

## HUMÁN VÉRCSOPORT-MEGHATÁROZÓ REAGENSEK HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

### Anti-Di<sup>a</sup> Polyclonal: Indirekt antiglobulin módszerekhez.

#### ÖSSZEFOGLALÁS

A Diego vércsoportot 1955-ben fedezték fel, és az első olyan betegről nevezték el, aki az új vércsoportrendszer antigénjeivel szemben antitestet termelt. Az anti-Di<sup>a</sup> és az anti-Di<sup>b</sup> gyakrabban függ össze HDN-nel (újszülöttkori hemolitikus betegség), mint transzfúziós reakciókkal. A Diego antitestek által okozott HDN Délkelet-Ázsiában és Dél-Amerikában gyakoribb. Az anti-Di<sup>a</sup> mérsékelt vagy súlyos HDN-t tud okozni, amelynek eseteiről beszámoltak.

Anti-Di <sup>a</sup>	Anti-Di <sup>b</sup>	Fenotípus	Kaukázusi/fekete <sup>1</sup>	Ázsiai <sup>1</sup>
+	0	Di(a+b-)	<0,01%	<0,01%
0	+	Di(a-b+)	>99,9%	>90%
+	+	Di(a+b+)	<0,1%	10%
0	0	Di(a-b-)	Rendkívül ritka	

#### FELHASZNÁLÁSI TERÜLET

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

#### REAGENSEK

A Lorne humán Anti-Di<sup>a</sup> vércsoport-meghatározó reagens humán szérumból készült, makromolekuláris potenciátorokat (0,95 g%) és szarvasmarha albumint tartalmazó nátrium-klorid-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. Az egyes reagenst 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 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 reagenst a lejárati dátumot követően (lásd az **üveg címkéjén**).
- Ne használja a reagenst csapadék jelenléte esetén.
- A reagens kezelését védőruházat, például eldobható kesztyűt és laboratóriumi köpenyt kell viselni.
- A biológiai terhelés csökkentése érdekében a reagenst 0,2 µm-es kapszulán átszűrte, de nem sterilizált. 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 tartalmaz. A nátrium-azid lenyelve mérgező lehet, illetve az ólom- és rézvezetékek reakcióba léphet és

robbanásveszélyes fém-azidokat képezhet. Ártalmatlanításakor 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 kontroll 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 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.
- 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 használják.
- 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 poliszpecifikus vagy AHG Anti-IgG).
- Ortho BioVue centrifuga.
- 37 °C ± 2 °C-ra kiegyenlített Ortho BioVue fűtőblokk.
- Ortho 0.8% Red Cell Diluenthígítóoldat.

##### Minden módszer

- Volumetrikus pipetták.

#### AJÁNLOTT MÓDSZEREK

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

- Készítsen 2-3%-os vörösvérsejt-szuspenziót PBS-ben vagy izotóniás sóoldatban.
- Tegyen egy felcímkézett kémcsöbe: 1 térfogat Lorne reagenst és 1 térfogat vörösvérsejt-szuspenziót.

- Alaposan keverje össze, és inkubálja 37 °C-on 15 percig.
- Mossa át a vörösvérsejteket négyszer 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 anti-humán globulint vagy anti-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 Micro tipizáló módszer

- Készítsen 0,8%-os vörösvérsejt-szuszpenziót ID-Cellstab vagy ID-Diluent 2 oldatban.
- Távolítsa el az alumíniumfóliát a LISS/Coombs vagy Coombs Anti-IgG ID-kártyákon lévő, szükséges számú mikrocsőről.
- Tegyen a megfelelő mikrocsőbe: 50 µl 0,8%-os vörösvérsejt-szuszpenziót és 25 µl Lorne reagenst.
- Inkubálja az ID-kártyá(ka)t 15 percig 37 °C-on.
- Centrifugálja az ID-kártyá(ka)t 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 az AHG polispecifikus vagy az AHG Anti-IgG kazettákon lévő, szükséges számú reakciókamráról.
- Tegyen a megfelelő reakciókamrába: 50 µl vörösvérsejt-szuszpenziót és 40 µl Lorne reagenst.
- Inkubálja a kazettá(ka)t 15 percig 37 °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 Di<sup>a</sup> antigén jelenlétét jelzi a vörösvérsejteken.
- Negatív:** A vörösvérsejtek agglutinációjának hiánya negatív eredményt jelent, és a vizsgálati eljárás elfogadott korlátain belül a Di<sup>a</sup> antigén hiányát jelzi a vörösvérsejteken.

#### A REAKCIÓK STABILITÁSA

- 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.
- Az **ajánlottól** eltérő hőmérsékleten végzett vizsgálatok eredményeinek értelmezésekor óvatosan kell eljárni.

#### KORLÁTOK

- Az IgG-bevonat miatt pozitív DAT-tal rendelkező vörösvérsejteket nem lehet tipizálni az **indirekt antiglobulin módszerrel**.
- Az alacsony gyakoriságú antigének elleni antitestek nem várt szennyezőanyagként fordulhatnak elő a vércsoport-meghatározó antiszérumokban. Ezenkívül bizonyos antigének (pl. Bg, Sd<sup>h</sup>) exaltált állapotban lehetnek jelen a vörösvérsejteken. Ezek a jelenségek ritka hamis pozitív reakciókat eredményezhetnek, amelyek egynél több, adott specificitású tételnél előfordulhatnak.
- Nem lehet állítani, hogy nincs jelen semmilyen szennyező antitest, mivel nem mindig állnak rendelkezésre a vizsgálathoz alacsony gyakoriságú vagy exaltált antigéneket hordozó vörösvérsejtek.
- 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 megfelelték 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 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.

- Az Xg<sup>a</sup>, Do<sup>a</sup>, Yt<sup>a</sup>, Co<sup>b</sup>, Wr<sup>a</sup>, Bg<sup>a</sup> és V<sup>w</sup> elleni antitesteket nem lehet kizárni a rutin specificitásvizsgálat során, és a kimutatás a megfelelő vizsgálati sejtek rendelkezésre állásától függ. Ugyanez mondható el az Yt<sup>b</sup>, M<sup>9</sup> és V<sup>w</sup> és más alacsony gyakoriságú antigénekről, amelyeket nem lehet kizárni a rutin specificitásvizsgálat során, és a kimutatás a megfelelő vizsgálati sejtek rendelkezésre állásától függ.
- 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

- A felhasználó felelős a reagensek teljesítményéért, ha azokat az **Ajánlott módszerek** című részben említettekől eltérő módszerekkel használják.
- Az **Ajánlott módszerek** című résztől való bármilyen eltérést használat előtt validálni kell<sup>6</sup>.

#### IRODALOMJEGYZÉK

- Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 182.
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 16.
- AABB Technical Manual, 16<sup>th</sup> edition, AABB 2008.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6<sup>th</sup> 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.

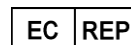
#### RENDELKEZÉSRE ÁLLÓ REAGENSMÉRETEK

	Üveg méret	Katalógusszám	Vizsgálatok üvegenként
Anti-Di <sup>a</sup> Polyclonal	2 ml	328002	40
	1000 ml	328000*	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