

Anti-D Клетъчна линия: TH-28/MS-26 Продуктов код: BM

Моноклонален човешки IgM/IgG реагент за определяне на кръвна група

Техники с предметно стъкло, епруветка, микроплака, индиректен антиглобулин, гел и колона



IVD

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

BIOSCOT Anti-D (клетъчна линия TH-28/MS-26) е моноклонален човешки IgM/IgG реагент за определяне на кръвна група, който разпознава D-антигена при изследване с техники с предметно стъкло, епруветка, микроплака, индиректен антиглобулин, гел и колона. Реагентът е предназначен за употреба от лица, преминали обучение по серологични техники.

ВЪВЕДЕНИЕ

Кръвноруповата система Rh

Наблюденията на Ливайн и Стетсън през 1939 г. и на Ландщайнер и Винер през 1940 г. поставят основата на модерното разбиране на клиничното значение и лабораторното откриване на Anti-D.

Около 15 % от хората от Кавказката раса нямат RhD антиген, и при тях производството на anti-D лесно се стимулира при бременност с RhD положително дете или кръвопреливане на кръв от RhD положителен донор. Това може да причини хемолитична болест на новороденото или тежки хемолитични реакции при кръвопреливане.

Слаб и частичен D антиген

Терминът „слаб D антиген“ означава хора с намален брой зони с D антиген на еритроцит. Терминът „частичен D антиген“ се отнася за хора с липсващи D епитопи. D категория VI (D^{VI}) е категорията частичен D антиген, при която липсват най-голям брой D епитопи. За откриването на някои фенотипи на слаб D антиген и клетки с D^{VI} се изисква използването на индиректен антиглобулин тест с този реагент. Методите на предметното стъкло и на микроплаките не се препоръчват за откриването на клетки със слаб или парциален D антиген. Този реагент е идеален за изследване на донори и пациенти.

ПРИНЦИП НА РЕАГЕНТА

При използване с препоръчаните техники, реагентът причинява 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).

Реагентът е оптимизиран за употреба с препоръчаните техники без допълнително разреждане или добавяне на други вещества.

Продуктът се предлага филтриран с филтри с размери на порите от 0,22 µm.

МАТЕРИАЛИ

Anti-D кръвогрупповия реагент, с продуктов код BM, съдържа антитела от клетъчни линии TH-28 и MS-26. Реагентът е съставен от моноклонални човешки IgM и IgG антитела в буферен разтвор, съдържащ макромолекулни химични активатори. Реагентът съдържа 0,1 % (w/v) натриев азид и говежди материал. Всеки флакон (10 mL) съдържа достатъчно материал за около 250 - 400 теста.

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

- Всички кръвни продукти трябва да се третират като потенциално заразни. Човешкият донор или клетъчната линия, използвани за получаването на този реагент, 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.
- Реагентът съдържа 0,1 % (w/v) натриев азид. Натриевият азид може да бъде токсичен при поглъщане и може да реагира с оловни или медни тръби от ВиК инсталациите, като води до образуване на силно избухливи соли. При неутрализиране, отмивайте обилно с големи количества вода.
- Продуктът трябва да е бистър. Мътността може да означава

бактериално замърсяване. Реагентът не трябва да се използва при наличие на преципитат, фибринов гел или частици.

- Реагентът е само за професионална *in vitro* диагностична употреба.
- Говеждият материал е получен от одобрени от Министерството на земеделието на САЩ (USDA) източници или източници с налична информация за произход. Животните-донори са били проверени, сертифицирани като здрави и е счтено, че има нисък риск от трансмисивна спонгиформна енцефалопатия (TSE).
- Продуктът трябва да се унищожава 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 в протеините. Това трябва да се изследва едновременно с реагента.

Реагентът е предназначен за процедурите, препоръчани в тези инструкции за употреба; доколко е подходяща неговата 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 отворения/неотворения продукт при 2-8°C до срока на годност, посочен на етикета на продукта.

Ако продуктът не се съхранява при точната температура, а например при по-висока или неколккратно се замразява и размразява, това може да доведе до ускорена загуба на активност на реактива.

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 хемолиза 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 епруветка:

- Епруветка
- Изотоничен солеви разтвор
- Инкубатор на 37°C
- Таймер
- Центрофуга (1000 gcf)

Техника с индиректен антиглобулин:

- Реактив античовешки глобулин
- IgG сенситизирани еритроцити (Кумбс контролни клетки)

Техника с микроплака:

- Микроплака с U кладенче
- Изотоничен солеви разтвор
- Таймер
- Центрофуга (100 gcf)
- Шейкър за микроплаки
- Четец за микроплаки (по избор)

DiaMed ID-Card (Bio-Rad):

- ID-Card Coombs anti-IgG или LISS/Coombs
- Изотоничен солеви разтвор, фосфат-буфериран физиологичен разтвор (PBS) или ID-Diluent 2

- Микропипети с възможност за пипетиране на 10, 25 и 50 µL
- Инкубатор на 37°C
- Таймер
- Центрофуга, подходяща за ID-карти
- Четец (по избор)

Ortho BioVue System:

- Ortho BioVue® AHG Polyspecific или AHG Anti-IgG 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
- Инкубатор на 37°C
- Таймер
- Центрофуга, подходяща за Ortho BioVue касети
- Четец (по избор)

ПРЕПОРЪЧИТЕЛНА ТЕХНИКА

1. ТЕХНИКА С ПРЕДМЕТНО СЪГЛАСИЕ (Не се препоръчва за откриването на фенотипи със слаб или парциален D антиген)

- 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-D реагента върху чисто, надписано микроскопско предметно стъкло.
- 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 стъклото. Отчетете резултатите макроскопски след 2 минути. Не бъркайте засъхване на сместа с аглутинация.

