



**ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΟΜΑΔΩΝ ΑΙΜΑΤΟΣ  
ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ**

**Anti-D Duoclone Monoclonal: Για Τεχνικές Σωληναρίου, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue, Μικροπλάκας και Πλακιδίων**

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Το σύστημα ομάδα αίματος Rh ανακαλύφθηκε το 1940 Το αντιγόνο D είναι το σημαντικότερο κλινικά μη-ABO αντιγόνο ερυθροκυττάρων και έχει εμπλακεί σε Αιμολυτικές Αντιδράσεις από Μετάγγιση και Αιμολυτική Νόσο του Νεογνού.

Anti-D	Φαινότυπος	Καυκάσια φυλή % <sup>3</sup>	Αφροαμερικανόι % <sup>3</sup>
+	Rh D +ve	83	92
0	Rh D -ve	17	8

**ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ**

Τα Anti-D αντιδραστήρια είναι αντιδραστήρια προσδιορισμού ομάδων αίματος που προορίζονται να χρησιμοποιηθούν για τον ποιοτικό προσδιορισμό της παρουσίας ή απουσίας του αντιγόνου Rh D στα ερυθροκύτταρα αιμοδοτών ή ασθενών που χρήζουν μετάγγισης αίματος όταν εξετάζονται σύμφωνα με τις συνιστώμενες τεχνικές που δηλώνονται σε αυτές τις Οδηγίες Χρήσης.

**ΑΡΧΗ**

Το αντιδραστήριο περιέχει αντισώματα έναντι του αντιγόνου D στα ανθρώπινα ερυθροκύτταρα και προκαλεί άμεση συγκόλληση (συσσωμάτωση) των ανθρώπινων ερυθροκυττάρων που φέρουν το αντιγόνο D και έμμεση συγκόλληση των ανθρώπινων ερυθροκυττάρων Κατηγορίας D<sup>VI</sup>, κατά τη φάση δοκιμής της αντισφαιρίνης. Σε γενικές γραμμές η έλλειψη συγκόλλησης (συσσωμάτωσης) υποδηλώνει την απουσία του αντιγόνου D στα ανθρώπινα ερυθροκύτταρα (βλέπε **Περιορισμοί**).

**ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ**

Το Monoclonal Anti-D Duoclone αντιδραστήριο προσδιορισμού ομάδων αίματος της Lorne είναι ένα μικτό αντιδραστήριο με χαμηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες που περιέχει την ανθρώπινη μονοκλωνική IgM και IgG anti-D, διαλυμένο σε ένα φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα το οποίο περιέχει χλωριούχο νάτριο (0,9 g%), βόεια αλβουμίνη (2,0 g%) και μακρομοριακού ενισχυτές (1,5 g%). Κατά την τυποποίηση των δειγμάτων των ασθενών, το αντιδραστήριο αυτό θα συγκολλήσει άμεσα τα Rh D θετικά κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων των περισσότερων ποικιλιών (variant) (εξαιρουμένης της D<sup>VI</sup>) και μιας υψηλής αναλογίας των φαινότυπων του ασθενούς D (weak D) (D<sup>VI</sup>) όταν χρησιμοποιούνται οι συνιστώμενες τεχνικές. Τα αντιδραστήρια δεν περιέχουν ή αποτελούνται από KMT ουσίες ή ουσίες που προκαλούν ενδοκρινικές διαταραχές ή που θα μπορούσαν να παρουσιάσουν ευαισθητοποίηση ή κάποια αλλεργική αντίδραση του χρήστη. Το αντιδραστήριο παρέχεται στην βέλτιστη αραίωση προς χρήση σε όλες τις συνιστώμενες τεχνικές που αναφέρονται παρακάτω χωρίς να χρειάζεται περαιτέρω αραίωση ή προσθήκη. Για τον αριθμό αναφοράς της παρτίδας και την ημερομηνία λήξης βλέπε **Ετικέτα Φιαλιδίου**.

