



**MONOCLONAL REAGENZIEN ZUR BLUTGRUPPENBESTIMMUNG  
GEBRAUCHSANWEISUNG**

**Anti-K Monoclonal:** Für die Röhren-, Bio-Rad-ID-, Ortho BioVue-, Mikrotiterplatten- und die Objektträger-Methoden.

**ZUSAMMENFASSUNG**

Über das K-Antigen wurde 1946 berichtet. Das Antigen ist bei der Geburt voll entwickelt und kann stark immunogen wirken. Anti-K wurde mit hämolytischen Transfusionsreaktionen und der hämolytischen Krankheit beim Neugeborenen in Verbindung gebracht.

Anti-K	Anti-k	Phänotyp	Weißer <sup>1</sup>	Afroamerikaner <sup>1</sup>
+	0	K+k-	0,2 %	Selten
+	+	K+k+	8,8 %	2 %
0	+	K-k+	91 %	98 %
0	0	K <sub>0</sub>	Sehr selten	

**VERWENDUNGSZWECK**

Das Reagens ist ein Reagens zur Blutgruppenbestimmung, das zur qualitativen Bestimmung des Vorhandenseins oder Nichtvorhandenseins des Kell-Antigens (KEL1) auf den roten Blutkörperchen von Blutspendern oder auf eine Bluttransfusion angewiesenen Patienten herangezogen werden soll, wenn sie in Übereinstimmung mit den in dieser Gebrauchsanweisung angegebenen empfohlenen Methoden untersucht werden.

**GRUNDSATZ**

Das Reagens enthält Antikörper zum K-Antigen auf den menschlichen roten Blutkörperchen und bewirkt eine direkte Agglutination (Verklumpung) der menschlichen roten Blutkörperchen, die das Kell-Antigen tragen. Erfolgt keine Agglutination (keine Verklumpung), zeigt dies im Allgemeinen das Nichtvorhandensein des Kell-Antigens an (siehe **Einschränkungen**).

**REAGENS**

Das Reagens zur Blutgruppenbestimmung Lorne Monoclonal Anti-K ist ein Reagens mit niedrigem Proteingehalt, das den monoklonalen IgM-Antikörper Klon MS-56 enthält, aufgelöst in einem Phosphatpuffer mit Natriumchlorid, Rinderalbumin und makromolekularen Verstärkern (4,0 g%). Das Reagens enthält weder CMR-Stoffe oder Stoffe mit endokriner Wirkung oder Stoffe, die beim Benutzer zu einer Sensibilisierung oder einer allergischen Reaktion führen könnten, noch besteht es aus solchen Stoffen. Das Reagens wird mit der optimalen Verdünnung zur Verwendung mit allen unten angegebenen empfohlenen Methoden geliefert, ohne dass es weiter verdünnt werden muss oder ihm etwas hinzugefügt werden muss. Die Los-Referenznummer und das Ablaufdatum befinden sich auf dem **Etikett der Epruvette**.

**LAGERUNG**

Epruvetten mit Reagenzien sollten bei Erhalt bei 2 - 8 °C gelagert werden. Eine längere Lagerung bei Temperaturen außerhalb dieses Bereichs kann zu einem beschleunigten Verlust der Reaktionsfähigkeit des Reagens führen. Dieses Reagens wurde Transportstabilitätsstudien bei 37 °C und -25 °C unterzogen, wie sie im Dokument BS EN ISO 23640:2015 beschrieben werden.

**PROBENNAHME UND VORBEREITUNG**

Blutproben können mit den Antikoagulanzen EDTA, Citrat, CPDA oder als geronnene Blutprobe genommen werden. Die Proben sollten nach der Entnahme so schnell wie möglich untersucht werden. Kommt es bei der Untersuchung zu einer Verzögerung, sind die Proben bei 2-8 °C aufzubewahren. Proben mit einer ausgeprägten Hämolyse oder einer mikrobiellen Kontamination sollten nicht für Untersuchungen eingesetzt werden. Blutproben, die auf eine Lyse hinweisen, können unzuverlässige Ergebnisse liefern. Alle Blutproben sollten vorzugsweise (dies ist jedoch nicht verpflichtend) vor der Untersuchung mit PBS oder isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden.

