

MONOKLONÁLIS VÉRCSOPORT-MEGHATÁROZÓ REAGENSEK HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

Monoclonal Anti-C^w: Kémcsöves, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue és tárgylemezes módszerekhez.

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 C^w antigén az egyik legritkább antigén, az anti-C^w azonban egy meglehetősen gyakori antitest. Az összes Rh antitest jelentős klinikai szempontból, mivel transzfúziós reakciókat és újszülöttkori hemolitikus betegséget is okozhatnak.

Rh antigén	Kaukázusiak ²	Feketék ²	Finnek ²	Lettek ²
C ^w	2%	1%	4%	9%

FELHASZNÁLÁSI TERÜLET

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

REAGENSEK

A Lorne Monoclonal Anti-C^w vércsoport-meghatározó reagens egy humán monoklonális IgM antitestet tartalmazó reagens, nátrium-kloridot (0,6 g%), szarvasmarha albumint (6 g%) és tartósítószerrel 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. A reagenst az alábbiakban felsorolt 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 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 lízisre 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 kezeléskor védőruházatot, például eldobható kesztyűt és laboratóriumi köpenyt kell viselni.
- A biológiai terhelés csökkentése érdekében a reagenset 0,2 µm-es kapszulán átszűrtek, 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 reagens <0,1% nátrium-azidot tartalmaz. 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 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 használatok és ártalmatlanítások óvatosan kell eljáráni.

A REAGENS ÁRTALMATLANÍTÁSA ÉS A KIÖMLÖTT ANYAGOK KEZELÉSE

A reagens ártalmatlanításával és a kiömléssel érintett terület szennyeződésmegelőzésével 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.
- A gyenge C^w antigéneket rosszul detektálhatja a tárgylemezes módszer. Javasolt a gyenge C^w antigéneket kémcsöves módszerrel történő vizsgálata.
- 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 D Negative Control (katalógusszám: 650010)) használatával történő vizsgálata.
- Az **Ajánlott módszerek** című részben egy térfogat körülbelül 50 µl az üveghez mellékelte 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 heterozigóta) 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.

Mikrotiter lemezes módszer

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

Tárgylemezes módszer

- Üveg mikroszkóp-tárgylemezek vagy fehér kártyalapok.
- Applikátorpálcák.
- 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 reagenst és 1 térfogat vörösvérsejt-szuspenziót.
- 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. Ortho BioVue tipizáló módszer (neutrális kazetták)

- Készítsen 0,8%-os vörösvérsejt-szuspenziót Ortho 0.8% Red Cell Diluent hígítóoldatban.
- Távolítsa el az alumíniumfóliát a neutrális kazettákon lévő, szükséges számú reakciókamráról.
- Tegyen a megfelelő reakciókamrába: 50 µl vörösvérsejt-szuspenziót és 40 µl Lorne reagenst.
- Centrifugálja a kazettá(k) Ortho BioVue centrifugában.

- Olvassa le makroszkóposan az agglutinációt.

C. 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(ko)n lévő, szükséges számú mikrocsőrel.
- Tegyen a megfelelő mikrocsőbe: 50 µl vörösvérsejt-szuszpenziót és 25 µl Lorne reagenst.
- Centrifugálja az ID-kártyá(ka)t Bio-Rad ID-centrifugában.
- Olvassa le makroszkóposan az agglutinációt.

D. Mikrolemezes módszer („U” lyukakkal)

- Készítsen 2-3%-os vörösvérsejt-szuszpenziót PBS-ben vagy izotóniás sóoldatban.
- Tegyen a megfelelő lyukba: 1 térfogat Lorne reagenst és 1 térfogat vörösvérsejt-szuszpenziót.
- Alaposan keverje össze, lehetőleg mikrolemezrázó készülékkel, 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.
- Szuszpendálja újra a sejtlédeket gondosan ellenőrzött keverést alkalmazva egy mikrolemezrázó készüléken.
- Olvassa le makroszkóposan vagy validált automatikus leolvasóval.
- A gyenge reakciókat kémcsöves módszerrel meg kell ismételni.

E. Tárgylemezes módszer

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

A VIZSGÁLAT EREDMÉNYEINEK ÉRTELMEZÉSE

- Pozitív:** A vörösvérsejtek agglutinációja pozitív vizsgálati eredményt jelent, és a vizsgálati eljárás elfogadott korlátain belül a C^w antigén jelenlétét jelzi a vörösvérsejteken.
- Negatív:** A vörösvérsejtek agglutinációjának hiánya negatív eredményt jelent, és a vizsgálati eljárás elfogadott korlátain belül a C^w 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 képlekedés az antigén-antitest komplexek disszociációját okozhatja, ami hamis negatív vagy gyenge pozitív reakciókhoz vezethet.
- A tárgylemezes vizsgálatokat egy percen belül kell értelmezni a specificitás 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

- Számos monoklonális humán IgM Rhesus antitestről kimutatták, hogy anti-Iⁱ hideg agglutinin aktivitással rendelkezik, különösen köldökzsinórsejtekkel vagy enzimkezelt sejtekkel. Ez akkor válhat láthatóvá, ha a vizsgálatokat az ajánlott hőmérséklet alatt inkubálják.
- Bizonyos vércsoportantigének szupresszált vagy csökkent expressziója viszont hamis negatív reakciókat válthat ki, ezért mindig óvatosan kell eljárni, amikor a genotípusok hozzárendelését a vizsgálati eredmények alapján végzik.
- 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 specificitását antigén-negatív sejtek paneljével mutatták ki.

- 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

- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 10.
- Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 31.
- 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.

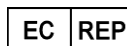
RENDELKEZÉSRE ÁLLÓ REAGENSMÉRETEK

	Üveg méret	Katalógusszám	Vizsgálatok üvegenként
Anti-C ^w monoklonális	2 ml	750002	40
	1000 ml	750000*	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