IgM / IgG	Κυτταρική Σειρά / Κλώνος
IgM	RUM-1
IgG	MS-26

**ΕΞΑΣΘΕΝΗΜΕΝΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ RhD**

Ο συλλογικός όρος D<sup>VI</sup> χρησιμοποιείται ευρέως για να περιγράψει τα ερυθροκύτταρα τα οποία έχουν πιο ασθενή έκφραση του αντιγόνου D από το φυσιολογικό. Ο όρος ασθενές D (weak D) υποδηλώνει άτομα με μειωμένο αριθμό των συνολικών θέσεων αντιγόνου D ανά ερυθροκύτταρο. Ο όρος μερικό D (partial D) υποδηλώνει άτομα στα οποία λείπουν επίτοποι D. Η D<sup>VI</sup> είναι η κατηγορία του μερικού D όπου απουσιάζουν οι περισσότεροι επίτοποι D. Το αντιδραστήριο Duoclone ανιχνεύει τα περισσότερα παραδείγματα ερυθροκυττάρων μερικού και ασθενούς D μέσω άμεσης συγκόλλησης, αλλά δεν ανιχνεύει τα D<sup>VI</sup> κύτταρα. Το αντιδραστήριο αυτό ανιχνεύει κατά τη φάση της Τεχνική Έμμεσης Αντισφαιρίνης (IAT) τα D<sup>VI</sup> και partial D (μερικό D) κύτταρα.

**ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ**

Τα φιαλίδια αντιδραστηρίων μετά τη λήψη θα πρέπει να αποθηκεύονται σε θερμοκρασία 2 - 8 °C. Η παρατεταμένη αποθήκευση σε θερμοκρασίες εκτός αυτού του εύρους ενδέχεται να προκαλέσει ταχύτερη απώλεια της δραστηριότητας του αντιδραστηρίου. Το αντιδραστήριο αυτό έχει υποβληθεί σε μελέτες σταθερότητας κατά τη μεταφορά σε θερμοκρασίες 37 °C και -25 °C όπως περιγράφεται στο έγγραφο BS EN ISO 23640:2015.

**ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ**

Η συλλογή των δειγμάτων αίματος μπορεί να γίνει σε αντιπηκτικά EDTA (αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ), κιτρικού άλατος, CPDA (κιτρική φωσφορική δεξτρόζη της αδενίνης) ή ως θρομβωμένο δείγμα. Τα δείγματα θα πρέπει να εξετάζονται το ταχύτερο δυνατόν μετά τη συλλογή τους. Εάν η εξέταση καθυστερήσει, αποθηκεύστε το δείγμα σε θερμοκρασία 2-8 °C. Τα δείγματα που παρουσιάζουν μακροσκοπική αιμόλυση ή μικροβιακή μόλυνση δεν θα πρέπει να εξετάζονται. Τα δείγματα αίματος που παρουσιάζουν ενδείξεις λύσης ενδέχεται να αποδώσουν αναξιόπιστα αποτελέσματα. Είναι προτιμότερο (αλλά όχι

αναγκαίο) πριν από την εξέταση, να πλένονται όλα τα δείγματα αίματος με PBS ή ισοτονικό αλατούχο διάλυμα.

**ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ**

1. Το αντιδραστήριο προορίζεται αποκλειστικά για διαγνωστική χρήση in vitro.
2. Εάν το φιαλίδιο κάποιου αντιδραστηρίου είναι σπασμένο ή ραγισμένο, απορρίψτε το περιεχόμενο του αμέσως.
3. Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο μετά την ημερομηνία λήξης (βλέπε **Ετικέτα Φιαλιδίου**).
4. Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο σε περίπτωση παρουσίας ιζήματος.
5. Κατά το χειρισμό των αντιδραστηρίων, φοράτε κατάλληλο προστατευτικό εξοπλισμό, όπως γάντια μίας χρήσης και εργαστηριακή ποδιά.
6. Το αντιδραστήριο έχει διηθηθεί μέσω μιας κάψουλας 0,2 μm για τη μείωση της βιοεπιβάρυνσης, αλλά δεν παρέχεται αποστειρωμένο. Από τη στιγμή που θα ανοιχθεί το φιαλίδιο το περιεχόμενό του θα παραμείνει βιώσιμο έως την ημερομηνία λήξης εφόσον δεν παρατηρείται θολρότητα, η οποία ενδέχεται να υποδεικνύει αλλοίωση ή μόλυνση του αντιδραστηρίου.
7. Το αντιδραστήριο περιέχει <0,1% αζιδίου του νατρίου. Το αζίδιο του νατρίου ενδέχεται να είναι τοξικό κατά την πρόσληψη δια του στόματος, ενώ ενδέχεται να αντιδράσει με μολύβδινους και χάλκινους υδραυλικούς σωλήνες, δημιουργώντας εκρηκτικά μεταλλικά αζίδια. Κατά την απόρριψη, ξεπλύνετε με άφθονη ποσότητα νερού.
8. Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή του αντιδραστηρίου υπεβλήθησαν σε δοκιμή στην πηγή με τη χρήση εγκεκριμένων μικροβιολογικών δοκιμών και βρέθηκαν αρνητικά για HIV 1+2 και HCV αντισώματα και για το HBsAg.
9. Καμία γνωστή δοκιμή δεν μπορεί να διασφαλίσει ότι τα προϊόντα που παράγονται από ανθρώπινες ή ζωικές πηγές είναι απαλλαγμένα από μολυσματικούς παράγοντες. Απαιτείται προσοχή κατά τη χρήση και απόρριψη κάθε φιαλιδίου και των περιεχομένων του.

**ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΔΙΑΡΡΟΩΝ**

Για πληροφορίες σχετικά με την απόρριψη του αντιδραστηρίου και την απολύμανση ενός χώρου διαρροής δείτε τα **Δελτία Δεδομένων Ασφαλείας Υλικών**, τα οποία είναι διαθέσιμα κατόπιν αιτήματος.

**ΜΑΡΤΥΡΕΣ ΚΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΕΣ**

1. Κατά τη χρήση κάθε παρτίδας δοκιμών, συνιστούμε να εξετάζεται παράλληλα και ένας θετικός (ιδανικά R<sub>1T</sub> κύτταρα), ένας αρνητικός μάρτυρας (ιδανικά π<sub>1</sub> κύτταρα). Εάν οι μάρτυρες δεν δώσουν τα αναμενόμενα αποτελέσματα, οι εξετάσεις θα πρέπει να θεωρούνται άκυρες.
2. Κατά την τυποποίηση ερυθροκυττάρων ενός ασθενούς που έχει διαγνωστεί με μια νόσο η οποία προκαλεί την επικάλυψη των ερυθροκυττάρων με αντισώματα ή άλλες πρωτεΐνες (όπως HDN, AIHA), είναι σημαντικό να υποβάλτε σε εξέταση τα ερυθροκύτταρα του ασθενούς χρησιμοποιώντας τον αρνητικό μάρτυρα αντιδραστηρίου της Lorne (Monoclonal D Negative Control (αρ. καταλόγου 650010)). Οι εξετάσεις θα πρέπει να θεωρούνται μη έγκυρες σε περίπτωση συγκόλλησης των ερυθροκυττάρων κατά τη χρήση του Monoclonal D Negative Control της Lorne (# καταλόγου 650010).
3. Εξετάστε τα δείγματα για τον προσδιορισμό της κατηγορίας D<sup>VI</sup> με τη **Δοκιμή Έμμεσης Αντισφαιρίνης, τις Τεχνικές Coombs Bio-Rad, Bio-Rad-ID και Coombs Ortho BioVue** μόνο.
4. Τα weak (ασθενή) και ποικίλα (variant) D αντιγόνα ανιχνεύονται ελλιπώς από τις τεχνικές της κάρτας γέλης, πλάκας μικροπιλοποίησης και πλακιδίου Συνιστάται η εξέταση των weak (ασθενών) και partial (μερικών) ποικιλιών να γίνεται με την τεχνική του σωληναρίου.
5. Η τεχνική σωληναρίου αντισφαιρίνης μπορεί να θεωρηθεί έγκυρη μόνο εάν όλες οι αρνητικές δοκιμές αντιδράσουν θετικά με τα ευαισθητοποιημένα με IgG ερυθροκύτταρα.
6. Πριν από τη χρήση, αφήστε το αντιδραστήριο να θερμανθεί σε θερμοκρασία δωματίου. Αμέσως μετά τη χρήση του αντιδραστηρίου, αποθηκεύστε το πάλι σε θερμοκρασία 2-8 °C.
7. Στην ενότητα **Συνιστώμενες Τεχνικές** μία σταγόνα είναι περίπου 50μl όταν χρησιμοποιείται το παρεχόμενο σταγονόμετρο του φιαλιδίου.
8. Η χρήση του αντιδραστηρίου και η ερμηνεία των αποτελεσμάτων θα πρέπει να διενεργείται από το κατάλληλο εκπαιδευμένο και εξειδικευμένο προσωπικό σύμφωνα με τις απαιτήσεις της χώρας όπου χρησιμοποιούνται τα αντιδραστήρια.
9. Ο χρήστης θα πρέπει να καθορίζει την καταλληλότητα των αντιδραστηρίων για χρήση σε άλλες τεχνικές.

**ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ**

- Αντιανθρώπινη σφαιρίνη πχ. Lorne AHG Elite (Κατ.# 435010) ή Αντιανθρώπινη IgG πχ. Lorne Anti-Human IgG (Κατ.# 402010).
- Ογκομετρικές πιπέτες.
- Γυάλινα αντικειμενοφόρα πλακίδια ή λευκά πλακίδια κάρτας.
- Στικ εφαρμογής.
- Γυάλινα σωληνάρια δοκιμής (10 x 75 mm ή 12 x 75 mm).
- Υδατόλουτρο ή επωαστήρας ξηρής θερμότητας ρυθμισμένος στους 37 °C±2 °C.
- Σωληνάριο δοκιμής φυγοκέντρησης.

- Πλυστικό κυττάρων Coombs.
- Επικυρωμένες μικροπλάκες σχήματος «U» με βοθρία.
- Φυγόκεντρος μικροπλάκας.
- Ανακινήτης πλάκας.
- Αυτόματη συσκευή ανάγνωσης πλάκας.
- Κάρτες Bio-Rad ID (LISS/Coombs) και (NaCl, ενζυμική δοκιμή και ψυχροσυγκολλητίνες)
- Φυγόκεντρος Bio-Rad ID.
- Bio-Rad ID-CellStab ή ID-Diluent 2.
- Επωαστήρας Bio-Rad ID ρυθμιζόμενος στους 37 °C±2 °C.
- Κασέτες Ortho BioVue System (AHG/Coombs) και (Neutral).
- Φυγόκεντρος Ortho BioVue System.
- Θερμαντικό Μπλοκ Ortho BioVue System ρυθμισμένο στους 37 °C±2 °C.
- Διαλύτης ερυθροκυττάρων Ortho 0,8% Red Cell Diluent.
- Ευαισθητοποιημένα με IgG ερυθροκύτταρα πχ. Coombs Control Cells της Lorne (Κατ.# 970010).
- Αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (PBS) (pH 6,8–7,2) ή Ισοτονικό αλατούχο διάλυμα (pH 6,5–7,5).
- Θετικοί (ιδανικά R<sub>1r</sub>) και αρνητικοί (rr) μάρτυρες ερυθροκυττάρων.

## ΣΥΝΙΣΤΩΜΕΝΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ (ΟΧΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ D<sup>U</sup>)

### A. Τεχνική Σωληναρίου

1. Παρασκευάστε εναιώρημα 2-3% των ερυθροκυττάρων σε PBS ή ισοτονικό αλατούχο διάλυμα.
2. Τοποθετήστε σε ένα σημιασμένο σωληνάριο δοκιμής: 1 σταγόνα αντιδραστήριου Duoclonne της Lorne και 1 σταγόνα εναιωρήματος ερυθροκυττάρων.
3. Αναμίξτε επιμελώς και φυγοκεντρήστε όλα τα σωληνάρια για 20 δευτερόλεπτα σε 1000 rcf ή για τον κατάλληλο εναλλακτικό χρόνο και δύναμη.
4. Επανεναιωρήστε απαλά το σφαιρίδιο ερυθροκυττάρων και διαβάστε μακροσκοπικά για συγκόλληση
5. Οποιαδήποτε σωληνάρια εμφανίζουν αρνητικό ή αμφισβητήσιμο αποτέλεσμα (το οποίο είναι δυνατόν να προκύψει με D<sup>U</sup> ή ασθενή D δείγματα), θα πρέπει να επωάζονται για 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.
6. Έπειτα από την επώαση, επαναλάβετε τα βήματα 3 και 4.

