

SEGATUD AHG-LE (KÜÜLIK) POLÜSPETSIIFILISED ANTI-IgG JA ANTI-C3d KASUTUSJUHISED

AHG Elite (Clear või Green): antiglobuliintesti meetodite jaoks.

KOKKUVÖTE

1945. aastal kirjeldasid Coombs, Mourant ja Race AHG seerumi kasutamist erütrotsüütidega seotud mitteaglutineerivate antikehade tuvastamiseks. 1957. aastal näitasid Dacie jt, et antiglobuliiniseerumites leitud antikehadis komplemendi teatud komponentide vastu. AHG reaktiivid tuvastavad erütrotsüütidega seotud mitteaglutineerivate antikehade ja ühtlasi ka komplemendi molekule pärast *in vivo* või *in vitro* toimunud antigeeni-antikeha reaktsioone.

KAVANDATUD EESMÄRK

Tegu on polüspetsiifiliste veregrupi määramise reaktiividega, mille kasutuseesmärk on sensibiliseerivate IgG-antikehade (kõigi 4 alamklassi) ja komplemendi faktore C3d ja C3b inimese erütrotsüütidel olemasolu või puudumise kvalitatiivne tuvastamine. Analüüsimisel peab järgima käesolevas kasutusjuhendis soovitatud meetodeid.

KASUTUSPÕHIMÕTE

Reaktiivid sisaldavad antikehasid erütrotsüütidel leiduvate inimese IgG-antikehade ja C3 komplemendi faktore (C3d ja C3b) vastu ning põhjustavad inimese IgG-antikehade ja/või C3 komplemendi faktoriga (C3d ja C3b) sensibiliseerunud erütrotsüütide otsest aglutinatsiooni (kokkukleepumist). Aglutinatsiooni puudumine viitab üldjuhul erütrotsüütidel leiduvate sensibiliseerivate inimese IgG-antikehade ja C3 komplemendi faktore (C3d ja C3b) puudumisele (vt jaotist „Piirangud“).

REAKTIIVID

Ettevõtte Lorne reaktiivid AHG Elite Clear ja AHG Elite Green sisaldavad küüliku anti-IgG antikeha, mille mittespetsiifiline aktiivsus on adsorptsiooni teel eemaldatud, ning hiire monoklonaalsel IgM anti-C3d antikeha kloonist BRIC-8. Antikehad on lahustatud veise albumiini sisaldavas puhverdatud lahuses. Reaktiivid ei sisalda kantserogeenseid, mutageenseid ega reproduktiivtoksilisi (CMR) aineid, endokriinsüsteemi häirivaid aineid ega aineid, mis võiksid põhjustada kasutaja sensibiliseerumist või allergilist reaktsiooni, ega pole sellistest ainetest valmistatud. Iga reaktiivi lahendus on juba tarnimisel optimaalne kasutamiseks kõigi allkirjeldatud soovitatud meetoditega ilma edasise lahendamise ja lisamise vajaduseta. Partii viitenumbrit ja aegumiskuupäeva vt **viaali silti**.

Reaktiiv	Rakuliin/kloon	Värvus	Kasutatud värvaine
AHG Elite Clear	Küüliku inimesevastane IgG BRIC-8 (anti-C3d)	Värvitu	Puudub
AHG Elite Green	Küüliku inimesevastane IgG BRIC-8 (anti-C3d)	Roheline	Patentsinine ja tartraasin

SÄILITAMINE

Reaktiiviviale tuleb pärast vastuvõtmist hoida temperatuuril 2–8 °C. Pikemaajalisel säilitamisel sellest vahemikust välja jäävatel temperatuuridel võib reaktiivi reaktiivsuse langus kiireneda. 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

Proovid tuleb võtta aseptiliselt EDTA-ga kaetud katsutisse, et vältida komplemendi *in vitro* seondumist, ning neid tuleb analüüsida võimalikult kiiresti. Kui EDTA pole saadaval, on hüübinud proovide asemel soovitatav kasutada ACD, CPD või CPDA-1-ga kaetud katsutit. Kui saadaval on vaid hüübinud proovid, ärge neid enne analüüsimist külmutage.

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 selle sisu püsima kasutuskõlblikuna kuni aegumiskuupäevani. Reaktiivi muutmise hädusaks viitab selle riknemisele või saastumisele.
- Reaktiivid sisaldavad < 0,1% naatriumasiidi. Naatriumasiid võib olla allaneelamisel toksiline ja võib reageerida torustikus leiduva pli ja vasega, moodustades plahvatusohtlikke metalliasideid. Pärast reaktiivi äraviskamist uhtke torustikku rohke veega.

- Tootmiseks kasutatud materjale analüüsiti 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 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 **materjali ohutuskaartidelt**, mis on ettevõttelt nõudmisel saadaval.

