

MONOKLONĀLI ASINS GRUPO NOTEIKŠANAS REAĢENTI LIETOŠANAS NORĀDĪJUMI

Anti-D klona 1 un klona 2 monoklonālais reaģents: mēģenes, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue, mikroplates un priekšmetstikliņa metodes.

KOPSAVILKUMS

Asinsgrupu rēzus faktoru sistēma tika atklāta 1940. gadā. D antigēns ir klīniski nozīmīgākais ABO sistēmai nepiederošais eritrocītu antigēns, un tas ir cēlonis hemolītiskām asins pārliešanas reakcijām un hemolītiskām slimībām jaundzimušajiem.

Anti-D	Fenotips	Baltās rases pārstāvji % ³	Afroamerikāņi % ³
+	Rh D +ve	83	92
0	Rh D -ve	17	8

PAREDZĒTĀ IZMANTOŠANA

Anti-D reaģenti ir asins grupu noteikšanas reaģenti, ko izmanto, lai kvalitatīvi noteiktu Rh D antigēna esamību vai neesamību asins donoru vai pacientu, kuriem nepieciešama asins pārliešana, eritrocītos, ja pārbaudes tiek veiktas saskaņā ar šajos lietošanas norādījumos minētajām ieteicamajām metodēm.

DARBĪBAS PRINCIPS

Reaģenti satur antivielas pret D antigēnu, kas atrodas uz cilvēka eritrocītiem, un izraisīs cilvēka eritrocītu, kam ir D antigēns, tiešu aglutināciju (salipšanu). Ja aglutinācija nenotiek (nenotiek salipšana), tas parasti norāda, ka cilvēka eritrocītos nav D antigēna (skatīt sadaļu “Ierobežojumi”).

REAĢENTI

Lorne monoklonālie IgM Anti-D klona 1 un klona 2 asins grupu noteikšanas reaģenti ir zemas proteīna koncentrācijas reaģenti, kas satur cilvēka monoklonālo IgM antivielu, kas izšķīdināta ar nātrija hlorīdu (0,9 g%), liellopu albumīnu (2,0 g%) un makromolekulāriem pastiprinātājiem (1,5 g%). Tipējot pacientu paraugus, izmantojot ieteicamās metodes, katrs reaģents tieši aglutinēs Rh D pozitīvās šūnas, ieskaitot vairumu variantu (izņemot D^u) un lielu daļu vājo D (D^u) fenotipu. Reaģenti nesatur CMR vielas un nesastāv no tām, nesatur endokrīno sistēmu ietekmējošas vielas vai tādas vielas, kas var izraisīt lietotāja sensibilizāciju vai alerģisku reakciju. Katru reaģentu piegādā optimālā atšķaidījumā, lai to varētu izmantot pacientu paraugiem ar visām turpmāk minētajām ieteiktajām metodēm, bez nepieciešamības veikt papildu atšķaidīšanu vai jebkādu vielu pievienošanu. Partijas atsaucēs numuru un derīguma termiņu skatīt uz **flakona etiķetes**.

Produkts	Šūnu līnija / klons
Anti-D klons 1	RUM-1
Anti-D klons 2	MS-201

RHD ANTIGĒNA VĀJINĀTA EKSPRESIJA

Kopējo nosaukumu D^u paši izmanto, lai raksturotu eritrocītus, kam ir vājāka D antigēna ekspresija nekā tas ir normāli. Ar terminu “vājš D” apzīmē cilvēkus ar samazinātu pilnu D antigēna vietu skaitu vienā eritrocītā. Ar terminu “daļējs D” apzīmē cilvēkus, kam nav D antigēna epitopu. DVI šūnas ir daļēja D kategorija, kurai nav vairuma D epitopu. Gan klona 1, gan klona 2 reaģenti ar tiešu aglutināciju atklās vairumu daļēju vai vāju D eritrocītu piemērus, taču neatklās DVI šūnas.

