

МУЛЬТИПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ

современный подход при комплексной
диагностике в трансплантологии

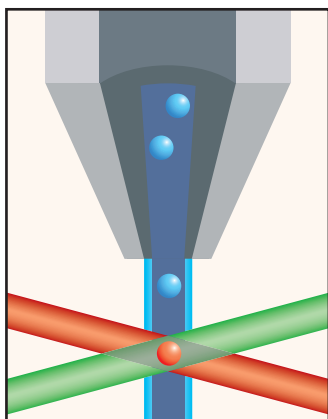


Реагенты Gen-Probe на платформе Luminex 100/200



Группа компаний «БиоХимМак»

Трансплантационная диагностика от Gen-Probe на платформе Luminex 100/200 использует принципы проточной флуориметрии на специальных микросферах



Диагностические тесты

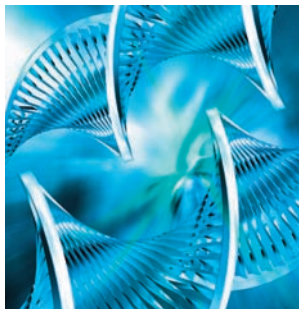
1. Генетическое HLA типирование доноров и реципиентов на низком (Low Resolution) и высоком (High Resolution) разрешении.
2. Предтрансплантационный анализ предрасполагающих HLA антител с расчетом показателя PRA% для прогноза подбора совместимого донора
3. Посттрансплантационный мониторинг антидонорских HLA-антител для диагностики риска отторжения
4. Ранняя диагностика риска острого отторжения почки по высокоспецифическим маркерам из группы тимокинов: OPG, MIG, OP-10
5. Постановка реакции cross-match высокочувствительным иммунофлуоресцентным методом
6. Исследование антител к тромбоцитам, для выявления резистентности при тромбоцитотрансфузиях

Основные преимущества

1. Автоматизация исследований и высокая чувствительность иммунофлуоресцентного метода обеспечивают высокое качество результатов
2. Анализатор **Luminex** не имеет аналогов по количеству проводимых исследований на одной диагностической платформе, а некоторые тесты, такие как диагностика маркеров острого отторжения почки, могут быть проведены только с ее использованием.
3. Использование анализатора **Luminex** существенно снижает себестоимость анализа, по сравнению с ручными методиками.

Реагенты Gen-Probe

три протокола для трансплантологии на одной платформе



HLA типирование доноров и реципиентов – методом SSO (низкое или высокое разрешение)

Технология предполагает наличие ПЦР-лаборатории:

- выделение ДНК,
- проведение амплификации,
- гибридизации полученных ампликонов на микросферы с последующей детекцией на Luminex.



Выявление донор-специфических антител у конкретной пары донор/реципиент (IgG)

Метод основан на выделении донорских лейкоцитов из цельной крови в градиенте плотности, с последующим нанесением поверхностных HLA-антигенов на микросферы. При добавлении сыворотки реципиента, потенциально содержащей HLA-антитела к данному донору, происходит связывание АТ с комплексом АГ-микросфера. Добавление вторичных, меченных фикоэритрином антител, позволяет считать реакцию на Luminex. Методика проводится в плоскодонном планшете с пористым дном и предполагает наличие вакуумного отсоса и инкубатора.

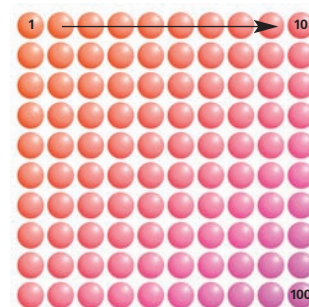


Анализ предсуществующих HLA антител (IgG)

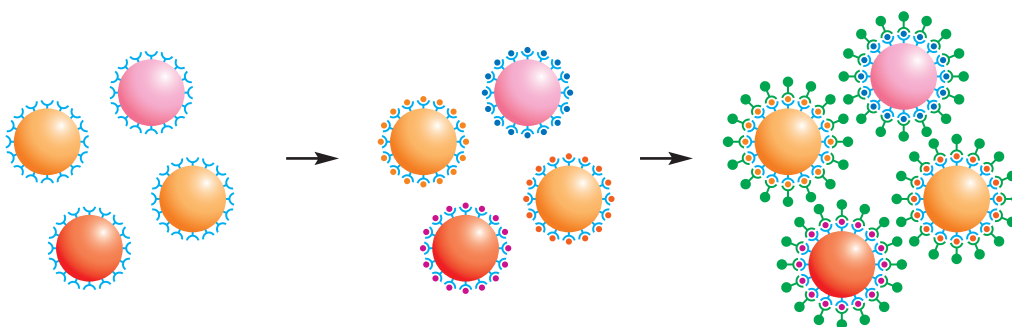
Принцип метода аналогичен постановке cross-match, за исключением того, что микросферы в данном случае уже конъюгированы с пулом донорских антигенов I либо II класса, что позволяет провести их дифференцировку при анализе. Донорские пулы подобраны таким образом, чтобы максимально охватить все известные кросс-реактивные группы антигенов I класса и клеточные линии II класса. Методика проводится в плоскодонном планшете с пористым дном и предполагает наличие вакуумного отсоса и инкубатора.

