



MONOKLONÁLIS VÉRCSOPORT-MEGHATÁROZÓ REAGENSEK  
HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

**Anti-Le<sup>b</sup> Monoclonal: Kémcsöves módszerhez.**

**ÖSSZEFOGLALÁS**

A Lewis rendszer antigénjei nem képezik a vörösvérsejtek membránjának szerves részét, szöveti sejtek állítják elő őket, és elsősorban a plazmában és a vizes szekréciókban található meg. A vörösvérsejtek a környező plazmából történő adszorpcióval tesznek szert Lewis antigénekre. A sejten expresszált Lewis antigén mennyisége a sejt ABO-fenotípusától függően eltérő lehet. Az anti-Le<sup>a</sup> és az anti-Le<sup>b</sup> antigént nem hozták összefüggésbe az újszülöttkori hemolitikus betegséggel.

Anti-Le <sup>a</sup>	Anti-Le <sup>b</sup>	Fenotípus	Kaukázusiak <sup>1</sup>	Afroamerikaiak <sup>1</sup>
+	0	Le(a+b-)	22%	23%
0	+	Le(a-b+)	72%	55%
0	0	Le(a-b-)	6%	22%
+	+	Le(a+b+)	Ritka	Ritka

**FELHASZNÁLÁSI TERÜLET**

A reagens egy olyan vércsoport-meghatározó reagens, amelynek célja a Le<sup>b</sup> antigének (LE2) véradoók 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 Le<sup>b</sup> antigén elleni antitesteket tartalmaz, és centrifugálás után a Le<sup>b</sup> antigént hordozó vörösvérsejtek közvetlen agglutinációját (összecsapódását) okozza. Az agglutináció (összecsapódás) hiánya általában a Le<sup>b</sup> antigén hiányát jelzi (lásd a **Korlátok** című részt).

**REAGENSEK**

A Lorne Monoclonal Anti-Le<sup>b</sup> vércsoport-meghatározó reagens egér monoklonális IgM antitesteket tartalmaz, nátrium-kloridot, EDTA-t, szarvasmarha albumint és makromolekuláris potenciátorokat (10,0 g%) tartalmazó foszfátpufferben hígítva. Az Anti-Le<sup>b</sup> a LEB2 klónnal készült. 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 ismertetett 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 lizisre utaló jeleket mutató vérminták megbízhatatlan eredményeket adhatnak. A vizsgálat előtt feltétlenül szükséges (lásd a „Korlátok” című részt) az összes vérminta PBS-sel vagy izotóniás sóoldattal való mosása.

**ÓVINTÉZKEDÉSEK**

1. A reagens kizárólag *in vitro* diagnosztikai felhasználásra szolgál.
2. Ha a reagensüveg megrepedt vagy szivárog, azonnal dobja ki a tartalmát.
3. Ne használja a reagenseket a lejárati dátumot követően (lásd az **üveg címkéjén**).
4. Ne használja a reagenseket csapadék jelenléte esetén.
5. A reagensek kezelésekor védőruházatot, például eldobható kesztyűt és laboratóriumi köpenyt kell viselni.
6. A biológiai terhelés csökkentése érdekében a reagenst 0,2 µm-es kapszulán átszűrte, de nem sterilen 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.
7. A reagens <0,1% nátrium-azidot tartalmaz. A nátrium-azid lenyelve mérgező lehet, illetve az ólom- és rézvezetékekkel reakcióba léphet és robbanásveszélyes fém-azidokat képezhet. Ártalmatlanításkor nagy mennyiségű vízzel öblítse le.
8. 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**

1. Javasolt az egyes vizsgálati tételekkel párhuzamosan egy pozitív és egy negatív kontroll vizsgálatát. A vizsgálatokat érvénytelennek kell tekinteni, ha a kontrollok nem a várt eredményeket mutatják.
2. 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 Rh Control (katalógusszám: 640010)) használatával történő vizsgálata.
3. Használat előtt hagyja a reagenst szobahőmérsékletre felmelegedni. Használat után a reagenst azonnal tegye vissza 2-8 °C-on történő tárolásra.
4. A **Kémcsöves módszer** című részben egy térfogat körülbelül 50 µl az üveghöz mellékelte cseppentő használatára esetén.
5. A reagens használatát és az eredmények értelmezését megfelelően képzett és képezített személyzetnek kell végeznie annak az országnak a követelményeivel összhangban, ahol a reagenst használják.
6. A felhasználónak kell meghatároznia a reagens más módszerekkel végzett felhasználásra való alkalmasságát.