**VORSICHTSMASSNAHMEN**

- Das Reagens ist nur zur Verwendung bei der *In-vitro*-Diagnostik vorgesehen.
- Weist eine Epruvette mit einem Reagens Risse auf oder leckt sie, sind die Inhalte unverzüglich zu entsorgen.
- Das Reagens nicht nach dem Ablaufdatum verwenden (siehe **Etikett der Epruvette**).
- Das Reagens nicht verwenden, wenn ein Niederschlag vorhanden ist.
- Bei der Handhabung der Reagenzien ist Schutzkleidung wie Einmalhandschuhe und ein Laborkittel zu tragen.
- Das Reagens wurde zur Reduzierung der Keimbelastung durch eine 0,2 µm-Kapsel gefiltert, wird jedoch nicht steril geliefert. Nach erfolgter Öffnung einer Epruvette sollten die Inhalte bis zum Ablaufdatum brauchbar sein, solange keine ausgeprägte Trübung vorliegt, die auf eine Verschlechterung oder Kontamination des Reagens hinweisen kann.
- Das Reagens enthält < 0,1 % Natriumazid. Natriumazid kann bei Verschlucken giftig sein und kann mit Abflussrohren aus Blei und Kupfer reagieren und explosive Metallazide bilden. Beim Entsorgen mit großen Mengen Wasser wegspülen.

- Zur Herstellung des Reagens verwendete Materialien wurden an der Quelle getestet und es wurde festgestellt, dass sie unter Verwendung von zugelassenen mikrobiologischen Tests in Bezug auf HIV 1+2- und HCV-Antikörper und HBsAg negativ waren.
- Von den bekannten Tests kann keiner garantieren, dass die aus menschlichen oder tierischen Quellen abgeleiteten Produkte frei von Infektionserregern sind. Bei der Verwendung und Entsorgung einer jeden Epruvette und ihrer Inhalte ist mit Vorsicht vorzugehen.

**ENTSORGUNG DES REAGENS UND UMGANG MIT VERSCHÜTTUNGEN**

Für Informationen zur Entsorgung des Reagens und der Dekontaminierung bei Verschüttungen siehe die **Sicherheitsdatenblätter**, die auf Anfrage verfügbar sind.

**KONTROLLEN UND RAT**

- Es wird empfohlen, dass mit jeder Testserie parallel eine positive Kontrolle (idealerweise heterozygot) und eine negative Kontrolle getestet werden. Zeigen die Kontrollen nicht die erwarteten Ergebnisse, sind die Tests als ungültig zu betrachten.
- Bei der Typisierung roter Blutkörperchen von einem Patienten ist es wichtig, dass eine negative Reagenzkontrolle (Mono Rh Control, Lorne-Katalognummer 640010) enthalten ist, da die makromolekularen Verstärker im Reagens falsch positive Reaktionen mit IgG-beschichteten Zellen bewirken können.
- Mit der Gelkarten-, Mikrotiterplatten- und Objektträgermethode werden schwache K-Antigene möglicherweise nur schlecht erkannt. Es wird empfohlen, dass schwache K-Antigene mit der Röhrentest-Methode getestet werden.
- Das Reagens vor der Verwendung auf Raumtemperatur aufwärmen lassen. Nach Verwendung des Reagens das Reagens wieder bei 2-8 °C lagern.
- Bei den **empfohlenen Methoden** umfasst ein Volumen ungefähr 50 µl, wenn der mitgelieferte Tropfer der Epruvette verwendet wird.
- Die Verwendung der Reagenzien und die Interpretation der Ergebnisse muss von ordnungsgemäß geschultem und qualifiziertem Personal in Übereinstimmung mit den Anforderungen des Landes, in dem die Reagenzien verwendet werden, durchgeführt werden.
- Der Benutzer muss bestimmen, ob sich das Reagens zur Verwendung bei anderen Methoden eignet.

**ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE REAGENZIEN UND MATERIALIEN**

**Röhrenmethode**

- Glas-Teströhrchen (10 x 75 mm oder 12 x 75 mm).
- Zentrifuge, die sich bei 1000 g 20 Sekunden lang drehen kann.
- PBS-Lösung (pH 6,8-7,2) oder isotonische Kochsalzlösung (pH 6,5-7,5).
- Rote Blutkörperchen zur positiven (idealerweise Kk) und negativen (kk) Kontrolle.

**Bio-Rad-ID-Micro-Typisierungsmethode**

- Bio-Rad-ID-Karten (NaCl, Enzymtests und Kälteagglutinine).
- Bio-Rad-ID-Zentrifuge.
- Bio-Rad ID-CellStab oder ID-Diluent 2.

**Ortho BioVue-Typisierungsmethode**

- Ortho BioVue-Systemkassetten (Neutral).
- Ortho BioVue-System-Zentrifuge.
- Ortho 0.8% Red Cell Diluent.