Технология мультиплексного анализа (основные положения)

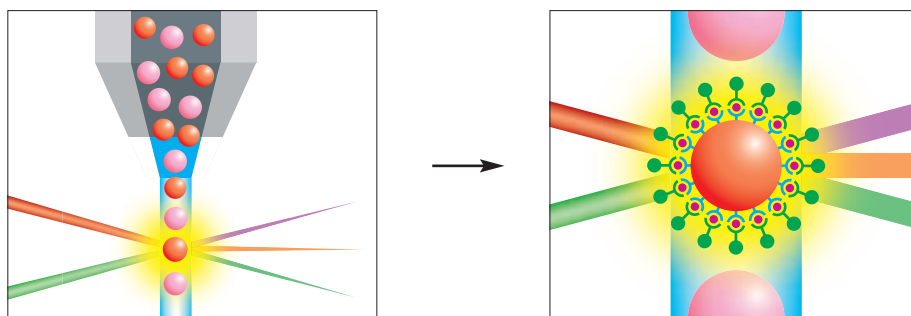
В качестве носителя (твердой фазы) используют полистироловые микросферы $d=5,6$ мкм. В состав микросфер интегрированы два флуорофора в различной концентрации. Определенное соотношение концентраций флуорофоров создает 100 возможных типов частиц, каждая из которых будет иметь свою собственную уникальную спектральную характеристику. Спектр частицы является ее индивидуальным «номером» и определяет ее тип (вариант). Тип частицы распознается прибором Lumineх 100/200 в процессе измерения. На поверхности полистирола могут быть зафиксированы различного рода биологические молекулы – антитела, антигены или фрагменты олигонуклеотидных последовательностей.



Для выявления того или иного аналита проводят инкубацию микросфер с образцом, согласно поставленным диагностическим задачам. Для проявления реакции, используют конъюгат, в составе которого фикоэритрин – флуорисцентная метка – источник сигнала. Интенсивность свечения фикоэритрина будет пропорциональна концентрации (наличию) искомого аналита.



Во время измерения, в счетной камере Lumineх, в потоке направляющей жидкости, каждая микросфера подвергается облучению двумя лазерами с разной длиной волны и сигнал, испускаемый флуорофорами, регистрируется датчиками прибора. Т.о анализируется одновременно тип микросферы и наличие (концентрация) искомого аналита на соответствующем типе частиц.



Варианты анализа для каждого типа исследований см.далее.

HLA генотипирование

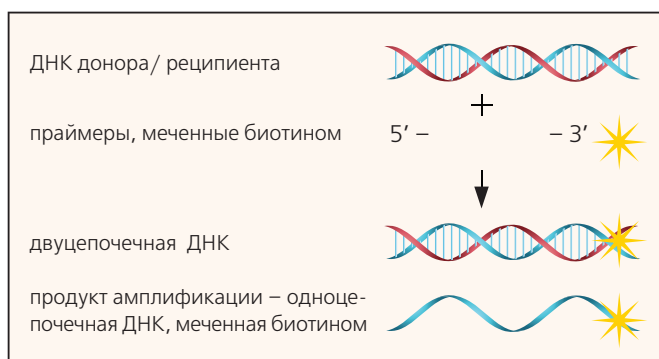
Технология SSO, реализованная на специальных микросферах (Low & High Resolution)

Наборы реагентов Gen-Probe дают возможность проводить типирование локусов: A, B, C, DRB, DQA, DQB, DPB, KIR с различной степенью разрешения. В составе каждого набора (на каждый локус) суспензия порядка 100 типов микросфер. Каждый тип микросферы на своей поверхности несет определенный фрагмент олигонуклеотида, соответствующий тому или иному полиморфному аллельному варианту HLA-локуса.

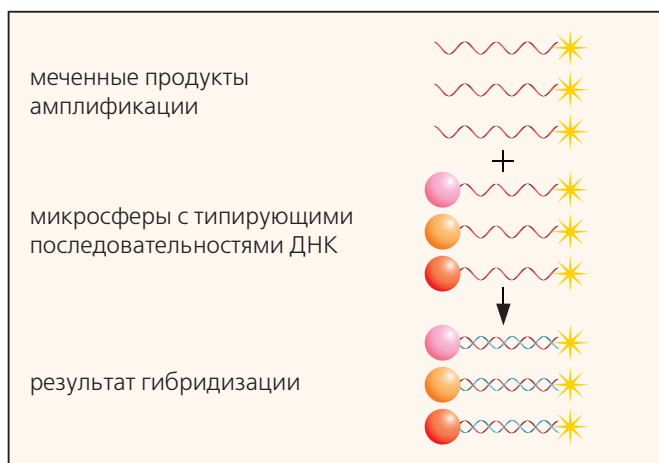
ПРИНЦИП МЕТОДА

I этап. Выделение генетического материала донора/реципиента общепринятыми методами. Концентрация ДНК может находиться в пределах от 10 до 200 нг/мкл.

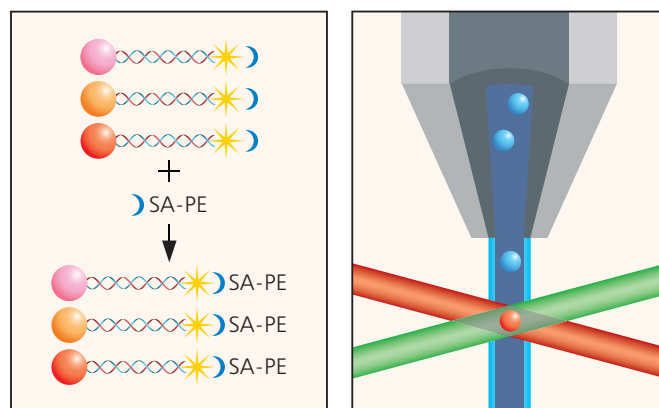
II этап. Амплификация генетического материала с праймерами, мечеными биотином. Продуктом амплификации является одноцепочечная ДНК с биотином.



III этап. Гибридизация меченных продуктов амплификации с типизирующими нуклеотидными последовательностями, нанесенными на микросферы.



IV и V этапы. Добавление в систему конъюгата «стрептавидин-фикоэритрин» и последующее измерение.



