

MONOKLONÁLIS VÉRCSOPORT-MEGHATÁROZÓ REAGENSEK
HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

Anti-Le^a Monoclonal: Kémcsöves, Bio-Rad-ID és Ortho BioVue módszerekhez.

ÖSSZEFOGLALÁS

A Lewis rendszer antigénjei nem képezik a vörösvérsejtek membránjának szerves részét, szöveti sejtek állítják elő őket, és elsősorban a plazmában és a vizes szekréciókban találhatók meg. A vörösvérsejtek a környező plazmából történő adszorpcióval tesznek szert Lewis antigénekre. A sejten expresszált Lewis antigén mennyisége a sejt ABO-fenotípusától függően eltérő lehet. Az Anti-Le^a-t nem hozták összefüggésbe az újszülöttkori hemolitikus betegséggel, de előfordult, hogy az Anti-Le^a hemolitikus transzfúziós reakciókat okozott.

Anti-Le ^a	Anti-Le ^b	Fenotípus	Kaukázusiak ¹	Afroamerikaiak ¹
+	0	Le(a+b-)	22%	23%
0	+	Le(a-b+)	72%	55%
0	0	Le(a-b-)	6%	22%
+	+	Le(a+b+)	Ritka	Ritka

FELHASZNÁLÁSI TERÜLET

A reagens egy olyan vércsoport-meghatározó reagens, amelynek célja a Le^a antigének (LE1) véradók vagy vértranszfúziót igénylő betegek vörösvérsejtjein való jelenlétének vagy hiányának kvalitatív meghatározása, a jelen használati útmutatóban ismertetett ajánlott módszerekkel vizsgálva.

ALAPELV

A reagens a humán vörösvérsejteken lévő Le^a antigén elleni antitesteket tartalmaz, és centrifugálás után a Le^a antigént hordozó vörösvérsejtek közvetlen agglutinációját (összecsapódását) okozza. Az agglutináció (összecsapódás) hiánya általában a Le^a antigén hiányát jelzi (lásd a **Korlátok** című részt).

REAGENSEK

A Lorne Monoclonal Anti-Le^a vércsoport-meghatározó reagens humán monoklonális IgM antitesteket tartalmaz, nátrium-kloridot, EDTA-t, szarvasmarha albumint és makromolekuláris potenciátort (2,5 g%) tartalmazó foszfátpufferben hígítva. Az Anti-Le^a a P3N20V3 klónnal készült. A reagens nem tartalmaz CMR (rákkeltő, mutagén vagy reprodukciót károsító) anyagokat, endokrin rendszert káros anyagokat, illetve olyan anyagokat, amelyek a felhasználónál szenzibilizációt vagy allergiás reakciót okozhatnak. A reagenst az alábbiakban ismertetett összes ajánlott módszerrel való használatához optimális hígításban szállítják, további hígítást vagy kiegészítést nem igényel. A tétel referenciaszámát és lejárati dátumát lásd az **üveg címkéjén**.

TÁROLÁS

A reagensüvegeket a kézhezvételüket követően 2–8 °C-on kell tárolni. A megadott hőmérséklet-tartományon kívüli, hosszabb ideig történő tárolás felgyorsíthatja a reagens reakcióképességének elvesztését. A reagensen 37 °C-on és –25 °C-on szállítási stabilitási vizsgálatot végeztek a BS EN ISO 23640:2015 dokumentumban leírtak szerint.

MINTAVÉTEL ÉS ELŐKÉSZÍTÉS

A vérmintákat EDTA, citrát, CPDA antikoagulánsokban vagy alvadtt mintaként lehet gyűjteni. A mintákat a mintavételt követően a lehető leghamarabb meg kell vizsgálni. Ha a vizsgálatot csak később lehet elvégezni, a mintákat tárolja 2–8 °C-on. A látható hemolízist vagy mikrobiális szennyeződést mutató mintákat nem szabad vizsgálathoz használni. A lízisre utaló jeleket mutató vérminták megbízhatatlan eredményeket adhatnak. A vizsgálat előtt feltétlenül szükséges (lásd a „Korlátok” című részt) az összes vérminta PBS-sel vagy izotóniás sóoldattal való mosása.

ÓVINTÉZKEDÉSEK

- A reagensek kizárólag *in vitro* diagnosztikai felhasználásra szolgálnak.
- Ha a reagensüveg megrepedt vagy szivárog, azonnal dobja ki a tartalmát.
- Ne használja a reagenst a lejárati dátumot követően (lásd az **üveg címkéjén**).
- Ne használja a reagenst csapadék jelenléte esetén.
- A reagens kezeléskor védőruházatot, például eldobható kesztyűt és laboratóriumi köpenyt kell viselni.
- A biológiai terhelés csökkentése érdekében a reagenst 0,2 µm-es kapszulán átszűrte, de nem sterilén szállítják. Az üveg felnyitása után a tartalomnak a lejárati dátumig működőképesnek kell maradnia, mindaddig, amíg nincs benne látható zavarosság, amely a reagens károsodását vagy szennyeződését jelezheti.
- A reagensek <0,1% nátrium-azidot tartalmaznak. A nátrium-azid lenyelve mérgező lehet, illetve az ólom- és rézvezetékekkel reakcióba léphet és robbanásveszélyes fém-azidokat képezhet. Ártalmatlanításakor nagy mennyiségű vízzel öblítse le.
- Egyetlen ismert vizsgálat sem tudja garantálni, hogy az emberi vagy állati eredetű termékek fertőző ágensektől mentesek. Az üvegek és azok tartalmának használatakor és ártalmatlanításakor óvatosan kell eljárni.