UZGLABĀŠANA

Flakoni ar reaģentu pēc saņemšanas jāglabā 2-8°C temperatūrā. Ilgstoša uzglabāšana ārpus šī temperatūru diapazona var izraisīt paaugstinātu reaģenta reaģētspējas zudumu. Ir veikti šī reaģenta transportēšanas stabilitātes pētījumi 37°C un -25°C temperatūrā kā aprakstīts dokumentā BS EN ISO 23640:2015.

PARAUGU SAVĀKŠANA UN SAGATAVOŠANA

Asins paraugus var savākt EDTA, citrāta, CPDA antikoagulantus vai kā sarecējušu paraugu. Paraugi jāpārbauda iespējami ātrāk pēc savākšanas. Ja ar testēšanu notiek aizkavēšanās, uzglabājiet paraugus 2-8°C temperatūrā. Paraugus ar spēcīgu hemolīzes vai mikrobu piesārņojumu testos nedrīkst izmantot. Asins paraugi, kam vērojamas līzes pazīmes, var sniegt nepārliecināšanos rezultātus. Pirms testu veikšanas ieteicams (taču nav būtiski) noskalot visus asins paraugus ar PBS vai izotonisko šķīdumu.

BRĪDINĀJUMI

1. Reaģenti ir paredzēti izmantošanai tikai *in vitro* diagnostikā.
2. Ja flakons ar reaģentu ir iekļūstis vai no tā notiek noplūde, nekavējoties likvidējiet tā saturu.
3. Nelietojiet reaģentus pēc derīguma termiņa beigām (skatīt **flakona etiķeti**).
4. Nelietojiet reaģentus, ja tajos ir nogulsnes.

5. Rīkojoties ar reaģentiem jāvalkā aizsargapģērbs, piemēram, vienreizlietojamie cimdi un laboratorijas halāts.
6. Reaģenti ir filtrēti caur 0,2 μm kapsulu, lai samazinātu bioloģisko piesārņojumu, taču netiek piegādāti sterils. Pēc flakona attaisšanas saturam jābūt dzīvotspējīgam līdz derīguma termiņa beigām, ja vien nav novērojama izteikta duļķainība, kas var liecināt, ka reaģents ir sabojājies vai piesārņots.
7. Reaģenti satur < 0,1% nātrija azīda. Nātrija azīds var būt toksisks, ja to norij, un var reaģēt ar svina un vara caurulēm, veidojot sprādzienbīstamus metāla azīdus. Iznīcinot aizskalo ar lielu daudzumu ūdens.
8. Materiāli, kas tika izmantoti produktu izgatavošanā, ieguves vietā tikai pārbaudīti uz HIV 1+2 un HCV antivielām un B hepatīta virsmas antigēnu, izmantojot apstiprinātus mikrobioloģiskos testus, un rezultāti bija negatīvi.
9. Nevieni no zināmajiem testiem nevar garantēt, ka cilvēku vai dzīvnieku izcelsmes produktos nav nekādu infekcijas izraisītāju. Lietojot un iznīcinot katru flakonu un tā saturu, jāievēro piesardzība.

REAĢENTA IZNĪCINĀŠANA UN RĪCĪBA IZŠĻAKSTĪŠANĀS GADĪJUMĀ

Lai iegūtu informāciju par reaģenta iznīcināšanu un izšķaidīšanas vietas dekontamināciju, skatīt **materiālu drošības datu lapas**, kas pieejamas pēc pieprasījuma.