Программа прибора Luminex регистрирует тип частицы (а значит и тип олигонуклеотида, фиксированного на ней), а также сигнал фикоэритрина (если прошла специфическая гибридизация). Первичные данные о величине сигнала каждой микросферы сохраняются программным обеспечением Luminex для дальнейшего анализа.

Программа интерпретации QuickType

По окончании измерения, данные с Luminex передаются в программу интерпретации QuickType в раздел – «DNA-analysis», где происходит суммирование данных с каждой микросферы и формируется отчет о генотипе.

Оборудование и реагенты, необходимые для Luminex SSO-HLA типирования на реагентах Gen-Probe

Оборудование:

- I. Оборудование и реагенты для выделения ДНК:
 - автоматическая станция NorDiag Arrow
 - спектрофотометр BioWave DNA
- II. Оборудование для проведения HLA-типирования:
 - амплификатор Verityum C-1000
 - 888310 – Luminex 100/200
 - вортексы (2 шт.)
 - твердотельный термостат
- III. Опционально.
Для подтверждения успешной амплификации может понадобиться:
 - электрофоретическая ячейка, гели для проведения электрофореза
 - гель-документирующая система.

Реагенты:

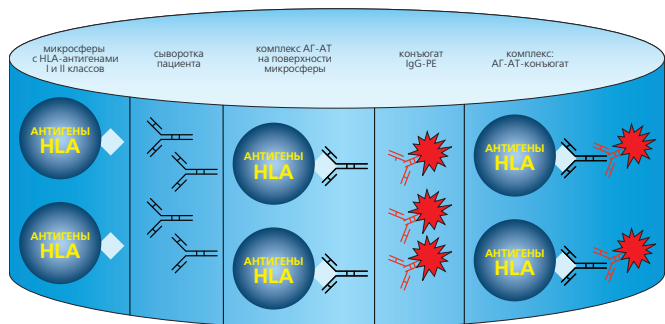
- | | |
|-----------|---|
| 628410-50 | LIFECODES HLA-A typing kit 50 test |
| 628459-50 | LIFECODES HLA-A typing kit 50 test (high res) |
| 628510-50 | LIFECODES HLA-B typing kit 50 tests |
| 628559-50 | LIFECODES HLA-B typing kit 50 tests (high res) |
| 628810-50 | LIFECODES HLA-C typing kit 50 tests |
| 628710-50 | LIFECODES HLA-DRB 3, 4, 5 typing kit 50 tests |
| 628751-50 | LIFECODES HLA-DRB1 typing kit 50 tests |
| 628759-50 | LIFECODES HLA-DRB1 typing kit 50 tests (high res) |
| 628610-50 | LIFECODES HLA-DQB typing kit 50 tests |
| 628061 | LIFECODES HLA-DQA typing kit 20 tests |
| 628910 | LIFECODES HLA-DPB typing kit 20 tests |
| 545110 | LIFECODES KIR typing kit 20 tests |
| 167075 | LIFECODES Taq Polymerase 100 tests |
| 628511 | LIFECODES Streptavidin-PE 100 tests |

Анализ предсуществующих HLA антител с расчетом показателя PRA% для прогноза подбора совместимого донора

Анти HLA IgG являются причиной неудач в 95% трансплантаций, т.к. обуславливают развитие реакции острого и хронического отторжения. Иммунизация пациента в анамнезе может быть вызвана беременностью, гемотрансфузиями, предыдущими трансплантациями.

Анализ проводится в лунках 96-луночного планшета с пористым дном. При использовании наборов Gen-Probe, согласно клинической задаче, может быть поставлен скрининговый тест или идентификация.

К микросферам, несущим на своей поверхности антигены разных локусов HLA добавляют сыворотку реципиента. В случае наличия в ней антител, на поверхности микросфер образуется комплекс АГ-АТ. Затем в систему вносят конъюгат (анти-IgG человека, меченные фикоэритрином). После инкубации проводят измерение.



В случае выявления суммарных антител к HLA классу I, либо к классу II, на этапе скрининга, проводят тест на их идентификацию, с отдельной постановкой анализа по I (HLA-A,B,C) и по II (HLA-DR, DQ) классам. Тест на идентификацию позволяет определить величину PRA (%).

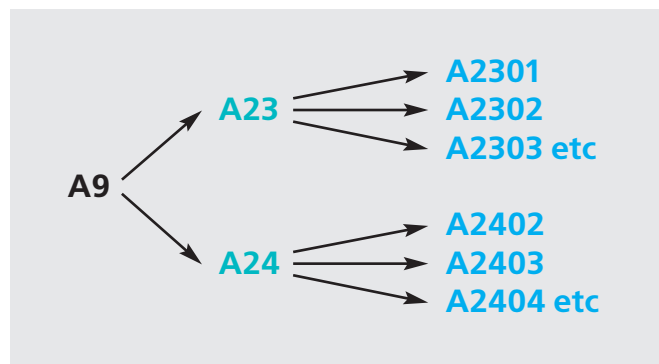
% PRA означает вероятность перекрестной иммуноспецифической реакции с потенциальным донором, случайно выбранным из здоровой популяции.

Например, PRA=25% означает, что пациент может иметь положительную реакцию cross-match с 25% потенциальных доноров (людей из общей популяции). PRA выше 85% характеризует потенциально высокий уровень сенсибилизации, при котором выявить конкретные иммунореактивные антитела, как правило, не удастся. Тогда ставят повторное тестирование на разведенной в 10 раз сыворотке для выявления наиболее иммунореактивных специфических АТ.

Высокая специфичность и полнота выявляемости HLA-антител при использовании наборов Gen-Probe обусловлена учетом кросс-реактивных групп при формировании донорской панели антигенов. Доноры подбираются таким образом, чтобы максимально охватить все перекрестно реагирующие HLA специфичности. Поэтому, даже сравнительно небольшим количеством доноров (около 150 генотипов), удается охватить весь набор возможных HLA-АТ.

