e клетъчни линии MS-16/MS-21/MS-63, продуктов код TU разпознават e антиген.

Реагентите са подходящи за използване при техники с предметно стъкло, епруетка, микроплака, гел и колона и са предназначени за употреба от лица, преминали обучение по серологични техники.

ВЪВЕДЕНИЕ

Кръвноруповата система Rh

RhD кръвноруповата система съдържа над четиридесет антигени или антигенни комплекси, експресирани върху човешките еритроцити. Основните пет Rh антигени и техните специфични антитела са важни при тестване преди кръвопреливане и за предсказване на хемолитична болест на новороденото.

Честотата на Rh антигените варира сред различните популации. В общата Кавказка популация честотата на антигените е около:

АНТИГЕН	C	E	c	e
ЧЕСТОТА	70 %	30 %	80 %	98 %

ПРИНЦИП НА РЕАГЕНТА

При използване с препоръчаните техники, реагентите причиняват аглутинация (слепване) на червените кръвни телца, които носят специфичния антиген (положителен тест). Липсата на аглутинация на червените кръвни телца показва липса на специфичния антиген (отрицателен тест).

Реагентите са оптимизирани за употреба с препоръчаните техники без допълнително разреждане или добавяне на други вещества.

Продуктите се предлагат филтрирани с филтри с размери на порите от 0,22 µm.

МАТЕРИАЛИ

Anti-C продуктов код BN съдържа антитела от клетъчна линия MS-24. Anti-E продуктов код TA съдържа антитела от клетъчни линии MS-80 и MS-258. Anti-c продуктов код TK съдържа антитела от клетъчна линия MS-33. Anti-e продуктов код TU съдържа антитела от клетъчни линии MS-16, MS-21 и MS-63. Реагентите са съставени от моноклонални човешки IgM антитела в буферен разтвор, съдържащ макромолекулни химични активатори. Реагентите съдържат 0,1 % (w/v) натриев азид и говежди материал. Реагент Anti-e съдържа и свински материал. Всеки флакон (5 mL) съдържа достатъчно материал за около 125 - 200 теста.

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

- Всички кръвни продукти трябва да се третират като потенциално инфекциозни. Човешките донори или клетъчните линии, използвани за получаването на тези реагенти, са изследвани и са с отрицателен резултат за Anti-HIV, Anti-HCV, HBsAg, EBV и Mouse Antibody Production (MAP) вируси. Никой от известните тестове не може да гарантира, че продукт, получен от човешка кръв не съдържа инфекциозни агенти. Всеки контейнер и неговото съдържание трябва да се манипулира и унищожава с внимание.
- Реагентите съдържат 0,1 % (w/v) натриев азид. Натриевият азид може да бъде токсичен при поглъщане и може да реагира с оповни или медни тръби от ВиК инсталациите, като води до образуване на силно избухливи соли. При неутрализиране, отмивайте обилно с големи количества вода.
- Продуктите трябва да са бистри. Мътността може да означава бактериално

замърсяване. Реагентите не трябва да се използват при наличие на преципитат, фибринов гел или частици.

- Реагентите са само за професионална *in vitro* диагностична употреба.
- Говеждият и свинският материал са получени от одобрени от Министерството на земеделието на САЩ (USDA) източници или източници с налична информация за произход. Животните-донори на говежди материал са били проверени, сертифицирани като здрави и е счтено, че има нисък риск от трансмисивна спонгиформна енцефалопатия (TSE).
- Продуктите трябва да се унищожават или чрез потапяне в подходящи концентрации дезинфектанти за един ден, или чрез автоклав.

СЪВЕТИ КЪМ ПОТРЕБИТЕЛИТЕ

Препоръчва се паралелно с всяка партия тестове да се правят положителна и отрицателна контрола. Ако контролите не покажат очакваните реакции, тестовите трябва да се считат за невалидни.

Използването на контролен реагент паралелно с всички тестове, използващи този реагент, не е необходимо. Използването на контролен реагент като BIOSCOT моноклонален контролен реагент (продуктов код: TT) се препоръчва само при типизиране на червени кръвни телца на пациенти, при които са установени авто-антитела или нарушения на протеините. Това трябва да се изследва едновременно с реагента.

Реагентите са предназначени за процедури, препоръчани в тези инструкции за употреба; доколко е подходяща тяхната употреба при други техники трябва да се прецени от лабораторния специалист.

В случай на промени в аналитичните характеристики на продукта или повреда на опаковката, моля свържете се с Отдел „Качествен контрол“ на Millipore (Великобритания) Ltd.

СЪХРАНЕНИЕ

Съхранявайте отворените/неотворените продукти при 2-8°C до срока на годност, посочен на етикета им.

Ако продуктите не се съхраняват при точната температура, а например при по-висока или неколкратно се замразяват и размразяват, това може да доведе до ускорена загуба на активност.

