



Ortho-Clinical Diagnostics

a Johnson & Johnson company

NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

RHP

Kraujo grupių nustatymo reagentai

Anti-C (anti-RH2) (monokloninis)

Anti-E (anti-RH3) (monokloninis)

Anti-c̄ (anti-RH4) (monokloninis)

Anti-e (anti-RH5) (monokloninis)

Anti-K (anti-K1) (monokloninis)

Kontrolė

Ortho BioVue® sistema

(Rh/K kasetė)

Produkto kodas

400 kasetės 707280

100 kasetės 707250

PASKIRTIS

Kokybinis tyrimas antigenams C (RH2), E (RH3), (RH4), e (RH5) ir K (K1) atpažinti ant žmogaus eritrocitų.
IN VITRO DIAGNOSTIKAI

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

C, E, ir e antigenai yra Rh-hr kraujo grupių sistemos dalis. K (K1) antigenas yra *Kell* kraujo grupės sistemos dalis. Antikūnai prieš šiuos antigenus gali sukelti eritrocitų suardymą; dėl šios priežasties gali išsivystyti naujagimių hemolizinė liga (HDN – angl. hemolytic disease of the newborn) ir transfuzinės reakcijos. Eritrocituose esančius C, E, e ir K galima tirti dėl kelių tikslų, pavyzdžiui, nustatant antikūnus, parenkant sutampantį kraują perpylimui ir gydant HDN.

PROCEDŪROS PRINCIPAS

Su šiais reagentais naudojama procedūra yra paremta agliutinacijos principu. Normalūs antigenų turintys žmogaus eritrocitai agliutinuosis, kai bus antikūnų prieš antigenus. *Ortho BioVue* sistemoje panaudota stulpelinės agliutinacijos technologija, naudojant stiklinius rutuliukus ir stulpelyje esantį reagentą, kurie, kasetės centrifugavimo metu, sugauna agliutinuotus eritrocitus ir leidžia neagliutinuotiems eritrocitams praėti į kolonėlės dugną.

REAGENTAI

Ortho BioVue sistemos Rh/K kasetės susideda iš 6 stulpelių, kuriose yra buferinio tirpalo su jaučio albuminu ir makromolekuliniams potenciatoriams, taip pat ir konservantų: 0,1 % (pagal masę) natrio azido ir 0,01M etilendiamintetraacto rūgšties (EDTA).

Produktų kodai 707280 ir 707250

- 1 stulpelis: Kraujo tipavimo reagentas anti-C (Anti-RH2)
- 2 stulpelis: Kraujo tipavimoreagentas anti-E (Anti-RH3)
- 3 stulpelis: Kraujo tipavimo reagentas anti (anti-RH4)
- 4 stulpelis: Kraujo grupės nustatymo reagentas anti-e (anti-RH5)
- 5 stulpelis: Kraujo tipavimo reagentas anti-K (Anti-K1)
- 6 stulpelis: Kontrolė

Sudėtis

- Anti-C (IgM) monokloniniai antikūnai (klonas MS24)
- Anti-E (IgM) monokloniniai antikūnai (klonas C2)
- Anti (IgM) monokloniniai antikūnai (klonas MS42)
- Anti-e (IgM) monokloniniai antikūnai (klonai MS16, MS21 ir MS63)
- Anti-K1 (IgM) monokloniniai antikūnai (klonas MS56)
- Potenciatorius optimaliai pritaikytas naudoti kaip kontrolei atliekant kraujo grupių tyrimus

LAIKYMO SĄLYGOS

Laikykite kasetes stačias 2–25°C temperatūroje.

Nelaikykite kasečių automatiškai atšildančiame šaldytuve/šaldiklyje.

Nelaikykite kasečių šalia bet kokio šilumos šaltinio (pavyzdžiui, kaitinimo bloko, radiatoriaus, didelių instrumentų, šaldytuvo, šaldiklio ir kt. ar bet kokios tiesiogiai saulės apšviestos vietos).