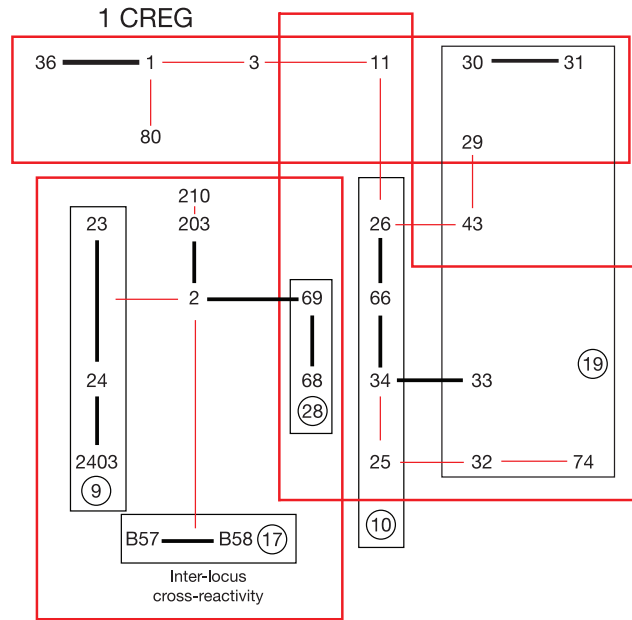
Пример кроссреактивного реагирования

Исходя из теории общих эпитопов у разных HLA специфичностей, как в пределах одного локуса, так и между разными локусами, активные центры связывания с антителами могут иметь одинаковое строение. Например антитела против антигена A9, будут реагировать и с антигенами A23 и A24, в то время как анти-A23 будут реагировать только со всеми антигенами A23.

