

MONOKLONÁLIS VÉRCSOPORT-MEGHATÁROZÓ REAGENSEK HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

Anti-K Monoclonal: Kémcsöves, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue, mikrolemezes és tárgylemezes módszerekhez.

ÖSSZEFOGLALÁS

A K antigénről 1946-ban számoltak be. Az antigén születéskor teljesen kifejlődött, és erősen immunogén lehet. Az anti-K szerepet játszik a hemolitikus transfúziós reakciók és az újszülöttkori hemolitikus betegség kialakulásában.

Anti-K	Anti-k	Fenotípus	Kaukázusiak ¹	Afroamerikaiak ¹
+	0	K+k-	0,2%	Ritka
+	+	K+k+	8,8%	2%
0	+	K-k+	91%	98%
0	0	K ₀	Nagyon ritka	

FELHASZNÁLÁSI TERÜLET

A reagens egy olyan vércsoport-meghatározó reagens, amelynek célja a Kell antigén (KEL1) véradók vagy vértranszfúziózt igénylő betegek vörösvérsejtjein való jelenlétének vagy hiányának kvalitatív meghatározása, a jelen használati útmutatóban ismertetett ajánlott módszerekkel vizsgálva.

ALAPELV

A reagens a humán vörösvérsejteken lévő K antigén elleni antitesteket tartalmaz, és a Kell antigént hordozó humán vörösvérsejtek közvetlen agglutinációját (összecsapódását) okozza. Az agglutináció (összecsapódás) hiánya általában a Kell antigén hiányát jelzi (lásd a **Korlátok** című részt).

REAGENS

A Lorne Monoclonal Anti-K vércsoport-meghatározó reagens egy alacsony fehérjéartalmú reagens, amely monoklonális IgM antitestet (MS-56 klón) tartalmaz, nátrium-kloridot, szarvasmarha albumint és makromolekuláris potenciátorokat (4,0 g%) tartalmazó foszfátpufferben 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 ismertetett 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 kézhezvételtől 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 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 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 címkéjét**).
- Ne használja a reagenst csapadék jelenléte esetén.
- A reagens kezelésakor védőruházatot, például eldobható kesztyűt és laboratóriumi köpenyt kell viselni.
- A biológiai terhelés csökkentése érdekében a reagenst 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 reagens < 0,1% nátrium-azidot tartalmaz. 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 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 vizsgálatát. A vizsgálatokat érvénytelennek kell tekinteni, ha a kontrollok nem a várt eredményeket mutatják.
- Betegek vörösvérsejtjeinek tipizálásakor fontos, hogy egy reagens-negatív kontroll (Mono Rh Control Lorne katalógusszám: 640010) is megvizsgáljanak, mivel a reagensben lévő makromolekuláris potenciátorok IgG-vel bevont sejtekkel hamis pozitív reakciókat válthatnak ki.
- A gyenge K antigéneket rosszul detektálhatja a gélkártyás, a mikrotiter lemezes és a tárgylemezes módszer. Javasolt a gyenge K antigének kémcsöves módszerrel történő vizsgálata.
- 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 használatát esetén.
- A reagens használatát és az eredmények értelmezését megfelelően képzett és képesített személyzetnek kell végeznie annak az országnak a követelményeivel összhangban, ahol a reagenset használják.
- A felhasználónak kell meghatároznia a reagens más módszerekkel végzett felhasználásra való alkalmasságát.

SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT REAGENSEK ÉS ANYAGOK

Kémcsöves módszer

- Üveg kémcsövek (10 x 75 mm-es vagy 12 x 75 mm-es).
- 20 másodpercig 1000 g teljesítményre képes centrifuga.
- PBS-oldat (pH 6,8–7,2) vagy izotóniás sóoldat (pH 6,5–7,5).
- Pozitív (ideálisan Kk) és negatív (kk) kontroll vörösvérsejtek.

Bio-Rad-ID Micro tipizáló módszer

- Bio-Rad ID-kártyák (NaCl, enzimtesztek és hideg agglutininek).
- Bio-Rad ID-centrifuga.
- Bio-Rad ID-CellStab vagy ID-Diluent 2 oldat.

Ortho BioVue tipizáló módszer

- Ortho BioVue kazetták (neutrális).
- Ortho BioVue centrifuga.
- Ortho 0.8% Red Cell Diluent hígítóoldat.

Mikrotiter lemezes módszer

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

Tárgylemezes módszer

- Üveg mikroszkóp-tárgylemezek vagy fehér kártyalapok.
- Applikátorpálcák.
- Időzítő vagy stopperóra

Minden módszer

- Volumetrikus pipetták.

