



**MONOKLONAALSED VEREGRUPI MÄÄRAMISE REAKTIIVID  
KASUTUSJUHISED**

**Anti-Fy<sup>a</sup> monoklonaalne: kaudse antiglobuliintesti meetodite jaoks**

**KOKKUVÕTE**

Fy<sup>a</sup> ja Fy<sup>b</sup> antigeenid avastati vastavalt 1950. ja 1951. aastal. Nii anti-Fy<sup>a</sup> kui ka anti-Fy<sup>b</sup> korral on täheldatud seost nii vahetu kui ka hilise hemolüütilise transfusioonireaktsiooni kui ka vastusündinute hemolüütilise tõvega.

Anti-Fy <sup>a</sup>	Anti-Fy <sup>b</sup>	Fenotüüp	% heledanahaliste hulgast	% afroameeriklaste hulgast
+	0	Fy(a+b-)	17	9
0	+	Fy(a-b+)	34	22
+	+	Fy(a+b+)	49	1
0	0	Fy(a-b-)	Väga harv	68

**KAVANDATUD EESMÄRK**

Tegu on veregrupi määramise reaktiiviga, mille kasutuseesmärk on Fy(a) antigeeni (FY001) erütrotsüütidel olemasolu või puudumise kvalitatiivne määramine veredoonoritel või vereülekannet vajavatel patsientidel. Analüüsimisel peab järgima käesolevas kasutusjuhendis soovitatud meetodeid.

**KASUTUSPÕHIMÕTE**

Reaktiiv põhjustab Fy(a) antigeeni kandvate erütrotsüütide kaudset aglutinatsiooni (kokkukleepumist) analüüsi antiglobuliinifaasis. Aglutinatsiooni puudumine viitab üldjuhul Fy(a) antigeeni puudumisele (vt jaotist „Piirangud“).

**REAKTIIVID**

See monoklonaalsete IgG-antikehadega veregrupi määramise reaktiiv sisaldab inimese monoklonaalseid antikehi, mida on lahjendatud naatriumkloriid ja veise albumiini sisaldava fosfaatpuhvriga. See reaktiiv 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. Reaktiivi lahjendus on juba tarnimisel optimaalne kasutamiseks kõigi allkirjeldatud soovitatud meetoditega ilma edasise lahjendamise ja lisamise vajaduseta. Partii viitenumbrit ja aegumiskuupäeva vt **viaali sildit**.

Toode	Rakuliin/kloon
Anti-Fy <sup>a</sup>	DG-FYA-02

**SÄILITAMINE**

Mitte sügavkülmutada. Reaktiiviviale tuleb pärast vastuvõtmist hoida temperatuuril 2–8 °C. Pikemaajalise 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 katsüttesse 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 hemolüüsiiga 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 vial 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 viala avamist peaks selle sisu püsima kasutuskõlblikuna kuni aegumiskuupäevani. Reaktiivi muutmise hädasaks viitab selle riknemisele või saastumisele.
- Reaktiivid sisaldavad < 0,1% naatriumasiidi. Naatriumasiidid võib olla allaneelamisel toksilise 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 viala 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 (ideaalselt heterosügootsed rakud) kui ka negatiivset kontrolli. 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 „**Katsuti meetod**“ on ühe osa maht ligikaudu 50 µl, kui kasutatakse kaasasolevat vialipipetti.
- 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**

- Inimesevastane globuliin, st Lorne AHG Elite (katalooginumber 435010 või 415010) või inimesevastane IgG, st Lorne Anti-Human IgG (katalooginumber 402010 või 401010)
- Coombsi rakupesur
- Kaardid Bio-Rad ID (LISS/Coombs või Coombs Anti-IgG)
- Tsentrifuug Bio-Rad ID
- Lahjendi Bio-Rad ID-CellStab või ID-Diluent 2
- Inkubaator Bio-Rad ID-Incubator, mis on tasakaalustatud temperatuuril 37 °C ± 2 °C
- Klaasist katsütid (10 x 75 mm või 12 x 75 mm)
- IgG-ga sensibiliseeritud erütrotsüüdid, st Lorne Coombs Control Cells (katalooginumber 970010)
- Ortho BioVue süsteemi kassetid (AHG Polyspecific või AHG Anti-IgG)
- Ortho BioVue süsteemi tsentrifuug
- Ortho BioVue süsteemi soojendusplakk, mis on tasakaalustatud temperatuuril 37 °C ± 2 °C
- Lahjendi Ortho 0.8% Red Cell Diluent
- PBS-lahus (pH 6,8–7,2) või isotooniline füsioloogiline lahus (pH 6,5–7,5)
- Positiivse (ideaalselt heterosügootsed) ja negatiivse kontrolli erütrotsüüdid
- Volumetrilised pipetid
- Veevann või kuiva kuumusega inkubaator, mis on tasakaalustatud temperatuuril 37 °C ± 2 °C.