KONTROLLID JA NÕUANDED

- Iga analüüsipartiiga paralleelselt soovitatakse testida nii positiivset (nõrk anti-D < 0,1 RÜ/ml) kui ka negatiivset kontrolli (inertne seerum). 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.
- Enne kasutamist laske reaktiivil toatemperatuurini soojeneda. Kohe pärast reaktiivi kasutamist pange see taas temperatuurile 2–8 °C hoiule.
- Jaotises „Soovitatud meetodid“ on ühe osa maht ligikaudu 50 µl, kui kasutatakse kaasasolevat viaalipipetti.
- Reaktiive tohib 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

- Coombsi rakupesur
- Klaasist katsutid (10 × 75 mm või 12 × 75 mm)
- IgG-ga sensibiliseeritud erütrotsüüdid, nt Lorne Coombs Control Cells (katalooginumber 970010)
- Inertsed antikehad, nt Lorne Inert AB Serum (katalooginumber 110010)
- Madala ioontugevusega lahus (Low Ionic Strength Solution, LISS): sisaldab 0,03 M NaCl-i, 0,003 M Na₂HPO₄: NaH₂PO₄ puhver pH-ga 6,7 temperatuuril 22 °C ± 1 °C ja 0,24M glütsiini
- PBS-lahus (pH 6,8–7,2) või isotooniline füsioloogiline lahus (pH 6,5–7,5)
- Volumeerilised pipetid
- Veevann või kuiva kuumusega inkubaator, mis on tasakaalustatud temperatuuril 37 °C ± 2 °C.
- Nõrgad anti-D antikehad, nt Lorne Precise Weak Anti-D (katalooginumber 209005)

SOOVITATUD MEETODID

A. Otsene antiglobuliintest (Direct Antiglobulin Technique, DAT)

- Peske 1 osa erütrotsüüte (2–3% suspensioon PBS-is või isotoonilises füsioloogilises lahuses) 4 korda PBS-i või isotoonilise füsioloogilise lahusega, dekanteerides lahuse kindlasti pesukordade vahel ja resuspendeerides iga rakupelleti pärast iga pesukorda. Pärast viimast pesukorda dekanteerige füsioloogiline lahus täielikult.
- Lisake igale kuivale rakupelletile 2 osa ettevõtte Lorne reaktiivi AHG Elite.
- Segage põhjalikult ja tsentrifuugige kõiki katsuteid 20 sekundit kiirusel 1000 RCF või kasutage alternatiivset sobivat aega ja jõudu.
- Resuspendeerige erütrotsüüte pellet ettevaatlikult ja hinnake seda makroskoopiliselt aglutinatsiooni suhtes.

B. Kaudne antiglobuliintest NISS-iga (NISS IAT)

- Valmistage ette erütrotsüütide 2–3% suspensioon PBS-is või isotoonilises füsioloogilises lahuses.
- Asetage märgistatud katsutisse 2 osa analüüsivat seerumit ja 1 osa erütrotsüütide suspensiooni.
- Segage põhjalikult ja inkubeerige 15 minutit temperatuuril 37 °C.
- Peske erütrotsüüte 4 korda PBS-i või isotoonilise füsioloogilise lahusega, dekanteerides lahuse kindlasti pesukordade vahel ja resuspendeerides iga erütrotsüütide pellet pärast iga pesukorda. Pärast viimast pesukorda dekanteerige füsioloogiline lahus täielikult.
- Lisake igale kuivale rakupelletile 2 osa ettevõtte Lorne reaktiivi AHG Elite.
- Segage põhjalikult ja tsentrifuugige kõiki katsuteid 20 sekundit kiirusel 1000 RCF või kasutage alternatiivset sobivat aega ja jõudu.
- Resuspendeerige erütrotsüüte pellet ettevaatlikult ja hinnake seda makroskoopiliselt aglutinatsiooni suhtes.

C. Kaudne antiglobuliintest LISS-iga (LISS IAT)

1. Valmistage ette erütrotsüütide 1,5–2% suspensioon LISS-is.
2. Asetage märgistatud katsutisse 2 osa analüüsivat seerumit ja 2 osa erütrotsüütide suspensiooni.
3. Segage põhjalikult ja inkubeerige 15 minutit temperatuuril 37 °C.
4. Järgige ülalkirjeldatud protseduuri **NISS IAT** samme 4 kuni 7.

ANALÜÜSITULEMUSTE TÖLGENDAMINE

1. **Positiivne:** erütrotsüütide aglutinatsioon tähistab positiivset analüüsitulemust ja IgG ja/või komplemendi (C3d/C3b) olemasolu erütrotsüütidel, arvestades analüüsiprotseduuri tunnustatud piiranguid.
2. **Negatiivne:** erütrotsüütide aglutinatsiooni puudumine tähistab negatiivset analüüsitulemust ja IgG ja/või komplemendi (C3d/C3b) puudumist erütrotsüütidelt, arvestades analüüsiprotseduuri tunnustatud piiranguid.

REAKTSIOONIDE STABIILSUS

1. 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.
2. **Soovitatud** temperatuuridest erineval temperatuuril tehtud analüüside tulemuste tõlgendamisel peab olema ettevaatlik.

PIIRANGUD

1. Erütrotsüüte, mille DAT on IgG-katte tõttu positiivne, pole võimalik **kaudse antiglobuliintestiga** tüpeerida.
2. Komplemendi sensibiliseerimisest põhjustatud positiivne DAT ei pruugi viidata komplemendi *in vivo* fikseerumisele, kui analüüsivad rakud pärinevad külmutatud hüübinud proovist.
3. Erütrotsüütide ebapiisav pesemine kaudse antiglobuliintesti korral võib AHG reaktiivi neutraliseerida.
4. Pärast pesemisaasi võib liigne füsioloogiline jääklahus reaktiivi AHG Elite lahjendada ja selle võimekust vähendada.
5. Negatiivne otsene antiglobuliintest ei välista tingimata vastsündinute ABO hemolüütilise tõve või autoimmuunse hemolüütilise aneemia kliinilist diagnoosi. Lisaks ei välista see tingimata vastsündinute hemolüütilist tõbe, eriti ABO sobimatuse kahtlusel.
6. Valepositiivsed või valenegatiivsed tulemused võivad olla põhjustatud ka järgmisest.
 - Analüüsimaterjalide saastumine
 - Väär säilitamine, rakkude kontsentratsioon, inkubeerimisaeg või temperatuur
 - Väär või liigne tsentrifuugimine

SPETSIIFILISED TOIMIVUSNÄITAJAD

1. Enne müügile laskmist analüüsiti kõiki nende reaktiivide partiisid käesolevas kasutusjuhendis loetletud soovitatud analüüsimeetoditega, kasutades sobiva reaktiivsuse kontrollimiseks anti-D, anti-K ja anti-Fy^a antikehadega kaetud erütrotsüüte. Analüüsid vastasid dokumendi „Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom“ (Vereülekandeteenuste suunised Ühendkuningriigis) uusimas versioonis/väljaandes esitatud analüüsinoüetele.
2. Anti-IgG ja anti-C3d reaktiivide võimekust on testitud järgmise Briti Rahvuslikult Bioloogiliste Standardite ja Kontrollide Instituudilt (National Institute of Biological Standards and Controls, NIBSC) saadud minimaalse võimekuse viitestandardi suhtes:
 - anti-AHG viitestandard 96/666.
3. Anti-C3d võimekust on näidatud C3d ja C3b-ga kaetud rakkude analüüsimisel.
4. Saastavate heterospetsiifiliste aglutiniinide või C4d vastaste antikehade olemasolu on välistatud kõiki ABO gruppidesse kuuluvaid erütrotsüüte ja C4d-ga kaetud rakke kasutavate analüüside abil.
5. Reaktiivis leiduda võivate anti-IgM, anti-IgA või kerge ahela komponentide vastaste antikehade reaktiivsust ei ole kindlaks määratud.
6. Reaktiivide kvaliteedikontrolliks kasutati erütrotsüüte, mille fenotüübid oli verifitseerinud Ühendkuningriigi vereülekandekeskus ja mida oli enne kasutamist pestud PBS-i või isotoonilise füsioloogilise lahusega.

LAHTIÜTLUS

1. Kasutaja vastutab reaktiivide toimivuse eest juhul, kui kasutatakse mis tahes meetodit peale jaotises „**Soovitatud meetodid**“ kirjeldatute.
2. Mis tahes kõrvalekaldeid jaotises „**Soovitatud meetodid**“ kirjeldatust tuleb enne kasutamist valideerida⁶.

BIBLIOGRAAFIA

1. Voak D, Downie DM, Moore BPL, and Engelfreit CP. Anti-Human Globulin reagent specification. The European and ISBT/ICSH View. Biotest Bulletin 1: 7-22 (1986).
2. The Department of Health and Social Security. Health Services Management Antiglobulin Test. False negative results, HN (Hazard) (83) 625 Nov 1983.
3. Bruce M, Watt AH, Hare W, Blue A, Mitchell R. A serious source of error in antiglobulin testing. Transfusion 1986; 26: 177–181.
4. Voak D, Downie DM, Moore BPL, Ford DS, Engelfreit CP, Case J. Replicate tests for the detection and correction of errors in AHG (AHG) tests: optimum conditions and quality control. Haematologia 1988; 21(1): 3-16.
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 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.

REAKTIIVIDE SAADAVAL SUURUSED

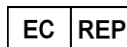
	Viaali suurus	Katalooginumber	Analüüse viaali kohta
Lorne AHG Elite (Clear)	10 ml	415010	100
	1000 ml	415000*	10 000
Lorne AHG Elite (Green)	10 ml	435010	100
	1000 ml	435000*	10 000

*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