



MONOKLONAALSED VEREGRUPI MÄÄRAMISE REAKTIIVID

KASUTUSJUHISED

Anti-A, Anti-B ja anti-A,B monoklonaalsed reaktiivid: kasutamiseks katsuti, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue, mikroplaadi ja alusklaasi meetodiga.

KOKKUVÕTE

Aastal 1900 avastas Landsteiner, et mõne inimese vereseerum põhjustab mõne teise inimesel punaliblede aglutinatsiooni. Praeguseks on laiemalt tuntud neli sagedasemat fenotüüpi: O, A, B ja AB. A- ja B-veregruppidel on tuvastatud ka alagruppe.

Otse määratav grupp			Pöördgrupp				ABO Fenotüüp	% heledanahaliste hulgast 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

KAVANDATUD EESMÄRK

ABO-reaktiivid on veregruppi määramise reaktiivid, mille kasutuseesmärk on A- ja/või B-antigeenide erütrotsüütide olemasolu või puudumise kvalitatiivne määramine veredonoritel või vereülekannet vajavatel patsientidel. Analüüsimisel peab järgima käesolevas kasutusjuhendis soovitatud meetodeid.

KASUTUSPÕHIMÕTE

Reaktiivid sisaldavad antikehasid inimese punaliblede vastavate A- ja/või B-antigeenide vastu ning põhjustavad vastavat ABO-antigeeni kandvate punaliblede otsest aglutinatsiooni (kämpudeks kokkukleepumist). Aglutinatsiooni puudumine viitab üldjuhul vastava ABO-antigeeni puudumisele punalibledele (vt jaotist „Piirangud“).

REAKTIIVID

Ettevõtte Lorne monoklonaalsete IgM-antikehadega ABO veregruppi määramise reaktiivid sisaldavad hiire monoklonaalseid antikehi, mida on lahjendatud naatriumkloriidiga, EDTA-d ja veise albumiini sisaldava fosfaatpuhvriga. Reaktiivid ei sisalda kantserogeenseid, mutageenseid ega reproduktiivtoksilisi (CMR) aineid, endokriinsüsteemi häirivaid aineid ega aineid, mis võiksid põhjustada kasutaja sensibilsuseerumist 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 sildilt**.

Toode	Rakuliin/kloon	Värvus	Kasutatud värvaine
Anti-A	9113D10	Sinine	Patentsinine
Anti-B	9621A8	Kollane	Tartrasiin
Anti-A,B	152D12 + 9113D10 + ES15	Värvitu	Puudub

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 hemolüüsiga 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 mõranenud 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 käsitlemise ajal tuleb kanda kaitseriietust, näiteks ühekordseid kindaid ja laborikiltit.
- 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 muutumine hägusaks viitab selle riknemisele või saastumisele.

- Reaktiivid sisaldavad < 0,1% naatriumasiidi. Naatriumasiidid võivad olla allaneelamisel toksilise ja võib reageerida torustikus leiduva plii ja vasega, moodustades plahvatusohtlikke metalliasideid. Pärast reaktiivi äraviskamist uhtke torustikku rohke veega.
- 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

Taevet reaktiivi äraviskamise ja mahaloksumise korral piirkonna dekontamineerimise kohta vt **materjali ohutuskaartidelt**, mis on ettevõtetelt nõudmisel saadaval.