**SOOVITATUD MEETODID**

**A. Kaudne antiglobuliintest (Indirect Antiglobulin Technique, IAT)**

- Valmistage ette erütrotsüütide 2–3% suspensioon PBS-is või isotoonilises füsioloogilises lahuses.
- Asetage märgistatud katsüttesse 1 osa ettevõtte Lorne reaktiivi ja 1 osa erütrotsüütide suspensiooni.
- Segage põhjalikult ja inkubeerige 15 minutit temperatuuril 37 °C.
- Peske erütrotsüüte üks kord PBS-i või isotoonilise füsioloogilise lahusega, dekanteerides lahuse kindlasti pärast pesu.
- Lisage igale kuivale rakupelletile 2 osa inimesevastast globuliini või anti-IgG-d.
- Segage põhjalikult ja tsentrifuugige kõiki katsüteid 20 sekundit kiirusel 1000 RCF või kasutage alternatiivset sobivat aega ja jõudu.
- Resuspendeerige erütrotsüüte pellet ettevaatlikult ja hinnake seda makroskoopiliselt aglutinatsiooni suhtes.
- Kontrollige kõigi negatiivsete reaktsioonide kehtivust IgG-ga sensibiliseeritud erütrotsüütide abil.

**B. Bio-Rad ID meetod (LISS-i/Coombsi kaardid)**

- Valmistage ette erütrotsüütide 0,8% suspensioon lahjendis ID-CellStab või ID-Diluent 2.
- Eemaldage foolium kas LISS-i/Coombsi või Coombsi Anti-IgG ID-kaartidel nii paljudelt mikrokatsetitelt kui vaja.
- Asetage sobivasse mikrokatsetisse 50 µl erütrotsüütide suspensiooni ja 25 µl ettevõtte Lorne reaktiivi.
- Inkubeerige LISS-i/Coombsi ID-kaarti (-kaarte) 15 minutit temperatuuril 37 °C.
- Tsentrifugeerige LISS-i/Coombsi ID-kaarti (-kaarte) ettevõtte Bio-Rad ID-kaartide tsentrifuugis.

6. Hinnake makroskoopiliselt aglutinatsiooni suhtes.

### C. Ortho BioVue meetod (AHG kassetid)

1. Valmistage ette erütrotsüütide 0,8% suspensioon 0,8% lahjendis Ortho Red Cell Diluent.
2. Eemaldage foolium kas AHG Polyspecific'u või AHG Anti-IgG kassetidel nii paljudelt reaktsioonikambritelt kui vaja.
3. Asetage sobivasse reaktsioonikambris 50 µl erütrotsüütide suspensiooni ja 40 µl ettevõtte Lorne reaktiivi.
4. Inkubeerige kassetti (kassette) 15 minutit temperatuuril 37 °C.
5. Tsentrifugeerige kassetti (kassette) Ortho BioVue süsteemi tsentrifuugis.
6. Hinnake makroskoopiliselt aglutinatsiooni suhtes.



**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

### ANALÜÜSITULEMUSTE TÕLGENDAMINE

1. **Positiivne:** erütrotsüütide aglutinatsioon tähistab positiivset analüüsitulemust ja vastava antigeeni olemasolu erütrotsüütidel, arvestades analüüsiprotseduuri tunnustatud piiranguid.
2. **Negatiivne:** erütrotsüütide aglutinatsiooni puudumine tähistab negatiivset analüüsitulemust ja vastava antigeeni puudumist erütrotsüütidel, 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. **Soovitavad** temperatuuridest erineval temperatuuril tehtud analüüside tulemuste tõlgendamisel peab olema ettevaatlik.

### PIIRANGUD

1. Erütrotsüüte, mille DAT on IgG-katte tõttu positiivne, pole võimalik **kaudse antiglobuliiniga** tüpeerida.
2. Ja vastupidiselt võib teatud veregruppide antigeenide ekspresiooni mahasurumine või vähenemine anda valenegatiivseid reaktsioone, mistõttu tuleb analüüsitulemuste alusel genotüüpide määramisel olla alati ettevaatlik.
3. Valepositiivsed või valenegatiivsed tulemused võivad olla põhjustatud ka järgmisest.
  - Analüüsimaterjalide saastumine
  - Väär säilitamine, rakkude kontsentratsioon, inkubeerimisaeg või temperatuur
  - Väär või liigne tsentrifuugimine
  - Kõrvalekaldeid soovitatud meetoditest

### SPETSIIFILISED TOIMIVUSNÄITAJAD

1. Enne müügile laskmist analüüsi 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 analüüsioüetele.
2. Lähtematerjalina kasutatavate monoklonaalsete antikehade spetsiifilisust näidati antigeeni suhtes negatiivsete rakkude paneeliga.
3. 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 „**Soovitavad meetodid**“ kirjeldatute.
2. Mis tahes kõrvalekaldeid jaotises „**Soovitavad meetodid**“ kirjeldatust tuleb enne kasutamist valideerida<sup>6</sup>.

### BIBLIOGRAAFIA

1. Widman FK. Technical Manual, 9<sup>th</sup> Edition. American Association of Blood Banks, Arlington, VA, 1985; 8. peatükk
2. Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, 6<sup>th</sup> Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1975; 2. peatükk
3. Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8<sup>th</sup> Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1987; 7. peatükk
4. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; 6. peatükk
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Uusim väljaanne.
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
Anti-Fy <sup>a</sup>	2 ml	774002	40
monoklonaalne	1000 ml	774000*	20 000

\*See suurus on mõeldud kasutamiseks edasisel tootmisel (For Further Manufacturing Use, FFMU) ja seetõttu ilma CE-märgiseta.