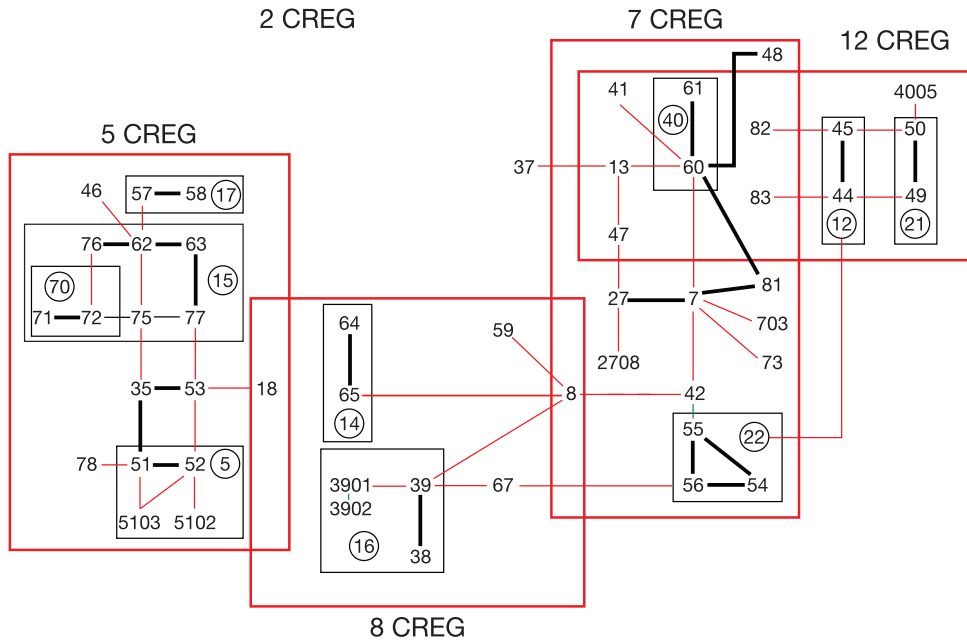


Основные кросс-реактивные группы локусов А, В, С

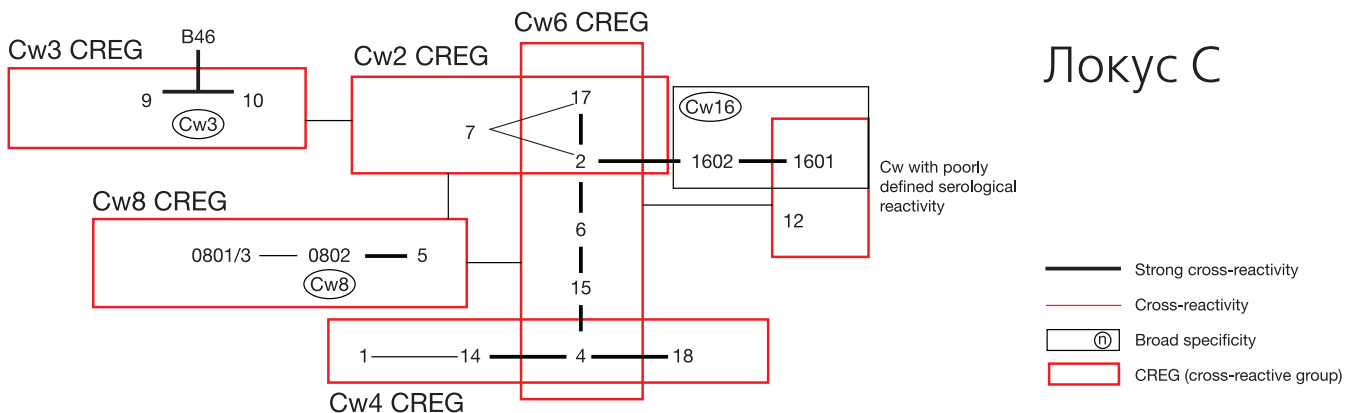
Локус А



Локус В



Локус С

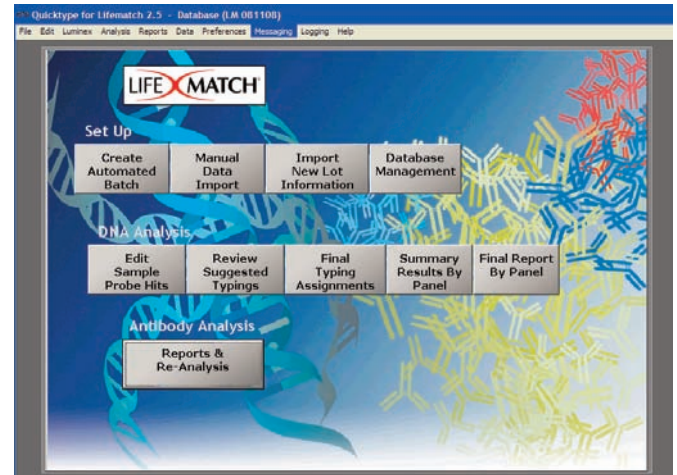


- Strong cross-reactivity
- Cross-reactivity
- Broad specificity
- CREG (cross-reactive group)

Программа интерпретации QuickType

По окончании измерения, данные с Luminex передаются в программу интерпретации QuickType в раздел – «Antibody-analysis».

Программа интерпретации анализирует сигнал, полученный с каждой микросферы и вычитает из него фоновый сигнал. Зная, какой HLA антиген конъюгирован с каждой из микросфер, выдается заключение о наличии соответствующих антител.



Пример заключения по скринингу:

LM-HLA Class I/II Deluxe Screen Results

Test Date: 01/25/11 Report By: Admin
 Lot Number: 100510-LMX Expiration Date: 06/05/11
 Assignment Cutoffs: 1, 1 Supplemental Assignment Cutoffs: 2, 2
 Adj Val Cutoffs: 0.00, 0.00 Supplemental Adj Val Cutoffs: 0.00, 0.00

Результат по I (слева) и по II (справа) классам АТ

Sample ID	Patient	Draw Date	Class I Results							Assign	Class II Results				Pos CN
			CI-01	CI-02	CI-03	CI-04	CI-05	CI-06	CI-07		CI-I-01	CI-I-02	CI-I-03	CI-I-04	
1	MFI	331.5	686	219	1287	83	365	137	90.5	36	74.5	74	20116		
	Adj 1	13.12	33.03	7.81	65.56	0.81	15.34	3.09	-0.13	-4.45	-0.49	-0.92	18.5		
	Adj 2	5.45	15.44	2.62	32.04	-0.81	6.73	0.3	-1.3	-3.81	-1.53	-1.89	36.5		
	Adj 3	2.86	9.27	1.15	19.71	-0.94	3.43	-0.36	-1.41	-3.36	-1.68	-1.84	57.5		
	Score	3	3	3	3	1	3	2	Positive	0	0	0	Negative		
2	MFI	121	128	53.5	116	65.5	132.5	81	188	364	180.5	184.5	18093		
	Adj 1	-3.78	-2.98	-3.58	-3.04	-3.13	-3.28	-3.64	-3.45	-3.34	-3.01	-3.38	119.5		
	Adj 2	-1.9	-1.53	-2.62	-1.56	-2.15	-1.38	-2.3	-1.09	0.41	-1	-1.28	70		
	Adj 3	-1.81	-1.51	-2.18	-1.83	-1.79	-1.73	-2.01	-1.29	-0.7	-1.25	-1.46	111		
	Score	0	0	0	0	0	0	0	Negative	0	1	0	Negative		
3	MFI	1134	1380	1431	1198	987	1176	1119.5	7112	8636.5	11450	3302	17383		
	Adj 1	-3.13	-2.02	-1.92	-2.25	-2.23	-2.66	-2.67	5.43	3.37	12.32	0.82	680		
	Adj 2	-1.93	-1.29	-1.24	-1.43	-1.61	-1.51	-1.78	6.85	5.13	13.54	1.92	669		
	Adj 3	-1.43	-0.87	-0.81	-1.12	-1.1	-1.4	-1.29	6.25	4.63	11.88	1.94	770.5		
	Score	0	0	0	0	0	0	0	Negative	3	3	3	Positive		
4	MFI	106.5	146	114	197.5	16	147	132	234	400	206	258	17199		
	Adj 1	-2.89	-1.44	-1.99	-0.49	-3.39	-1.76	-1.96	-0.85	0.75	-0.84	-0.31	56		
	Adj 2	-2.61	-1.96	-2.3	-1.34	-2.93	-1.87	-2.2	-1.55	-0.98	-1.61	-1.46	105		
	Adj 3	-1.55	-0.81	-1.22	-0.17	-2.18	-1.06	-1.07	-0.02	1.08	-0.37	0.14	79		
	Score	0	0	0	0	0	0	0	Negative	0	2	0	1		
5	MFI	230	403	341	389	202	376	319.5	647	1478.5	656.5	630.5	17854.5		
	Adj 1	-3.12	-1.11	-1.54	-1.17	-2.2	-1.64	-1.98	-0.3	4.4	0.27	-0.32	137		
	Adj 2	-1.99	-0.48	-0.95	-0.44	-1.64	-0.58	-1.17	0.84	5.77	1.12	0.59	140		
	Adj 3	-1.55	-0.29	-0.66	-0.38	-1.19	-0.71	-0.86	0.82	4.72	0.88	0.58	170		
	Score	0	0	0	0	0	0	0	Negative	2	3	3	Positive		
6	MFI	234	257.5	244	265	182	274	289	530	1061	494	627	20021		
	Adj 1	-1	-0.73	-0.88	-0.99	-1.33	-0.85	-0.99	1.81	7.3	1.85	3.17	77.5		
	Adj 2	-1.14	-1.17	-1.31	-0.98	-1.54	-0.95	-1	0.71	4.2	0.61	1.4	118		
	Adj 3	-1.15	-1.13	-1.21	-1.1	-1.3	-1.29	-1.02	0.17	2.33	-0.04	0.61	168		
	Score	0	0	0	0	0	0	0	Negative	3	3	2	3		
7nc	MFI	168	214	170	200.5	175	137	234	207	369	253	309	21293		
	Adj 1	-4.06	-3.12	-3.28	-3.14	-2.92	-3.79	-3.3	-4.12	-4.83	-3.42	-3.58	230		