**Mikrotiterplattenmethode**

- Validierte Mikrotiterplatten mit „U“-förmiger Vertiefung.
- Mikrotiterplatten-Zentrifuge.
- Mikrotiterplatten-Schüttler.

**Objektträgermethode**

- Gläserne Objektträger oder weiße Kärtchen.
- Applikatorstäbchen.
- Timer oder Stoppuhr

**Alle Methoden**

- Vollpipetten.

**EMPFOHLENE METHODEN**

**A. Röhrenmethode**

1. Eine 2-3 %-ige Suspension roter Blutkörperchen in PBS oder isotonischer Kochsalzlösung erstellen.
2. In ein gekennzeichnetes Teströhrchen geben: 1 Volumen Reagens von Lorne und 1 Volumen rote Blutkörperchen-Suspension.
3. Gründlich mischen und alle Röhrchen 20 Sekunden lang bei 1000 rcf oder für einen geeigneten alternativen Zeitraum und mit geeigneter Kraft zentrifugieren.
4. Den Zellknopf aus roten Blutkörperchen sanft resuspendieren und makroskopisch auf die Agglutination hin ablesen
5. Alle Röhrchen, die ein negatives oder fragwürdiges Ergebnis aufweisen, sollten 15 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubiert werden.
6. Nach der Inkubation die Schritte 3 und 4 wiederholen.

#### B. Bio-Rad-ID-Methode (Karten für NaCl, Enzymtests und Kälteagglutinine)

1. Eine 0,8%-ige Suspension roter Blutkörperchen in ID-CellStab oder ID-Diluent 2 erstellen.
2. Die Aluminiumfolie von so vielen Mikroröhrchen auf der (den) ID-Karte(n) für NaCl, Enzymtests und Kälteagglutinine wie notwendig entfernen.
3. In ein geeignetes Mikroröhrchen geben: 50 µl rote Blutkörperchen-Suspension und 25 µl Reagens von Lorne.
4. Die ID-Karte(n) in einer Bio-Rad-ID-Zentrifuge zentrifugieren.
5. Makroskopisch auf die Agglutination hin ablesen.

#### C. Ortho BioVue-Methode (Neutral-Kassetten)

1. Eine 0,8%-Suspension roter Blutkörperchen in 0,8 % Ortho Red Cell Diluent erstellen.
2. Aluminiumfolie von so vielen Reaktionskammern auf der (den) Neutral-Kassette(n) wie notwendig entfernen.
3. In eine geeignete Reaktionskammer geben: 50 µl rote Blutkörperchen-Suspension und 40 µl Reagens von Lorne.
4. Die Kassette(n) in einer Ortho BioVue-System-Zentrifuge zentrifugieren.
5. Makroskopisch auf die Agglutination hin ablesen.

#### D. Mikroplatten-Methode mit „U“-förmigen Vertiefungen

1. Eine 2-3 %-ige Suspension roter Blutkörperchen in PBS oder isotonischer Kochsalzlösung erstellen.
2. In die geeignete Vertiefung geben: 1 Volumen Reagens von Lorne und 1 Volumen rote Blutkörperchen-Suspension.
3. Gründlich mischen, vorzugsweise mit einem Mikroplatten-Schüttler, und darauf achten, vertiefungsübergreifende Kontaminationen zu vermeiden.
4. Bei Raumtemperatur 15 Minuten lang inkubieren (Zeit ist vom Benutzer abhängig).
5. Die Mikroplatte 1 Minute lang bei 140 rcf oder für einen geeigneten alternativen Zeitraum und mit geeigneter Kraft zentrifugieren.
6. Die Zellknöpfe anhand von sorgfältig kontrollierter Bewegung auf einem Mikroplatten-Schüttler resuspendieren
7. Makroskopisch oder mit einem validierten automatischen Lesegerät ablesen.
8. Alle schwachen Reaktionen sollten mit der Röhrchenmethode wiederholt werden.

#### E. Objektträgermethode

1. Eine 35-45 %-ige Suspension roter Blutkörperchen in Serum, Plasma oder PBS oder isotonischer Kochsalzlösung erstellen. Wenn dies nicht möglich ist, kann auch antikoagulieretes Vollblut als Probe verwendet werden.
2. Auf einen gekennzeichneten gläsernen Objektträger oder ein Kärtchen geben: 1 Volumen Reagens von Lorne und 1 Volumen rote Blutkörperchen-Suspension.
3. Mit einem sauberen Applikatorstäbchen das Reagens und die Zellen über einen Bereich von etwa 20 x 40 mm hinweg mischen.
4. Den Objektträger 1 Minute lang langsam nach vorne und hinten kippen und den Objektträger bei Raumtemperatur belassen.
5. Nach 1 Minute makroskopisch bei diffusen Licht ablesen und Fibrinstränge nicht fälschlicherweise für Agglutination halten.
6. Alle schwachen Reaktionen sollten mit der Röhrchenmethode wiederholt werden.

#### INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

1. **Positiv:** Eine Agglutination der roten Blutkörperchen stellt ein positives Testergebnis dar und zeigt innerhalb zulässiger Einschränkungen des Testverfahrens das Vorhandensein des K-Antigens auf den roten Blutkörperchen an.
2. **Negativ:** Eine nicht vorhandene Agglutination der roten Blutkörperchen stellt ein negatives Testergebnis dar und zeigt innerhalb der zulässigen Einschränkungen des Testverfahrens das Nichtvorhandensein des K-Antigens auf den roten Blutkörperchen an.
3. **Kontrolle:** Testergebnisse von Zellen, die anhand der negativen Reagenzkontrolle agglutiniert werden, werden ausgeschlossen, da die Agglutination höchstwahrscheinlich aufgrund der Wirkung der makromolekularen Verstärker im Reagens auf den sensibilisierten Zellen hervorgerufen wurde.

#### STABILITÄT DER REAKTIONEN

1. Alle Röhrchen- und Mikroplatten-Tests unmittelbar nach der Zentrifugierung ablesen.
2. Objektträgertests sollten innerhalb von einer Minute ausgelegt werden, um die Spezifität zu gewährleisten und zu verhindern, dass ein negatives Ergebnis möglicherweise aufgrund des Trocknens des Reagens fälschlicherweise als positiv ausgelegt wird.

3. Bei der Interpretation von Ergebnissen von Untersuchungen, die bei anderen Temperaturen als den empfohlenen durchgeführt wurden, ist Vorsicht angebracht.

#### EINSCHRÄNKUNGEN

1. Gelagertes Blut kann schwächere Reaktionen erzeugen als frisches Blut
2. Falsch positive oder falsch negative Ergebnisse können auch auftreten aufgrund von:
  - Kontamination von Testmaterialien
  - Ungeeigneter Lagerung, Zellkonzentration, Inkubationszeit oder Temperatur
  - Unsachgemäßer oder übermäßiger Zentrifugierung
  - Abweichung von den empfohlenen Methoden

#### BESTIMMTE LEISTUNGSMERKMALE

1. Vor der Freigabe wurden alle Lose dieses Reagens anhand der in dieser Gebrauchsanweisung aufgeführten empfohlenen Testverfahren getestet. Die Tests erfüllten die Testanforderungen, wie sie in der aktuellen Version/Ausgabe der „Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom“ und der gemeinsamen technischen Spezifikationen angegeben werden.
2. Die Spezifität von monoklonalen Antikörpern der Quelle wird mit einem Panel von Antigen-negativen Zellen nachgewiesen.
3. Die Qualitätskontrolle des Reagens erfolgte anhand von roten Blutkörperchen mit Phänotypen, die von einem Bluttransfusionszentrum im Vereinigten Königreich verifiziert wurden und vor der Verwendung mit PBS oder isotonischer Kochsalzlösung gewaschen worden waren.

#### HAFTUNGSAUSSCHLUSS

1. Für das Leistungsverhalten des Reagens nach einem anderen Verfahren als den in den **empfohlenen Methoden** erwähnten ist der Benutzer verantwortlich.
2. Alle Abweichungen von den **empfohlenen Methoden** sollten vor der Verwendung validiert werden<sup>5</sup>.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Seite 186.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3. Ausgabe. Montgomery Scientific, Miami 1985; Kapitel 12.
3. AABB Technical Manual, 16. Ausgabe, AABB 2008.
4. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6. Ausgabe 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.

#### VERFÜGBARE GRÖSSEN DER REAGENZIEN

Größe der Eprovette	Katalognummer	Tests je Eprovette
10 ml	760010	200
1000 ml	760000*	20.000

\*Diese Größe ist nur zur weiteren Verwendung in der Herstellung (FFMU) vorgesehen und trägt daher keine CE-Kennzeichnung.



**Lorne Laboratories Limited**  
 Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate  
 Danehill  
 Lower Earley  
 Berkshire, RG6 4UT  
 Vereinigtes Königreich  
 Tel: +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, Malta