



## MONOKLONAALSED VEREGRUPI MÄÄRAMISE REAKTIIVID KASUTUSJUHISED

### Anti-Jk<sup>a</sup> ja anti-Jk<sup>b</sup> monoklonaalne: katsuti meetodi jaoks

#### KOKKUVÖTE

Jk<sup>a</sup> ja Jk<sup>b</sup> antigeenid avastati vastavalt 1951. ja 1953. aastal. Nii anti-Jk<sup>a</sup> kui ka anti-Jk<sup>b</sup> antikehadega on võimalik näidata annustamist ja need on tuntud oma lühiajalisuse poolest: antikehade tiitrid tõusevad pärast stimulatsiooni, aga langevad kiiresti ja sageli tuvastamatule tasemele. Kiddi süsteemi antikehade korral on täheldatud seost nii hilise ja vahetu hemolüütilise transfusioonireaktsiooni kui ka vastsündinute hemolüütilise tõvega.

Anti-Jk <sup>a</sup>	Anti-Jk <sup>b</sup>	Fenotüüp	Heledanahalised <sup>1</sup>	Afroameeriklased <sup>1</sup>
+	0	Jk(a+b-)	26,3%	51,1%
+	+	Jk(a+b+)	50,3%	40,8%
0	+	Jk(a-b+)	23,4%	8,1%
0	0	Jk(a-b-)	Harv	Harv

#### KAVANDATUD EESMÄRK

Kiddi reaktiivid on veregrupi määramise reaktiivid, mille kasutuseesmärk on Jk<sup>a</sup> or Jk<sup>b</sup> antigeenide erütrotsüütidel olemasolu või puudumise kvalitatiivne määramine veredoonoritel või vereülekannet vajavatel patsientidel. Analüüsimisel peab järgima käesolevas kasutusjuhendis soovitatud meetodeid.

#### KASUTUSPÕHIMÕTE

Reaktiivid sisaldavad antikehasid inimese punaliblede Jk<sup>a</sup> või Jk<sup>b</sup> antigeenide vastu ning põhjustavad Jk<sup>a</sup> ja/või Jk<sup>b</sup> antigeeni kandvate inimese punaliblede otsest aglutinatsiooni (kokkukleepumist). Aglutinatsiooni (kokkukleepumise) puudumise viitab Jk<sup>a</sup> ja/või Jk<sup>b</sup> antigeeni puudumisele inimese punalibledes (vt jaotist „Piirangud“).

#### REAKTIIVID

Ettevõtte Lorne monoklonaalsed anti-Jk<sup>a</sup> ja anti-Jk<sup>b</sup> veregrupi määramise reaktiivid sisaldavad inimese monoklonaalseid IgM-i antikehi, mida on lahjendatud naatriumkloriidi ja veise albumini sisaldava fosfaatpuhvriga. Anti-Jk<sup>a</sup> sisaldab rakuliini P3HT7 kuuluvat antikeha ja anti-Jk<sup>b</sup> sisaldab rakuliini P3143 kuuluvat antikeha. Reaktiivid ei sisalda kantserogeenide, mutageenide ega reproduktiivtoksiinide (CMR) aineid, endokriinsüsteemi häirivaid aineid ega aineid, mis võiksid põhjustada kasutaja sensibiiliseerumist või allergilist reaktsiooni, ega pole sellistest ainetest valmistatud. Iga reaktiivi lahjendus on juba tarnimisel optimaalne kasutamiseks kõigi allkirjeldatud soovitud meetoditega ilma edasise lahjendamise ja lisamise vajaduseta. Partii viitenumbrit ja aegumiskuupäeva vt **viaali sildilt**.

#### 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 stabiilseks 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 antikoagulandiga (EDTA, tsitraat või CPDA) kaetud katsutitesse või hüübinud 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 viaal on möranenud või lekib, 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 kaitseriietust, näiteks ühekordseid kindaid ja laborikittit.
- Reaktiive on biokoormuse vähendamiseks läbi 0,2 µm kapsli filtreeritud, kuid need ei ole tarnimisel steriilsed. Pärast viaali avamist peaks sisu püsima kasutuskõlblikuna kuni aegumiskuupäevani.
- Reaktiivid sisaldavad < 0,1% naatriumasiidi. Naatriumasiid võib olla allaneelamisel toksiline ja võib reageerida torustikus leiduva plii ja vasega, moodustades plahvatusohtlikke metalliaside. Pärast reaktiivi äraviskamist uhtke torustikku rohke veega.
- Reaktiivide tootmiseks kasutatud materjale analüüsiti tootmispaigas heakskiidetud mikrobioloogiliste analüüsidega 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 viaali 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 analüüsipartiiga paralleelselt soovitatatakse testida nii positiivset (ideaalselt heterosügootsed rakud) kui ka negatiivset kontrolli. Kui kontrollide tulemused pole ootuspärased, tuleb analüüsid lugeda kehtetuteks.
- Sellistelt patsientidelt pärinevate erütrotsüütide tüpeerimisel, kellel on diagnoositud haigus, mis põhjustab erütrotsüütide kattumist antikehade või muude valkudega (nt HDN, AIHA), tuleb kindlasti testida patsiendi erütrotsüüte ka ettevõtte Lorne negatiivse kontrolliga (katalooginumber 650010). Kui erütrotsüüdid ka ettevõtte Lorne negatiivse kontrolliga testimisel aglutineeruvad, tuleb analüüsid lugeda kehtetuteks.
- 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 viaalipipetti.
- 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