2. ТЕХНИКА С ЕПРУВЕТКА

- 2.1. Промийте клетките поне веднъж и подгответе 3-5 % суспензия на тест-еритроцити в изотоничен солеви разтвор.
- 2.2. Поставете 1 капка (40 µL) от Anti-D 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. Отрицателни или слабо положителни резултати може да се изследват с техниката с индиректен антиглобулин за засичане на фенотипи със слаб или частичен D антиген.

3. ТЕХНИКА С ИНДИРЕКТЕН АНТИГЛОБУЛИН

- 3.1. Следвайте стъпки 2.1 – 2.5.
- 3.2. Смесете и инкубирайте при 37°C за 15 минути.
- 3.3. Промийте обилно еритроцитите веднъж с изотоничен солеви разтвор.
- 3.4. Добавете 2 капки (80 µL) от реагента с античовешки глобулин, смесете и центрофугирайте при 1000 gcf за 20 секунди.
- 3.5. Леко разклатете епруветката, за да отделите еритроцитите и проверете макроскопски за аглутинация.
- 3.6. За да потвърдите, че отрицателните тестове са валидни, добавете IgG сензитизирани еритроцити (Кумбс контролни клетки), повторете центрофугирането и проверете за аглутинация. Ако не се наблюдава аглутинация, тестът е невалиден и трябва да се повтори.

4. ТЕХНИКА С МИКРОПЛАКА (Не се препоръчва за откриването на фенотипи със слаб или парциален D антиген)

- 4.1. Подгответе 3-5 % суспензия на тест-еритроцити в изотоничен солеви разтвор.
- 4.2. Добавете 1 капка (40 µL) от Anti-D реагента в съответните тестови гнезда на микроплаката.
- 4.3. Добавете равен обем (40 µL) от суспензията на тест-еритроцити в съответните тестови гнезда.
- 4.4. Смесете съдържанието на всяко кладенче ръчно или с шейкър за микроплаки.
- 4.5. Инкубирайте микроплаката при стайна температура от 15-20 минути.
- 4.6. Центрофугирайте микроплаката при 100 gcf за 40 секунди.
- 4.7. Ресуспендирайте еритроцитите ръчно или с шейкър за микроплаки.
- 4.8. Отчетете резултатите макроскопски или с четец. Използването на четец за плаки трябва да се валидира от лабораторния специалист.

5. DIAMED ID-SYSTEM (BIO-RAD)

- 5.1. Подгответе 3-5 % суспензия на тест-еритроцити в изотоничен солеви разтвор/PBS или 0,8 % суспензия на ID-Diluent 2.
- 5.2. Добавете 10 µL от 3-5 % или 50 µL от 0,8 % суспензията на тест-еритроцити към съответното реакционно поле на ID-картата.
- 5.3. Добавете 25 µL от Anti-D реагента към съответното реакционно поле.
- 5.4. Смесете внимателно и инкубирайте при 37°C за 10 минути.
- 5.5. Центрофугирайте ID-картата със скоростта и за времето, препоръчани в инструкциите на производителя.
- 5.6. Отчетете резултатите макроскопски или с четец. Използването на четец трябва да се валидира от лабораторния специалист.

6. ORTHO BIOVUE SYSTEM

- 6.1. Подгответе 3-5 % суспензия на тест-еритроцити в изотоничен солеви разтвор/PBS или 0,8 % суспензия в Ortho 0,8 % разредител за еритроцити.
- 6.2. Добавете 10 µL от 3-5 % или 50 µL от 0,8 % суспензията на тест-еритроцити към съответната камера на Ortho BioVue касетата.
- 6.3. Добавете 40 µL от Anti-D реагента към съответната камера.
- 6.4. Смесете внимателно и инкубирайте при 37°C за 10 минути.
- 6.5. Центрофугирайте касетата със скоростта и за времето, препоръчани в инструкциите на производителя.
- 6.6. Отчетете резултатите макроскопски или с четец. Използването на четец трябва да се валидира от лабораторния специалист.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Червени кръвни телца с положителен тест за директен антиглобулин (DAT) могат да дадат фалшиво положителни резултати. За засичане на такива фалшиво положителни резултати се препоръчва използването на BIOSCOT моноклонал 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 с инструкциите на производителите им.

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

За откриването на фенотипи със слаб или с парциален D антиген не се препоръчват техники с предметно стъкло и с микроплаки.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Anti-D (клетъчна линия TH-28/MS-26) моноклонален кръвогрупов реагент BM е проверен 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-D продуктов код BM			
	ЧУВСТВИТЕЛНОСТ		СПЕЦИФИЧНОСТ	
	n	%	n	%
Епруветка	2261	99.6	1016	100
Микроплака	17654	99.9	10231	100
Предметно стъкло	474	100	130	100
DiaMed ID-System (Bio-Rad)	282	100	218	98.1
Ortho BioVue System	277	100	225	99.1

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. Windmann, F.K. ed. Technical Manual 10th Edition. Washington D.C.: American Association of Blood Banks, 1990.
2. Race, R.R. and Sanger, R. Blood Groups in Man, 6th Edition. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1975.
3. Issitt, P.D. and Anstee, D.J. Applied Blood Group Serology, 4th Edition. Montgomery Publication, 1998.
4. Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom, 5th Edition. The Stationary Office, 2001.



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

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

PI228/a
2015-02