

INIMISE VEREGRUPI MÄÄRAMISE REAKTIIVID KASUTUSJUHISED

Anti-Fy^b POLÜKLONAALNE: kaudse antiglobuliintesti meetodite jaoks

KOKKUVÕTE

Fy^a ja Fy^b antigeenid avastati vastavalt 1950. ja 1951. aastal. Anti-Fy^b korral on täheldatud seost nii vahetu kui ka hilise hemolüütilise transfusioonireaktsiooni kui ka vastsündinute hemolüütilise tõvega.

Anti-Fy ^a	Anti-Fy ^b	Fenotüüp	Heledanahalised ¹	Afroameeriklased ¹
+	0	Fy(a+b-)	17%	9%
0	+	Fy(a-b+)	34%	22%
+	+	Fy(a+b+)	49%	1%
0	0	Fy(a-b-)	Harv	68

KAVANDATUD EESMÄRK

Tegu on veregrupi määramise reaktiividega, mille kasutuseesmärk on Fy^b antigeeni (FY2) erütrotsüütidel olemasolu või puudumise kvalitatiivne määramine vere doonoritel või vereülekannet vajavatel patsientidel. Analüüsimisel peab järgima käesolevas kasutusjuhendis soovitatud meetodeid.

KASUTUSPÕHIMÕTE

Reaktiiv sisaldab inimese erütrotsüütidel oleva Fy^b antigeeni vastaseid antikehi ja põhjustab vastavat Duffy b antigeeni kandvate inimese erütrotsüütide kaudset aglutinatsiooni (kokkukleepumist) analüüsi antiglobuliinifaasis. Aglutinatsiooni (kokkukleepumise) puudumine viitab üldjuhul vastava Duffy b antigeeni puudumisele (vt jaotist „Piirangud“).

REAKTIIVID

Ettevõtte Lorne inimese anti-Fy^b veregrupi määramise reaktiiv on valmistatud inimese erütrotsüütidele, mida on lahjendatud makromolekulaarseid potentsiaatoreid (1,9 g%) ja veise albumiini sisaldava naatriumkloriidi lahusega. Reaktiivid ei sisalda kantserogeenide, mutageenide ega reproduktiivtoksilisi (CMR) aineid, endokriinsüsteemi häirivaid aineid ega aineid, mis võiksid põhjustada kasutaja sensibiliseerumist või allergilist reaktsiooni, ega pole sellistest ainetest valmistatud. Iga reaktiivi lahjendus on juba tarnimisel optimaalne kasutamiseks kõigi allkirjeldatud soovitatud meetoditega ilma edasise lahjendamise ja lisamise vajaduseta. Partii viitenumbrit ja aegumiskuupäeva vt **viaali sildid**.

SÄILITAMINE

Reaktiiviviale tuleb pärast vastuvõtmist hoida temperatuuril 2–8 °C. Pikemaajalisel säilitamisel sellest vahemikust välja jäävatel temperatuuridel võib reaktiivi reaktiivsuse langus kiireneeda. Selle reaktiiviga on tehtud transportimisel stabiilsiks jäämise uuringud temperatuuridel 37 °C ja –25 °C nii, nagu on kirjeldatud dokumendis BS EN ISO 23640:2015.

PROOVI VÕTMINE JA ETTEVALMISTAMINE

Vereproove võib võtta antikoagulantidega (EDTA, tsitraat või CPDA) kaetud katsetesse või hüübunud proovidena. Neid proove tuleb analüüsida võimalikult kiiresti pärast proovivõttu. Kui analüüsimine lükkub edasi, hoidke proove temperatuuril 2–8 °C. Analüüsimiseks ei tohi kasutada proove, milles on tekkinud nähtav hemolüüs või mis on mikroobidega saastunud. Nähtava hemolüüsi vereproovidega saadud tulemused ei ole usaldusväärsed. Enne analüüsimist soovitatatakse kõiki vereproove pesta PBS-lahuse või isotoonilise füsioloogilise lahusega, kuid pesemine pole hädavajalik.