ВЗЕМАНЕ НА ПРОБИ

Преди вземането на проби не се изисква специална подготовка на пациента. Кръвта трябва да бъде взета чрез одобрена техника за флеботомия в цитратен или EDTA антикоагулант. Пробите трябва да се изследват възможно най-скоро след вземането им. Ако има забавяне при изследването, съхранявайте пробите при 2-8°C. Проби със значителна хемолiza или микробно замърсяване не трябва да се изследват с реагента. Ако пробите не се съхраняват при точната температура, това може да доведе до фалшиво положителни или фалшиво отрицателни резултати.

НЕОБХОДИМИ, НО НЕПРЕДОСТАВЕНИ МАТЕРИАЛИ

Техника с предметно стъкло:

- Микроскопско предметно стъкло
- Изотоничен солеви разтвор или съвместима плазма/серум
- Таймер

Техника с епруетка:

- Епруетка
- Изотоничен солеви разтвор
- Инкубатор на 37°C
- Таймер
- Центрофуга (1000 rcf)

Техника с микроплака:

- Микроплака с U-образни гнезда
- Изотоничен солеви разтвор
- Таймер
- Центрофуга (100 rcf)
- Шейкър за микроплаки
- Четец за микроплаки (по избор)

DiaMed ID-Card (Bio-Rad):

- ID-Card „NaCl, ензимен тест и студови аглутинини“
- Изотоничен солеви разтвор, фосфат-буфериран физиологичен разтвор (PBS) или ID-Diluent 2
- Микропипети с възможност за пипетиране на 10, 25 и 50 µL
- Таймер
- Центрофуга, подходяща за ID-карти
- Четец (по избор)

Ortho BioVue System:

- Ortho BioVue® Neutral касети
- Изотоничен солеви разтвор, фосфат-буфериран физиологичен разтвор (PBS) или Ortho® 0,8 % разредител за еритроцити
- Микропипети с възможност за пипетиране на 10, 40 и 50 µL
- Таймер
- Центрофуга, подходяща за Ortho BioVue касети
- Четец (по избор)

ПРЕПОРЪЧИТЕЛНА ТЕХНИКА

1. ТЕХНИКА С ПРЕДМЕТНО СЪСЪКЛО

- 1.1. Подгответе 35-50 % суспензия на тест-еритроцити в съвместима плазма, серум или изотоничен солеви разтвор.
- 1.2. Поставете 1 капка (40 µL) от Anti-C, Anti-E, Anti-c или Anti-e реагента върху чисто, надписано микроскопско предметно съсколо.
- 1.3. Добавете 1 капка (40 µL) от суспензията на тест-еритроцити.
- 1.4. Смесете антисерума и клетките върху повърхност с диаметър около 2 см с леко, продължително разклащане на съсколото. Отчетете резултатите макроскопски след 2 минути. Не бъркайте засъхване на сместа с аглутинация.

2. ТЕХНИКА С ЕПРУВЕТКА

- 2.1. Подгответе 3-5 % суспензия на тест-еритроцити в изотоничен солеви разтвор.
- 2.2. Поставете 1 капка (40 µL) от Anti-C, Anti-E, Anti-c или Anti-e реагента в подходящо надписана епруветка.
- 2.3. Добавете 1 капка (40 µL) от суспензията на тест-еритроцити.
- 2.4. Смесете и центрофугирайте при 1000 gcf за 20 секунди.
- 2.5. Леко разклатете епруветката за да отделите еритроцитите и проверете макроскопски за аглутинация.
- 2.6. Инкубирайте всички отрицателни или слабо положителни резултати при 37°C за 5 минути и повторете стъпки 2.4 и 2.5. Това може да засили реакцията при типизиране на еритроцити със слаб или вариантен фенотип.

3. ТЕХНИКА С МИКРОПЛАКА

- 3.1. Подгответе 3-5 % суспензия на тест-еритроцити в изотоничен солеви разтвор.
- 3.2. Добавете 1 капка (40 µL) от Anti-C, Anti-E, Anti-c или Anti-e реагента в съответните тестови гнезда на микроплаката.
- 3.3. Добавете равен обем (40 µL) от суспензията на тест-еритроцити в съответните тестови гнезда.
- 3.4. Смесете съдържанието на всяко гнездо ръчно или с шейкър за микроплаки.
- 3.5. Инкубирайте микроплаката при стайна температура за 15-20 минути.
- 3.6. Центрофугирайте микроплаката при 100 gcf за 40 секунди.
- 3.7. Ресуспендирайте еритроцитите ръчно или с шейкър за микроплаки.
- 3.8. Отчетете резултатите макроскопски или с четец. Използването на четец за плаки трябва да се валидира от лабораторния специалист.

4. DIAMED ID-CARD (BIO-RAD)

- 4.1. Подгответе 3-5 % суспензия на тест-еритроцити в изотоничен солеви разтвор/PBS или 0,8 % суспензия на ID-Diluent 2.
- 4.2. Добавете 10 µL от 3-5 % или 50 µL от 0,8 % суспензията на тест-еритроцити към съответното реакционно поле на ID-картата.
- 4.3. Добавете 25 µL от Anti-C, Anti-E, Anti-c или Anti-e реагента към съответното реакционно поле.
- 4.4. Смесете внимателно и центрофугирайте ID-картата със скоростта и за времето, препоръчани в инструкциите на производителя й.
- 4.5. Отчетете резултатите макроскопски или с четец. Използването на четец трябва да се валидира от лабораторния специалист.