A REAGENS ÁRTALMATLANÍTÁSA ÉS A KIÖMLÖTT ANYAGOK KEZELÉSE

A reagens ártalmatlanításával és a kiömléssel érintett terület szennyeződésmentesítésével kapcsolatos információkat lásd a kérésre rendelkezésre álló **anyagbiztonsági adatlapokban**.

KONTROLLK ÉS TANÁCSOK

- Javasolt az egyes vizsgálati tételekkel párhuzamosan egy pozitív és egy negatív kontroll vizsgálata. A vizsgálatokat érvénytelennek kell tekinteni, ha a kontrollok nem a várt eredményeket mutatják.
- Azon betegek vörösvérsejtjeinek tipizálásakor, akiknél olyan betegséget diagnosztizáltak, amely a vörösvérsejtek antitesttel vagy más fehérjékkel (például újszülöttkori hemolitikus betegség vagy vagy autoimmun hemolitikus anémia) bevonását okozza, fontos a beteg vörösvérsejtjeinek Lorne reagens-negatív kontroll (Monoclonal Rh Control (katalógusszám: 640010)) használatával történő vizsgálata.
- Használat előtt hagyja a reagenst szobahőmérsékletre felmelegedni. Használat után a reagenst azonnal tegye vissza 2–8 °C-on történő tárolásra.
- A **Kémcsöves módszer** című részben egy térfogat körülbelül 50 µl az üveghez mellékelt cseppentő használata esetén.
- A reagens használatát és az eredmények értelmezését megfelelően képzett és képesített személyzetnek kell végeznie annak az országnak a követelményeivel összhangban, ahol a reagenst használják.
- A felhasználónak kell meghatároznia a reagens más módszerekkel végzett felhasználásra való alkalmasságát.

SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT REAGENSEK ÉS ANYAGOK

Kémcsöves módszer

- Üveg kémcsövek (10 x 75 mm-es vagy 12 x 75 mm-es).
- 20 másodpercig 1000 g teljesítményre képes centrifuga.
- PBS-oldat (pH 6,8–7,2) vagy izotóniás sóoldat (pH 6,5–7,5).
- Le(a+) pozitív és Le(a–) negatív kontrollsejtek.

Bio-Rad-ID Micro tipizáló módszer

- Bio-Rad ID-kártyák (NaCl, enzimtesztek és hideg agglutininek).
- Bio-Rad ID-centrifuga.
- Bio-Rad ID-CellStab vagy ID-Diluent 2 oldat.

Ortho BioVue tipizáló módszer

- Ortho BioVue kazetták (neutrális).
- Ortho BioVue centrifuga.
- Ortho 0.8% Red Cell Diluent hígítóoldat.

Minden módszer

- Volumetrikus pipetták.

AJÁNLOTT MÓDSZEREK

A. Kémcsöves módszer

- Készítsen 2-3%-os szuszpenziót átmosott vörösvérsejtekből PBS-ben vagy izotóniás sóoldatban.
- Tegyen egy felcímkézett kémcsőbe: 1 térfogat Lorne Lewis reagenst és 1 térfogat vörösvérsejt-szuszpenziót.
- Alaposan keverje össze, és inkubálja szobahőmérsékleten 15 percig.
- Centrifugálja az összes csövet 20 másodpercig 1000 rcf-en vagy annak megfelelő, eltérő idő és erő alkalmazásával.
- Óvatosan szuszpendálja újra a vörösvérsejt-üledéket, és makroszkóposan olvassa le az agglutinációt.

B. Bio-Rad-ID Micro tipizáló módszer

- Készítsen 0,8%-os szuszpenziót átmosott vörösvérsejtekből ID-CellStab vagy ID-Diluent 2 oldatban.
- Távolítsa el az alumíniumfóliát a NaCl/enzim/hideg agglutininek ID-kártyán lévő, szükséges számú mikrocsőről.
- Tegyen a megfelelő mikrocsőbe: 50 µl 0,8%-os vörösvérsejt-szuszpenziót és 25 µl Lorne reagenst.
- Inkubálja az ID-kártyát (ka)t 15 percig szobahőmérsékleten.
- Centrifugálja az ID-kártyát (ka)t Bio-Rad ID-centrifugában.
- Olvassa le makroszkóposan az agglutinációt.

C. Ortho BioVue tipizáló módszer

- Készítsen 0,8%-os szuszpenziót átmosott vörösvérsejtekből Ortho 0.8% Red Cell Diluent hígítóoldatban.
- Távolítsa el az alumíniumfóliát a neutrális kazettán lévő, szükséges számú reakciókamráról.

