



MONOKLONÁLIS VÉRCSOPORT-MEGHATÁROZÓ REAGENSEK HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

Anti-k (Cellano) Monoclonal: Indirekt antiglobulin módszerekhez.

ÖSSZEFOGLALÁS

A k (Cellano) antigénről 1949-ban számoltak be. Az anti-k szerepet játszik a hemolitikus transzfúziós reakciók és az újszülöttkori hemolitikus betegség kialakulásában.

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

FELHASZNÁLÁSI TERÜLET

A reagens egy olyan vércsoport-meghatározó reagens, amelynek célja a k (Cellano) 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 k (Cellano) antigén elleni antitesteket tartalmaz, és a megfelelő specifikus antigént hordozó humán vörösvérsejtek közvetett agglutinációját (összecsapódását) okozza a vizsgálat antiglobulin fázisában. Az agglutináció (összecsapódás) hiánya általában a k (Cellano) 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 foszfátpufferben hígítva. A reagens nem tartalmaznak 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-k (Cellano)	P3A118OL67

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 mintavételét 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 reagenset a lejárati dátumot követően (lásd az **üveg címkéjén**).
- Ne használja a reagenset csapadék jelenléte esetén.
- A reagens kezeléskor védőruházatot, például eldobható kesztyűt és laboratóriumi köpenyt kell viselni.
- A biológiai terhelés csökkentése érdekében a reagenset 0,2 µm-es kapszulán átszűrtek, de nem sterilén 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 rézvezetékkel 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**.

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 kontrollok 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 reagenset használják.
- A felhasználónak kell meghatároznia a reagens 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 poliszpecifikus vagy AHG Anti-IgG).
- Ortho BioVue centrifuga.
- 37 °C ± 2 °C-ra kiegyenlített Ortho BioVue fűtőblokk.
- Ortho 0,8%-os vörösvérsejt-hígítóoldat.

Minden módszer

- Volumetrikus pipetták.

AJÁNLOTT MÓDSZEREK

A. Indirekt antiglobulin módszer (IAT)

- Készítsen 2-3%-os vörösvérsejt-szuszpenziót PBS-ben vagy izotóniás sóoldatban.
- Tegyen egy felcímkézett kémcsöbe: 1 térfogat Lorne reagenst és 1 térfogat vörösvérsejt-szuszpenziót.
- Alaposan keverje össze, és inkubálja 37 °C-on 15 percig.
- Mossa át a vörösvérsejteket egyszer 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-szenzibilizált vörösvérsejtekkel.

B. Bio-Rad-ID Micro tipizáló módszer

1. Készítsen 0,8%-os vörösvérsejt-szuszenziót ID-CellStab vagy ID-Diluent 2 oldatban.
2. Távolítsa el az alumíniumfóliát a LISS/Coombs vagy Coombs Anti-IgG ID-kártyákon lévő, szükséges számú mikrosódról.
3. Tegyen a megfelelő mikrosódbé: 50 µl vörösvérsejt-szuszenziót és 25 µl Lorne reagenst.
4. Inkubálja az ID-kártyá(ka)t 15 percig 37 °C-on.
5. Centrifugálja az ID-kártyá(ka)t Bio-Rad ID-kártya centrifugában.
6. Olvassa le makroszkóposan az agglutinációt.

C. Ortho BioVue tipizáló módszer

1. Készítsen 0,8%-os vörösvérsejt-szuszenziót 0,8%-os Ortho vörösvérsejt-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-szuszenziót 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 kell⁵.

IRODALOMJEGYZÉK

1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 186.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 13.
3. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
4. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th 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

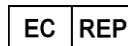
	Üvegméret	Katalógusszám	Vizsgálatok üvegenként
Anti-k (cellano)	2 ml	325002	40
Monoclonal	1000 ml	325000*	20 000

*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, 2nd Flr.,
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Málta