

MONOKLONÁLIS VÉRCSOPORT-MEGHATÁROZÓ REAGENS HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

Anti-C+D+E Monoclonal: Kémcsöves, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue, mikrotiterlemez és tárgylemez módszerhez.

ÖSSZEFOGLALÁS

Levine és Stetson 1940-ben fedezte fel az Rh vércsoportrendszert. A D antigén mellett a többi fő Rh antigén a C, az E, a c és az e. A D antigén erősen immunogén; a C és az e antigén kevésbé immunogén, mint az E és a c. A megfelelő antitestek mindegyike jelentős klinikai szempontból, mivel transfúziós reakciókat és újszülöttkori hemolitikus betegséget is okozhatnak.

FELHASZNÁLÁSI TERÜLET

A reagens egy olyan vércsoport-meghatározó reagens, amelynek célja a C antigén (RH2) és/vagy a D antigén (RH1) és/vagy az E antigén (RH3) 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 C és D és E antigének elleni antitesteket tartalmaz, és a C és/vagy D és/vagy E antigént hordozó humán vörösvérsejt közvetlen agglutinációját (összecsapódását) okozza. Az agglutináció (összecsapódás) hiánya általában a megfelelő Rh antigén hiányát jelzi (lásd a **Korlátok** című részt).

REAGENSEK

A Lorne monoklonális IgM Anti-Rh vércsoport-meghatározó reagensok alacsony fehérjetartalmú reagensok, amelyek humán monoklonális antitesteket tartalmaznak nátrium-kloriddal, szarvasmarha albuminnal és makromolekuláris potenciátorokkal (4,0 g%) 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 reagenset 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**.

Reagens	Sejtvonal/klón
Anti-C+D+E	MS-24 + RUM-1 + MS-258

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 lízise 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 reagenset a lejárati dátumot követően (lásd az **üveg címkéjét**).
- Ne használja a reagenset csapadék jelenléte esetén.
- A reagens kezelésakor védőruházatot, például eldobható kesztyűt és laboratóriumi köpenyt kell viselni.
- A biológiai terhelés csökkentése érdekében a reagenset 0,2 µm-es kapszulán átszűrtek, de nem sterilien 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 reagens < 0,1% nátrium-azidot tartalmaznak. A nátrium-azid lenyelve mérgező lehet, illetve az ólom- és rézvezetéssel reakcióba léphet és robbanásveszélyes fém-azidokat képezhet. Ártalmatlanításkor nagy mennyiségű vízzel öblítse le.
- A termékek előállításához használt anyagokat a forrásnál megvizsgálták, és jóváhagyott mikrobiológiai vizsgálatokkal negatívnak találták HIV 1+2 és HCV antitestek, valamint HBsAg szempontjából.
- 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 (ideálisan heterozigóta) és egy negatív kontroll vizsgálata. A vizsgálatokat érvénytelennek kell tekinteni, ha a kontrollok nem a várt eredményeket mutatják. Betegek vörösvérsejtjeinek tipizálásakor fontos, hogy egy reagens-negatív kontrollt (Mono Rh Control Lorne katalógusszám: 640010) is megvizsgáljanak, mivel a reagensben lévő makromolekuláris potenciátorok IgG-vel bevont sejtekkel hamis pozitív reakciókat válthatnak ki.
- A gyenge Rhesus antigéneket rosszul detektálhatja a gélkártyás, a mikrotiter lemez és a tárgylemez módszer. Javasolt a gyenge Rhesus antigének kémcsöves módszerrel történő vizsgálata.
- 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 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).
- Pozitív (ideálisan R₁r) és negatív (rr) kontroll vörösvérsejt.

Bio-Rad-ID Micro tipizáló módszer

- Bio-Rad ID-kártyák (NaCl, enzimteszt 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.

Mikrotiter lemez módszer

- Validált, „U” lyukakkal rendelkező mikrotiter lemezek.
- Mikrotiterlemez-centrifuga.
- Mikrotiterlemez-rázókészülék.

Tárgylemez módszer

- Üveg mikroszkóp-tárgylemezek vagy fehér kártyalapok.
- Applikátorpalcák.
- Időzítő vagy stopperóra

Minden módszer

- Volumetrikus pipetták.

AJÁNLOTT MÓDSZEREK

A. Kémcsöves módszer

- Készítsen 2-3%-os vörösvérsejt-szuspenziót PBS-ben vagy izotóniás sóoldatban.
- Tegyen egy felcímkézett kémcsöbe: 1 térfogat Lorne Anti-Rh reagenst és 1 térfogat vörösvérsejt-szuspenziót.
- Alaposan keverje össze, majd 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.
- A negatív vagy megkérdőjelezhető eredményt mutató csöveket inkubálja 15 percig szobahőmérsékleten.
- Az inkubálást követően ismételje meg a 3. és a 4. lépést.