### B. Τεχνική Bio-Rad-ID (κάρτες NaCl, ενζυμική δοκιμή και ψυχροσυγκολλητίνες)

1. Παρασκευάστε εναιώρημα 0,8% των ερυθροκυττάρων σε διαλύτη ID-CellStab ή ID-Diluent 2.
2. Αφαιρέστε το φύλλο αλουμινίου από όσα μικροσωληνάρια χρειάζεται.
3. Τοποθετήστε στο κατάλληλο μικροσωληνάριο: 50μl εναιωρήματος ερυθροκυττάρων δοκιμής και 25μl αντιδραστήριου Duoclonne της Lorne.
4. Φυγοκεντρήστε την(τις) κάρτα(ες) ID στη φυγόκεντρο κάρτας γέλης.
5. Διαβάστε μακροσκοπικά για συγκόλληση.

### Γ. Τεχνική Ortho BioVue (κασέτες Neutral)

1. Παρασκευάστε εναιώρημα 0,8% των ερυθροκυττάρων σε διαλύτη ερυθροκυττάρων Ortho 0,8% Red Cell Diluent
2. Αφαιρέστε το φύλλο αλουμινίου από όσους θαλάμους αντίδρασης χρειάζεται.
3. Τοποθετήστε στον κατάλληλο θάλαμο αντίδρασης: 50μl εναιωρήματος ερυθροκυττάρων δοκιμής και 40μl αντιδραστήριου Duoclonne της Lorne.
4. Φυγοκεντρήστε την(τις) κασέτα(ες) σε μία φυγόκεντρο Ortho BioVue System.
5. Διαβάστε μακροσκοπικά για συγκόλληση.

### Δ. Τεχνική Μικροπλάκας, με τη χρήση βοθρίων σχήματος «U»

1. Παρασκευάστε εναιώρημα 2-3% των ερυθροκυττάρων σε PBS ή ισοτονικό αλατούχο διάλυμα.
2. Τοποθετήστε στο κατάλληλο βοθρίο: 1 σταγόνα αντιδραστήριου Duoclonne της Lorne και 1 σταγόνα εναιωρήματος ερυθροκυττάρων.
3. Αναμίξτε επιμελώς, χρησιμοποιώντας κατά προτίμηση έναν ανακινήτη μικροπλάκας, φροντίζοντας να αποφυγείτε τη μόλυνση μεταξύ των βοθρίων.
4. Επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 15 λεπτά (ο χρόνος εξαρτάται από το χρήστη).
5. Φυγοκεντρήστε τη μικροπλάκα για 1 λεπτό σε 140 rcf ή για τον κατάλληλο εναλλακτικό χρόνο και δύναμη.
6. Επανεναιωρήστε τα σφαιρίδια κυττάρων χρησιμοποιώντας μια προσεκτικά ελεγχόμενη ανακίνηση σε έναν ανακινήτη μικροπλάκας.
7. Διαβάστε μακροσκοπικά ή με μια επικυρωμένη αυτόματη μονάδα ανάγνωσης.
8. Τυχόν ασθενείς αντιδράσεις θα πρέπει να επαναλαμβάνονται με την τεχνική σωληναρίου.