AJÁNLOTT MÓDSZEREK

A. Kémcsöves módszer

- Készítsen 2-3%-os vörösvérsejt-szuszpenziót PBS-ben vagy izotóniás sóoldatban.
- Tegyén egy felcímkézett kémcsöbe: 1 térfogat Lorne reagenst és 1 térfogat vörösvérsejt-szuszpenziót.
- 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.
- A negatív vagy megkérdőjelezhető eredményt mutató csöveket inkubálja 15 percig szobahőmérsékleten.
- Az inkubálást követően ismételje meg a 3. és a 4. lépést.

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

- Készítsen 0,8%-os vörösvérsejt-szuszpenziót ID-CellStab vagy ID-Diluent 2 oldatban.

- Távolítsa el az alumíniumfóliát a NaCl, enzimatizáltak és hideg agglutininek ID-kártyá(ko)n lévő, szükséges számú mikroszóról.
- Tegyen a megfelelő mikroszöbe: 50 µl vörösvérsejt-szuszpenciót és 25 µl Lorne reagenst.
- Centrifugálja az ID-kártyá(ko)t Bio-Rad ID-centrifugában.
- Olvassa le makroszkóposan az agglutinációt.

C. Ortho BioVue módszer (neutrális kazetták)

- Készítsen 0,8%-os vörösvérsejt-szuszpenciót Ortho 0.8% Red Cell Diluent hígítóoldatban.
- Távolítsa el az alumíniumfóliát a neutrális kazettá(ko)n lévő, szükséges számú reakciókamráról.
- Tegyen a megfelelő reakciókamrába: 50 µl vörösvérsejt-szuszpenciót és 40 µl Lorne reagenst.
- Centrifugálja a kazettá(ko)t Ortho BioVue centrifugában.
- Olvassa le makroszkóposan az agglutinációt.

D. Mikrolemezes módszer („U” lyukakkal)

- Készítsen 2-3%-os vörösvérsejt-szuszpenciót PBS-ben vagy izotóniás sóoldatban.
- Tegyen a megfelelő lyukba: 1 térfogat Lorne reagenst és 1 térfogat vörösvérsejt-szuszpenciót.
- 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.
- Szuszpendálja 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.

E. Tárgylemezes módszer

- Készítsen 35-45%-os vörösvérsejt-szuszpenciót szérumban, plazmában, PBS-ben vagy izotóniás sóoldatban. Ha ez nem lehetséges, teljes antikoagulált vér is használható mintaként.
- Tegyen egy felcímkézett üveg tárgylemezre vagy kártyalapra: 1 térfogat Lorne reagenst és 1 térfogat vörösvérsejt-szuszpenciót.
- Tiszta applikátorpálcával keverje össze a reagenst és a sejteket egy körülbelül 20 x 40 mm-es területen.
- Lassan döntse előre és hátra a tárgylemezt 1 percig, miközben a tárgylemezt szobahőmérsékleten tartja.
- 1 perc elteltével makroszkóposan olvassa le az eredmény szórt fényben, és a fibrinszálatokat ne tévessze össze az agglutinációval.
- A gyenge reakciókat kémcsöves módszerrel meg kell ismételni.

A VIZSGÁLAT EREDMÉNYEINEK ÉRTELMEZÉSE

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

- Az összes kémcsöves és mikrolemezes vizsgálatot közvetlenül a centrifugálás után olvassa le.
- A tárgylemezes vizsgálatokat egy percen belül kell értelmezni a specificitás biztosítása és annak elkerülése érdekében, hogy a negatív eredményt a reagens száradása miatt tévesen pozitívnak értelmezzék.
- Az ajánlottól eltérő hőmérsékleten végzett vizsgálatok eredményeinek értelmezésekor óvatosan kell eljárni.

KORLÁTOK

- A tárolt vér gyengébb reakciókat mutathat, mint a friss vér.
- 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) és a „Common Technical Specifications” (Általános módszertani előírások) jelenlegi verziójában/kiadásában meghatározott vizsgálati követelményeknek.
- A forrás monoklonális antitestek specificitását 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 azt az **Ajánlott módszerek** című részben említettekől eltérő módszerekkel használják.
- Az **Ajánlott módszerek** című résztől való bármilyen eltérést használat előtt validálni kell⁵.

IRODALOMJEGYZÉK

- Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 186.
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 12.
- AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th 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.

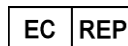
RENDELKEZÉSRE ÁLLÓ REAGENS MÉRTEK

Üveg méret	Katalógusszám	Vizsgálatok üvegenként
10 ml	760010	200
1000 ml	760000*	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