1. KONTROLLID JA NÕUANDED

- Iga analüüsipartiiga paralleelselt soovatakse testida nii positiivset kui ka negatiivset kontrolli. Kui kontrollide tulemused pole ootuspärased, tuleb analüüsid lugeda kehtetuteks.
- Kuna need reaktiivid ei sisalda makromolekulaarseid potentsiaatoreid, on IgG-ga kaetud rakkude korral valepositiivsete reaktsioonide tekkimine väga ebatõenäoline.
- Nõrka A- või B-alagruppi (nt Ax) kuuluvad vereproovid võivad anda alusklaaside, mikrotiiterplaatide või geelikaartidega analüüsimisel valenegatiivseid või nõrku reaktsioone. Nõrku alagruppe soovitatatakse katsuti meetodil uuesti analüüsida.
- Kõigil üle kuue kuu vanustel testitavatel soovatakse ABO veregruppi kohta saadud tulemused üle kontrollida, analüüsides nende seerumit või plasmat teadaolevate A₁- ja B-grupi rakkude suhtes.
- 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 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

- Volumeetriselised pipetid
- Kaardid Bio-Rad ID (NaCl, ensüümanalüüs ja külmaaglutiniinid)
- Tsentrifuug Bio-Rad ID
- Lahjendi Bio-Rad ID-CellStab või ID-Diluent 2
- Ortho BioVue süsteemi kassetid (neutraalsed)
- Ortho BioVue süsteemi tsentrifuug
- Lahjendi Ortho 0.8% Red Cell Diluent
- Mikroskoobi alusklaasid või valged plaadid
- Aplikaatorpulgad
- Klaasist katsutid (10 x 75 mm või 12 x 75 mm)
- Katsutite tsentrifuug
- Valideeritud U-süvenditega mikroplaadid
- Mikroplaadite tsentrifuug
- Plaadilokuti
- PBS-lahus (pH 6,8–7,2) või isotooniline füsioloogiline lahuse (pH 6,5–7,5)
- Positiivse ja negatiivse kontrolli erütrotsüüdid:
 - anti-A: A-grupp (positiivne kontroll) ja O-grupp (negatiivne kontroll);
 - anti-B: B-grupp (positiivne kontroll) ja O-grupp (negatiivne kontroll);
 - anti-A,B: A-grupp ja B-grupp (positiivsed kontrollid) ning O-grupp (negatiivne kontroll).

SOOVITATUD MEETODID

A. Katsuti meetod

- Valmistage ette erütrotsüütide 2–3% suspensioon PBS-is või isotoonilises füsioloogilises lahuses.
- Asetage märgistatud katsutisse 1 osa ettevõtte Lorne anti-ABO reaktiivi ja 1 osa erütrotsüütide suspensiooni.
- Segage põhjalikult ja inkubeerige 1 minut toatemperatuuril.
- Tsentrifugeerige kõiki katsuteid 10 sekundit kiirusel 1000 RCF või kasutage alternatiivset sobivat aega ja jõudu.
- Resuspendeerige erütrotsüütide pellet ettevaatlikult ja hinnake seda makroskoopiliselt aglutinatsiooni suhtes.
- Katsuteid, mille tulemus on negatiivne või küsitav, tuleb toatemperatuuril 15 minutit inkubeerida.
- Pärast inkubeerimist korrake samme 4 ja 5.

B. Bio-Rad-ID meetod (NaCl-i, ensüümanalüüsi ja külmaaglutiniinide kaardid)

1. Valmistage ette erütrotsüütide 0,8% suspensioon lahjendis ID-CellStab või ID-Diluent 2.
2. Eemaldage foolium nii paljudelt mikrokatsutitelt kui vaja.
3. Asetage sobivasse mikrokatsutisse 50 µl erütrotsüütide suspensiooni ja 25 µl ettevõtte Lorne anti-ABO reaktiivi.
4. Tsentrifugeerige ID-kaarti (-kaarte) ettevõtte Bio-Rad geelikaartide tsentrifuugis.
5. Hinnake makroskoopiliselt aglutinatsiooni suhtes.

C. Ortho BioVue meetod (neutraalsed kassetid)

1. Valmistage ette erütrotsüütide 0,8% suspensioon 0,8% lahjendis Ortho Red Cell Diluent.
2. Eemaldage foolium nii paljudelt reaktsioonikambritelt kui vaja.
3. Asetage sobivasse reaktsioonikambris 50 µl erütrotsüütide suspensiooni ja 40 µl ettevõtte Lorne anti-ABO reaktiivi.
4. Tsentrifugeerige kasseti (kassette) Ortho BioVue süsteemi tsentrifuugis.
5. Hinnake makroskoopiliselt aglutinatsiooni suhtes.

