

MONOKLONĀLIE ASINS GRUPU NOTEIKŠANAS REAĢENTI

LIETOŠANAS NORĀDĪJUMI

Anti-A, Anti-B un Anti-A,B monoklonālie reaģenti: mēģenes, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue, mikroplates un priekšmetstikliņa metodēm.

KOPSAVILKUMS

1900. gadā Karls Landšteiners atklāja, ka dažu cilvēku asins serums aglutinē citu cilvēku eritrocītus. Mūsdienās tiek izdalīti četri vispārēji fenotipi. O, A, B un AB. Kopš tā laika ir atklātas A un B grupas apakšgrupas.

Tiešā grupa			Reversā grupa				ABO Fenotips	Baltās rases pārstāvji % ¹
A	B	A,B	A ₁	A ₂	B	O		
+	0	+	0	0	+	0	A	43
0	+	+	+	+	0	0	B	9
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

PAREDZĒTĀ IZMANTOŠANA

ABO reaģenti ir asins grupu noteikšanas reaģenti, ko izmanto, lai kvalitatīvi noteiktu A un/vai B antigēnu esamību vai neesamību asins donoru vai pacientu, kuriem nepieciešama asins pārliešana, eritrocītos, ja pārbaudes tiek veiktas saskaņā ar šajos lietošanas norādījumos minētajām ieteicamajām metodēm.

DARBĪBAS PRINCIPS

Reaģenti satur antivielas attiecīgi pret A un/vai B antigēnu, kas atrodas uz cilvēka eritrocītiem, un izraisīs eritrocītu, kam ir atbilstošais ABO antigēns, tiešu aglutināciju (salipšanu). Ja aglutinācija nenotiek, tas parasti norāda, ka cilvēka eritrocītos nav atbilstoša ABO antigēna (skatīt sadaļu “Ierobežojumi”).

REAĢENTI

Lorne monoklonālie IgM ABO asins grupu noteikšanas reaģenti satur peļu monoklonālās antivielas, kuras izšķīdinātas fosfāta buferšķīdumā, kas satur nātrija hlorīdu, EDTA un liellopu albumīnu. Reaģenti nesatur CMR vielas un nesastāv no tām, nesatur endokrīno sistēmu ietekmējošas vielas vai tādas vielas, kas var izraisīt lietotāja sensibilizāciju vai alerģisku reakciju. Katru reaģentu piegādā optimālā atšķaidījumā, lai to varētu izmantot ar visām turpmāk minētajām ieteiktajām metodēm, bez nepieciešamības veikt papildu atšķaidīšanu vai jebkādu vielu pievienošanu. Partijas atsaucē numuru un derīguma termiņu skatīt uz flakona etiķetes.

Produkts	Sūnu līnija / klons	Krāsa	Izmantotā krāsviela
Anti-A	9113D10	Zils	Patentēta zilā krāsa
Anti-B	9621A8	Dzeltens	Tartrazīns
Anti-A,B	152D12 + 9113D10 + ES15	Bezkrāsains	Nav

UZGLABĀŠANA

Flakoni ar reaģentu pēc saņemšanas jāglabā 2-8°C temperatūrā. Ilgstoša uzglabāšana ārpus šī temperatūru diapazona var izraisīt paātrinātu reaģenta reaģētspējas zudumu. Ir veikti šī reaģenta transportēšanas stabilitātes pētījumi 37°C un -25°C temperatūrā, kā aprakstīts dokumentā BS EN ISO 23640:2015.

PARAUGU SAVĀKŠANA UN SAGATAVOŠANA

Asins paraugus var savākt EDTA, citrāta, CPDA antikoagulantos vai kā sarecējušu paraugu. Paraugi jāpārbauda iespējami ātrāk pēc savākšanas. Ja ar testēšanu notiek aizkavēšanās, uzglabājiet paraugus 2-8°C temperatūrā. Testos nedrīkst izmantot paraugus ar spēcīgu hemolīzes vai mikrobu piesārņojumu. Asins paraugi, kam vērojamas līzes pazīmes, var sniegt nepārliecinātošus rezultātus. Pirms testu veikšanas ieteicams (taču nav būtiski) noskalot visus asins paraugus ar PBS vai izotonisko šķīdumu.

