



HUMAN REAGENZIEN ZUR BLUTGRUPPENBESTIMMUNG GEBRAUCHSANWEISUNG

Anti-Kp^a und Anti-Kp^b Polyclonal: FÜR INDIREKTE COOMBS-TESTS.

ZUSAMMENFASSUNG

Über die Kp^a- und Kp^b- Antigene wurde 1957 beziehungsweise 1958 berichtet. Die Antigene des Kell-Systems sind bei der Geburt voll entwickelt. Anti-Kp^a und Anti-Kp^b wurden mit hämolytischen Transfusionsreaktionen und der hämolytischen Krankheit beim Neugeborenen in Verbindung gebracht.

Anti-Kp ^a	Anti-Kp ^b	Phänotyp	Weiß ¹	Afroamerikaner ¹
+	0	Kp(a+b-)	Selten	0 %
+	+	Kp(a+b+)	2,3 %	Selten
0	+	Kp(a-b+)	97,7 %	100 %
0	0	K ₀	Sehr selten	Sehr selten

VERWENDUNGSZWECK

Die Reagenzien sind Reagenzien zur Blutgruppenbestimmung, die zur qualitativen Bestimmung des Vorhandenseins oder Nichtvorhandenseins des Kp^a-Antigens (KEL3) oder des Kp^b-Antigens (KEL4) auf den roten Blutkörperchen von Blutspendern oder auf eine Bluttransfusion angewiesenen Patienten herangezogen werden sollen, wenn sie in Übereinstimmung mit den in dieser Gebrauchsanweisung angegebenen empfohlenen Methoden untersucht werden.

GRUNDSATZ

Die Reagenzien enthalten Antikörper zu dem Kp^a- oder Kp^b-Antigen auf den menschlichen roten Blutkörperchen und bewirken in der Antiglobulin-Phase der Untersuchung eine indirekte Agglutination (Verklumpung) der menschlichen roten Blutkörperchen, die das entsprechende Kell-Antigen tragen. Erfolgt keine Agglutination (keine Verklumpung), zeigt dies im Allgemeinen das Nichtvorhandensein des entsprechenden Kell-Antigens an (siehe **Einschränkungen**).

REAGENZIEN

Die Reagenzien zur Blutgruppenbestimmung Lorne Human Anti-Kell werden aus menschlichem Serum hergestellt, das in einer Natriumchloridlösung verdünnt wird, die makromolekulare Verstärker (1,9 g%) und Rinderalbumin (4,4 g%) enthält. Die Reagenzien enthalten weder CMR-Stoffe oder Stoffe mit endokriner Wirkung oder Stoffe, die beim Benutzer zu einer Sensibilisierung oder einer allergischen Reaktion führen könnten, noch bestehen sie aus solchen Stoffen. Jedes 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 Epprouvette**.

LAGERUNG

Epprouvetten 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 Antikoagulantien 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

- Die Reagenzien sind nur zur Verwendung bei der *In-vitro*-Diagnostik vorgesehen.
- Weist eine Epprouvette mit einem Reagens Risse auf oder leckt sie, sind die Inhalte unverzüglich zu entsorgen.
- Die Reagenzien nicht nach dem Ablaufdatum verwenden (siehe **Etikett der Epprouvette**).
- Die Reagenzien nicht verwenden, wenn ein Niederschlag vorhanden ist.
- Bei der Handhabung der Reagenzien ist Schutzkleidung wie Einmalhandschuhe und ein Laborkittel zu tragen.
- Die Reagenzien wurden zur Reduzierung der Keimbelastung durch eine 0,2 µm-Kapsel gefiltert, werden jedoch nicht steril geliefert. Nach erfolgter

Öffnung einer Epprouvette sollten die Inhalte bis zum Ablaufdatum brauchbar sein.