KONTROLE UN IETEIKUMI

1. Līdztekus katrai testu partijai ieteicams veikt pozitīvu kontroles (vislabāk R₁r šūnu) testu un negatīvu kontroles (vislabāk rr šūnu) testu. Testi jāuzskata par nederīgiem, ja kontrole neuzrāda skaidrus rezultātus.
2. Tipējot eritrocītus no pacienta, kuram ir diagnosticēta slimība, kas izraisa eritrocītu pārkļāšanos ar antivielām vai citiem proteīniem (piemēram, HDN, AIHA), ir svarīgi pārbaudīt pacienta eritrocītus, izmantojot Lorne reaģenta negatīvu kontroles testu (monoklonālais D negatīvais kontroles tests (katalogs 650010)).
3. Vājos un daļēja D varianta antigēnus ir grūti atklāt, izmantojot metodi ar gēla kartīti, mikroītru plati un priekšmetstikliņu. Vājos un daļējos D variantus ieteicams pārbaudīt, izmantojot mēģenes testa metodi.
4. Ļaujiet reaģentam pirms lietošanas sasilt līdz istabas temperatūrai. Tiklīdz reaģents ir izmantots, ielieciet to atpakaļ glabātavā, kur ir 2-8°C temperatūra.
5. Sadaļā “Ieteicamās metodes” norādītā viena tilpuma vienība ir aptuveni 50 μl, izmantojot komplektā iekļauto flakonu ar pipeti.
6. Tikai pienācīgi apmācīts un kvalificēts personāls drīkst lietot reaģentus un interpretēt rezultātus saskaņā ar tās valsts prasībām, kurā izmanto reaģentus.
7. Lietotājam jānosaka reaģentu piemērotība izmantošanai ar citām metodēm.

NEPIECIEŠAMIE REAĢENTI UN MATERIĀLI

- Mērpipetes.
- Bio-Rad ID kartes (NaCl, enzīmu tests un aukstuma aglutinīni).
- Bio-Rad ID centrifūga.
- Bio-Rad ID CellStab vai ID atšķaidītājs 2.
- Ortho BioVue sistēmas kasetes (neitrāls).
- Ortho BioVue sistēmas centrifūga.
- Ortho 0,8% eritrocītu atšķaidītājs.
- Mikroskopa priekšmetstikliņi vai baltas kartītes.
- Aplikatora kociņi.
- Stikla mēģenes (10 x 75 mm vai 12 x 75 mm).
- Mēģeņu centrifūga.
- Validētas “U” iedobju mikroplates.
- Mikroplašu centrifūga.
- Plašu kratītājs.
- PBS šķīdums (pH 6,8–7,2) vai izotoniskais šķīdums (pH 6,5–7,5).
- Pozitīvi (ideālā gadījumā R₁r) un negatīvi (rr) kontroles eritrocīti.

IETEICAMĀS METODES

A. Mēģenes metode

1. Sagatavojiet 2–3% eritrocītu suspensiju PBS vai izotoniskajā šķīdumā.
2. Ievietojiet marķētā mēģenē: 1 tilpuma vienību Lorne Anti-D reaģenta un 1 tilpuma vienību eritrocītu suspensijas.
3. Kārtīgi samaisiet un centrifugējiet visas mēģenes 20 sekundes ar 1000 rcf (relatīvais centrālās spēks) vai atbilstošu alternatīvu laiku un spēku.
4. Sautzīgi atkārtoti suspendējiet eritrocītu recekli un makroskopiski nolasi aglutināciju.
5. Visas mēģenes ar negatīvu vai apšaubāmu rezultātu (tas var notikt ar vājiem D paraugiem) nepieciešams inkubēt 15 minūtes istabas temperatūrā.
6. Pēc inkubācijas atkārtot 3. un 4. soli.

B. Bio-Rad-ID metode (NaCl, enzīmu tests un aukstuma aglutināciju kartītes)

1. Sagatavojiet 0,8% eritrocītu suspensiju ID-CellStab vai ID-Diluent 2.
2. Noņemiet alumīnija plēvīti no tik daudz mikrostobriņiem, cik nepieciešams.
3. Ievietojiet atbilstošā mikrostobriņā: 50µl eritrocītu suspensijas un 25µl Lorne Anti-D reaģenta.
4. Centrifugējiet ID-kartīti(-es) Bio-Rad gēla kartīšu centrifūgā.
5. Makroskopiski nolasiēt aglutinācijas rezultātus.