BRĪDINĀJUMI

- Reaģenti ir paredzēti izmantošanai tikai *in vitro* diagnostikā.
- Ja flakons ar reaģentu ir iekļūstis vai no tā notiek noplūde, nekavējoties likvidējiet tā saturu.
- Nelietojiet reaģentus pēc derīguma termiņa beigām (skatīt flakona etiķeti).
- Nelietojiet reaģentus, ja tajos ir nogulsnes.
- Rīkojoties ar reaģentiem jāvalkā aizsargapģērbs, piemēram, vienreizlietojamie cimdi un laboratorijas halāts.
- Reaģenti ir filtrēti caur 0,2 μm kapsulu, lai samazinātu bioloģisko piesārņojumu, taču netiek piegādāti sterili. Pēc flakona atvēršanas saturam jābūt dzīvotspējīgam līdz derīguma termiņa beigām, ja vien nav novērojama izteikta duļķainība, kas var liecināt, ka reaģents ir sabojājies vai piesārņots.

- Reaģenti satur < 0,1% nātrija azīda. Nātrija azīds var būt toksisks, ja to norij, un var reaģēt ar svina un vara caurulēm, veidojot sprādzienbīstamus metāla azīdus. Iznīcinot aizskalot ar lielu daudzumu ūdens.
- Neviens no zināmajiem testiem nevar garantēt, ka cilvēku vai dzīvnieku izcelsmes produktos nav nekādu infekcijas izraisītāju. Lietojot un iznīcinot katru flakonu un tā saturu, jāievēro piesardzība.

REAĢENTA IZNĪCINĀŠANA UN RĪCĪBA IZŠĻAKSTĪŠANĀS GADĪJUMĀ

Lai iegūtu informāciju par reaģenta iznīcināšanu un izšļakstīšanās vietas dekontamināciju, skatīt **materiālu drošības datu lapas**, kas pieejamas pēc pieprasījuma.

1. KONTROLE UN IETEIKUMI

- Līdztekus katrai testu partijai ieteicams veikt pozitīvu kontroles testu un negatīvu kontroles testu. Testi jāuzskata par nederīgiem, ja kontrole neuzrāda skaidrus rezultātus.
- Šie reaģenti nesatur makromolekulāros pastiprinātājus, tāpēc ir maz ticams, ka ar IgG pārklātiem eritrocītiem varētu notikt kļūdaini pozitīvas reakcijas.
- Testējot vāju A un B apakšgrupu (piem., Ax) asins paraugu, izmantojot priekšmetstikliņus, mikrotiuru plātes vai gēla kartītes, var notikt kļūdaini negatīvas vai vājas reakcijas. Vājas apakšgrupas ieteicams pārbaudīt atkārtoti, izmantojot mēģeņu metodi.
- Lai personām, kuras vecākas par sešiem mēnešiem, varētu apstiprināt ABO asins grupu, ABO asins grupu noteikšanas rezultāti jāapstiprina, testējot viņu asins serumu vai plazmu ar zināmiem A₁ un B grupas eritrocītiem.
- Ļaujiet reaģentam pirms lietošanas sasilt līdz istabas temperatūrai. Tiklīdz reaģents ir izmantots, ielieciet to atpakaļ glabātavā, kur ir 2-8°C temperatūra.
- Sadaļā “Ieteicamās metodes” norādītā viena tilpuma vienība ir aptuveni 50 μl, izmantojot komplektā iekļauto flakonu ar pipeti.
- Tikai pienācīgi apmācīts un kvalificēts personāls drīkst lietot reaģentus un interpretēt rezultātus, saskaņā ar tās valsts prasībām, kurā izmanto reaģentus.
- Lietotājam jānosaka reaģentu piemērotība izmantošanai ar citām metodēm.