ETTEVAATUSABINÕUD

- Reaktiivid on ette nähtud vaid *in vitro* diagnostiliseks kasutuseks.
- Kui reaktiivi vialal on möranenud või leikib, visake selle sisu viivitamatult ära.
- Ärge kasutage reaktiive, mille aegumiskuupäev on möödunud (vt **viaali silti**).
- Ärge kasutage reaktiive, kui neis on sadet.
- Reaktiivide käsitsemise ajal tuleb kanda katseriietust, näiteks ühekordseid kindaid ja laborikilti.
- Reaktiive on biokoormuse vähendamiseks läbi 0,2 µm kapsli filtreeritud, kuid need ei ole tarnimisel steriilsed. Pärast viala avamist peaks sisu püsima kasutuskõlblikuna kuni aegumiskuupäevani.
- Plasma, millest see reaktiiv on toodetud, ei ole enam delipideeritud, mistõttu on reaktiivi hõngus normaalne.
- Reaktiivid sisaldavad < 0,1% naatriumasidi. Naatriumasidid võivad olla allaneelamisel toksilised ja võib reageerida torustikus leiduva plii ja vasega, moodustades plahvatusohtlikke metalliase. Pärast reaktiivi äraviskamist uhtke torustikku rohke veega.
- Reaktiivide tootmiseks kasutatud materjal analüüsi tootmispaigas heakskiidetud mikrobioloogiliste analüüsides ja leiti, et need on HIV 1+2 ja HCV antikehade ning HBSAg suhtes negatiivsed.
- Ühegi teadaoleva analüüsiga ei saa garanteerida, et inim- või loomset päritolu tooted on nakkustekitajatest täielikult vabad. Iga viala ja selle sisu kasutamise ning äraviskamise ajal tuleb olla ettevaatlik.

REAKTIIVI ÄRAVISKAMINE JA MAHALOKSUNUD MATERJALI KORISTAMINE

Teavet reaktiivi äraviskamise ja mahaloksumise korral piirkonna dekontamineerimise kohta vt **ohutuskaartidelt**, mis on ettevõttelt nõudmisel saadaval.

KONTROLLID JA NÕUANDED

- Iga analüüsipartiga paralleelselt soovitatatakse testida nii positiivset (ideaalselt heterosügootsed rakud) kui ka negatiivset kontrolli. Kui kontrollide tulemused pole ootuspärased, tuleb analüüsid lugeda kehtetuteks.
- Antiglobuliinimeetoditel saadud tulemusi tohib lugeda kehtivaks vaid siis, kui kõik negatiivsed analüüsid reageerivad IgG-le sensibiliseeritud erütrotsüütidega positiivselt.
- Reaktiivid sisaldavad makromolekulaarseid potentsiaatoreid, mis võivad põhjustada IgG-ga sensibiliseeritud rakkude korral valepositiivseid reaktsioone. Seetõttu soovitatatakse testida patsiendi rakke patsiendi enda plasmaga, et neid valepositiivsete reaktsioonide suhtes hinnata.
- Enamik proteolüütilisi ensüüme hävitavad Fy^b reaktiivsuse.
- Enne kasutamist laske reaktiivil toatemperatuurini soojeneda. Kohe pärast reaktiivi kasutamist pange see taas temperatuurile 2–8 °C hoiule.
- Jaotises „**Katsuti meetod**“ on ühe osa maht ligikaudu 50 µl, kui kasutatakse kaasasolevat vialipipetti.
- Reaktiive tohivad kasutada ja tulemusi tõlgendada vaid koolitatud ja kvalifitseeritud töötajad, kes järgivad kehtivaid nõudeid riigis, kus reaktiive kasutatakse.
- Muu meetodi kasutamise korral peab kasutaja veenduma, et reaktiivid selleks sobivad.

REAKTIIVID JA VAJALIKUD MATERJALID, MIDA POLE KAASAS

Katsuti meetod

- Inimesevastane globuliin, st Lorne AHG Elite (katalooginumber 435010 või 415010) või inimesevastane IgG, st Lorne Anti-Human IgG (katalooginumber 402010 või 401010)
- Coombsi rakupesur
- Klaasist katsutid (10 x 75 mm või 12 x 75 mm)
- PBS-lahus (pH 6,8–7,2) või isotooniline füsioloogiline lahus (pH 6,5–7,5)
- IgG-ga sensibiliseeritud erütrotsüüdid, st Lorne Coombs Control Cells (katalooginumber 970010)
- Positiivse (ideaalselt heterosügootsed) ja negatiivse kontrolli erütrotsüüdid
- Veevann või kuiva kuumusega inkubaator, mis on tasakaalustatud temperatuuril 37 °C ± 2 °C.