- Das Plasma, aus dem dieses Reagens hergestellt wird, wird nicht länger delipidiert, sodass eine Trübung des Reagens normal ist.
- Die Reagenzien enthalten < 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 der Reagenzien 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 Epprouvette und ihrer Inhalte ist mit Vorsicht vorzugehen.

ENTSORGUNG DES REAGENS UND UMGANG MIT VERSCHÜTTUNGEN

Für Informationen zur Entsorgung der Reagenzien 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 heterozygote Zellen) und eine negative Kontrolle getestet werden. Zeigen die Kontrollen nicht die erwarteten Ergebnisse, sind die Tests als ungültig zu betrachten.
- Die Antiglobulintechniken können nur dann als gültig betrachtet werden, wenn alle negativen Tests positiv mit den IgG-sensibilisierten roten Blutkörperchen reagieren.
- Die Reagenzien enthalten makromolekulare Verstärker, die mit IgG-sensibilisierten Zellen falsch positive Ergebnisse bewirken können; es wird empfohlen, dass die Zellen des Patienten mit dem Plasma des Patienten untersucht werden, um auf falsch positive Reaktionen hin zu testen.
- Das Reagens vor der Verwendung auf Raumtemperatur aufwärmen lassen. Nach Verwendung des Reagens das Reagens wieder bei 2-8 °C lagern.
- Bei der **Röhrchenmethode** beträgt ein Volumen ungefähr 50 µl, wenn der mitgelieferte Tropfer der Epprouvette 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.

ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE REAGENZIEN UND MATERIALIEN

Röhrchenmethode

- Antihumanglobulin, d. h. Lorne AHG Elite (Katalognr. 435010 oder 415010) oder Anti-Human-IgG, d. h. Lorne Anti-Human IgG (Katalognr. 402010 oder 401010).
- Coombs-Zellwaschzentrifuge.
- Glas-Teströhrchen (10 x 75 mm oder 12 x 75 mm).
- PBS-Lösung (pH 6,8-7,2) oder isotonische Kochsalzlösung (pH 6,5-7,5).
- IgG-sensibilisierte rote Blutkörperchen, d. h. Lorne Coombs Control Cells (Katalognr. 970010).
- Rote Blutkörperchen zur positiven (idealerweise heterozygot) und negativen Kontrolle.
- Wasserbad oder Trockeninkubator, äquilibriert auf 37 °C ± 2 °C.

Bio-Rad-ID-Micro-Typisierungsmethode

- Bio-Rad-ID-Karten (LISS/Coombs oder Coombs-Anti-IgG).
- Bio-Rad-ID-Zentrifuge.
- Bio-Rad ID-CellStab oder ID-Diluent 2.
- Bio-Rad-ID-Inkubator, äquilibriert auf 37 °C ± 2 °C.

Ortho BioVue-Typisierungsmethode

- Ortho BioVue-Systemkassetten (AHG polyspezifisch oder AHG Anti-IgG).
- Ortho BioVue-System-Zentrifuge.
- Ortho BioVue-System-Heizblock, äquilibriert auf 37 °C ± 2 °C.
- Ortho 0.8% Red Cell Diluent.

Alle Methoden

- Vollpipetten.

EMPFOHLENE METHODEN

A. Indirekter Coombs-Test (IAT)

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 15 Minuten lang bei 37 °C inkubieren.
4. Die roten Blutkörperchen viermal mit PBS oder isotonischer Kochsalzlösung waschen und darauf achten, die Kochsalzlösung zwischen den Waschvorgängen zu dekantieren und jeden Zellknopf nach jedem Waschvorgang zu resuspendieren. Die Kochsalzlösung nach dem letzten Waschvorgang vollständig dekantieren.
5. Jedem trockenen Zellknopf 2 Volumina Antihumanglobulin oder Anti-IgG hinzufügen.
6. Gründlich mischen und alle Röhrchen 20 Sekunden lang bei 1000 rcf oder für einen geeigneten alternativen Zeitraum und mit geeigneter Kraft zentrifugieren.
7. Den Zellknopf aus roten Blutkörperchen sanft resuspendieren und makroskopisch auf die Agglutination hin ablesen
8. Anhand von IgG-sensibilisierten roten Blutkörperchen die Gültigkeit aller negativen Reaktionen bestätigen.