### E. Τεχνική Πλακιδίου

1. Παρασκευάστε ένα εναιώρημα 35-45% των ερυθροκυττάρων σε ορό, πλάσμα, ή PBS ή ισοτονικό αλατούχο διάλυμα ή χρησιμοποιήστε ολικό αίμα με αντιθρομβωτικά (στο πλάσμα του).
2. Τοποθετήστε σε σημιασμένο γυάλινο πλακίδιο ή στο πλακίδιο κάρτας: 1 σταγόνα αντιδραστήριου Duoclonne της Lorne και 1 σταγόνα εναιωρήματος ερυθροκυττάρων δοκιμής.
3. Χρησιμοποιώντας ένα καθαρό στικ εφαρμογής, αναμίξτε το αντιδραστήριο και τα κύτταρα σε μια επιφάνεια περίπου 20 x 40 mm.
4. Ανακινήστε αργά το πλακίδιο με παλινδρομικές κινήσεις για 30 δευτερόλεπτα, αναμινύοντας περιστασιακά περαιτέρω για διάστημα 1 λεπτού, διατηρώντας το πλακίδιο σε θερμοκρασία δωματίου.
5. Διαβάστε μακροσκοπικά έπειτα από 1 λεπτό υπό διάχυτο φως και προσέξτε να μην παρερμηνεύσετε ως συγκόλληση τους κλώνους ινύδους.

6. Τυχόν ασθενείς αντιδράσεις θα πρέπει να επαναλαμβάνονται με την τεχνική σωληναρίου.

## ΣΥΝΙΣΤΩΜΕΝΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ (ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΗΣ ΚΑΤΗΓΟΡΙΑΣ D<sup>V</sup>)

### A. Τεχνική Έμμεσης Αντισφαιρίνης (IAT)

1. Παρασκευάστε εναιώρημα 2-3% των ερυθροκυττάρων σε PBS ή ισοτονικό αλατούχο διάλυμα.
2. Τοποθετήστε σε ένα σημιασμένο σωληνάριο δοκιμής: 1 σταγόνα αντιδραστήριου Duoclonne της Lorne και 1 σταγόνα εναιωρήματος ερυθροκυττάρων.
3. Ανακατέψτε καλά και επώαση σε 37 °C για 15 λεπτά.
4. Πλύνετε τα ερυθροκύτταρα τουλάχιστον μία φορά με PBS ή Ισοτονικό αλατούχο διάλυμα, φροντίζοντας να αποχύσετε το αλατούχο διάλυμα μεταξύ των πλύσεων και επανεναιωρήστε κάθε σφαιρίδιο κυττάρου έπειτα από κάθε πλύση. Αποχύστε πλήρως το αλατούχο διάλυμα έπειτα από την τελευταία πλύση.
5. Προσθέστε 2 σταγόνες AHG ή anti-IgG σε κάθε στεγνό κυτταρικό σφαιρίδιο.
6. Αναμίξτε επιμελώς και φυγοκεντρήστε όλα τα σωληνάρια για 20 δευτερόλεπτα σε 1000 rcf ή για τον κατάλληλο εναλλακτικό χρόνο και δύναμη.
7. Επανεναιωρήστε κάθε σφαιρίδιο κυττάρων και διαβάστε μακροσκοπικά.
8. Επιβεβαιώστε την εγκυρότητα όλων των αρνητικών αντιδράσεων με ευαισθητοποιημένα με IgG ερυθροκύτταρα.

### B. Τεχνική Bio-Rad-ID (κάρτες LISS/Coombs)

1. Παρασκευάστε εναιώρημα 0,8% των ερυθροκυττάρων σε διαλύτη ID-CellStab ή ID-Diluent 2.
2. Αφαιρέστε το φύλλο αλουμινίου από όσα μικροσωληνάρια χρειάζεται.
3. Τοποθετήστε στο κατάλληλο μικροσωληνάριο: 50μl εναιωρήματος ερυθροκυττάρων και 25μl αντιδραστήριου Duoclonne της Lorne.
4. Επώαση την(τις) κάρτα(ες) ID για 15 λεπτά στους 37 °C.
5. Φυγοκεντρήστε την(τις) κάρτα(ες) ID στη φυγόκεντρο κάρτας γέλης.
6. Διαβάστε μακροσκοπικά για συγκόλληση.

