

## LECTIN REAGENTAI KRAUJO GRUPEI NUSTATYTI NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

„Anti-A<sub>1</sub> Lectin“: mėgintuvėlių metodui.

### SANTRAUKA

A<sub>1</sub> antigenas yra A antigeno pogrupis, atrastas 1910 metais. „Anti-A<sub>1</sub>“ antikūnai įprastai 37 °C temperatūroje yra nereaktyvūs, tačiau 37 °C temperatūroje reaktyvūs pavyzdžiai ypač IgM *in vivo* gali suardyti raudonąsias kraujo ląsteles. Maždaug 78 % A kraujo grupės asmenų priklauso A<sub>1</sub> pogrupiui, o 22 % – A<sub>2</sub> pogrupiui, tarp AB grupės asmenų stebimos panašios proporcijos.

### NUMATYTOJI PASKIRTIS

Šis reagentas kraujo grupei nustatyti, skirtas naudoti kokybiniam testui A<sub>1</sub> antigenui (ABO4) aptikti ant kraujo donoro ar pacientų, kuriems reikia perpilti kraujo, raudonųjų ląstelių, testus atliekant šioje naudojimo instrukcijoje rekomenduojamais metodais.

### PRINCIPAS

Reagente yra glikoproteinų, gautų iš *Dolichos biflorus* (vienažiedės arkliaupės) sėklų, kurie po centrifugavimo procedūros sukelia raudonųjų ląstelių, turinčių A<sub>1</sub> antigeną, agliutinaciją (sulipimą). Agliutinacijos (sulipimo) nebuvimas reiškia, kad A<sub>1</sub> antigeno nėra (žr. **Ribojimai**).

### REAGENTAS

„Lorne“ „Anti-A<sub>1</sub> Lectin“ reagentas kraujo grupei nustatyti gaminamas iš *Dolichos biflorus* (vienažiedės arkliaupės) sėklų ekstrakto, praskiesto natrio chlorido tirpalu su jaučiu albuminiais. Reagento sudėtyje nėra CMR (kancerogeninių, mutageninių ar toksiškų reprodukcijai) medžiagų ar endokrininę sistemą ardančių medžiagų, kurios galėtų jautrinti naudotoją ar sukelti jam alerginių reakcijų. Kiekvienas reagentas tiekiamas tinkamai praskiestas naudoti taikant toliau nurodytus rekomenduojamus metodus, jų skiesti ar papildyti nereikia. Gaminio serijos numeris ir tinkamumo naudoti pabaigos data nurodyta **buteliuko etiketėje**.

### LAIKYMAS

Gautus reagentus reikia laikyti 2–8 °C temperatūroje. Ilgiau reagentus laikant netinkamoje temperatūroje gali pagreitėti reagento reaktyvumo mažėjimas. Atlikti šio reagento stabilumo gabenant tyrimai 37 °C ir –25 °C temperatūroje, kaip aprašyta dokumente BS EN ISO 23640:2015.

### MĖGINIŲ PAĖMIMAS IR PARUOŠIMAS

Kraujo mėginius galima surinkti į mėgintuvėlius su EDTA, citrato, CPDA antikoagulantais arba kaip mėginį su krešuliu. Paėmus mėginius, juos iširti reikia kuo greičiau. Jei testas atliekamas vėliau, mėginius laikykite 2–8 °C temperatūroje. Mėginiai, kuriuose stebima ryški hemolizė ar mikrobinė tarša, tyrimui netinka. Kraujo mėginių, kuriuose įvyko ląstelių lizė, testo rezultatai gali būti nepatikimi. Pageidautina (bet nebūtina) prieš atliekant testą visus kraujo mėginius plauti PBS (fosfatinio buferio fiziologiniu) arba izotoniniu fiziologiniu tirpalu.