NEPIECIEŠAMIE REAĢENTI UN MATERIĀLI

- Mērpipetes.
- Bio-Rad ID kartes (NaCl, enzīmu tests un aukstuma aglutinīni).
- Bio-Rad ID centrifūga.
- Bio-Rad ID CellStab vai ID atšķaidītājs 2.
- Ortho BioVue sistēmas kasetes (neitrāls).
- Ortho BioVue sistēmas centrifūga.
- Ortho 0,8% eritrocītu atšķaidītājs.
- Mikroskopa priekšmetstikliņi vai baltas kartītes.
- Aplikatora kociņi.
- Stikla mēģenes (10 x 75 mm vai 12 x 75 mm).
- Mēģeņu centrifūga.
- Validētas “U” iedobju mikroplates.
- Mikroplašu centrifūga.
- Plašu kratītājs.
- PBS šķīdums (pH 6,8–7,2) vai izotoniskais šķīdums (pH 6,5–7,5).
- Pozitīvi un negatīvi kontroles eritrocīti:
- Anti-A: A grupa (pozitīvs kontroles tests) un O grupa (negatīvs kontroles tests).
- Anti-B: B grupa (pozitīvs kontroles tests) un O grupa (negatīvs kontroles tests).
- Anti-A,B: A grupa un B grupa (pozitīvi kontroles testi) un O grupa (negatīvs kontroles tests).

IETEICAMĀS METODES

A. Mēģenes metode

- Sagatavojiet 2–3% eritrocītu suspensiju PBS vai izotoniskajā šķīdumā.
- Ievietojiet marķētā mēģenē: 1 tilpuma vienību Lorne Anti-ABO reaģenta un 1 tilpuma vienību eritrocītu suspensijas.
- Rūpīgi samaisiet un inkubējiet 1 minūti istabas temperatūrā.
- Centrifugējiet visas mēģenes 10 sekundes ar 1000 rcf (relatīvais centrālās spēks) vai atbilstošu alternatīvu laiku un spēku.
- Saudzīgi atkārtoti suspendējiet eritrocītu recekli un makroskopiski nolasiet aglutināciju.
- Visas mēģenes ar negatīvu vai apšaubāmu rezultātu nepieciešams inkubēt 15 minūtes istabas temperatūrā.
- Pēc inkubācijas atkārtotiet 4. un 5. soli.

B. Bio-Rad-ID metode (NaCl, enzīmu tests un aukstuma aglutinīnu kartītes)

1. Sagatavojiet 0,8% eritrocītu suspensiju ID-CellStab vai ID šķīdinātājā 2.
2. Noņemiet alumīnija plēvīti no tik daudz mikrostobriņiem, cik nepieciešams.
3. Ievietojiet atbilstošā mikromēģenē: 50µl eritrocītu suspensijas un 25µl Lorne Anti-ABO reaģenta.
4. Centrifugējiet ID-kartīti(-es) Bio-Rad gēla kartīšu centrifūgā.
5. Makroskopiski nolasiēt aglutinācijas rezultātus.

C. Ortho BioVue metode (neitrālas kasetes)

1. Sagatavojiet 0,8% eritrocītu suspensijas 0,8% Ortho Red Cell Diluent.
2. Noņemiet alumīnija plēvīti no tik daudz reakcijas kamerām, cik nepieciešams.
3. Ievietojiet atbilstošā reakcijas kamerā: 50µl eritrocītu suspensijas un 40µl Lorne Anti-ABO reaģenta.
4. Centrifugējiet kaseti(-es) Ortho BioVue System Centrifuge.
5. Makroskopiski nolasiēt aglutinācijas rezultātus.