номер сессии с номерами образцов

данные пациентов

Расчетные значения по каждому типу микросфер

В случае постановки теста на идентификацию таблица несет в себе гораздо больше информации.

Оборудование и реагенты, необходимые для проведения анализа предшествующих HLA-антител

Оборудование:

- 888310 – Luminex 100/200
- инкубатор-встряхиватель (25°C, 300-500 об/мин)
- 888315 вакуумный коллектор для планшетов - Vacuum Manifold
- вакуумный отсос
- 888633 плоскодонные планшеты с пористым дном - Milipore Filter Plates
- 888631 пленки для планшетов Costar Thermowell Aluminium Sealers
- набор дозаторов и наконечников

Реагенты:

- 628215 LIFECODES LifeScreen Deluxe 96 тестов
- 628200 LIFECODES ID ClassI Antibody (с донорскими антигенами)
- 628220 LIFECODES ID ClassII Antibody (с донорскими антигенами) 24 теста
- 265100 LIFECODES LSA Class I (с рекомбинантными антигенами) 24 теста
- 265200 LIFECODES LSA Class II (с рекомбинантными антигенами) 24 теста

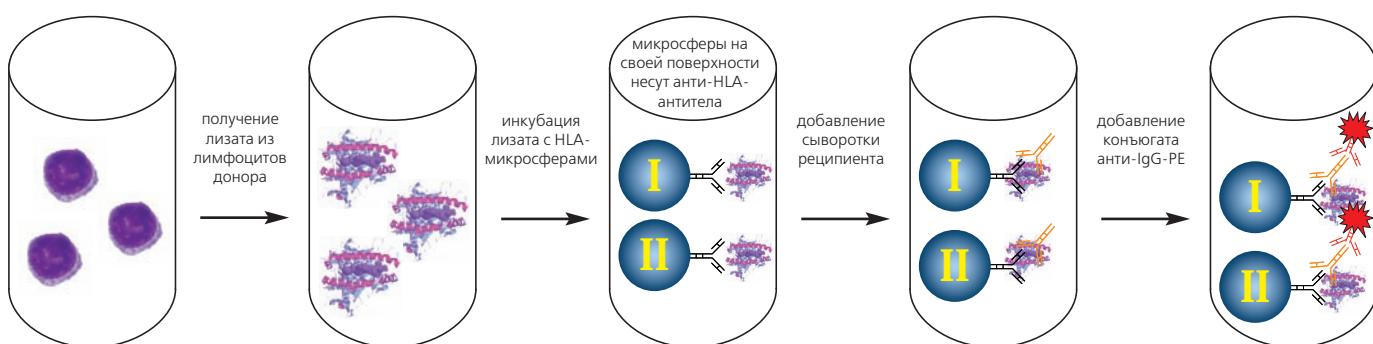
DSA-тест – выявление донор-специфических антител у реципиента (реакция CROSS-MATCH)

Область применения.

- Постановка прямой перекрестной пробы - cross-match - должна проводиться на предварительном этапе планирования трансплантации между лимфоцитами донора и сыворотками потенциальных реципиентов.
- Мониторинг антидонорских HLA-антител после трансплантации.

Рекомендуется лизированные лимфоциты донора подвергнуть архивированию для последующего динамического наблюдения реакции реципиента после успешно проведенной операции. Особенностью данного теста является возможность выявлять антитела у реципиента с учетом их дифференцировки по классам молекул HLA, в отличие от лимфоцитотоксического теста, что помогает определиться с тактикой лечения.

СХЕМА АНАЛИЗА

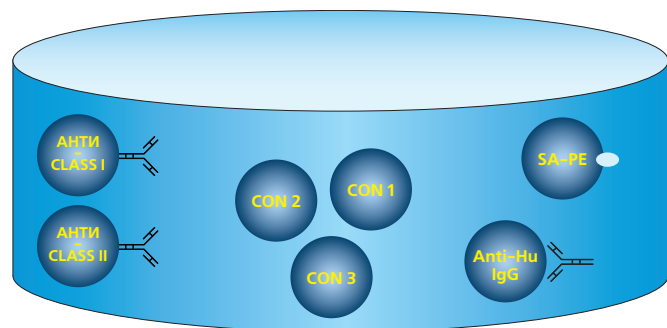


В данном тесте работают несколько контрольных систем для оценки качества реакции.

Помимо микросфер, конъюгированных с антигенами I или II HLA классов, в реакционной смеси имеются 5 типов дополнительных контрольных частиц.

1. **Контрольные частицы con 1, con 2, con 3** свободны от конъюгатов и задают уровень фонового сигнала.
2. **Контрольные Anti-Hu IgG-частицы-микросферы**, несущие на своей поверхности IgG человека, должны дать положительный сигнал при добавлении любой человеческой сыворотки, содержащей человеческий IgG. Это положительный контроль на факт добавления образца в реакционную зону (независимо от того, есть или нет в образце HLA AT).
3. **Контрольные частицы, меченные биотином – (SA-PE-частицы)**. Данный контроль служит для подтверждения первоначального связывания ли-

зата донорских лимфоцитов с микросферами и работает совместно со специальным реагентом LCR (лизат-контрольный-реагент).

