



LORNE LABORATORIES LTD.

NAGY-BRITANNIA

MONOKLONÁLIS VÉRCSOPORT-MEGHATÁROZÓ REAGENSEK HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ



Anti-P₁ Monoclonal: kémcsöves, Bio-Rad-ID és Ortho BioVue módszerekhez.

ÖSSZEFOGLALÁS

Landsteiner 1927-ben fedezte fel a P₁ antigént. Az Anti-P₁ általában nem lép reakcióba szobahőmérséklet feletti hőmérsékleten, és a rutin vizsgálat gyakran nem mutatja ki. Az Anti-P₁ nem okoz újszülöttkori hemolitikus betegséget, és csak ritkán hozták összefüggésbe hemolitikus transzfúziós reakciókkal.

Anti-P ₁	Fenotípus	Kaukázusiak ²	Afroamerikaiak ²
+	P ₁	79%	94%
0	P ₂	21%	6%

FELHASZNÁLÁSI TERÜLET

A reagens egy olyan vércsoport-meghatározó reagens, amelynek célja a P₁ antigének 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 P₁ antigén elleni antitesteket tartalmaz, és a P₁ antigént hordozó vörösvérsejtek közvetlen agglutinációját (összecsapódását) okozza. Az agglutináció (összecsapódás) hiánya általában a P₁ antigén hiányát jelzi (lásd a **Korlátok** című részt).

REAGENS

A Lorne Monoclonal IgM Anti-P₁ vércsoport-meghatározó reagens a 650. klón sejtvonalból előállított egér monoklonális IgM antitesteket tartalmaz, nátrium-kloridot és szarvasmarha albumint tartalmazó oldatban hígítva. A reagens nem tartalmaz CMR (rákkeltő, mutagén vagy reprodukciót károsító) anyagokat, endokrin rendszer káros anyagokat, illetve olyan anyagokat, amelyek a felhasználónál szenzibilizációt vagy allergiás reakciót okozhatnak. A reagenst az alábbiakban felsorolt összes ajánlott módszerrel való használathoz 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 alvadt mintaként lehet gyűjteni. A mintákat a mintavétel 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 líziszre 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 címkéjét**).
- Ne használja a reagenst csapadék jelenléte esetén.
- A reagens kezelésékor védőruházatot, például eldobható kesztyűt és laboratóriumi köpenyt kell viselni.
- A biológiai terhelés csökkentése érdekében a reagenst 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 tartalmaz. A nátrium-azid lenyelve mérgező lehet, illetve az ólom- és rézvezetéssel 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**.

KONTROLLOK ÉS TANÁCSOK

- Javasolt az egyes vizsgálati tételekkel párhuzamosan egy pozitív (ideálisan P₁ gyenge sejtek) és egy negatív kontroll vizsgálatát. A vizsgálatokat érvénytelennek kell tekinteni, ha a kontrollok nem a várt eredményeket mutatják.
- 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 képezített 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 P₁ gyenge) és negatív kontroll vörösvérsejtek.

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.
- 2–8 °C-ra beállított hűtőszekrény.

AJÁNLOTT MÓDSZEREK

A. Kémcsöves módszer

- 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 2–8 °C-on 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 vörösvérsejt-szuszpenziót ID-CellStab vagy ID-Diluent 2 oldatban.
- Távolítsa el az alumíniumfóliát a NaCl, enzimtesztek és hideg agglutininek ID-kártyá(ka)n lévő, szükséges számú mikroszóról.
- Tegyen a megfelelő mikroszöbe: 50 µl vörösvérsejt-szuszpenziót és 25 µl Lorne reagenst.
- Inkubálja az ID-kártyát 15 percig 2–8 °C-on.
- Centrifugálja az ID-kártyát Bio-Rad ID-centrifugában.
- Olvassa le makroszkóposan az agglutinációt.

C. Ortho BioVue tipizáló módszer

- Készítsen 0,8%-os vörösvérsejt-szuszpenziót Ortho 0.8% Red Cell Diluent hígítóoldatban.
- Távolítsa el az alumíniumfóliát a szükséges számú reakciókamráról.
- Tegyen a megfelelő reakciókamrába: 50 µl vörösvérsejt-szuszpenziót és 40 µl Lorne reagenst.
- Inkubálja a kazettá(ka)t 15 percig 2–8 °C-on.
- Centrifugálja a kazettá(ka)t Ortho BioVue centrifugában.
- Olvassa le makroszkóposan az agglutinációt.

A VIZSGÁLAT EREDMÉNYEINEK ÉRTELMEZÉSE

- Pozitív:** A vörösvérsejtek agglutinációja pozitív vizsgálati eredményt jelent, és a vizsgálati eljárás elfogadott korlátain belül a P₁ antigén jelenlétét jelzi a vörösvérsejteken.
- Negatív:** A vörösvérsejtek agglutinációjának hiánya negatív eredményt jelent, és a vizsgálati eljárás elfogadott korlátain belül a P₁ antigén hiányát jelzi a vörösvérsejteken.

A REAKCIÓK STABILITÁSA

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

KORLÁTOK

1. A P₁ antigén gyengén expresszálódik az újszülöttek sejteiben.
2. A különböző P₁ pozitív sejteken lévő P₁ antigén mennyisége nagyon eltérő. Az ilyen sejtekkel megfigyelt agglutináció erőssége valószínűleg ennek megfelelően változik.
3. A tárolt vér gyengébb reakciókat mutathat, mint a friss vér.
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 irányelvek az Egyesült Királyságban) jelenlegi verziójában/kiadásában meghatározott vizsgálati követelményeknek.
2. A forrás monoklonális antitest specificitását 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 azt az **Ajánlott módszerek** című részben említettektől 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 9.
2. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 191.
3. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
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 REAGENS MÉRLETEK

Üveg méret	Katalógusszám	Vizsgálatok üvegenként
2 ml	315002	40
1000 ml	315000*	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

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