D. Mikroplates metode, izmantojot "U" iedobes

1. Sagatavojiet 2–3% eritrocītu suspensiju PBS vai izotoniskajā šķīdumā.
2. Ievietojiet atbilstošā iedobē: 1 tilpuma vienību Lorne Anti-ABO reaģenta un 1 tilpuma vienību eritrocītu suspensijas.
3. Kārtīgi samaisiet, vēlams, izmantojot mikroplašu kratītāju, uzmanoties, lai nenotiktu piesārņojums starp iedobēm.
4. Inkubējiet 15 minūtes istabas temperatūrā (laiks atkarīgs no lietotāja).
5. Centrifugējiet mikroplati 1 minūti ar 140 rcf (relatīvais centrālās spēks) vai atbilstošu alternatīvu laiku un spēku.
6. Atkārtoti suspendējiet eritrocītu recekli, izmantojot kontrolētu maisīšanu uz mikroplašu kratītāja.
7. Rezultātus nolasiēt makroskopiski vai izmantojot apstiprinātu automātisku lasītāju.
8. Visas vājās reakcijas ir jāatkārto, izmantojot mēģeņu metodi.

E. Priekšmetstikliņu metode

1. Sagatavojiet 35–45% eritrocītu suspensiju serumā, plazmā, PBS vai izotoniskajā šķīdumā, vai arī izmantojiet antikoagulētu pilnasiņu paraugu (tā plazmā).
2. Novietojiet uz marķēta priekšmetstikliņa vai kartītes: 1 tilpuma vienību Lorne Anti-ABO reaģenta un 1 tilpuma vienību eritrocītu suspensijas.
3. Izmantojot tīru aplikatora kociņu, sajauciet reaģentu un eritrocītus aptuveni 20 x 40 mm lielā laukumā.
4. 30 sekundes lēnām pašūpoiet priekšmetstikliņu, pēc tam 1 minūti ik pa brīdim samaisiet, nodrošinot, lai priekšmetstikliņš būtu istabas temperatūrā.
5. Pēc 1 minūtes difūzā gaismā makroskopiski nolasiēt rezultātus un kļūdaini neuzsveriet fibrīna pavedienus kā aglutināciju.
6. Visas vājās reakcijas ir jāatkārto, izmantojot mēģeņu metodi.

TESTA REZULTĀTU INTERPRETĒŠANA

1. **Pozitīvs:** eritrocītu aglutinācija nozīmē, ka testa rezultāts ir pozitīvs, un saskaņā ar pieļaujamajiem testa procedūras ierobežojumiem norāda, ka eritrocītos ir atbilstošs ABO antigēns.
2. **Negatīvs:** ja eritrocītu aglutinācija nenotiek, tas nozīmē, ka testa rezultāts ir negatīvs, un saskaņā ar pieļaujamajiem testa procedūras ierobežojumiem norāda, ka eritrocītos nav atbilstoša ABO antigēna.
3. **Novirzes:** ja rezultāti, kas iegūti reversajā grupā, neatbilst tiešajai grupai, nepieciešami turpmāki izmeklējumi.

REAKCIJU STABILITĀTE

1. Nolasiēt mēģenes un mikroplates testu rezultātus uzreiz pēc centrifugēšanas.
2. Priekšmetstikliņu testu rezultāti jānolasa ne vairāk kā pēc vienas minūtes, lai nodrošinātu specifiku un nepieļautu iespēju, ka izžuvaša reaģenta dēļ kļūdaini negatīvs rezultāts tiek interpretēts kā pozitīvs.
3. To testu rezultāti, kas veikti, neievērojot ieteicamās temperatūras, jāinterpretē piesardzīgi.