- Tegyen a megfelelő reakciókamrába: 50 µl vörösvérsejt-szuszpenziót és 40 µl Lorne reagenst.
- Inkubálja a kazettá(ka)t 15 percig szobahőmérsékleten.
- Centrifugálja a kazettá(ka)t Ortho BioVue centrifugában.
- Olvassa le makroszkóposan az agglutinációt.

Monoclonal	1000 ml	632000*	20 000
-------------------	---------	---------	--------

*Ez a méret csak további gyártási célú felhasználásra (For Further Manufacturing Use, FFMU) szolgál, ezért nincs CE-jelöléssel ellátva.

A VIZSGÁLAT EREDMÉNYEINEK ÉRTELMEZÉSE

- Pozítív:** A vörösvérsejtek agglutinációja pozitív vizsgálati eredményt jelent, és a vizsgálati eljárás elfogadott korlátain belül a Le^a antigén jelenlétét jelzi a vörösvérsejteken.
- Negatív:** A vörösvérsejtek agglutinációjának hiánya negatív eredményt jelent, és a vizsgálati eljárás elfogadott korlátain belül a Le^a antigén hiányát jelzi a vörösvérsejteken.
- Kontroll:** A reagens-negatív kontroll alkalmazásával agglutinált sejtek vizsgálati eredményeit ki kell zárni, mivel az agglutinációt valószínűleg a reagensben lévő makromolekuláris potenciátorok szenzibilizált sejtekre gyakorolt hatása okozta.

A REAKCIÓK STABILITÁSA

- A kémcsöves vizsgálatokat közvetlenül a centrifugálás után kell leolvasni. A késlekedés az antigén-antitest komplexek disszociációját eredményezheti, ami hamis negatív vagy gyenge pozitív reakciókhoz vezethet.
- Az ajánlottól eltérő hőmérsékleten végzett vizsgálatok eredményeinek értelmezésekor óvatosan kell eljárni.

KORLÁTOK

- A Lorne Lewis reagenseket csak átmosott, fiziológiás sóoldatban szuszpendált vörösvérsejtekkel szabad használni, mivel a Lewis antigének jelen vannak a plazmában. Plazmában/szérumban szuszpendált sejtek **nem** használhatók, mivel a jelen lévő oldható antigén semlegesítheti a vizsgálati reagenst, hamis negatív eredményeket adva.
- A legtöbb újszülött vörösvérsejtje monoklonális vagy humán anti-Lewis reagensekkel Le(a-b-) típusú lesz, bár egyes minták gyenge pozitív reakciókat mutatnak indirekt antiglobulin vizsgálatokban egér Monoclonal Anti-Le^a-val.
- A hat év alatti gyermekek Lewis-fenotípusait nem lehet pontosan meghatározni. A vörösvérsejtek Lewis antigénjei a terhesség során gyengébbek.
- A tárolt vér gyengébb reakciókat mutathat, mint a friss vér.
- Hamis pozitív vagy hamis negatív eredmények a következők miatt is előfordulhatnak:
 - A vizsgálati anyagok szennyeződése
 - Nem megfelelő tárolás, sejtkoncentráció, inkubációs idő vagy hőmérséklet
 - Nem megfelelő vagy túlzott centrifugálás
 - Az ajánlott módszerektől való eltérés

SPECIÁLIS TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

- A forgalomba hozatal előtt minden reagenstételt megvizsgáltak a jelen használati útmutatóban felsorolt ajánlott vizsgálati módszerekkel. A vizsgálatok megfeleltek a „Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom” (Vértranszfúziós szolgáltatásokra vonatkozó irányelvek az Egyesült Királyságban) jelenlegi verziójában/kiadásában meghatározott vizsgálati követelményeknek.
- A forrás monoklonális antitestek specifitását antigén-negatív sejtek paneljével mutatták ki.
- A reagensek minőség-ellenőrzését olyan vörösvérsejtekkel végezték, amelyek fenotípusait egy egyesült királyságbeli vértranszfúziós központban igazolták, és amelyeket felhasználás előtt PBS-sel vagy izotóniás sóoldattal mostak.

NYILATKOZAT

- A felhasználó felelős a reagensek teljesítményéért, ha azokat az **Ajánlott módszerek** című részben említettekől eltérő módszerekkel használják.
- Az **Ajánlott módszerek** című résztől való bármilyen eltérést használat előtt validálni kell⁵.

IRODALOMJEGYZÉK

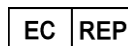
- Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 189.
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 7.
- AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
- 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.

RENDELKEZÉSRE ÁLLÓ REAGENSMÉRETEK

	Üveg méret	Katalógusszám	Vizsgálatok üvegenként
Anti-Le^a	2 ml	632002	40



Lorne Laboratories Limited
Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate
Danehill
Lower Earley
Berkshire, RG6 4UT
Egyesült Királyság
Telefon: +44 (0) 118 921 2264
Fax: +44 (0) 118 986 4518
E-mail: info@lornelabs.com



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