

## HUMÁN VÉRCSOPORT-MEGHATÁROZÓ REAGENSEK HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

### Anti-Fy<sup>b</sup> Polyclonal: Indirekt antiglobulin módszerekhez.

#### ÖSSZEFOGLALÁS

Az Fy<sup>a</sup> és az Fy<sup>b</sup> antigénről 1950-ben, illetve 1951-ben számoltak be. Az Anti-Fy<sup>b</sup> szerepet játszik az azonnali és a késleltetett hemolitikus transfúziós reakciók és az újszülöttkori hemolitikus betegség kialakulásában.

Anti-Fy <sup>a</sup>	Anti-Fy <sup>b</sup>	Fenotípus	Kaukázusiak <sup>1</sup>	Afroamerikaiak <sup>1</sup>
+	0	Fy(a+b-)	17%	9%
0	+	Fy(a-b+)	34%	22%
+	+	Fy(a+b+)	49%	1%
0	0	Fy(a-b-)	Ritka	68

#### FELHASZNÁLÁSI TERÜLET

A reagens egy olyan vércsoport-meghatározó reagens, amelynek célja az Fy<sup>b</sup> antigén (FY2) 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 Fy<sup>b</sup> antigén elleni antitesteket tartalmaz, és a megfelelő Duffy b antigént hordozó humán vörösvérsejtek közvetett agglutinációját (összecsapódását) okozza a vizsgálat antiglobulin fázisában. Az agglutináció (összecsapódás) hiánya általában a megfelelő Duffy b antigén hiányát jelzi (lásd a **Korlátok** című részt).

#### REAGENSEK

A Lorne humán Anti-Fy<sup>b</sup> vércsoport-meghatározó reagens humán szérumból készült, makromolekuláris potenciátorokat (1,9 g%) és szarvasmarha albumint tartalmazó nátrium-klorid-oldatban 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 reagenstesteket az alábbiakban felsorolt összes ajánlott módszerrel való használatához optimális hígításban szállítják, további hígítást vagy kiegészítést nem igényelnek. 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 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 lízrisre 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 reagenstesteket a lejárati dátumot követően (lásd az **üveg címkéjét**).
- Ne használja a reagenstesteket csapadék jelenléte esetén.
- A reagens kezeléskor védőruházatot, például eldobható kesztyűt és laboratóriumi köpenyt kell viselni.
- A biológiai terhelés csökkentése érdekében a reagenstesteket 0,2 µm-es kapszulán átszűrtek, de nem sterilnek szállítják. Az üveg felnyitása után a tartalomnak a lejárati dátumig működőképesnek kell maradnia.
- A reagens előállításának alapjául szolgáló plazmát nem lipidmentesítették, így normális, ha a reagens zavaros megjelenésű.
- 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. Ártalmatlanításkor nagy mennyiségű vízzel öblítse le.
- A reagens 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 **biztonsági adatlapokban**.

#### KONTROLLK ÉS TANÁCSOK

- Javasolt az egyes vizsgálati tételekkel párhuzamosan egy pozitív (ideálisan heterozigóta sejtek) és egy negatív kontroll vizsgálata. A vizsgálatokat érvénytelennek kell tekinteni, ha a kontrollok nem a várt eredményeket mutatják.
- Az antiglobulin módszerek csak akkor tekinthetők érvényesnek, ha az összes negatív teszt pozitívan reagál az IgG-szenzibilizált vörösvérsejtekkel.
- A reagens makromolekuláris potenciátorokat tartalmaznak, amelyek IgG-szenzibilizált sejtekkel hamis pozitív reakciókat válthatnak ki, ezért javasolt a beteg sejtjeinek a beteg plazmájával történő vizsgálata a hamis pozitív reakciók vizsgálata érdekében.
- A legtöbb proteolitikus enzim megsemmisíti az Fy<sup>b</sup>-reaktivitást.
- 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 használnák.
- A felhasználónak kell meghatároznia a reagens más módszerekkel végzett felhasználásra való alkalmasságát.

#### SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT REAGENSEK ÉS ANYAGOK

##### Kémcsöves módszer

- Anti-humán globulin, azaz Lorne AHG Elite (katalógusszám: 435010 vagy 415010) vagy anti-humán IgG, azaz Lorne Anti-Human IgG (katalógusszám: 402010 vagy 401010).
- Coombs sejtmosó.
- Üveg kémcsövek (10 x 75 mm-es vagy 12 x 75 mm-es).
- PBS-oldat (pH 6,8–7,2) vagy izotóniás sóoldat (pH 6,5–7,5).
- IgG-szenzibilizált vörösvérsejtek, azaz Lorne Coombs Control Cells (katalógusszám: 970010).
- Pozitív (ideálisan heterozigóta) és negatív kontroll vörösvérsejtek.
- 37 °C ± 2 °C-ra kiegyenlített vízfürdő vagy száraz fűtőinkubátor.

##### Bio-Rad-ID Micro tipizáló módszer

- Bio-Rad ID-kártyák (LISS/Coombs vagy Coombs Anti-IgG).
- Bio-Rad ID-centrifuga.
- Bio-Rad ID-CellStab vagy ID-Diluent 2 oldat.
- 37 °C ± 2 °C-ra kiegyenlített Bio-Rad ID-inkubátor.

##### Ortho BioVue tipizáló módszer

- Ortho BioVue kazetták (AHG polispecifikus vagy AHG Anti-IgG).
- Ortho BioVue centrifuga.
- 37 °C ± 2 °C-ra kiegyenlített Ortho BioVue fűtőblokk.
- Ortho 0.8% Red Cell Diluent hígítóoldat.

##### Minden módszer

- Volumetrikus pipetták.

#### AJÁNLOTT MÓDSZEREK

##### A. Indirekt antiglobulin módszer (IAT)

- Készítsen 2-3%-os vörösvérsejt-szuszpenziót PBS-ben vagy izotóniás sóoldatban.
- Tegyen egy felcímkézett kémcsöbe: 1 térfogat Lorne reagenst és 1 térfogat vörösvérsejt-szuszpenziót.
- Alaposan keverje össze, és inkubálja 37 °C-on 15 percig.
- Mossa át a vörösvérsejteket legalább háromszor PBS-sel vagy izotóniás sóoldattal, ügyelve arra, hogy a mosások között dekantálja a sóoldatot, és minden mosás után szuszpendálja újra a vörösvérsejt-üledéket. Az utolsó mosás után teljesen dekantálja a sóoldatot.
- Adjon 2 térfogat AHG Elite-et vagy anti-Human IgG-t minden száraz sejtüledékhez.
- 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.
- Ellenőrizze az összes negatív reakció érvényességét az IgG-szenzibilizált vörösvérsejtekkel.

##### B. Bio-Rad-ID módszer (LISS/Coombs kártya)

1. Készítsen 0,8%-os vörösvérsejt-szuszpenziót ID-Cellstab vagy ID-Diluent 2 oldatban.
2. Távolítsa el az alumíniumfóliát a LISS/Coombs vagy Coombs Anti-IgG ID-kártyákon lévő, szükséges számú mikroszöbről.
3. Tegyen a megfelelő mikroszöbbe: 50 µl 0,8%-os vörösvérsejt-szuszpenziót és 25 µl Lorne reagenst.
4. Inkubálja az ID-kártyá(ka)t 15 percig 37 °C-on.
5. Centrifugálja az ID-kártyá(ka)t Bio-Rad ID-centrifugában.
6. Olvassa le makroszkóposan az agglutinációt.

#### C. Ortho BioVue módszer (AHG kazetta)

1. Készítsen 0,8%-os vörösvérsejt-szuszpenziót Ortho 0.8% Red Cell Diluent hígítóoldatban.
2. Távolítsa el az alumíniumfóliát az AHG poliszpecifikus vagy az AHG Anti-IgG kazettákon lévő, szükséges számú reakciókamráról.
3. Tegyen a megfelelő reakciókamrába: 50 µl vörösvérsejt-szuszpenziót és 40 µl Lorne reagenst.
4. Inkubálja a kazettá(ka)t 15 percig 37 °C-on.
5. Centrifugálja a kazettá(ka)t Ortho BioVue centrifugában.
6. Olvassa le makroszkóposan az agglutinációt.

#### A VIZSGÁLAT EREDMÉNYEINEK ÉRTELMEZÉSE

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

#### A REAKCIÓK STABILITÁSA

1. A mosási lépéseket megszakítás nélkül végezze el, majd centrifugálja és olvassa le a vizsgálatokat azonnal a reagens hozzáadása után. A késlekedés az antigén-antitest komplexek disszociációját eredményezheti, ami hamis negatív vagy gyenge pozitív eredményekhez vezethet.
2. Az **ajánlottól** eltérő hőmérsékleten végzett vizsgálatok eredményeinek értelmezésekor óvatosan kell eljárni.

#### KORLÁTOK

1. Az IgG-bevonat miatt pozitív DAT-tal rendelkező vörösvérsejteket nem lehet tipizálni az **indirekt antiglobulin módszerrel**.
2. A reagens makromolekuláris potenciátorokat tartalmaz, amelyek IgG-szenzibilizált sejtekkel hamis pozitív reakciókat válthatnak ki. Ezért javasolt a beteg sejtjeinek a beteg plazmájával történő vizsgálata a hamis pozitív reakciók vizsgálata érdekében.
3. Az alacsony gyakoriságú antigének elleni antitestek nem várt szennyezőanyagként fordulhatnak elő a vércsoport-meghatározó antiszérumokban. Ezenkívül bizonyos antigének (pl. Bg, Sd<sup>3</sup>) exaltált állapotban lehetnek jelen a vörösvérsejteken. Ezek a jelenségek ritka hamis pozitív reakciókat eredményezhetnek, amelyek egynél több, adott specifitású tételnél előfordulhatnak.
4. Nem lehet állítani, hogy nincs jelen semmilyen szennyező antitest, mivel nem mindig állnak rendelkezésre a vizsgálathoz alacsony gyakoriságú vagy exaltált antigéneket hordozó vörösvérsejtek.
5. Bizonyos vércsoportantigének szupresszált vagy csökkent expressziója viszont hamis negatív eredményeket okozhat, ezért mindig óvatosan kell eljárni, amikor a genotípusok hozzárendelését a vizsgálati eredmények alapján végzik.
6. Előfordulhat, hogy az IgG-szenzibilizált sejtek vizsgálatakor hamis pozitív agglutináció figyelhető meg.
7. Hamis pozitív eredmények fordulhatnak elő a reagensben lévő makromolekuláris potenciátoroknak köszönhetően.
8. Hamis pozitív vagy hamis negatív eredmények a következők miatt is előfordulhatnak:
  - A vizsgálati anyagok szennyeződése
  - Nem megfelelő tárolás, sejt koncentráció, 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 irányelvek az Egyesült Királyságban) jelenlegi verziójában/kiadásában meghatározott vizsgálati követelményeknek.
2. A véletlenszerű populáción belül 1%-os vagy annál nagyobb előfordulási gyakorisággal rendelkező antigének elleni szennyező antitestek jelenlétét kizárták vagy a megfelelő antigén-negatív vörösvérsejteket alkalmazó vizsgálatokban, vagy a zavaró tulajdonságok eltávolítása céljából korábban abszorbeált reagenseket alkalmazó vizsgálatokban.
3. Az Xg<sup>a</sup>, Do<sup>a</sup>, Yt<sup>a</sup>, Co<sup>b</sup>, Wf<sup>a</sup>, Bg<sup>a</sup> és V<sup>w</sup> elleni antitesteket nem lehet kizárni a rutin specifitásvizsgálat során, és a kimutatás a megfelelő vizsgálati sejtek rendelkezésre állásától függ. Ugyanez mondható el az Yt<sup>b</sup>, M<sup>a</sup> és V<sup>w</sup> és más alacsony gyakoriságú antigénekről, amelyeket nem lehet kizárni a rutin specifitásvizsgálat során, és a kimutatás a megfelelő vizsgálati sejtek rendelkezésre állásától függ.
4. 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

1. A felhasználó felelős a reagensek teljesítményéért, ha azokat az **Ajánlott módszerek** című részben említettekől eltérő módszerekkel használják.
2. Az **Ajánlott módszerek** című résztől való bármilyen eltérést használat előtt validálni kell<sup>5</sup>.

#### IRODALOMJEGYZÉK

1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 183.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6.
3. AABB Technical Manual, 16<sup>th</sup> edition, AABB 2008.
4. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6<sup>th</sup> 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.

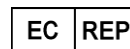
#### RENDELKEZÉSRE ÁLLÓ REAGENSMÉRETEK

	Üveg méret	Katalógusszám	Vizsgálatok üvegenként
<b>Anti-Fy<sup>b</sup> poliklonális</b>	2 ml	317002	40
	1000 ml	317000*	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, 2<sup>nd</sup> Flr.,  
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Málta