IEROBEŽOJUMI

1. ABO antigēni dzimšanas laikā nav pilnībā attīstījušies, tādēļ ar nabassaites vai jaundzimušo paraugiem var notikt vājākas reakcijas.
2. Ja izmanto monoklonālu Anti-A,B, testējot vāju A un B apakšgrupu (piem., Ax) asins paraugu, izmantojot mikrotirtu plates vai gēla kartītes, var notikt kļūdaini negatīvas vai vājas reakcijas. Vājas apakšgrupas ieteicams pārbaudīt atkārtoti, izmantojot mēģeņu metodi.
3. Lorne monoklonālais Anti-A un monoklonālais Anti-B reaģents nav apstiprināts, lai konstatētu attiecīgi Ax un A3 vai Bx un B3 antigēnus, tāpēc mēs neapgalvojam, ka monoklonālais Anti-A vai Anti-B reaģents reaģē ar šīm vājajām A un B apakšgrupām.
4. Uzglabātas asinis var reaģēt vājāk, nekā svaigas asinis.
5. Kļūdaini pozitīvus vai kļūdaini negatīvus rezultātus var izraisīt arī:
 - testējamo materiālu piesārņošanās;
 - nepareiza uzglabāšana, eritrocītu koncentrācija, inkubācijas laiks vai temperatūra;
 - nepareiza vai pārmērīga centrifugēšana;
 - ieteicamo metožu neievērošana;
 - nabassaites paraugi, kas piesārņoti ar Vartona želeju.

ĪPAŠI VEIKTSPĒJAS RAKSTURLIELUMI

1. Pirms izplatīšanas katra Lorne Anti-ABO monoklonālā reaģenta partija tika pārbaudīta, izmantojot šajos lietošanas norādījumos minētās ieteicamās metodes. Testi tika veikti saskaņā ar pārbaudes prasībām, kas noteiktas "Vadlīnijās par asins pārliešanas pakalpojumiem Apvienotajā Karalistē"³ un "Kopējās tehniskajās specifikācijās".
2. Monoklonālo antiviēlu avota specifika tiek pierādīta, izmantojot tādu eritrocītu paneli, kam ir negatīvs antigēns.
3. Reģenta stiprums ir pārbaudīts, ņemot vērā šādu minimālo stipruma atsaucē standartiem, kas iegūti no Nacionālā bioloģisko standartu un kontroles institūta (NIBSC):
 - Anti-A atsaucē standarts 03/188 un/vai
 - Anti-B atsaucē standarts 03/164.
4. Lorne Anti-B nereaģē ar "legūtiem-B" eritrocītiem.
5. Lorne monoklonālie ABO reaģenti neatklāj slēptos antigēnus, piemēram, T, Tn vai Cad.
6. Reaģentu kvalitātes kontrole tika veikta, izmantojot eritrocītus ar fenotīpiem, kurus apstiprinājis Apvienotās Karalistes asins pārliešanas centrs un kuri pirms lietošanas tika skaloti ar PBS vai izotonisko šķīdumu.

ATRUNA

1. Izmantojot jebkuru citu metodi, kas nav minēts sadaļā "Ieteicamās metodes" lietotājs pats ir atbildīgs par reaģenta darbību.
2. Jebkādas novirzes no **ieteicamajām metodēm** jāapstiprina pirms to izmantošanas⁵.

BIBLIOGRĀFIJA

1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 181.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6.
3. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
4. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
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.

PIEEJAMIE REAĢENTU TILPUMI

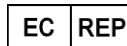
	Flakona izmērs	Kataloga numurs	Testi katrā flakonā
Anti-A monoklonāls	10 ml	600010	200
	1000 ml	600000*	20 000
	5000 ml	600000X5*	100 000
Anti-B monoklonāls	10 ml	610010	200
	1000 ml	610000*	20 000
	5000 ml	610000X5*	100 000
Anti-A,B monoklonāls	10 ml	620010	200
	1000 ml	620000*	20 000
	5000 ml	620000X5*	100 000

*Šis tilpums paredzēts tikai izmantošanai turpmākā ražošanā (For Further Manufacturing Use (FFMU)), tādēļ tam nav CE marķējuma.



"Lorne Laboratories Limited"

Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate
Danehill
Lower Earley
Berkshire, RG6 4UT
Apvienotā Karaliste
Tālr.: +44 (0) 118 921 2264
Fakss: +44 (0) 118 986 4518
E-pasts: info@lornelabs.com



Advena Ltd. Tower Business Centre, 2nd Flr.,
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta