



## MONOKLONÁLIS VÉRCSOPORT-MEGHATÁROZÓ REAGENSEK HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

**Anti-S és Anti-s Monoclonal:** Indirekt antiglobulin módszerekhez.

### ÖSSZEFOGLALÁS

Az S és az s antigénekről 1947-ben, illetve 1951-ben számoltak be, és ezek az antigének az MNS rendszer részét képezik. Az anti-S és az anti-s egyaránt szerepet játszik a hemolitikus transzfúziós reakciók és az újszülöttkori hemolitikus betegség kialakulásában.

Anti-S	Anti-s	Fenotípus	Kaukázusiak <sup>1</sup>	Afroamerikaiak <sup>1</sup>
+	0	S+s-	11%	6%
+	+	S+s+	44%	25%
0	+	S-s+	45%	68%
0	0	S-s-	0%	1,5%

### FELHASZNÁLÁSI TERÜLET

A reagensnek olyan vércsoport-meghatározó reagensnek, amelyek célja az S vagy az s antigén véradoók vagy vértranszfúziót igénylő betegek vörösvérsejtjein való jelenlétének vagy hiányának kvalitatív meghatározása, a jelen használati útmutatóban ismertetett ajánlott módszerekkel vizsgálva.

### ALAPELV

A reagensnek a humán vörösvérsejten lévő S vagy s antigén elleni antitesteket tartalmaznak, és a megfelelő specifikus antigént hordozó humán vörösvérsejtek közvetett agglutinációját (összecsapódását) okozzák a vizsgálat antiglobulin fázisában. Az agglutináció (összecsapódás) hiánya általában a megfelelő specifikus antigén hiányát jelzi (lásd a **Korlátok** című részt).

### REAGENSEK

Ezek a monoklonális IgG vércsoport-meghatározó reagensnek humán monoklonális antitesteket tartalmaznak, nátrium-kloridot és szarvasmarha albumint tartalmazó foszfátpufferben hígítva. A reagensnek nem tartalmaznak CMR (rákkeltő, mutagén vagy reprodukciót károsító) anyagokat, endokrin rendszert káros anyagokat, illetve olyan anyagokat, amelyek a felhasználónál szenzibilizációt vagy allergiás reakciót okozhatnak. Az egyes reagensket az alábbiakban felsorolt összes ajánlott módszerrel való használathoz optimális hígításban szállítják, további hígítást vagy kiegészítést nem igényelnek. A tétel referenciaszámát és lejárati dátumát lásd az **üveg címkéjén**.

Termék	Sejtvonal/klón
Anti-S	P3S13JS123
Anti-s	P3YAN3

### 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 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.

### ÖVINTÉZKEDÉSEK

- A reagensnek kizárólag *in vitro* diagnosztikai felhasználásra szolgál.
- Ha a reagensüveg megrepedt vagy szivárog, azonnal dobja ki a tartalmát.
- Ne használja a reagensket a lejárati dátumot követően (lásd az **üveg címkéjét**).
- Ne használja a reagensket csapadék jelenléte esetén.
- A reagensnek kezelésekor védőruházatot, például eldobható kesztyűt és laboratóriumi köpenyt kell viselni.
- A biológiai terhelés csökkentése érdekében a reagensket 0,2 µm-es kapszulán átszűrtek, 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.
- A reagensnek 0,1% nátrium-azidot tartalmaznak. A nátrium-azid lenyelve mérgező lehet, illetve az ólom- és rézvezetékekkel reakcióba léphet és robbanásveszélyes fém-azidokat képezhet. Ártalmatlanításakor nagy mennyiségű vízzel öblítse le.

- A reagensnek 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 REAGENSEK ÁRTALMATLANÍTÁSA ÉS A KIÖMLÖTT ANYAGOK KEZELÉSE

A reagensnek 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 sejtek) és egy negatív kontroll vizsgálata. 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 mellékel cseppentő használata esetén.
- A reagensnek használatát és az eredmények értelmezését megfelelően képzett és képezett személyzetnek kell végeznie annak az országnak a követelményeivel összhangban, ahol a reagensket használják.
- A felhasználónak kell meghatároznia a reagensnek 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 polispecifikus vagy AHG Anti-IgG).
- Ortho BioVue centrifuga.
- 37 °C ± 2 °C-ra kiegyenlített Ortho BioVue fűtőblokk.
- Ortho 0.8% Red Cell Diluent hígítóoldat.

#### 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 vörösvérsejtek egy részét PBS-sel vagy izotóniás sóoldattal, ügyelve arra, hogy a mosás után teljesen dekantálja a sóoldatot.
- Adjon 2 térfogat anti-humán globulint vagy anti-IgG-t minden száraz sejtleüledekhöz.
- 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-szenibilizált vörösvérsejtekkel.

#### B. Bio-Rad-ID módszer (LISS/Coombs kártyák)

- Készítsen 0,8%-os vörösvérsejt-szuspenziót ID-Diluent vagy ID-Diluent 2 oldatban.
- Távolítsa el az alumíniumfóliát a LISS/Coombs vagy Coombs Anti-IgG ID-kártyá(ka)n lévő, szükséges számú mikrocsoőről.
- Tegyen 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)

- Készítsen 0,8%-os vörösvérsejt-szuspenziót Ortho 0.8% Red Cell Diluent hígítóoldatban.
- Távolítsa el az alumíniumfóliát az AHG poliszpecifikus vagy az AHG Anti-IgG kazettákon lévő, szükséges számú reakciókamráról.
- Tegyen a megfelelő reakciókamrába: 50 µl vörösvérsejt-szuspenziót 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 megfelelő antigén jelenlétét jelzi a vörösvérsejteken.
- 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

- A mosási lépéseket megszakítás nélkül végezze el, majd centrifugálja és olvassa le a vizsgálatokat azonnal a reagens hozzáadása után. A késeledés az antigén-antitest komplexek diszociációját 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**.
- 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 specifitását 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 említettektől eltérő módszerekkel használják.
- Az **Ajánlott módszerek** című résztől való bármilyen eltérést használat előtt validálni kell<sup>5</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

	Üvegméret	Katalógusszám	Vizsgálatok üvegenként
<b>Anti-S Monoclonal</b>	2 ml	770002	40
	1000 ml	770000*	20 000
<b>Anti-s Monoclonal</b>	2 ml	771002	40
	1000 ml	771000*	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  
Telefón: +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