

**MONOKLONÁLIS VÉRCSOPORT-MEGHATÁROZÓ REAGENSEK  
HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ**

**Anti-M Monoclonal: Kémcsöves, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue és mikrotiter lemezes módszerekhez.**

**ÖSSZEFOGLALÁS**

Az M antigén az MNS rendszer része, és először 1927-ben számoltak be róla. Az M antigén expressziója a vörösvérsejteken dózishatást mutathat. Az anti-M ritkán játszik szerepet az újszülöttkori hemolitikus betegség vagy a hemolitikus transzfúziós reakciók kialakulásában.

Anti-M	Anti-N	Fenotípus	Kaukázusiak <sup>1</sup>	Afroamerikaiak <sup>1</sup>
+	0	M+N-	28%	25,4%
+	+	M+N+	50%	48,4%
0	+	M-N+	22%	26,7%

**FELHASZNÁLÁSI TERÜLET**

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

**REAGENSEK**

A Lorne Monoclonal Anti-M vércsoport-meghatározó reagens egy egér monoklonális IgG antitestet (klónszám: LM110/140) tartalmazó reagens, nátrium-kloridot (0,6 g%), szarvasmarha albumint (4,0 g%) és tartósítószerrel tartalmazó foszfátpufferben hígítva. A reagens nem tartalmaz CMR (rákkeltő, mutagen vagy reprodukciót károsító) anyagokat, endokrin rendszert káros anyagokat, illetve olyan anyagokat, amelyek a felhasználónál szenzibilizációt vagy allergiás reakciókat 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 lízise utaló jeleket mutató vérminták megbízhatatlan eredményeket adhatnak. A vizsgálat előtt javasolt (de nem feltétlenül szükséges) az összes vérminta nem pufferelt sóoldattal való mosása.

**ÖVINTÉZKEDÉSEK**

- 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 címkéjén**).
- Ne használja a reagenset csapadék jelenléte esetén.
- A reagens kezelésakor védőruházatot, például eldobható kesztyűt és laboratóriumi köpenyt kell viselni.
- A biológiai terhelés csökkentése érdekében a reagenset 0,2 µm-es kapszulán átszűrtek, de nem sterilien 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 tartalmaznak. A nátrium-azid lenyelve mérgező lehet, illetve az ólom- és rézvezetékekkel 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**.

**KONTROLLOK 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.
- 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 Negative Control (katalógusszám: 650010) használatával történő vizsgálata. A vizsgálatokat érvénytelennek kell tekinteni, ha a Lorne negatív kontroll agglutinálja a vörösvérsejteket.
- Használat előtt hagyja a reagenst szobahőmérsékletre felmelegedni. Használat után a reagenst azonnal tegye vissza 2–8 °C-on történő tárolásra.
- 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 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**

- 20 másodpercig 1000 g teljesítményre képes centrifuga.
- Üveg kémcsövek (10 x 75 mm-es vagy 12 x 75 mm-es).
- Pozitív (ideálisan M+N+) és negatív (N+N+) kontroll vörösvérsejtek.

**Bio-Rad-ID Micro tipizáló módszer**

- Bio-Rad ID-kártyák (NaCl, enzimtesztek és hideg agglutininek).
- Bio-Rad ID-centrifuga.

**Ortho BioVue tipizáló módszer**

- Ortho BioVue kazetták (neutrális).
- Ortho BioVue centrifuga.

**Mikrotiter lemezes módszer**

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

**Minden módszer**

- Volumetrikus pipetták.
- Nem pufferelt sóoldat.

**AJÁNLOTT MÓDSZEREK**

**A. Kémcsöves módszer**

- Készítsen 2-3%-os vörösvérsejt-szuspenziót nem pufferelt sóoldatban (lásd a **Korlátok** című részt).
- 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 nem pufferelt sóoldatban (lásd a **Korlátok** című részt).
- 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)a Ortho BioVue centrifugában.
- Olvassa le makroszkóposan az agglutinációt.

**C. Bio-Rad-ID Micro tipizáló módszer**

- Készítsen 0,8%-os vörösvérsejt-szuspenziót nem pufferelt sóoldatban (lásd a **Korlátok** című részt).
- Távolítsa el az alumíniumfóliát a NaCl, enzimtesztek és hideg agglutininek ID-kártyá(k)o)n lévő, szükséges számú mikrocsőről.

- Tegyen a megfelelő mikroszöbe: 50 µl vörösvérsejt-szuszenziót és 25 µl Lorne reagenst.
- Centrifugálja az ID-kártyá(ka)t Bio-Rad ID-centrifugában.
- Olvassa le makroszkóposan az agglutinációt.

#### D. Mikrotiter lemezes módszer („U” lyukakkal)

- Készítsen 2-3%-os vörösvérsejt-szuszenziót nem pufferelt sóoldatban (lásd a **Korlátok** című részt).
- Tegyen a megfelelő lyukba: 1 térfogat Lorne reagenst és 1 térfogat vörösvérsejt-szuszenziót.
- 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.
- Szuszendálja újra a sejtledeket gondosan ellenőrzött keverést alkalmazva egy mikrolemezrázó készüléken.
- Olvassa le makroszkóposan vagy validált automatikus leolvasóval.
- A gyenge reakciókat kémcsöves módszerrel meg kell ismételni.

#### A VIZSGÁLAT EREDMÉNYEINEK ÉRTELMEZÉSE

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

#### A REAKCIÓK STABILITÁSA

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

#### KORLÁTOK

- A reagens 8,5-ös pH mellett lép optimálisan reakcióba az M antigénnel. Még abban az esetben is be kell tartani a következő pontokat, ha a reagens ehhez a pH-hoz ideális puffert tartalmaz:
  - A pufferelt közegben (pl. Asevers) lévő vörösvérsejt-szuszenziókat használat előtt legalább háromszor át kell mosni nem pufferelt sóoldatban.
  - Pufferelt közegek vörösvérsejt-szuszenziók mosására vagy készítésére történő használata hamis vizsgálati eredményeket eredményezhet, ezért kerülendő.
  - 6-nál alacsonyabb pH-jú nem pufferelt sóoldatot nem szabad vörösvérsejt-szuszenziók mosására vagy készítésére használni.
- Proteolitikus enzimek által módosított sejtek nem használhatók, mivel az MN antigének megsemmisülhetnek.
- Bizonyos vércsoportantigének szupresszált vagy csökkent expressziója viszont hamis negatív reakciókat válthat ki, ezért mindig óvatosan kell eljárni, amikor a fenotípusok 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 specifitását antigén-negatív sejtek paneljével mutatták ki.
- A reagensek minőség-ellenőrzését olyan vörösvérsejtekkel végezték, amelyek fenotípusait egy brit vértranszfúziós központban igazolták, és amelyeket felhasználás előtt nem pufferelt sóoldattal mostak.

#### NYILATKOZAT

- A felhasználó felelős a reagensek teljesítményéért, ha azokat az **Ajánlott módszerek** című részben említettéktől eltérő módszerekkel használják.
- Az **Ajánlott módszerek** című résztől való bármilyen eltérést használat előtt validálni kell<sup>2</sup>.

#### IRODALOMJEGYZÉK

- Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 190.
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 14.
- 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.

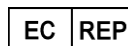
#### RENDELKEZÉSRE ÁLLÓ REAGENS MÉRTEK

	Üveg méret	Katalógusszám	Vizsgálatok üvegenként
Anti-M Monoclonal	2 ml	772002	40
	1000 ml	772000*	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