### Γ. Τεχνική Ortho BioVue (Κασέτες AHG/Coombs)

1. Παρασκευάστε εναιώρημα 0,8% των ερυθροκυττάρων σε διαλύτη ερυθροκυττάρων Ortho 0,8% Red Cell Diluent.
2. Αφαιρέστε το φύλλο αλουμινίου από όσους θαλάμους αντίδρασης χρειάζεται.
3. Τοποθετήστε στον κατάλληλο θάλαμο αντίδρασης: 50μl εναιωρήματος ερυθροκυττάρων δοκιμής και 40μl αντιδραστήριου Duoclonne της Lorne.
4. Επώαση την(τις) κασέτα(ες) για 15 λεπτά στους 37 °C.
5. Φυγοκεντρήστε την(τις) κασέτα(ες) σε μία φυγόκεντρο Ortho BioVue System.
6. Διαβάστε μακροσκοπικά για συγκόλληση.

## ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΤΩΝ ΔΟΚΙΜΩΝ

1. **Θετικό:** Η συγκόλληση των ερυθροκυττάρων συνιστά ένα θετικό αποτέλεσμα δοκιμής και εντός των αποδεκτών περιορισμών της διαδικασίας δοκιμής, υποδηλώνει την παρουσία του αντιγόνου D στα ερυθροκύτταρα.
2. **Αρνητικό:** Η έλλειψη συγκόλλησης των ερυθροκυττάρων συνιστά αρνητικό αποτέλεσμα και εντός των αποδεκτών περιορισμών της διαδικασίας δοκιμής, υποδηλώνει την απουσία του αντιγόνου D στα ερυθροκύτταρα.
3. Τα αποτελέσματα των δοκιμών των κυττάρων που συγκολλούνται χρησιμοποιώντας τον αρνητικό μάρτυρα αντιδραστήριου θα εξαιρούνται, καθώς η συγκόλληση πιθανώς προκλήθηκε από την επίδραση των μακρομοριακών ενισχυτών του αντιδραστήριου στα ευαισθητοποιημένα κύτταρα.

## ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΩΝ

1. Διαβάστε όλες τις δοκιμές σωληναρίου και μικροπλάκας αμέσως μετά τη φυγοκέντρωση.
2. Ολοκληρώστε τα βήματα πλύσης χωρίς διακοπή και φυγοκεντρήστε και διαβάστε τα αποτελέσματα αμέσως μετά την προσθήκη της αντιανθρώπινης σφαιρίνης καθώς οι καθυστερήσεις μπορεί να προκαλέσουν διάσπαση των συμπλοκών αντιγόνου-αντισώματος οδηγώντας σε ψευδώς αρνητικές ή ασθενείς θετικές αντιδράσεις.
3. Οι δοκιμές πλακιδίου θα πρέπει να ερμηνεύονται το μέγιστο έπειτα από 1 λεπτό προκειμένου να εξασφαλιστεί η ειδικότητα και να αποφευχθεί η πιθανότητα ένα αρνητικό αποτέλεσμα να ερμηνευτεί λανθασμένα ως θετικό εξαιτίας της ξήρανσης του αντιδραστήριου.
4. Απαιτείται προσοχή κατά την ερμηνεία των αποτελεσμάτων των δοκιμών που πραγματοποιήθηκαν σε άλλες θερμοκρασίες εκτός των συνιστώμενων.

## ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

1. Το Anti-D αντιδραστήριο της Lorne δεν είναι κατάλληλο προς χρήση με κύτταρα που έχουν υποστεί ενζυμική κατεργασία ή κύτταρα που αιωρούνται σε LISS.
2. Η χρήση των διαλυμάτων για την παρασκευή εναιωρημάτων ερυθροκυττάρων εκτός εκείνων που περιγράφονται στις ενότητες «Συνιστώμενες Τεχνικές» στο έγγραφο θα πρέπει να επικυρώνεται πριν από τη χρήση. Ορισμένα διαλύματα ενδέχεται να παρουσιάσουν θετικές ή ψευδώς αρνητικές αντιδράσεις.
3. Το αποθηκευμένο δείγμα αίματος ενδοχομένως να παρουσιάσει πιο ασθενείς αντιδράσεις από ότι το νέο δείγμα αίματος.
4. Κατά την εξέταση με τα ευαισθητοποιημένα με IgG κύτταρα ενδέχεται να παρατηρηθεί ψευδώς θετική συγκόλληση.
5. Μπορούν επίσης να προκύψουν ψευδώς αρνητικά ή ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω:
  - Μόλυνσης των υλικών προς δοκιμή