ATSARGUMO PRIEMONĖS

1. Su visais kraujo mėginiais ir medžiagomis, naudotomis dirbant su kraujo mėginiais, elkitės kaip su potencialiais infekcijos sukėlėjais. Su visais kraujo mėginiais ir medžiagomis, naudotomis dirbant su kraujo mėginiais, dirbkite laikydamiesi geros laboratorinės praktikos reikalavimų.⁰
2. Kai kurie kasečių komponentai gali būti vertinami kaip pavojingos ar potencialiai užkrečiamos atliekos. Visas medžiagas išmeskite laikydamiesi galiojančių taisyklių ir norminių teisės aktų.²
3. Kai kuriuose kasečių komponentuose gali būti pavojingų cheminių medžiagų (pavyzdžiui, natrio azido). Tikslesnės informacijos ieškokite medžiagų saugos duomenų lape (MSDS – angl. Material Safety Data Sheet), kurį galite gauti iš „Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.“.
4. Nenaudokite reagentų praėjus etiketėje nurodytam galiojimo laikui.
5. Kasetės užšaldymas ar skysčio išgaravimas dėl karščio gali kliudyti neagliutinuotiems eritrocitams laisvai praeiti pro stiklinių rutuliukų stulpelį.
6. Nenaudokite kasečių, kurios atrodo pažeistos (pavyzdžiui, pažeistas folijos dangtelis, įskilimai ar burbuliukai stulpelyje) ar turi išdžiūvimo požymių (skysčio lygis yra sulig stiklinių rutuliukų viršumi ar žemiau) arba spalvos pakitimo požymių (dėl bakterinio užteršimo, kuris gali lemti neteisingas reakcijas).
7. Naudokite *Ortho BioVue* sistemos centrifugą, kad būtų užtikrinti sistemai reikiami centrifugavimo parametrai. Tinkamas centrifugos kalibravimas yra svarbus tiksliais rezultatams gauti.
8. Neteisingai naudojant atidarytuvą arba numetus kasetę po atidarytuvo uždėjimo, pipetuoiant reagentai gali užsiteršti tarpusavyje.
9. Klaidingus rezultatus galima gauti dėl netinkamos bet kurio diagnostinio testo atlikimo technikos. Pačios dažniausios šių rezultatų priežastys yra:
 - Kitokios nei nurodyta skyriuje „Mėginio paėmimas ir paruošimas“ eritrocitų koncentracijos naudojimas
 - Procedūros metu naudojamų pagalbinių medžiagų mikrobinis užteršimas
 - Ląstelių medžiagų turinčių mėginių naudojimas (trukdo eritrocitams laisvai pereiti pro stulpelį)
 - Stipriai hemolizuotų mėginių naudojimas (gali trukdyti įvertinti reakcijas stulpelyje)

MĖGINIO PAĖMIMAS IR PARUOŠIMAS

Prieš imant mėginius, pacientų ar donorų specialiai paruošti nereikia. Kraujas turi būti imamas patvirtintais mediciniais metodais. Galima naudoti mėginius, paimtus su antikoagulantu ar be antikoagulianto.

Paimtus mėginius reikia tirti kaip galima greičiau. Jei tyrimas yra atidedamas, mėginius reikia laikyti 2–8°C temperatūroje. Sukrešėjusius mėginius arba į EDTA, hepariną ar natrio citratą paimtą kraują reikėtų ištirti ne ilgiau kaip per septynias dienas. Donoro kraują galima tirti iki galiojimo laiko pabaigos.

Iš virkštelės paimtas kraujas turi būti neužterštas (pavyzdžiui, vaisiaus vandenimis, audiniais). Jei įtariamas užsiteršimas, gali reikėti plauti fiziologiniu tirpalu.

Eritrocitų suspensijas galima paruošti naudojant šias fiziologinio tirpalo ir eritrocitų masės kombinacijas:

Fiziologinio tirpalo tūris	Eritrocitų masės tūris ^a	Eritrocitų koncentracija
1 ml	40 µl	3 %
1 ml	50 µl	4 %
1 ml	65 µl	5 %
1 ml	10 µl	0,8 %
0,8 ml	10 µl	1,0 %

^a 5 minutes centrifuguojant kraujo mėginius nuo 900 iki 1000 x g, gaunama maždaug 80 % koncentracijos eritrocitų masė. Duomenys yra „Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.“ dokumentacijoje.

REAGENTŲ PARUOŠIMAS

Ortho BioVue sistemos kasetė tiekama paruošta naudoti. Kiekviename stulpelyje yra specifinis reagentas, tinkamas vienam tyrimui. Norint išsaugoti reagentų vientisumą, kasetė yra sandariai užlydyta aliuminio folija. Nuplėšus foliją, kasetes reikia panaudoti per vieną valandą. Nenaudokite kasečių, jei skysčio lygis stulpelyje yra sulig stiklinių rutuliukų viršumi ar žemiau.