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

- Készítsen 0,8%-os vörösvérsejt-szuspenziót ID-CellStab vagy ID-Diluent 2 oldatban.
- Távolítsa el az alumíniumfóliát a NaCl, enzimteszt és hideg agglutininek ID-kártyán lévő, szükséges számú mikroszóról.

3. Tegyen a megfelelő mikrocsöbe: 50 µl vörösvérsejt-szuspenziót és 25 µl Lorne Anti-Rh reagenst.
4. Centrifugálja az ID-kártyá(ka)t Bio-Rad ID-centrifugában.
5. Olvassa le makroszkóposan az agglutinációt.

C. Ortho BioVue módszer (neutrális kazetták)

1. Készítsen 0,8%-os vörösvérsejt-szuspenziót Ortho 0,8% Red Cell Diluent hígítóoldatban.
2. Távolítsa el az alumíniumfóliát a neutrális kazettán lévő, szükséges számú reakciókamráról.
3. Tegyen a megfelelő reakciókamrába: 50 µl vörösvérsejt-szuspenziót és 40 µl Lorne Anti-Rh reagenst.
4. Centrifugálja a kazettá(ka)t 5 percig Ortho BioVue centrifugában.
5. Olvassa le makroszkóposan az agglutinációt.

D. Mikrotiter lemezes módszer („U” lyukakkal)

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

E. Tárgylemezes módszer

1. Készítsen 35-45%-os vörösvérsejt-szuspenziót szérumban, plazmában, PBS-ben vagy izotóniás sóoldatban. Ha ez nem lehetséges, teljes antikoagulált vér is használható mintaként.
2. Tegyen egy felcímkézett üveg tárgylemezre vagy kártyalapra: 1 térfogat Lorne Anti-Rh reagenst és 1 térfogat vörösvérsejt-szuspenziót.
3. Tiszta applikátorpálcával keverje össze a reagenst és a sejteket egy körülbelül 20 x 40 mm-es területen.
4. Lassan döntse előre és hátra a tárgylemezt 1 percig, miközben a tárgylemezt szobahőmérsékleten tartja.
5. 1 perc elteltével makroszkóposan olvassa le az eredmény szórt fényben, és a fibrinszájakat ne tévesse össze az agglutinációval.
6. A gyenge reakciókat kémcsöves módszerrel meg kell ismételni.

A VIZSGÁLAT EREDMÉNYEINEK ÉRTELMEZÉSE

1. **Pozitív:** A vörösvérsejtek agglutinációja pozitív vizsgálati eredményt jelent, és a vizsgálati eljárás elfogadott korlátain belül a megfelelő Rh antigén jelenlétét jelzi a vörösvérsejteken.
2. **Negatív:** A vörösvérsejtek agglutinációjának hiánya negatív eredményt jelent, és a vizsgálati eljárás elfogadott korlátain belül a megfelelő Rh antigén hiányát jelzi a vörösvérsejteken.
3. **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

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

KORLÁTOK

1. A Lorne Anti-Rh nem alkalmas enzimkezelt sejtekkel vagy indirekt antiglobulin módszerekkel történő alkalmazásra.
2. Egyes vörösvérsejtek az Rh antigének variánsait expresszálják, és a véletlenszerűen kiválasztott pozitív kontrollsejteknel gyengébb reakciókat mutathatnak. Az Anti-C gyengébb reakciókat mutathat az R₂R₂ személyek C antigénjével. Hasonlóképpen, az Anti-e valamivel gyengébb reakciókat mutathat C antigén hiányában, pl. R₂r, r⁺r és rr esetén.
3. Bizonyos vércsoportantigének szupresszált vagy csökkent expressziója viszont hamis negatív reakciókat válthat ki. Ezen okok miatt mindig óvatosan kell eljárni, amikor a genotípusok hozzárendelését a vizsgálati eredmények alapján végzik.
4. 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

1. 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

írányelvek az Egyesült Királyságban) jelenlegi verziójában/kiadásában meghatározott vizsgálati követelményeknek.

2. A forrás monoklonális antitestek specifikitását antigén-negatív sejtek paneljével mutatták ki.
3. 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

1. A felhasználó felelős a reagens teljesítményéért, ha azokat az **Ajánlott módszerek** című részben említettekkel eltérő módszerekkel használják.
2. Az **Ajánlott módszerek** című résztől való bármilyen eltérést használat előtt validálni kell⁵.

IRODALOMJEGYZÉK

1. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 10.
2. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
3. 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.
4. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
5. 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.

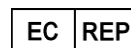
RENDELKEZÉSRE ÁLLÓ REAGENSMÉRETEK

	Üveg méret	Katalógusszám	Vizsgálatok üvegenként
Anti-C+D+E Monoclonal	10 ml	700010	200
	1000 ml	700000*	20 000

* Ez a méret csak további gyártási célú felhasználásra (For Further Manufacturing Use, FFMU) szolgál, és 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