### ATSARGUMO PRIEMONĖS

1. Reagentai skirti tik diagnostikai *in vitro*.
2. Jeigu reagento buteliukas įskilęs arba nesandarus, nedelsdami išpilkite turinį.
3. Pasibaigus tinkamumo naudoti datai, reagento nenaudokite (žr. **buteliuko etiketę**).
4. Jeigu yra precipitato, reagento nenaudokite.
5. Tvarkant reagentus reikia vilti apsauginius drabužius, pavyzdžiui, mūvėti vienkartinės pirštines ir dėvėti laboratorinį apsiaustą.
6. Siekiant sumažinti biologinę taršą reagentas buvo filtruotas per 0,2 μm kapsulę, tačiau tiekiamas nesterilus. Atidarius buteliuką, turinys iki tinkamumo naudoti pabaigos datos yra tinkamas naudoti, jeigu reagentas aktyviai nedrumstas; drumstumas gali rodyti reagento suirimą ar taršą.
7. Reagente yra < 0,1 % natrio azido. Natrio azidas gali būti toksiškas nurijus ir gali reaguoti su vandentiekio švino ir vario vamzdžiais bei sudaryti labai sprogus metalo azidų junginius. Išpylę nuskalaukite dideliu vandens kiekiu.
8. Jokie testai negali užtikrinti, kad iš žmogaus ar gyvūninės kilmės medžiagų pagamintuose produktuose nėra infekcinių ligų sukėlėjų. Naudojant ir šalinant kiekvieną buteliuką bei jo turinį reikia būti atsargiems.

### REAGENTŲ ŠALINIMAS IR IŠSILIEJUSIŲ MEDŽIAGŲ TVARKYMAS

Informacijos, kaip šalinti reagentus ir nukenksminti vietą, kurioje išsiliejo medžiagos, pateikiama **Medžiagos saugos duomenų lapuose**, kurie pateikiami paprasčiau.

### KONTROLĖ IR PATARIMAI

1. Kartu su kiekviena testų partija rekomenduojama atlikti teigiamos (idealiu atveju A<sub>1</sub>B grupės ląstelių) ir neigiamos (A<sub>2</sub> grupės ląstelių) kontrolės

testus. Jeigu tiriant kontrolinius mėginius laukiamų testo rezultatų negaunama, testų rezultatai laikomi nevertinamais.

2. Prieš naudodami reagentus, leiskite jiems sušilti iki patalpos temperatūros. Panaudoję reagentą, jį iš karto padėkite saugoti 2–8 °C temperatūroje.
3. Skyriuje **Rekomenduojami metodai** vienas tūris yra apytiksliai 50 μl naudojant buteliuką su lašintuvu.
4. Reagentą naudoti ir rezultatus interpretuoti turi tinkamai išmokyti ir kvalifikuoti darbuotojai, laikydamiesi šalies, kurioje naudojamas reagentas, reikalavimų.
5. Naudotojas privalo nustatyti reagento tinkamumą naudoti taikant kitus metodus.

### REIKALINGOS, BET NETIEKIAMOS MEDŽIAGOS IR REAGENTAI

- Stikliniai mėgintuvėliai (10 x 75 mm arba 12 x 75 mm).
- PBS tirpalas (pH 6,8–7,2) arba izotoninis fiziologinis tirpalas (pH 6,5–7,5).
- Teigiamos (A<sub>1</sub>B grupės) ir neigiamos (A<sub>2</sub> grupės) kontrolės raudonosios ląstelės.
- Mėgintuvėlių centrifuga.
- Tūrij matuojančios pipetės.

### REKOMENDUOJAMAS METODAS

#### A. Mėgintuvėlių metodas

1. PBS ar izotoniniame fiziologiniame tirpale paruoškite 2–3 % raudonųjų ląstelių suspensiją.
2. Į paženklintą mėgintuvėlį įlašinkite vieną „Lorne“ „Anti-A<sub>1</sub>“ reagento tūrį ir 1 raudonųjų ląstelių suspensijos tūrį.
3. Kruopščiai sumaišykite, tada visus mėgintuvėlius kruopščiai centrifuguokite 20 sekundžių 1 000 rcf ar kita tinkama jėga tinkamą laiką.
4. Švelniai išsklaidykite raudonųjų ląstelių sankaupą ir makroskopiškai įvertinkite agliutinaciją.

### TESTO REZULTATŲ INTERPRETAVIMAS

1. **Teigiamas:** testą atlikus paisant priimtinių procedūros ribų, raudonųjų ląstelių agliutinacija rodo teigiamą testo rezultatą, tai reiškia, kad ant raudonųjų ląstelių yra atitinkamas A<sub>1</sub> antigenas.
2. **Neigiamas:** testą atlikus paisant priimtinių procedūros ribų, raudonųjų ląstelių agliutinacijos nebuvimas rodo neigiamą testo rezultatą, tai reiškia, kad ant raudonųjų ląstelių A<sub>1</sub> antigeno nėra.
3. **Neatitinkimai:** jeigu su atvirktinio ir tiesioginio grupės nustatymo testų rezultatai nesutampa, reikia atlikti daugiau tyrimų.