PROCEDŪRA

Toliau nurodyta procedūra yra skirta tik rankiniam *BioVue* kasetės tyrimui. Naudodami automatinius prietaisus laikykitės gamintojo pateiktų nurodymų. Laboratorijos privalo laikytis patvirtintų procedūrų, kad būtų parodytas šio produkto suderinamumas su automatinėmis sistemomis.

Pateiktos medžiagos

- 400 kasečių (produkto kodas 707280)
- 100 kasečių (produkto kodas 707250)
- (Sudedamųjų dalių apibūdinimo ieškokite skyriuje „Reagentai“)

Reikalingos, tačiau nepateiktos medžiagos

1. *Ortho BioVue* sistemos centrifuga
2. Fiziologinis tirpalas
3. Mikropipetė 10 µl, 40 µl ir 50 µl lašinimui
4. Vienkartiniai pipetinių antgaliai
5. *Ortho BioVue* sistemos darbo stovas (gaminio kodas 707830)
6. Atidarytuvai, *BioVue* (produkto kodas 4056)

Tyrimo procedūra

1. Eritrocitų suspensijas paruoškite pagal skyrių „Mėginio paėmimas ir paruošimas“.
2. Prieš naudojimą leiskite kasetei įšilti iki kambario temperatūros. Kasetės juodą etiketę (brūkšninio kodo pusę) atsukite į save. Ant kasetės atitinkamai pažymėkite mėginio duomenis.
3. Atidarytuvu atidarykite kasetės šulinėlius. Apverskite kasetę ir užmaukite ant atidarytuvo ant. Ištraukite kasetę su atidarytuvu iš laikiklio.

PASTABA. Įdėjus atidarytuvą, kasetė turi būti panaudota per valandą.

4. Įpilkite:
 - 10 µl nuo 3 % iki 5 % arba
 - 40 µl 1,0 % arba
 - 50 µl 0,8 % eritrocitų suspensijos į kasetės reakcijos kameras.
5. Kasetę centrifuguokite *Ortho BioVue* sistemos centrifugoje.

PASTABA. Centrifuguoti reikia per 30 minučių nuo mėginių įdėjimo į reakcijos kameras..

6. Pasibaigus tyrimui kiekvieno stulpelio agliutinaciją ir/arba hemolizę įvertinkite iš abiejų pusių .
7. Užfiksuokite reakcijos stiprumą iš tos kasetės pusės, kurioje matomas stipresnis teigiamas rezultatas.

Kokybės kontrolės procedūros

Norint atpažinti reagento sugedimą, reikia atlikti serologinius tyrimus. Rekomenduojama kiekvieną naudojimo dieną tirti kiekvieną reagentų seriją pagal patvirtintas standartines naudojimo procedūras, naudojant atitinkamą teigiamą ir neigiamą kontrolę.

Teigiama kontrolė. Naudokite eritrocitus, turinčius antigenų prieš reagento antikūnus. Jei įmanoma, reikėtų naudoti heterozigotinę antigenų formą. Turi būti gauta agliutinacija, kurią parodo eritrocitai, sulauktyti stiklinių rutuliukų stulpelio viduje ar jo viršuje.

Neigiama kontrolė. Naudokite eritrocitus, neturinčius antigenų prieš reagento antikūnus. Eritrocitų agliutinacija neturi įvykti, jos nebuvimą parodo lygiai stulpelio dugne nusėdę eritrocitai.

Kontrolinis stulpelis. Naudokite normalius (nesensibilizuotus) eritrocitus. Eritrocitų agliutinacija neturi įvykti, jos nebuvimą parodo lygiai stulpelio dugne nusėdę eritrocitai.

REZULTATŲ ĮVERTINIMAS

Teigiamas rezultatas (+)	Eritrocitų agliutinacija yra teigiamas tyrimo rezultatas, rodantis, kad mėginyje yra atitinkamų antigenų.
Neigiamas rezultatas (-)	Eritrocitų agliutinacijos nebuvimas yra neigiamas rezultatas ir parodo, kad atitinkamas antigenas nėra aptiktas.
Kontrolinis stulpelis:	Jei kontrolinio stulpelio testas yra teigiamas, galiojantis rezultatų interpretavimas negali būti atliktas.
4+ reakcija	Agliutinuoti eritrocitai suformuoja juostą rutuliukų stulpelio viršuje.
3+ reakcija	Dauguma agliutinuotų eritrocitų yra sulaikomi ar sugaunami viršutinėje rutuliukų stulpelio dalyje.
2+ reakcija	Agliutinuoti eritrocitai stebimi visame rutuliukų stulpelio ilgyje. Taip pat gali būti matoma nedidelė ląstelių sankaupa rutuliukų stulpelio dugne.
1+ reakcija	Dauguma agliutinuotų eritrocitų yra sulaikomi ar sugaunami apatinėje rutuliukų stulpelio dalyje. Taip pat bus matoma ląstelių sankaupa rutuliukų stulpelio dugne.
0,5+ reakcija	Dauguma agliutinuotų eritrocitų praeina ir suformuoja netvarkingą (nalygią) sankaupą rutuliukų stulpelio dugne. Maži agliutinatai matomi virš sankaupos.
0 neigiama	Visi eritrocitai pereina ir suformuoja vienalytę sankaupą rutuliukų stulpelio dugne.