- Λανθασμένης αποθήκευσης, συγκέντρωσης κυττάρων, χρόνου ή θερμοκρασίας επώασης
- Λανθασμένης ή υπερβολικής φυγοκέντρωσης
- Απόκλισης από τις συνιστώμενες τεχνικές

## ΕΙΔΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

1. Πριν από την αποδέσμευσή της, κάθε παρτίδα του μονοκλωνικού Anti-D Duoclone της Lorne υποβάλλεται σε δοκιμή με χρήση των συνιστώμενων μεθόδων που αναγράφονται στις παρούσες Οδηγίες Χρήσης. Οι δοκιμές συμμορφώνονται με τις απαιτήσεις όπως δηλώνονται στην τρέχουσα έκδοση των «Οδηγιών περί Υπηρεσιών Μετάγγισης Αίματος στο Ηνωμένο Βασίλειο» και τις «Κοινές Τεχνικές Προδιαγραφές».
2. Η ειδικότητα των αρχικών μονοκλωνικών αντισωμάτων αποδεικνύεται χρησιμοποιώντας μια ομάδα αντιγόνο-αρνητικών κυττάρων.
3. Η ισχύς των αντιδραστηρίων έχει εξεταστεί έναντι των ακόλουθων ελάχιστων προτύπων αναφοράς ισχύος που λήφθηκαν από το Εθνικό Ινστιτούτο Βιολογικών Προτύπων και Ελέγχου (NIBSC):
  - Πρότυπο αναφοράς για το Anti-D 99/836.
4. Ο Ποιοτικός Έλεγχος των αντιδραστηρίων πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας ερυθροκύτταρα ο φαινότυπος των οποίων είχε επιβεβαιωθεί από κάποιο κέντρο μετάγγισης αίματος του Η.Β. και πριν από τη χρήση είχαν πλυθεί με PBS ή με Ιστονικό αλατούχο διάλυμα.

## ΑΠΟΠΟΙΗΣΗ ΕΥΘΥΝΩΝ

1. Ο χρήστης είναι υπεύθυνος για την απόδοση του αντιδραστηρίου σε οποιαδήποτε άλλη μέθοδο εκτός εκείνων που αναφέρονται στις **Συνιστώμενες Τεχνικές**.
2. Οποιαδήποτε απόκλιση από τις **Συνιστώμενες Τεχνικές** θα πρέπει να επικυρώνεται πριν από τη χρήση<sup>6</sup>.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> Έκδοση, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Κεφάλαιο 10.
2. AABB Technical Manual, 16<sup>th</sup> έκδοση, AABB 2008.
3. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007, Σελίδα 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, 6<sup>th</sup> Έκδοση 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.

## ΔΙΑΘΕΣΙΜΑ ΜΕΓΕΘΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ

Μέγεθος Φιαλιδίου	Αριθμός Καταλόγου	Δοκιμές ανά φιαλίδιο
10 ml	740010	200
1000 ml	740000*	20.000
5000 ml	740000x5*	100.000

\*Το μέγεθος αυτό προορίζεται μόνο για Περαιτέρω Κατασκευαστική Χρήση και ως εκ τούτου δεν φέρει σήμανση CE.



**Lorne Laboratories Limited**  
 Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate  
 Danehill  
 Lower Earley  
 Berkshire, RG6 4UT  
 Ηνωμένο Βασίλειο  
 Τηλ: +44 (0) 118 921 2264  
 Φαξ: +44 (0) 118 986 4518  
 E-mail: info@lornelabs.com

EC	REP	Advena Ltd. Tower Business Centre, 2 <sup>nd</sup> Flr., Tower Street, Swatara, BKR 4013, Μάλτα
----	-----	--