

**MONOKLONÁLIS VÉRCSOPORT-MEGHATÁROZÓ REAGENSEK
HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ**

Anti-Fy^a Monoclonal: Indirekt antiglobulin módszerekhez.

ÖSSZEFOGLALÁS

Az Fy^a és az Fy^b antigénről 1950-ben, illetve 1951-ben számoltak be. Az Anti-Fy^a és az anti-Fy^b egyaránt szerepet játszik az azonnali és a késleltetett hemolitikus transzfúziós reakciók és az újszülöttkori hemolitikus betegség kialakulásában.

Anti-Fy ^a	Anti-Fy ^b	Fenotípus	Kaukázusiak %	Afroamerikaiak %
+	0	Fy(a+b-)	17	9
0	+	Fy(a-b+)	34	22
+	+	Fy(a+b+)	49	1
0	0	Fy(a-b-)	Nagyon ritka	68

FELHASZNÁLÁSI TERÜLET

A reagens egy olyan vércsoport-meghatározó reagens, amelynek célja az Fy(a) antigén (FY001) véradók vagy vértranszfúziót igénylő betegek vörösvérsejtjein való jelenlétének vagy hiányának kvalitatív meghatározása, a jelen használati útmutatóban ismertetett ajánlott módszerekkel vizsgálva.

ALAPELV

A reagens az Fy(a) antigént hordozó vörösvérsejtet közvetett agglutinációját (összecsapódását) okozza a vizsgálat antiglobulin fázisában. Az agglutináció (összecsapódás) hiánya általában az Fy(a) antigén hiányát jelzi (lásd a **Korlátok** című részt).

REAGENSEK

Ez a monoklonális IgG vércsoport-meghatározó reagens humán monoklonális antitesteket tartalmaz, nátrium-kloridot és szarvasmarha albumint tartalmazó foszfátbufferben 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 használathoz optimális hígításban szállítják, további hígítást vagy kiegészítést nem igényel. A tétel referenciaszámát és lejárati dátumát lásd az **üveg címkéjén**.

Termék	Sejtvonal/klón
Anti-Fy ^a	DG-FYA-02

TÁROLÁS

Nem fagyasztható. 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 reagenst 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 mintavételt 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 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 kezelésekor védőruházatot, például eldobható kesztyűt és laboratóriumi köpenyt kell viselni.
- A biológiai terhelés csökkentése érdekében a reagenst 0,2 µm-es kapszulán átszűrtek, de nem steril formában szállítják. Az üveg felnyitása után a tartalomnak a lejárati dátumig működésképesnek 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 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 sejt) és egy negatív kontroll vizsgálatát. A vizsgálatokat érvénytelennek kell tekinteni, ha a kontrollk nem a várt eredményeket mutatják.
- Az antiglobulin módszerek csak akkor tekinthetők érvényesnek, ha az összes negatív teszt pozitívan reagál az IgG-szenzibilizált vörösvérsejtekkel.
- 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 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 REAGENSEK ÉS ANYAGOK

- 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.
- 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.
- Üveg kémcsövek (10 x 75 mm-es vagy 12 x 75 mm-es).
- IgG-szenzibilizált vörösvérsejt, azaz Lorne Coombs Control Cells (katalógusszám: 970010).
- 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 Diluent hígítóoldat.
- PBS-oldat (pH 6,8–7,2) vagy izotóniás sóoldat (pH 6,5–7,5).
- Pozitív (ideálisan heterozigóta) és negatív kontroll vörösvérsejt.
- Volumetrikus pipetták.
- 37 °C ± 2 °C-ra kiegyenlített vízfürdő vagy száraz fűtőinkubátor.

AJÁNLOTT MÓDSZEREK

A. Indirekt antiglobulin módszer (IAT)

- Készítsen 2-3%-os vörösvérsejt-szuspenziót PBS-ben vagy izotóniás sóoldatban.
- Tegyén egy felcímkézett kémcsőbe: 1 térfogat Lorne reagenst és 1 térfogat vörösvérsejt-szuspenziót.
- Alaposan keverje össze, és inkubálja 37 °C-on 15 percig.
- Mossa át egyszer a vörösvérsejteket PBS-sel vagy izotóniás sóoldattal, ügyelve arra, hogy a mosás után dekantálja a sóoldatot.
- Adjon 2 térfogat anti-humán globulint vagy anti-IgG-t minden száraz sejttöredékhez.
- 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 kártyák)

- Készítsen 0,8%-os vörösvérsejt-szuspenziót ID-CellStab vagy ID-Diluent 2 oldatban.
- Távolítsa el az alumíniumfóliát a LISS/Coombs vagy Coombs Anti-IgG ID-kártyá(ko)n lévő, szükséges számú mikrocsoőről.
- Tegyén a megfelelő mikrocsoőbe: 50 µl vörösvérsejt-szuspenziót és 25 µl Lorne reagenst.
- Inkubálja a LISS/Coombs ID-kártyá(ka)t 15 percig 37 °C-on.
- Centrifugálja a LISS/Coombs ID-kártyá(ka)t Bio-Rad ID-kártya centrifugában.
- Olvassa le makroszkóposan az agglutinációt.

C. Ortho BioVue módszer (AHG kazetták)

1. Készítsen 0,8%-os vörösvérsejt-szuszpenziót Ortho 0.8% Red Cell Diluent hígítóoldatban.
2. Távolítsa el az alumíniumfóliát az AHG polispecifikus 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 antigén jelenlétét jelzi a vörösvérsejteken.
2. **Negatív:** A vörösvérsejtek agglutinációjának hiánya negatív eredményt jelent, és a vizsgálati eljárás elfogadott korlátain belül a megfelelő 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. 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.
3. 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 antitestek 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 azokat az **Ajánlott módszerek** című részben említettekől eltérő módszerekkel használják.
2. Az **Ajánlott módszerek** című résztől való bármilyen eltérést használat előtt validálni kell⁶.

IRODALOMJEGYZÉK

1. Widman FK. Technical Manual, 9th Edition. American Association of Blood Banks, Arlington, VA, 1985; Chapter 8
2. Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, 6th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1975; Chapter 2
3. Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1987; Chapter 7
4. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
6. 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.

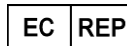
RENDELKEZÉSRE ÁLLÓ REAGENS MÉRTEK

	Üveg méret	Katalógusszám	Vizsgálatok üvegenként
Anti-Fy ^a Monoclonal	2 ml	774002	40
	1000 ml	774000*	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