Ortho BioVue sistema galima nustatyti mišrias ląstelių populiacijas kaip agliutinuotus eritrocitus rutuliukų stulpelio viršuje ir neagliutinuotus eritrocitus stulpelio dugne. Nustatymo ribos gali skirtis nuo kitais metodais stebimų ribų.

PROCEDŪROS APRIBOJIMAI

- Norint užtikrinti tyrimo rezultatų tikslumą, reikia kruopščiai atlikti tyrimo procedūrą ir rezultatų interpretavimą. Laboratorijos, kurios naudoja *Ortho BioVue* sistemą, turi turėti programą, pagal kurią darbuotojai būtų išmokomi tinkamai dirbti ir elgtis su šiais produktais.
- Dėl antigeno pakenkimo seni eritrocitai gali demonstruoti silpnesnį reaktyvumą nei švieži.
- Fermentais apdoroti eritrocitai neturi būti naudojami su šiais reagentais.
- Naudojant šiuos reagentus, retais atvejais galima gauti neteisingus tyrimo rezultatus dėl spontaninės agliutinacijos, kai tiriami eritrocitai yra gausiai padengti antikūnais.
- Nenormalūs serumo baltymai tyrimo mėginyje gali sukelti eritrocitų agregaciją, kuri gali būti interpretuojama kaip agliutinacija.
- Nustatyta, kad plazmos papildai trukdo kai kuriems kraujo bankų tyrimams. Nėra duomenų, susijusių su trukdymu naudojant *Ortho BioVue* sistemą. Pastebėjus trukdymus, reikia naudoti problemų sprendimo metodus.
- Anti-E reagentu naudojamas anti-E klonas (C2), nenustato E⁺ antigeno.

TIKĖTINI REZULTATAI*

Klinikiniais tyrimais tirtų mėginių C (RH2), E (RH3), (RH4), e (RH5) ir K (K1) grupių pasiskirstymas *Ortho BioVue* sistemoje buvo toks:

Kraujo grupė	Ištirtų mėginių skaičius	Teigiami mėginiai	Dažnis (%)
C (RH2)	4224	2779	65,79
E (RH3)	4191	1351	32,24
(RH4)	4251	3641	85,65
e (RH5)	4251	4138	97,34
K (K1)	4199	277	6,6

Buvo žinoma 3264 (76,2 %) tirtų mėginių tautinė kilmė. 61,6 % šių mėginių buvo gauti iš baltosios rasės žmonių, 10,9 % iš afroamerikiečių, 2,3 % iš ispanų kilmės, 0,9 % iš Rytų kraštų žmonių ir 0,5 % iš Amerikos indėnų ir žmonių, kilusių iš Saudo Arabijos, Arabijos, Indijos ar Filipinų. Pasiskirstymas skirsis atsižvelgiant į tiriamą etninę populiaciją.

C ir antigenų nustatymo *BioVue* metodu rezultatų sutapimas su mėgintuvėlyje atliktais tyrimais buvo atitinkamai 99,41 % ir 99,95 %. *BioVue* metodo ir tyrimo mėgintuvėlyje sutapimas nustatant E antigeną buvo 98,63 %, o nustatant K antigeną – 100,00 %. Sutapimo procentai atspindi tik dviejų tyrimų atitikimą ir neparodo, kuriuo tyrimu gauti teisingi rezultatai.

*Duomenys yra „Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.“ dokumentacijoje.

SPECIFINĖS ATLIKIMO CHARAKTERISTIKOS*

Ištyrus Ortho BioVue sistemos kasetėje esančius kraujo grupių nustatymo reagentus anti-C (monokloninis), anti-E (monokloninis), anti (monokloninis), anti-e (monokloninis), ir anti-K (monokloninis), buvo pastebėta, kad, esant atitinkamam antigenui, jie specifiškai agliutino žmogaus eritrocitus, jei laikomasi rekomenduojamų naudojimo instrukcijų.