Bio-Rad-ID mikrotüpeerimismeetod

- Kaardid Bio-Rad ID (LISS/Coombs või Coombs Anti-IgG)
- Tsentrifuug Bio-Rad ID
- Lahjendi Bio-Rad ID-CellStab või ID-Diluent 2
- Inkubaator Bio-Rad ID-Incubator, mis on tasakaalustatud temperatuuril 37 °C ± 2 °C

Ortho BioVue tüpeerimismeetod

- Ortho BioVue süsteemi kassetid (AHG Polyspecific või AHG Anti-IgG)
- Ortho BioVue süsteemi tsentrifuug
- Ortho BioVue süsteemi soojendusplakk, mis on tasakaalustatud temperatuuril 37 °C ± 2 °C
- Lahjendi Ortho 0.8% Red Cell Diluent

Kõik meetodid

- Volumetriselised pipetid

SOOVITATUD MEETODID

A. Kaudne antiglobuliintest (Indirect Antiglobulin Technique, IAT)

- Valmistage ette erütrotsüütide 2–3% suspensioon PBS-is või isotoonilises füsioloogilises lahuses.
- Asetage märgistatud katsutisse 1 osa ettevõtte Lorne reaktiivi ja 1 osa erütrotsüütide suspensiooni.
- Segage põhjalikult ja inkubeerige 15 minutit temperatuuril 37 °C.
- Peske erütrotsüüte vähemalt 3 korda PBS-i või isotoonilise füsioloogilise lahusega, dekanteerides lahuse kindlasti pesukordade vahel ja resuspendeerides iga erütrotsüütide pelleti pärast iga pesukorda. Pärast viimast pesukorda dekanteerige füsioloogiline lahus täielikult.
- Lisake igale kuivale rakupelletile 2 osa reaktiivi AHG Elite või inimesevastast IgG-d.
- Segage põhjalikult ja tsentrifuugige kõiki katsuteid 20 sekundit kiirusel 1000 RCF või kasutage alternatiivset sobivat aega ja jõudu.

- Resuspendeerige erütrotsüütide pellet ettevaatlikult ja hinnake seda makroskoopiliselt aglutinatsiooni suhtes.
- Kontrollige kõigi negatiivsete reaktsioonide kehtivust IgG-ga sensibilliseeritud erütrotsüütide abil.

B. Bio-Rad-ID meetod (LISS-i/Coombsi kaart)

- Valmistage ette erütrotsüütide 0,8% suspensioon lahjendis ID-CellStab või ID-Diluent 2.
- Eemaldage foolium kas LISS-i/Coombsi või Coombsi Anti-IgG ID-kaartidel nii paljudelt mikrokatsutelt kui vaja.
- Asetage sobivasse mikrokatsutisse 50 µl erütrotsüütide 0,8% suspensiooni ja 25 µl ettevõtte Lorne reaktiivi.
- Inkubeerige ID-kaarti (-kaarte) 15 minutit temperatuuril 37 °C.
- Tsentrifugeerige ID-kaart (-kaardid) ettevõtte Bio-Rad ID-tsentrifugaatoris.
- Hinnake makroskoopiliselt aglutinatsiooni suhtes.

C. Ortho BioVue meetod (AHG kassett)

- Valmistage ette erütrotsüütide 0,8% suspensioon 0,8% lahjendis Ortho Red Cell Diluent.
- Eemaldage foolium kas AHG Polyspecific'u või AHG Anti-IgG kassetidelt nii paljudelt reaktsioonikambritelt kui vaja.
- Asetage sobivasse reaktsioonikambrisse 50 µl erütrotsüütide suspensiooni ja 40 µl ettevõtte Lorne reaktiivi.
- Inkubeerige kassetti (kassette) 15 minutit temperatuuril 37 °C.
- Tsentrifugeerige kassetti (kassette) Ortho BioVue süsteemi tsentrifuugis.
- Hinnake makroskoopiliselt aglutinatsiooni suhtes.

ANALÜÜSITULEMUSTE TÕLGENDAMINE

- Positiivne:** erütrotsüütide aglutinatsioon tähistab positiivset analüüsitulemust ja vastava Duffy antigeeni olemasolu erütrotsüütidel, arvestades analüüsiprotseduuri tunnustatud piiranguid.
- Negatiivne:** erütrotsüütide aglutinatsiooni puudumine tähistab negatiivset analüüsitulemust ja vastava Duffy antigeeni puudumist erütrotsüütidel, arvestades analüüsiprotseduuri tunnustatud piiranguid.

REAKTSIOONIDE STABIILSUS

- Pesemisetapid tuleb läbi teha katkestusteta ja analüüse tuleb tsentrifuugida ning hinnata viivitamatult pärast reaktiivi lisamist. Viivitamine võib viia antigeeni-antikeha komplekside eraldumiseni, põhjustades valenegatiivseid või nõrgalt positiivseid tulemusi.
- Soovitatud** temperatuuridest erineval temperatuuril tehtud analüüside tulemuste tõlgendamisel peab olema ettevaatlik.