- Klaasist katsutid (10 x 75 mm või 12 x 75 mm)
- Katsutite tsentrifuug
- PBS-lahus (pH 6,8–7,2) või isotooniline füsioloogiline lahus (pH 6,5–7,5)
- Positiivse (ideaalselt heterosügootsed) ja negatiivse kontrolli erütrotsüüdid
- Volumetriilsed pipetid

#### SOOVITATUD MEETOD

##### A. Katsuti meetod

- Valmistage ette analüüsivate erütrotsüütide 2–3% suspensioon PBS-is või isotoonilises füsioloogilises lahuses (vt jaotise „**Piirangud**“ 3. punkti).
- Asetage märgistatud katsutisse 1 osa ettevõtte Lorne reaktiivi ja 1 osa erütrotsüütide suspensiooni.
- Segage põhjalikult ja inkubeerige 5 minutit toatemperatuuril.
- Tsentrifugeerige kõiki katsuteid 20 sekundit kiirusel 1000 RCF või kasutage alternatiivset sobivat aega ja jõudu.
- Resuspendeerige erütrotsüütide pellet ettevaatlikult ja hinnake seda makroskoopiliselt aglutinatsiooni suhtes.

#### ANALÜÜSITULEMUSTE TÕLGENDAMINE

- Positiivne:** analüüsivate erütrotsüütide aglutinatsioon tähistab positiivset analüüsitulemust ja vastava Kiddi antigeeni olemasolu analüüsivate erütrotsüütidel, arvestades analüüsiprotseduuri tunnustatud piiranguid.
- Negatiivne:** analüüsivate erütrotsüütide aglutinatsiooni puudumine tähistab negatiivset analüüsitulemust ja vastava Kiddi antigeeni puudumist analüüsivate erütrotsüütidel, arvestades analüüsiprotseduuri tunnustatud piiranguid.
- Selliste rakkude analüüsitulemused, mis aglutineeruvad ka reaktiivi negatiivse kontrolli kasutamisel, tuleb kõrvale jätta, kuna sellisel juhul on aglutinatsiooni tõenäoline põhjus reaktiivis leiduvate makromolekulaarsete potentsiaatorite mõju sensibiiliseerunud rakkudele.

#### REAKTSIOONIDE STABIILSUS

- Katsutitega tehtud analüüse tuleb hinnata viivitamatult pärast tsentrifugeerimist. Viivitamine võib viia antigeeni-antikeha komplekside eraldumiseni, põhjustades valenegatiivseid või nõrgalt positiivseid reaktsioone.
- Soovitatud** temperatuuridest erineval temperatuuril tehtud analüüside tulemuste tõlgendamisel peab olema ettevaatlik.

#### PIIRANGUD

- Ja vastupidiselt võib teatud veregruppide antigeenide ekspresiooni mahasurumine või vähenemine anda valenegatiivseid reaktsioone, mistõttu tuleb analüüsitulemuste alusel fenotüüpide määramisel olla alati ettevaatlik.

- Ettevõtte Lorne anti-Kiddi monoklonaalsed reaktiivid ei sobi kasutamiseks ettevõtete Bio-Rad või Ortho BioVue geelikaartidega.
- Ettevõtte Lorne anti-Jk<sup>b</sup> monoklonaalse reaktiivi korral tähendati valepositiivseid reaktsioone, kui analüüsiti vähese ioontugevusega lahjendites (nagu LISS, Ortho 0.8% Red Cell Diluent, Bio-Rad'i ID-CellStab ja Bio-Rad'i ID-Diluent 2) suspendeeritud erütrotsüüte. Vähese ioontugevusega lahjendis suspendeeritud erütrotsüütide tüpeerimisel peske rakke enne PBS-is / isotoonilises füsioloogilises lahuses või muus tavalise ioontugevusega lahjendis uuesti suspendeerimist vähemalt kaks korda PBS-iga, et kõik eelmise lahjendi jäägid kõrvaldada.
- Ettevõtte Lorne anti-Kiddi monoklonaalsed reaktiivid ei sobi kasutamiseks ensüümidega töödeldud rakkude ega kaudsete antiglobuliinestidega.
- Valepositiivsed või valenegatiivsed tulemused võivad olla põhjustatud ka järgmisest.
  - Analüüsimaterjalide saastumine
  - Väär säilitamine, rakkude kontsentratsioon, inkubeerimisaeg või temperatuur
  - Väär või liigne tsentrifugimine
  - Kõrvalekaldeid 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“ (Vereülekandeteenuste suunised Ühendkuningriigis) uusimas versioonis/väljaandes esitatud analüüsinoüetele.
- Reaktiivide toimivusnäitajad on järgmised.
  - Anti-Jk<sup>a</sup> reaktiiv → tundlikkus: 100%, spetsiifilisus: 100%
  - Anti-Jk<sup>b</sup> reaktiiv → tundlikkus: 100%, spetsiifilisus: 100%
- 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 meetod**“ kirjeldatute.
- Mis tahes kõrvalekaldeid jaotises „**Soovitatud meetod**“ kirjeldatust tuleb enne kasutamist valideerida<sup>5</sup>.

## BIBLIOGRAAFIA

- Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; lk 181.
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; 6. peatükk.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6<sup>th</sup> Edition 2002. The Stationary Office.
- AABB Technical Manual, 16<sup>th</sup> edition, AABB 2008.
- 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-Jk <sup>a</sup> monoklonaalne	2 ml	775002	40
	1000 ml	775000*	20 000
Anti-Jk <sup>b</sup> monoklonaalne	2 ml	776002	40
	1000 ml	776000*	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

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