Anti-C reagentas reaguoja su C (RH2) antigeną išreiškiančiais eritrocitais. Šiuo reagentu tiriant eritrocitus, kurie išreikšti polikloniniu anti-C reagentu nustatyta silpną C, gautas teigiamas rezultatas. Tiriamiems eritrocitams priklausė tokie pavyzdžiai: C^w, C^x, Rz, Rh32, Rh35, r^G ir r^s. Šiuo reagentu tiriant C antigeno neturinčius eritrocitus, tarp jų ir R₁^wr ir DC^w- (Rh-delecija) eritrocitus, kurie buvo neigiami naudojant polikloninį anti-C reagentą, gautas neigiamas rezultatas.

Anti-E reagentas reaguoja su E (RH3) antigeną išreiškiančiais eritrocitais. Jis nustatytas vienu E^T pavyzdžiu ir dviem eritrocitais, išreiškiančiais silpną E, identifikuotą polikloniniu anti-E reagentu. Šis reagentas nereaguoja su E^w (RH11) antigeną išreiškiančiomis ląstelėmis.

Anti- \bar{c} reagentas reaguoja su \bar{c} (RH4) antigeną išreiškiančiais eritrocitais. Jį naudojant su Rh26, LOCR ir Dc- (Rh-delecija) eritrocitais, gautas teigiamas rezultatas, kuris buvo taip pat gautas ir naudojant polikloninį anti- \bar{c} .

Anti-e reagentas reaguoja su e (RH5) antigeną išreiškiančiais eritrocitais. Jis reagavo su daugeliu dalinį e antigeną (e+hr^s- ir e+hr^b) išreiškiančių eritrocitų ir su ląstelėmis su sumažėjusia e ekspresija (Rh32, Rh33 ir Rh35).

Anti-K reagentas reaguoja su K (K1) antigenu. Tiriant su kitus Kell sistemos antigenus išreiškiančiais eritrocitais, jis reagavo su visomis K+ ląstelėmis, įskaitant K+k+, K+k- ir K+K17, taip pat ir su vienu K+Rh nuliniu pavyzdžiu. Jį nereagavo su šiais K neigiamais eritrocitais: K-k+, Js(a+b-), Kp(a+b-), K11, K12, K14, K19, K22, K₀ ir McLeod.

*Duomenys yra „Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.“ dokumentacijoje.

TEKSTO PERŽIŪROS

Peržiūros data	Versija	Techninių pakeitimų paaiškinimas*
2004-02-29	2.0	Naujas formatas, techniškai tolygus 631300032. (atitinka IVD MDD reikalavimus.)












* Pakeitimą reiškiantis ženklas rodo techninio papildymo vietą tekste (palyginti su ankstesne dokumento versija).

LITERATŪROS ŠARAŠAS

1. Laboratory biosafety manual. 2nd ed. World Health Organization, Avenue Appia 20, 1211 Geneva 27 Switzerland, 1993.
2. Biotechnology – Laboratories for Research, Development & Analysis – Guidelines for Handling, Inactivating and Testing of Waste. BS EN12740, BSI, 389 Cheswick High Road, London, W4 4AL, 1999.
3. Reis KJ, Cupido A, Jakway J, Chachowski R, Puzio E, Davies D, Setcavage TM. Red cell ABD/Rh/K typing by column agglutination technology. Transfusion 1992;32:Suppl 16S.
4. Reisner RK, Gauthier CM, Williamson KR, Moore SB. Comparison of patient ABO/Rh/K typing by column agglutination system and conventional tube method. Transfusion 1993;33:Suppl 18S.

SIMBOLIŲ GLOSARIJUS

Toliau pateikti simboliai galėjo būti naudojami šiam gaminiui žymėti.

 Dėmesio: žiūrėkite naudojimo instrukcijas	 Oficialus atstovas	 Laikyti sausi
 Serijos numeris	 In vitro diagnostikai	 Dužus, elgtis atsargiai
 Naudoti iki/tinkamumo laiko pabaigos data (CCYY-MM-DD)	 Gaminio kodas	 Kasetė
 Laikymo temperatūra	 Šita pusė į viršų	



Ortho-Clinical Diagnostics
Johnson & Johnson
50 – 100 Holmers Farm Way
High Wycombe
Buckinghamshire
HP12 4DP
United Kingdom

Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.
Raritan, New Jersey 08869



© Ortho-Clinical Diagnostics, Inc., 2003. Visos teisės saugomos.