5. ORTHO BIOVUE SYSTEM

- 5.1. Подгответе 3-5 % суспензия на тест-еритроцити в изотоничен солеви разтвор/PBS или 0,8 % суспензия в Ortho 0,8 % разрежител за еритроцити.
- 5.2. Добавете 10 µL от 3-5 % или 50 µL of 0,8 % суспензията на тест-еритроцити към съответната камера на Ortho BioVue касетата.
- 5.3. Добавете 40 µL от Anti-C, Anti-E, Anti-c или Anti-e реагента към съответната камера.
- 5.4. Смесете внимателно и центрофугирайте касетата със скоростта и за времето, препоръчани в инструкциите на производителя й.
- 5.5. Отчетете резултатите макроскопски или с четец. Използването на четец трябва да се валидира от лабораторния специалист.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Установено е, че много моноклонални човешки IgM anti-Rh антитела притежават активност на anti-I/i студови аглутиници, особено при клетки от пълна връв и клетки, обработени с ензим. Това може да се прояви ако тестовите се инкубират под препоръчителната температура.

Червени кръвни телца с положителен тест за директен антиглобулин (DAT) може да дадат фалшиво положителни резултати. За засичане на такива фалшиво положителни резултати се препоръчва използването на BIOSCOT моноклонален контролен реагент (продуктов код TT).

Като цяло по-подходящи са микроплаки от твърд полистирен отколкото такива от PVC. Всяка партида микроплаки трябва да се оцени в системата на потребителя преди да се одобри за рутинна употреба.

Неправилната работа и съхранение на ID-карти или Ortho BioVue касети може да доведе до неточни резултати. Картите и касетите трябва да се съхраняват и манипулират съобразно инструкциите на производителите им.

При замърсяване на тестовите материали или отклонение от препоръчителните техники може да се получат фалшиво положителни и фалшиво отрицателни резултати.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Anti-C (клетъчна линия MS-24) моноклонален човешки реагент BN, Anti-E (клетъчни линии MS-80/MS-258) моноклонален човешки реагент TA, Anti-c (клетъчна линия MS-33) моноклонален човешки реагент ТК и Anti-e (клетъчни линии MS-16/MS-21/MS-63) моноклонален човешки реагент TU са проверени чрез всяка от препоръчаните техники с проби от кръвен донор, клинични и неонатални проби. В тестовата група са представени всички основни RhD фенотипове. Общият брой тестове (n) и изчислената чувствителност и специфичност за всяка техника са дадени по-долу.

ТЕХНИКА	Anti-C продуктов код BN			
	ЧУВСТВТЕЛНОСТ		СПЕЦИФИЧНОСТ	
	n	%	n	%
Епруветка	528	100	343	100
Микроплака	70	100	42	100
Предметно съсколо	73	100	39	100
DiaMed ID-Card (Bio-Rad)	50	100	50	100
Ortho BioVue System	46	100	54	100

ТЕХНИКА	Anti-E продуктов код TA			
	ЧУВСТВТЕЛНОСТ		СПЕЦИФИЧНОСТ	
	n	%	n	%
Епруветка	54	100	158	100
Микроплака	54	100	158	100
Предметно съсколо	31	100	81	100
DiaMed ID-Card (Bio-Rad)	33	100	67	100
Ortho BioVue System	20	100	80	100

ТЕХНИКА	Anti-c продуктов код ТК			
	ЧУВСТВТЕЛНОСТ		СПЕЦИФИЧНОСТ	
	n	%	n	%
Епруветка	178	100	34	100
Микроплака	178	100	34	100
Предметно съсколо	92	100	20	100
DiaMed ID-Card (Bio-Rad)	79	100	21	100
Ortho BioVue System	81	100	19	100

ТЕХНИКА	Anti-e продуктов код TU			
	ЧУВСТВТЕЛНОСТ		СПЕЦИФИЧНОСТ	
	n	%	n	%
Епруветка	227	100	5	100
Микроплака	227	100	5	100
Предметно съсколо	109	100	3	100
DiaMed ID-Card (Bio-Rad)	80	100	20	100
Ortho BioVue System	88	100	12	100

Определения от общите технически спецификации:

Диагностична чувствителност: Вероятността, че изделието дава положителен резултат при наличието на търсения маркер.

Диагностична специфичност: Вероятността, че изделието дава отрицателен резултат при липсата на търсения маркер.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Issitt, P.D. and Anstee, D.J. Applied Blood Group Serology, 4th Edition. Montgomery Publication, 1998
2. Daniels, G. Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd, 1995
3. Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom, 5th Edition. The Stationary Office, 2001.

 Millipore (Великобритания) Ltd.
Флеминг Роуд
Къркътън Кампъс
Ливингстън, EH54 7BN
Великобритания

Тел: +44 (0)1506 404000
Факс: +44 (0)1506 404001

PI225
2013-12