C. Ortho BioVue metode (neitrālas kartītes)

1. Sagatavojiet 0,8% eritrocītu suspensijas 0,8% Ortho eritrocītu šķīdinātājā.
2. Noņemiet alumīnija plēvīti no tik daudz reakcijas kamerām, cik nepieciešams.
3. Ievietojiet atbilstošā reakcijas kamerā: 50µl eritrocītu suspensijas un 40µl Lorne Anti-D reaģenta.
4. Centrifugējiet kaseti(-es) Ortho BioVue sistēmas centrifūgā.
5. Makroskopiski nolasiēt aglutinācijas rezultātus.

D. Mikroplates metode, izmantojot "U" iedobes

1. Sagatavojiet 2–3% eritrocītu suspensiju PBS vai izotoniskajā šķīdumā.
2. Ievietojiet atbilstošā iedobē: 1 tilpuma vienību Lorne Anti-D reaģenta un 1 tilpuma vienību eritrocītu suspensijas.
3. Kārtīgi samaisiet, vēlams, izmantojot mikroplašu kratītāju, uzmanoties, lai nenotīktu piesārņojums starp iedobēm.
4. Inkubējiet 15 minūtes istabas temperatūrā (laiks atkarīgs no lietotāja).
5. Centrifugējiet mikroplati 1 minūti ar 140 rcf (relatīvais centrālās spēks) vai atbilstošu alternatīvu laiku un spēku.
6. Atkārtoti suspendējiet eritrocītu recekli, izmantojot kontrolētu maisīšanu uz mikroplašu kratītāja.
7. Rezultātus nolasiēt makroskopiski vai izmantojot apstiprinātu automātisku lasītāju.
8. Visas vājās reakcijas ir jāatkārto, izmantojot mēģeņu metodi.

E. Priekšmetstikliņu metode

1. Sagatavojiet 35-45% eritrocītu suspensiju serumā, plazmā, PBS vai izotoniskajā šķīdumā, vai arī izmantojiet antikoagulētu pilnasiņu paraugu (savā plazmā).
2. Novietojiet uz marķēta priekšmetstikliņa vai kartītes: 1 tilpuma vienību Lorne Anti-D reaģenta un 1 tilpuma vienību eritrocītu suspensijas.
3. Izmantojot tīru aplikatora kociņu, sajauciet reaģentu un eritrocītus aptuveni 20 x 40 mm lielā laukumā.
4. 30 sekundes lēnām pašūpoiet priekšmetstikliņu, pēc tam 1 minūti ik pa brīdim samaisiet, nodrošinot, ka priekšmetstikliņš ir istabas temperatūrā.
5. Pēc 1 minūtes difūzā gaismā makroskopiski nolasiēt rezultātus un kļūdaini neuztveriet fibrīna pavedienus kā aglutināciju.
6. Visas vājās reakcijas ir jāatkārto, izmantojot mēģeņu metodi.

TESTA REZULTĀTU INTERPRETĒŠANA

1. **Pozitīvs:** eritrocītu aglutinācija nozīmē, ka testa rezultāts ir pozitīvs, un saskaņā ar pieļaujamajiem testa procedūras ierobežojumiem norāda, ka eritrocītos ir D antigēns.
2. **Negatīvs:** ja eritrocītu aglutinācija nenotiek, tas nozīmē, ka testa rezultāts ir negatīvs, un saskaņā ar pieļaujamajiem testa procedūras ierobežojumiem norāda, ka eritrocītos nav D antigēna.
3. **Kontrole:** Eritrocītu, kas aglutinējušies, izmantojot reaģenta negatīvo kontroli, testa rezultāti nav jāņem vērā, jo aglutināciju, visticamāk, ir izraisījusi reaģentā esošo makromolekulāro pastiprinātāju ietekme uz sensibilizētiem eritrocītiem.

REAKCIJU STABILITĀTE

1. Nolasiēt stobriņu un mikroplates testu rezultātus uzreiz pēc centrifugēšanas.
2. Priekšmetstikliņu tekstu rezultāti jānolasa vienas minūtes laikā, lai nodrošinātu specifiku un nepieļautu iespēju, ka izžuvaša reaģenta dēļ kļūdaini negatīvs rezultāts tiek interpretēts kā pozitīvs.
3. Tādu testu rezultāti, kas veikti, neievērojot ieteicamās temperatūras, jāinterpretē piesardzīgi.