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

- 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).
- Pozitív és negatív kontroll vörösvérsejtek: Le(b+) (pozitív kontroll) és Le(b-) (negatív kontroll).
- Kémcsőcentrifuga.
- Volumetrikus pipetták.

**AJÁNLOTT MÓDSZER**

**A. Kémcsöves módszer**

1. Készítsen 2-5%-os szuszpenziót átmosott vörösvérsejtekből PBS-ben vagy izotóniás sóoldatban.
2. Tegyen egy felcímkézett kémcsőbe: 1 térfogat Lorne Anti-Le<sup>b</sup> reagenst és 1 térfogat vörösvérsejt-szuszpenziót.
3. Alaposan keverje össze, és inkubálja szobahőmérsékleten 15 percig.
4. Centrifugálja az összes csövet 20 másodpercig 1000 rcf-en vagy annak megfelelő, eltérő idő és erő alkalmazásával.
5. Óvatosan szuszpendálja újra a vörösvérsejt-üledéket, és makroszkóposan olvassa le az agglutinációt.

**A VIZSGÁLAT EREDMÉNYEINEK ÉRTELMEZÉSE**

1. **Pozitív:** A vörösvérsejtek agglutinációja pozitív vizsgálati eredményt jelent, és a vizsgálati eljárás elfogadott korlátain belül a Lewis b antigén jelenlétét jelzi a vörösvérsejteken.
2. **Negatív:** A vörösvérsejtek agglutinációjának hiánya negatív eredményt jelent, és a vizsgálati eljárás elfogadott korlátain belül a Lewis b antigén hiányát jelzi a vörösvérsejteken.
3. **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**

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 Lorne Anti-Le<sup>b</sup> reagenst csak átmosott, PBS-ben vagy izotóniás sóoldatban szuszpendált vörösvérsejtekkel szabad használni, mivel a Lewis antigének jelen vannak a plazmában. Plazmában/szérumban szuszpendált sejtek **nem** használhatók, mivel a jelen lévő oldható antigén semlegesítheti a vizsgálati reagenst, hamis negatív eredményeket adva.
2. Gyengébb reakciók fordulhatnak elő, ha az Anti-Le<sup>b</sup> vizsgálata A<sub>1</sub> vagy A<sub>1</sub>B Le(b+) vörösvérsejtek ellen történik, mivel a vörösvérsejteken expresszált Lewis antigén mennyisége a sejt ABO-fenotípusától függően eltérő lehet.
3. A legtöbb újszülött vörösvérsejtje monoklonális vagy humán anti-Lewis reagenssel Le(a-b-) típusú lesz.

4. A hat év alatti gyermekek Lewis-fenotípusait nem lehet pontosan meghatározni. A vörösvérsejtek Lewis antigénjei a terhesség során gyengébbek, és egyes Le(a-b+) fenotípusú vörösvérsejtekkel rendelkező nők esetén előfordulhat, hogy a terhességük során Le(a-b-) típusba sorolják őket.
5. A tárolt vér gyengébb reakciókat mutathat, mint a friss vér.
6. 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 specifitását 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 módszer** című részben említettektől eltérő módszerekkel használják.
2. Az **Ajánlott módszer** 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 189.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 7.
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.

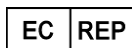
## RENDELKEZÉSRE ÁLLÓ REAGENS MÉRTEK

	Üveg méret	Katalógusszám	Vizsgálatok üvegenként
<b>Anti-Le<sup>b</sup> Monoclonal</b>	2 ml	631002	40
	1000 ml	631000*	20 000

\*Ez a méret csak további gyártási célú felhasználásra (For Further Manufacturing Use, FFMU) szolgál, 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