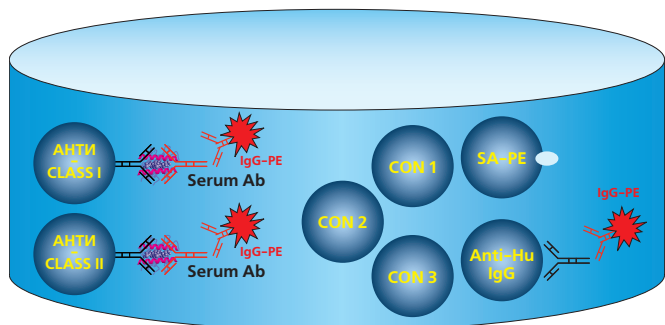


Принцип работы контрольных систем и образцов.

На подготовительном этапе лизат донорских лимфоцитов конъюгируют на основные реакционные микросферы двух типов: содержащие анти-HLA-класс I AT и анти-HLA-класс II AT.

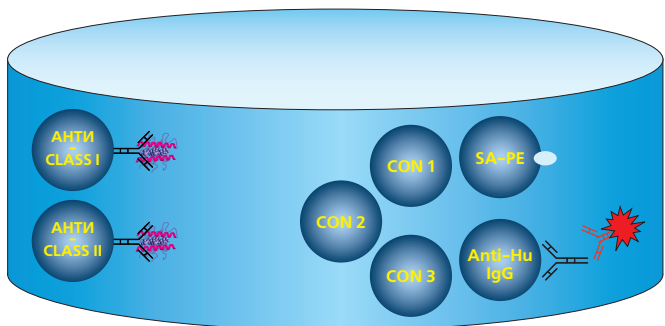
1. Если образец пациента положительный

Комплекс Микросферы-Лизат-HLA AT – даст положительную реакцию. Anti-Hu IgG-контроль – даст положительную реакцию. SA-PE-частицы – не вступают в реакцию (фоновый сигнал). Частицы Con 1, 2, 3 – фоновый сигнал.



2. Если образец пациента отрицательный

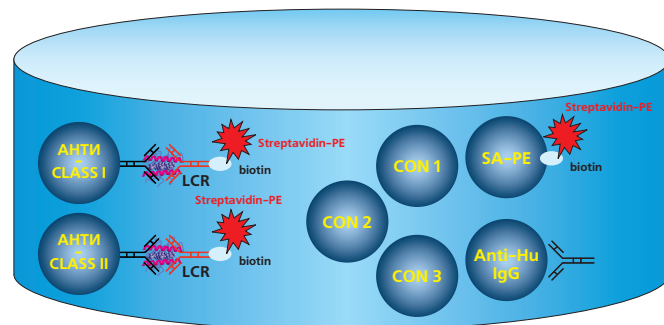
Комплекс Микросферы-Лизат-HLA AT – фоновый сигнал. Anti-Hu IgG контроль – положительный. SA-PE-частицы – не вступают в реакцию (фоновый сигнал). Частицы Con 1, 2, 3 – фоновый сигнал.



3. Контроль связывания лизата (LCR)

Чтобы исключить ошибку подготовительной стадии – связывание лизата с микросферами, в систему вво-

дится специальный реагент LCR (лейкоцитарный контрольный реагент), представляющий собой HLA биотинилированные AT. Этот реагент вносится в дополнительную лунку планшета вместо образца.



Если связывание приготовленного нами донорского лизата проходит успешно, то при добавлении в эту лунку SA-PA сигнал на реакционных микросферах положительный. Контрольные частицы, меченные биотином – (SA-PE-частицы), в этой лунке также должны дать положительный сигнал. Контрольные частицы Anti-Hu IgG – в этой лунке отрицательный, поскольку какие либо сывороточные антитела здесь отсутствуют.

4. Положительный и отрицательный контроль

Наряду с исследуемыми образцами и LCR контролем в тесте предусмотрены лунки под положительную и отрицательную контрольные сыворотки (ПК и ОК), соответственно, содержащие и не содержащие антитела к HLA-антигенам I и II классов.

В качестве контрольного лизата в набор включены высушенные донорские лимфоциты – DLC (Dried Lymphocyte Control Pellet).

Ниже изображена примерная схема приготовления лунок (для двух доноров и трех реципиентов) которая выглядит следующим образом:

	DLC	Донор 1	Донор 2									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	LCR	LCR	LCR									
B	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬ	Иванов	Сидоров									
C	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬ	Петров										
D												
E												
F												
G												
H												

Пример первичных данных

Лизат#37	Интерпретация		Реакционные микросферы		Значения фонового сигнала			Контрольные микросферы	
	Образец	Class I	Class II	Class I	Class II	CON1	CON2	CON3	Anti-Hu IgG PE
LCR			17751	16003	14	34	26	71	16196
Пациент 1	Positive	Pos	10964	10425	46	121	179	18611	141
Пациент 2	Negative	Pos	232	14256	78	117	209	18967	169
Пациент 3	Positive	Neg	19132	499	78	153	255	21091	251

Программа интерпретации оценивает первичные величины образцов и контролей (см. таблицу) и выдает заключение.

Оборудование и реагенты, необходимые для проведения DSA-теста



Оборудование:

- 888310 – Luminex 100/200
- инкубатор-встряхиватель (25°C, 300-500 об/мин)
- 888315 вакуумный коллектор для планшетов – Vacuum Manifold
- вакуумный отсос
- 888633 плоскодонные планшеты с пористым дном – Milipore Filter Plates
- 888631 пленки для планшетов Costar Thermowell Aluminium Sealers
- набор дозаторов и наконечников
- все необходимое для проведения выделения мононуклеарных клеток донора в градиенте плотности по стандартной общепринятой методике.