PIIRANGUD

- Erütrotsüüte, mille DAT on IgG-katte tõttu positiivne, pole võimalik **kaudse antiglobuliin** testiga tüpeerida.
- Reaktiiv sisaldab makromolekulaarseid potentsiaatoreid, mis võivad põhjustada IgG-ga sensibilliseeritud rakkude korral valepositiivseid reaktsioone. Seetõttu soovivatatakse testida patsiendi rakke patsiendi enda plasmaga, et neid valepositiivsete reaktsioonide suhtes hinnata.
- Veregrupi määramise antiseerumis võivad ootamatute kontaminantidena tekkida harvaesinevate antigeenide vastased antikehad. Lisaks võivad teatud antigeenid (nt Bg, Sd^a) olla erütrotsüütidel eksalteeritud olekus. Need nähtused võivad harvadel juhtudel põhjustada valepositiivseid reaktsioone, mis võivad tekkida enam kui ühes kindla spetsiifilisusega partiis.
- Kõigi saastavate antikehade puudumist pole võimalik garanteerida, kuna harvaesinevaid või eksalteeritud antigeene kandvad erütrotsüüdid pole analüüsimiseks alati saadaval.
- Ja vastupidiselt võib teatud veregruppide antigeenide ekspressiooni mahasurumine või vähenemine anda valenegatiivseid tulemusi, mistõttu tuleb analüüsitulemuste alusel genotüüpide määramisel olla alati ettevaatlik.
- IgG-ga sensibilliseerunud rakkude analüüsimisel võib täheldada valepositiivset aglutinatsiooni.
- Reaktiivis leiduvad makromolekulaarsed potentsiaatorid võivad põhjustada valepositiivseid tulemusi.
- Valepositiivsed või valenegatiivsed tulemused võivad olla põhjustatud ka järgmisest.
 - Analüüsimaterjalide saastumine
 - Väär säilitamine, rakkude kontsentratsioon, inkubeerimisaeg või temperatuur
 - Väär või liigne tsentrifugeerimine
 - Kõrvalekalded soovitatud meetoditest

SPETSIIFILISED TOIMIVUSNÄITAJAD

- Enne müügile laskmist analüüsiti iga reaktiivide partiid käesolevas kasutusjuhendis loetletud soovitatud analüüsimeetoditega. Analüüsid vastasid dokumendi „Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom“ (Vereülekande teenuste suunised Ühendkuningriigis) uusimas versioonis/väljaandes esitatud analüüsiohetele.
- Saastavate antikehade olemasolu antigeenide vastu, mille levimus juhuslikus populatsioonis on 1% või enam, on välistatud kas vastava antigeeni suhtes negatiivseid erütrotsüüte kasutatavate analüüside või häirivate ainete eemaldamiseks eelnevalt absorbeeritud reaktiive kasutatavate analüüside abil.
- Antikehasid antigeenide Xg^a, Do^a, Yt^a, Co^b, Wt^a, Bg^a ja V^w vastu ei pruugi olla spetsiifilisuse tavakatsete käigus välistatud ning nende tuvastamine sõltub vastavate katserakkude kättesaadavusest. Sama võib öelda antigeenide Yt^b, M^o ja V^w ning teiste harvaesinevate antigeenide suhtes, mida ei pruugita spetsiifilisuse tavakatsete käigus välistada ja mille tuvastamine sõltub vastavate katserakkude kättesaadavusest.

- Reaktiivide kvaliteedikontrolliks kasutati erütrotsüüte, mille fenotüübid oli verifitseerinud Ühendkuningriigi vereülekandekeskus ja mida oli enne kasutamist pestud PBS-i või isotoonilise füsioloogilise lahusega.

LAHTIÜTLUS

- Kasutaja vastutab reaktiivide toimivuse eest juhul, kui kasutatakse mis tahes meetodit peale jaotises „Soovitatud meetodid“ kirjeldatute.
- Mis tahes kõrvalekalded jaotises „Soovitatud meetodid“ kirjeldatust tuleb enne kasutamist valideerida⁵.

BIBLIOGRAAFIA

- Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; lk 183.
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; 6. peatükk.
- AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
- 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.

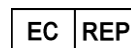
REAKTIIVIDE SAADAVAL SUURUSED

	Viaali suurus	Katalooginumber	Analüüse viaali kohta
Anti-Fy ^b polüklooraalne	2 ml	317002	40
	1000 ml	317000*	20 000

*See suurus on mõeldud kasutamiseks edasisel tootmisel (For Further Manufacturing Use, FFMU) ja seetõttu ilma CE-märgiseta.



Lorne Laboratories Limited
Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate
Danehill
Lower Earley
Berkshire, RG6 4UT
Ühendkuningriik
Tel: +44 (0) 11 8921 2264
Faks: +44 (0) 11 8986 4518
E-post: info@lornelabs.com



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