IEROBEŽOJUMI

1. Lorne Anti-D reaģents nav piemērots eritrocītiem, kas apstrādāti ar enzīmiem, eritrocītiem, kuru suspensija ir izgatavota LISS vai izmantošanai ar netiešā antiglobulīna (IAT) metodēm.
2. Uzglabātas asinis var reaģēt vājāk, nekā svaigas asinis.
3. Testējot IgG sensibilizētus eritrocītus, piem., ALHA un HDN, reaģentā esošo makromolekulāro pastiprinātāju dēļ, var tikt novērota kļūdaini pozitīva aglutinācija.
4. Kļūdaini pozitīvus vai kļūdaini negatīvus rezultātus var izraisīt arī:
 - testējamo materiālu piesārņošanās;
 - nepareiza uzglabāšana, eritrocītu koncentrācija, inkubācijas laiks vai temperatūra;
 - nepareiza vai pārmērīga centrifugēšana;
 - ieteicamo metožu neievērošana.

ĪPAŠI VEIKTSPĒJAS RAKSTURLIELUMI

1. Pirms izplatīšanas katra Lorne Anti-D monoklonālā reaģenta partija tika pārbaudīta, izmantojot šajos lietošanas norādījumos minētās ieteicamās metodes. Testi tika veikti saskaņā ar pārbaudes prasībām, kas noteiktas

"Vadlīnijās par asins pārliešanas pakalpojumiem Apvienotajā Karalistē" un "Kopējās tehniskajās specifikācijās".

2. Anti-D asins grupas noteikšanas reaģents D grupas noteikšanai pacientiem, izmantojot ieteicamo metodi vai metodes, nedrīkst reaģēt ar DVI eritrocītiem.
3. Monoklonālo antivielu avota specifika tiek pierādīta, izmantojot tādu eritrocītu paneli, kam ir negatīvs antigēns.
4. Reģentu stiprums ir pārbaudīts, ņemot vērā šādu minimālo stipruma atsaucē standartu, kas iegūts no Nacionālā bioloģisko standartu un kontroles institūta (NIBSC):
 - Anti-D atsaucē 99/836
5. Reģentu kvalitātes kontrole tika veikta, izmantojot eritrocītus ar fenotīpiem, kurus apstiprinājis Apvienotās Karalistes asins pārliešanas centrs un kuri pirms lietošanas tika skaloti ar PBS vai izotonisko šķīdumu.

ATRUNA

1. Izmantojot jebkuru citu metodi, kas nav minēta sadaļā "Ieteicamās metodes", lietotājs pats ir atbildīgs par reaģentu darbību.
2. Jebkādas novirzes no ieteicamajām metodēm jāapstiprina pirms to izmantošanas⁶.

BIBLIOGRĀFIJA

1. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 10.
2. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
3. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 192.
4. Jones J, Scott ML, Voak D. Monoclonal anti-D specificity and Rh D structure: criteria for selection of monoclonal anti-D reagents for routine typing of patients and donors. Transfusion Medicine 1995. 5, 171-184
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.

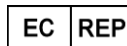
PIEĒJAMIE REAĢENTU TILPUMI

	Flakona izmērs	Kataloga numurs	Testi katrā flakonā
Anti-D klons 1 monoklonāls	10 ml	730010	200
	1000 ml	730000*	20 000
	5000 ml	730000x5*	100 000
Anti-D klons 2 monoklonāls	10 ml	710010	200
	1000 ml	710000*	20 000
	5000 ml	710000x5*	100 000

*Šis tilpums paredzēts tikai izmantošanai turpmākā ražošanā (For Further Manufacturing Use (FFMU)), tādēļ tam nav CE marķējuma.



Lorne Laboratories Limited
Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate
Danehill
Lower Earley
Berkshire, RG6 4UT
Apvienotā Karaliste
Tālr.: +44 (0) 118 921 2264
Fakss: +44 (0) 118 986 4518
E-pasts: info@lornelabs.com



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