D. U-süvenditega mikroplaatide meetod

1. Valmistage ette erütrotsüütide 2–3% suspensioon PBS-is või isotoonilises füsioloogilises lahuses.
2. Asetage sobivasse süvendisse 1 osa ettevõtte Lorne anti-ABO reaktiivi ja 1 osa erütrotsüütide suspensiooni.
3. Segage põhjalikult (eelstatavalt mikroplaatide loksutiga) ja olge ettevaatlik, et vältida süvenditevahelist saastumist.
4. Inkubeerige toatemperatuuril 15 minutit (aeg sõltub kasutajast).
5. Tsentrifugeerige mikroplaat 1 minut kiirusel 140 RCF või kasutage alternatiivset sobivat aega ja jõudu.
6. Resuspendeerige rakupelletid neid mikroplaatide loksutite ettevaatlikult ja kontrollitult loksutades.
7. Hinnake makroskoopiliselt või valideeritud automaatlugejaga.
8. Nõrga reaktsiooniga analüüse tuleb katsuti meetodil korrata.

E. Alusklaasi meetod

1. Valmistage ette erütrotsüütide 35–45% suspensioon seerumis, plasmas, PBS-is või isotoonilises füsioloogilises lahuses või kasutage antikoaguleeritud täisverd (omaenda plasmas).
2. Asetage märgistatud alusklaasile või kaardile 1 osa ettevõtte Lorne anti-ABO reaktiivi ja 1 osa erütrotsüütide suspensiooni.
3. Segage reaktiiv ja rakud puhta aplikaatorpulga abil umbes 20 x 40 mm pinnale laiali.
4. Kallutage alusklaasi 30 sekundi jooksul aeglaselt edasi-tagasi ja segage 1 minuti jooksul aeg-ajalt uuesti. Alusklaas peab olema toatemperatuuril.
5. Hinnake makroskoopiliselt 1 minuti pärast hajutatud valguse all ja ärge pidage fibriinikiudusid aglutinatsiooniks.
6. Nõrga reaktsiooniga analüüse tuleb katsuti meetodil korrata.

ANALÜÜSITULEMUSTE TÕLGENDAMINE

1. **Positiivne:** erütrotsüütide aglutinatsioon tähistab positiivset analüüsitulemust ja vastava ABO-antigeeni olemasolu erütrotsüütidel, arvestades analüüsiprotseduuri tunnustatud piiranguid.
2. **Negatiivne:** erütrotsüütide aglutinatsiooni puudumine tähistab negatiivset analüüsitulemust ja vastava ABO-antigeeni puudumist erütrotsüütidel, arvestades analüüsiprotseduuri tunnustatud piiranguid.
3. **Lahnevused:** kui pöördgrupiga saadud tulemused ei vasta otse määratava grupi tulemustele, on vajalikud lisauuringud.

REAKTSIOONIDE STABIILSUS

1. Hinnake kõiki katsute ja mikroplaatidega tehtud analüüse viivitamatult pärast tsentrifugeerimist.
2. Alusklaasidega tehtud analüüse tuleb tõlgendada pärast maksimaalselt ühe minuti möödumist, et tagada spetsiifilisus ja vältida võimalust, et negatiivset tulemust tõlgendatakse reaktiivi kuivamise tõttu vääral positiivseks.
3. Soovitatud temperatuuridest erineval temperatuuril tehtud analüüsides tulemuste tõlgendamisel peab olema ettevaatlik.

PIIRANGUD

1. ABO-antigeenid ei ole sünni ajaks veel täielikult välja arenenud, mistõttu võib nabaväädid või vastsündinult võetud proovide korral täheldada nõrgemat reaktsiooni.
2. Monoklonaalse anti-A,B reaktiivi kasutamise korral võib nõrka A- või B-alagrüpi (nt Ax) kuuluvate vereproovide alusklaaside, mikroliiterplaatide või geelikaartidega analüüsimisel täheldada valenegatiivseid või nõrku reaktsioone. Nõrku alagrüppe soovitatakse katsuti meetodil uuesti analüüsida.
3. Ettevõtte Lorne monoklonaalne anti-A ja monoklonaalne anti-B antikehad ei ole valideeritud vastavalt Ax ja A3 või Bx ja B3 antigeenide tuvastamiseks, mistõttu ei garanteeri me, et monoklonaalsed anti-A või anti-B reaktiivid on nõrkade A- ja B-alagrüppide suhtes reaktiivsed.
4. Säilitatud veri võib anda nõrgema reaktsiooni kui värske veri.
5. Valepositiivsed või valenegatiivsed tulemused võivad olla põhjustatud ka järgmisest.
 - Analüüsimaterjalide saastumine
 - Väär säilitamine, rakkude kontsentratsioon, inkubeerimisaeg või temperatuur
 - Väär või liigne tsentrifugeerimine
 - Kõrvalekaldeid soovitatud meetoditest
 - Nabaväädid võetud proovide saastumine Whartoni süldiga

SPETSIIFILISED TOIMIVUSNÄITAJAD

Dokumendi viitenumber: CEPI600/610/620

Dokumendi väljaandmisnumber: 16/05/2020

Lk 2/2

1. Enne müügile laskmist analüüsiti iga ettevõtte Lorne ABO monoklonaalse reaktiivide partiid käesolevas kasutusjuhendis loetletud soovitatud analüüsimeetoditega. Analüüsivad vastasid dokumentide „Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom“³ (Vereülekande teenuste suunised Ühendkuningriigis) ja „Common Technical Specifications“ (Üldised tehnilised näitajad) uusimas versioonis/väljaandes esitatud analüüsimeetoditega.
2. Lähtematerjalina kasutatavate monoklonaalsete antikehade spetsiifilisust näidati antigeeni suhtes negatiivsete rakkude paneeliga.
3. Reaktiivide võimekust on testitud järgmiste Briti Rahvuslikult Bioloogiliste Standardite ja Kontrollide Instituudilt (National Institute of Biological Standards and Controls, NIBSC) saadud minimaalse võimekuse viitestandardite suhtes:
 - anti-A viitestandard 03/188 ja/või
 - anti-B viitestandard 03/164.
4. Ettevõtte Lorne anti-B reaktiiv ei reageeri nn „Acquired-B“ (omandatud B-grüpp) erütrotsüütidega.
5. Ettevõtte Lorne monoklonaalsed ABO-reaktiivid ei tuvasta krüptiantigeene nagu T, Tn või Cad.
6. Reaktiivide kvaliteedikontrolliks kasutati erütrotsüüte, mille fenotüübid oli verifitseerinud Ühendkuningriigi vereülekandekeskus ja mida oli enne kasutamist pestud PBS-i või isotoonilises füsioloogilises lahuses.

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 valideerida⁵.

BIBLIOGRAAFIA

1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; lk 181.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; 6. peatükk.
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.

REAKTIIVIDE SAADAVAL SUURUSED

	Viaali suurus	Katalooginumber	Analüüse viaali kohta
Anti-A monoklonaalne	10 ml	600010	200
	1000 ml	600000*	20 000
	5000 ml	600000X5*	100 000
Anti-B monoklonaalne	10 ml	610010	200
	1000 ml	610000*	20 000
	5000 ml	610000X5*	100 000
Anti-A,B monoklonaalne	10 ml	620010	200
	1000 ml	620000*	20 000
	5000 ml	620000X5*	100 000

*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