### REAKCIJŲ STABILUMAS

1. Mėgintuvėlius reikia vertinti iš karto po centrifugavimo procedūros. Delsiant antigeno ir antikūno kompleksas gali suirti, todėl galimas klaidingas neigiamas arba silpnai teigiamas reakcijos rezultatas.
2. Jeigu testas atliekamas kitoje temperatūroje, nei rekomenduojama, testo rezultatus reikia vertinti atsargiai.

### RIBOJIMAI

1. „Anti-A<sub>1</sub>“ gali reaguoti su Tn-poliagliutinuojančiomis arba Cad antigeną turinčiomis ląstelėmis
2. Virkštelės kraujo ir naujagimių mėginius tipuoti su „Anti-A<sub>1</sub> Lectin“ reikia atidžiai, nes iki šešių mėnesių amžiaus A<sub>1</sub> antigenas ant raudonųjų kraujo ląstelių nėra visiškai išsivystęs.
3. Prieš patvirtinant kraujo grupę pagal ABO antigenus, vyresnių nei šešių mėnesių amžiaus asmenims ABO kraujo grupės nustatymo rezultatus reikia patvirtinti tiriant jų serumą ar plazmą su žinomomis A<sub>1</sub> ir B ląstelėmis.
4. Tiriant ilgiau laikytą kraują reakcijos gali būti silpnesnės nei su šviežiu krauju.
5. Klaidingai teigiami ir klaidingai neigiami rezultatai gali būti gauti, jei:
  - testo medžiagos yra užterštos,
  - netinkamai laikomos, naudojama netinkama ląstelių koncentracija, inkubavimo laikas ar temperatūra;
  - netinkamai ar pernelyg centrifuguojama;
  - nesilaikoma rekomenduojamų metodų.

### SPECIALIOSIOS TESTO CHARAKTERISTIKOS

1. Prieš išleidžiant kiekviena šio reagento serija buvo iširta taikant šiose naudojimo instrukcijose išvardytus rekomenduojamus tyrimo metodus. Testai atitiko galiojančios „Jungtinės Karalystės rekomendacijų kraujo perpilimo tarnyboms“ versijos leidime nurodytus reikalavimus.
2. Reagentų kokybės kontrolė atliekama naudojant raudonąsias ląsteles, kurių fenotipas buvo patikrintas JK kraujo perpilimo centre, prieš naudojant jas nuplovus PBS ar izotoniniu fiziologiniu tirpalu

## ATSAKOMYBĖS RIBOJIMAS

1. Tais atvejis, kai testas atliekamas taikant kitus metodus, nei nurodyta skyriuje **Rekomenduojami metodai**, už reagentų veikimą atsako naudotojas.
2. Prieš naudojant visus nukrypimus nuo **Rekomenduojamų metodų** reikia validuoti<sup>6</sup>.

## LITERATŪRA

1. AABB Technical Manual, 16<sup>th</sup> edition, AABB 2008.
2. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007.
3. Issitt P. D. Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6, page 146.
4. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6<sup>th</sup> Edition 2002. The Stationary Office.
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.

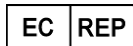
## TIEKIAMŲ REAGENTŲ DYDŽIAI

Buteliuko dydis	Katalogo numeris	Testų, kuriuos galima atlikti su vienu buteliuku, skaičius
5 ml	116005	100
1 000 ml	116000*	20 000

\*Šis dydis skirtas naudoti tik tolesnei gamybai (FFMU), todėl CE ženklų neženklina.



„Lorne Laboratories Limited“  
Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate  
Danehill  
Lower Earley  
Berkshire, RG6 4UT  
Jungtinė Karalystė  
Tel. +44 (0) 118 921 2264  
Faks. +44 (0) 118 986 4518  
El. paštas info@lornelabs.com



Advena Ltd. Tower Business Centre, 2<sup>nd</sup> Fl.,  
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta