

MONOKLONÁLIS VÉRCSOPORT-MEGHATÁROZÓ REAGENSEK

HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

Anti-A, Anti-B és Anti-A,B Monoclonal: Kémcsöves, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue, mikrolemezes és tárgylemezes módszerekhez.

ÖSSZEFOGLALÁS

1900-ban Landsteiner felfedezte, hogy bizonyos személyek széruma agglutinálja mások vörösvérsejtjeit. Négy gyakori fenotípust fedeztek fel: O, A, B és AB. Azóta az A és B alcsoportjait is azonosították.

Direkt csoport			Indirekt csoport				ABO Fenotípus	Kaukázusiak % 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

FELHASZNÁLÁSI TERÜLET

Az ABO reagens olyan vércsoport-meghatározó reagens, amelyek célja az A és/vagy a B antigének veradók vagy vértranszfúziót igénylő betegek vörösvérsejtjein való jelenlétének vagy hiányának kvalitatív meghatározása, a jelen használati útmutatóban ismertetett ajánlott módszerekkel vizsgálva.

ALAPELV

A reagens a humán vörösvérsejten lévő, megfelelő A és/vagy B antigén elleni antitesteket tartalmaznak, és a megfelelő ABO antigént hordozó vörösvérsejt közvetlen agglutinációját (összecsapódását) okozzák. Az agglutináció hiánya általában a megfelelő ABO antigén hiányát jelzi a humán vörösvérsejten (lásd a **Korlátok** című részt).

REAGENSEK

A Lorne monoklonális IgM ABO vércsoport-meghatározó reagens egér monoklonális antitesteket tartalmaznak, nátrium-kloridot, EDTA-t és szarvasmarha albumint tartalmazó foszfátpufferben hígítva. 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. Az egyes reagenst az alábbiakban felsorolt összes ajánlott módszerrel való használathoz optimális hígításban szállítják, további hígítást vagy kiegészítést nem igényelnek. A tétel referenciaszámát és lejárati dátumát lásd az **üveg címkéjén**.

Termék	Sejtvonalklón	Szín	Felhasznált festék
Anti-A	9113D10	Kék	Patentkék
Anti-B	9621A8	Sárga	Tartrazin
Anti-A,B	152D12 + 9113D10 + ES15	Színtelen	Nincs

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 alvadt mintaként lehet gyűjteni. A mintákat a mintavételét 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 vizsgálatához használni. A lizisre utaló jeleket mutató vérminták megbízhatatlan eredményeket adhatnak. A vizsgálat előtt javasolt (de nem feltétlenül szükséges) az összes vérminta PBS-sel vagy izotóniás sóoldattal való mosása.

ÓVINTÉZKEDÉSEK

- A reagens kizárólag *in vitro* diagnosztikai felhasználásra szolgál.
- 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 kezelésekor védőruházatot, például eldobható kesztyűt és laboratóriumi köpenyt kell viselni.
- A biológiai terhelés csökkentése érdekében a reagenst 0,2 µm-es kapszulán átszűrjük, de nem sterilien szállítják. Az üveg felnyitása után a tartalomnak a lejárati dátumig működésképesnek kell maradnia, mindaddig, amíg nincs benne látható zavarosság, amely a reagens károsodását vagy szennyeződését jelezheti.

- A reagens < 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**.

1. KONTROLLOK ÉS TANÁCSOK

- Javasolt az egyes vizsgálati tételekkel párhuzamosan egy pozitív és egy negatív kontroll vizsgálat. A vizsgálatokat érvénytelennek kell tekinteni, ha a kontrollok nem a várt eredményeket mutatják.
- Mivel a reagens nem tartalmaznak makromolekuláris potenciátorokat, nagyon valószínűtlen, hogy az IgG-vel bevont sejtek hamis pozitív reakciókat okoznak.
- A gyenge A vagy B alcsoport vérmintái (pl. Ax) hamis negatív vagy gyenge reakciókat válthatnak ki tárgylemezes, mikrotiter lemezes vagy gélykartyás vizsgálat esetén. Javasolt a gyenge alcsoportok ismételt vizsgálata kémcsöves módszerrel.
- Hat hónapnál idősebb személyeknél az ABO vércsoport-meghatározási eredményeket meg kell erősíteni a szérumuk vagy plazmájuk ismételt A₁ és B csoportú sejtekkel szembeni vizsgálatával, mielőtt az ABO vércsoportot meg lehet erősíteni.
- Használat előtt hagyja a reagenst szobahőmérsékletre felmelegedni. Használat után a reagenst azonnal tegye vissza 2–8 °C-on történő tárolásra.
- Az **Ajánlott módszerek** című részben egy térfogat körülbelül 50 µl az üveghez mellékelt cseppentő használata esetén.
- A reagens használatát és az eredmények értelmezését megfelelően képzett és képezett 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 REAGENSEK ÉS ANYAGOK

- Volumetrikus pipetták.
- Bio-Rad ID-kártyák (NaCl, enzimteszt és hideg agglutininek).
- Bio-Rad ID-centrifuga.
- Bio-Rad ID-CellStab vagy ID-Diluent 2 oldat.
- Ortho BioVue kazetták (neutrális).
- Ortho BioVue centrifuga.
- Ortho 0.8% Red Cell Diluent hígítóoldat.
- Üveg mikroszkóp-tárgylemek vagy fehér kártyalapok.
- Applikátorpalcák.
- Üveg kémcsövek (10 x 75 mm-es vagy 12 x 75 mm-es).
- Kémcsőcentrifuga.
- Validált, „U” lyukakkal rendelkező mikrolemezek.
- Mikrolemez-centrifuga.
- Lemezrázó készülék.
- PBS-oldat (pH 6,8–7,2) vagy izotóniás sóoldat (pH 6,5–7,5).
- Pozitív és negatív kontroll vörösvérsejt:
- Anti-A: A csoport (pozitív kontroll) és O csoport (negatív kontroll).
- Anti-B: B csoport (pozitív kontroll) és O csoport (negatív kontroll).
- Anti-A,B: A csoport és B csoport (pozitív kontroll) és O csoport (negatív kontroll).

AJÁNLOTT MÓDSZEREK

A. Kémcsöves módszer

- Készítsen 2-3%-os vörösvérsejt-szuspenziót PBS-ben vagy izotóniás sóoldatban.
- Tegyen egy felcímkézett kémcsőbe: 1 térfogat Lorne Anti-ABO reagenst és 1 térfogat vörösvérsejt-szuspenziót.
- Alaposan keverje össze, és inkubálja szobahőmérsékleten 1 percig.
- Centrifugálja az összes csövet 10 másodpercig 1000 rcf-en vagy annak megfelelő, eltérő idő és erő alkalmazásával.
- Óvatosan szuszpendálja újra a vörösvérsejt-üledéket, és makroszkóposan olvassa le az agglutinációt.
- A negatív vagy megkérdőjelezhető eredményt mutató csöveket inkubálja 15 percig szobahőmérsékleten.
- Az inkubálást követően ismételje meg a 4. és az 5. lépést.

B. Bio-Rad-ID módszer (NaCl, enzimeszt és hideg agglutininek kártyák)

- Készítsen 0,8%-os vörösvérsejt-szuszenziót ID-CellStab vagy ID-Diluent 2 oldatban.
- Távolítsa el az alumíniumfóliát a szükséges számú mikrocsoőről.
- Tegyen a megfelelő mikrocsoőbe: 50 µl vörösvérsejt-szuszenziót és 25 µl Lorne Anti-ABO reagenst.
- Centrifugálja az ID-kártyá(ka)t a Bio-Rad gélkártya-centrifugában.
- Olvassa le makroszkóposan az agglutinációt.

C. Ortho BioVue módszer (neutrális kazetták)

- Készítsen 0,8%-os vörösvérsejt-szuszenziót 0,8%-os Ortho vörösvérsejt-hígítóoldatban.
- Távolítsa el az alumíniumfóliát a szükséges számú reakciókamráról.
- Tegyen a megfelelő reakciókamrába: 50 µl vörösvérsejt-szuszenziót és 40 µl Lorne Anti-ABO reagenst.
- Centrifugálja a kazettá(ka)t Ortho BioVue centrifugában.
- Olvassa le makroszkóposan az agglutinációt.

D. Mikrolemezes módszer („U” lyukakkal)

- Készítsen 2-3%-os vörösvérsejt-szuszenziót PBS-ben vagy izotóniás sóoldatban.
- Tegyen a megfelelő lyukba: 1 térfogat Lorne Anti-ABO reagenst és 1 térfogat vörösvérsejt-szuszenziót.
- Alaposan keverje össze, lehetőleg mikrolemezzel készülővel, ügyelve a lyukak közötti szennyeződés elkerülésére.
- Inkubálja szobahőmérsékleten 15 percig (az idő a felhasználótól függ).
- Centrifugálja a mikrolemezt 1 percig 140 rcf-en vagy annak megfelelő, eltérő idő és erő alkalmazásával.
- Szuspendálja újra a sejtledeket gondosan ellenőrzött keverést alkalmazva egy mikrolemezzel készülővel.
- Olvassa le makroszkóposan vagy validált automatikus leolvasóval.
- A gyenge reakciókat kémcsöves módszerrel meg kell ismétetni.

E. Tárgylemezes módszer

- Készítsen 35-45%-os vörösvérsejt-szuszenziót szérumban, plazmában, PBS-ben vagy izotóniás sóoldatban, vagy használjon antikoagult teljes vért (saját plazmájában).
- Tegyen egy felcímkézett üveg tárgylemezre vagy kártyalapra: 1 térfogat Lorne Anti-ABO reagenst és 1 térfogat vörösvérsejt-szuszenziót.
- Tiszta applikátorpálcával keverje össze a reagenst és a sejteket egy körülbelül 20 x 40 mm-es területen.
- Lassan döntse előre és hátra a tárgylemezt 30 másodpercig, időnként további keveréssel az 1 perces időtartam alatt, miközben a tárgylemezt szobahőmérsékleten tartja.
- 1 perc elteltével makroszkóposan olvassa le az eredményt szórt fényben, és a fibrinálakat ne tévessze össze az agglutinációval.
- A gyenge reakciókat kémcsöves módszerrel meg kell ismételni.

A VIZSGÁLAT EREDMÉNYEINEK ÉRTELMEZÉSE

- Pozitív:** A vörösvérsejt agglutinációja pozitív vizsgálati eredményt jelent, és a vizsgálati eljárás elfogadott korlátain belül a megfelelő ABO antigén jelenlétét jelzi a vörösvérsejteken.
- Negatív:** A vörösvérsejt agglutinációjának hiánya negatív eredményt jelent, és a vizsgálati eljárás elfogadott korlátain belül a megfelelő ABO antigén hiányát jelzi a vörösvérsejteken.
- Eltérések:** Ha az indirekt csoport eredményei nem korrelálnak a direkt csoporttal, további vizsgálatot kell végezni.

A REAKCIÓK STABILITÁSA

- Az összes kémcsöves és mikrolemezes vizsgálatot közvetlenül a centrifugálás után olvassa le.
- A tárgylemezes vizsgálatokat legfeljebb egy perc elteltével kell értelmezni a specifikitás biztosítása és annak elkerülése érdekében, hogy a negatív eredményt a reagens száradása miatt tévesen pozitívnak értelmezzék.
- Az ajánlottól eltérő hőmérsékleten végzett vizsgálatok eredményeinek értelmezésekor óvatosan kell eljárni.

KORLÁTOK

- Az ABO antigének születéskor még nem fejlődtek ki teljesen, ezért köldökzsinór vagy újszülött eredetű minták esetén a reakció gyengébb lehet.
- Monoclonal Anti-A,B használatok a gyenge A vagy B alcsoportok (pl. Ax) vérmintái hamis negatív vagy gyenge reakciókat mutathatnak tárgylemezes, mikrotiter lemezes vagy gélkártyás vizsgálat esetén. Javasolt a gyenge alcsoportok ismételt vizsgálata kémcsöves módszerrel.
- A Lorne monoclonal Anti-A és monoclonal Anti-B nem validált Ax és A3, illetve Bx és B3 antigének kimutatására, ezért nem állítjuk, hogy a monoclonal Anti-A vagy Anti-B reagens reakciókat mutat ezekkel a gyenge A és B alcsoportokkal szemben.
- 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
- Wharton-kocsonyával szennyezett köldökzsinórminták

SPECIÁLIS TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

- A forgalomba hozatal előtt minden Lorne ABO monoklonális reagenstét 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)³ és a „Common Technical Specifications” (Általános módszertani előírások) jelenlegi verziójában/kiadásában meghatározott vizsgálati követelményeknek.
- A forrás monoklonális antitestek specifikitását antigén-negatív sejtek paneljével mutatták ki.
- A reagens hatékonyságát a National Institute of Biological Standards and Controls-tól (Nemzeti Biológiai Szabványügyi és Ellenőrzési Intézet, NIBSC) kapott alábbi minimális hatékonysági referenciaszabványok alapján vizsgálták meg:
 - Anti-A referenciaszabvány 03/188 és / vagy
 - Anti-B referenciaszabvány 03/164
- A Lorne Anti-B nem lép reakcióba „Szerzett B” vörösvérsejtekkel.
- A Lorne monoklonális ABO reagens nem mutatnak ki olyan kriptantigéneket, mint például a T, a Tn vagy a Cad.
- A reagens 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 reagens 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 181.
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
- AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
- 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.

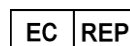
RENDELKEZÉSRE ÁLLÓ REAGENS MÉRTEK

	Üveg méret	Katalógusszám	Vizsgálatok üvegenként
Anti-A Monoclonal	10 ml	600010	200
	1000 ml	600000*	20 000
	5000 ml	600000X5*	100 000
Anti-B Monoclonal	10 ml	610010	200
	1000 ml	610000*	20 000
	5000 ml	610000X5*	100 000
Anti-A,B Monoclonal	10 ml	620010	200
	1000 ml	620000*	20 000
	5000 ml	620000X5*	100 000

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



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