Реагенты:

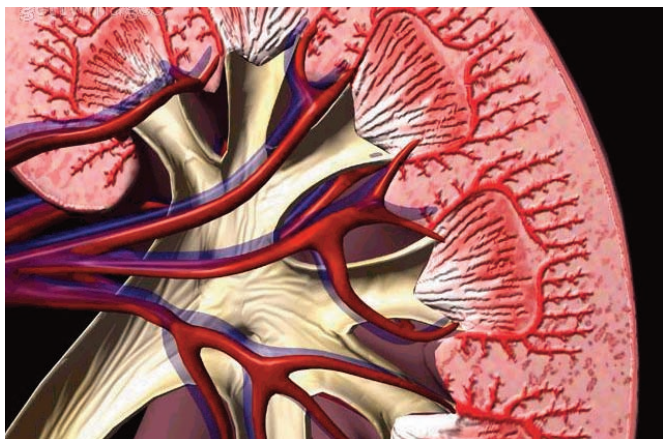
- 628230 LIFECODES DSA
(реагент для cross-match) 96 тестов
- 628222 LIFECODES SeraClean
(для очистки от белковых примесей)
25 тестов

Дополнительные возможности мультиплексной технологии на платформе Luminex 100/200

Ранняя диагностика риска острого отторжения почки по высоко-специфическим маркерам из группы тимокинов: OPG, MIG, IP-10

Ранняя диагностика отторжения и иммунного ответа важна для минимизации токсического эффекта иммуносупрессирующей терапии, предотвращения потери трансплантата и сокращения затрат в этой области здравоохранения в целом.

Последние исследования показывают, что повышения уровня определенных хемокинов в моче, таких как IP-10, MIG и OPG могут быть индикаторами почечного повреждения. Исследования уровня этих протеинов позволили предложить клинике новый чувствительный и специфичный метод ранней диагностики отторжения.



Измерение уровня IP-10, MIG OPG в моче это:

- инструмент для посттрансплантационного мониторинга острого и хронического отторжения почечного трансплантата
- средство для мониторинга развития толерантности
- инструмент для исследования возможности уменьшения иммуносупрессии для предотвращения токсического эффекта и инфекций
- мониторинг состояния почки регулярно.

MIG (Гамма интерферон индуцируемый монокин) малый цитокин, принадлежащий семейству CXC хемокинов, известный также под названием CXCL9. CXCL9 – Т-клеточный хемоотрактант, индуцируемый интерфероном IFN- γ .

IP-10 (10 kDa интерферон гамма индуцируемый протеин) малый цитокин, принадлежащий семейству CXC хемокинов, известный также под названием CXCL10. IP-10 секретируется несколькими типами клеток в ответ на стимуляцию IFN- γ .

Osteoprotegerin (OPG) – цитокин. В основе его гликопротеин, состоящий из 401 аминокислотного остатка объединенных в 7 структурных доменов.

Оборудование и реагенты, необходимые для оценки концентрации хемокинов в моче

Оборудование:

- 888310 – Luminex 100/200
- инкубатор-встряхиватель (25°C, 300-500 об/мин)
- 888315 вакуумный коллектор для планшетов – Vacuum Manifold
- вакуумный отсос
- 888633 плоскодонные планшеты с пористым дном - Milipore Filter Plates

- 888631 пленки для планшетов Costar Thermowell Aluminium Sealers
- набор дозаторов и наконечников.

Реагенты:

LCH6007 PlexMark: 3 Renal Biomarker panel, 100 tests

Исследование антител к тромбоцитам, для выявления резистентности при многократных тромбоцитотрансфузиях



Тромбоцитарные трансфузии обычно проводят без предварительной реакции cross-match. В то же время, тромбоциты несут поверхностные гликопротеины (ABO, собственные тромбоцитарные гликопротеины GPIIb/IIIa, GP Ib/IX/V, GPIa/IIa, HLA-антигены), которые могут являться мишенью антител, в случае предшествующих гемотрансфузий от другого человека.

К особым группам риска относятся онкогематологические и уронефрологические пациенты, нуждающиеся в многочисленных тромбоцитотрансфузиях. С течением времени у них может происходить иммунизация по разным антигенам клеточной поверхности тромбоцитов. Но наиболее частой причиной иммунной деструкции тромбоцитов являются антитела против HLA класс I антигенов.

Иммунизированных пациентов называют рефрактерными, поскольку дальнейшие трансфузии (по клиническим показаниям) не приводят к ожидаемому терапевтическому эффекту. Связанные с антителами тромбоциты уничтожаются в селезенке. Специализированная лаборатория исследует сыворотку пациента для подбора совместимых тромбоцитов. Затем в банке крови запрашивается необходимый совместимый тромбоконцентрат.

Оборудование и реагенты, необходимые для исследования антител к тромбоцитам

Оборудование:

- 888310 – Luminex 100/200
- инкубатор-встряхиватель (25°C, 300-500 об/мин)
- 888315 вакуумный коллектор для планшетов – Vacuum Manifold
- вакуумный отсос
- 888633 плоскодонные планшеты с пористым дном – Milipore Filter Plates

- 888631 пленки для планшетов Costar Thermowell Aluminium Sealers
- набор дозаторов и наконечников.

Реагенты:

PAK LX LIFECODES PAK LX



Официальный дистрибьютор в России и СНГ

«БиоХимМак Диагностика»

119899 Москва, Ленинские горы, МГУ, Ломоносовский пр-т, д. 29
Тел. (495) 647-2740, 939-2421. Факс: (495) 939-0997

www.biochemmack.ru