B. Bio-Rad-ID-Micro-Typisierungsmethode

1. Eine 0,8%-ige Suspension roter Blutkörperchen in ID-CellStab oder ID-Diluent 2 erstellen.
2. Aluminiumfolie von so vielen Mikroröhrchen auf den LISS/Coombs- oder den Coombs-Anti-IgG-ID-Karten 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) 15 Minuten lang bei 37 °C inkubieren.
5. Die ID-Karte(n) in einer Bio-Rad-ID-Zentrifuge zentrifugieren.
6. Makroskopisch auf die Agglutination hin ablesen.

C. Ortho BioVue-Typisierungsmethode

1. Eine 0,8%-Suspension roter Blutkörperchen in 0,8 % Ortho Red Cell Diluent erstellen.
2. Aluminiumfolie von so vielen Reaktionskammern auf den AHG-polyspezifischen oder den AHG Anti-IgG-Kassetten wie notwendig entfernen.
3. In eine geeignete Reaktionskammer geben: 50 µl rote Blutkörperchen-Suspension und 40 µl Reagens von Lorne.
4. Die Kassette(n) 15 Minuten lang bei 37 °C inkubieren.
5. Die Kassette(n) 5 Minuten lang in einer Ortho BioVue-System-Zentrifuge zentrifugieren.
6. Makroskopisch auf die Agglutination hin ablesen.

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 geeigneten Kell-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 geeigneten Kell-Antigens auf den roten Blutkörperchen an.

STABILITÄT DER REAKTIONEN

1. Die Schritte des Waschvorgangs sollten ohne Unterbrechung erfolgen und die Tests unmittelbar nach Hinzufügen des Reagens zentrifugiert und abgelesen werden. Verzögerungen können zur Dissoziation der Antigen-Antikörper-Komplexe führen und falsch negative oder schwach positive Ergebnisse verursachen.
2. Bei der Interpretation von Ergebnissen von Untersuchungen, die bei anderen Temperaturen als den **empfohlenen** durchgeführt wurden, ist Vorsicht angebracht.

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Rote Blutkörperchen, die wegen einer Beschichtung des IgG einen positiven DAT aufweisen, können nicht anhand des **indirekten Coombs-Tests** typisiert werden.
2. Antikörper, die sich gegen Antigene mit geringer Häufigkeit richten, können als nicht erwartete Kontaminanten in Antiseren zur Blutgruppenbestimmung auftreten. Weiters können bestimmte Antigene (z. B. Bg, Sd^h) in erhöhtem Zustand auf den roten Blutkörperchen vorhanden sein. Diese Phänomene können zu seltenen falsch positiven Reaktionen führen, die bei mehr als einem Los einer gegebenen Spezifität auftreten können.
3. Es ist nicht möglich, zu erklären, dass keinerlei kontaminierende Antikörper mehr vorhanden sind, da rote Blutkörperchen Antigene mit geringer Häufigkeit tragen oder erhöhte Antigene nicht immer zum Testen zur Verfügung stehen.
4. Die unterdrückte oder verminderte Expression bestimmter Blutgruppen-Antigene kann umgekehrt zu falsch negativen Reaktionen führen. Darum sollte stets Vorsicht geübt werden, wenn aufgrund von Testergebnissen Genotypen zugewiesen werden.
5. 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 mit diesen Reagenzien 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“ angegeben werden.
2. Das Vorhandensein von kontaminierenden Antikörpern zu Antigenen mit einer Inzidenz von 1 % oder mehr in der Zufallspopulation wurde entweder in Tests, die die geeigneten Antigen-negativen roten Blutkörperchen einsetzen, oder in Tests, die die zuvor absorbierten Reagenzien einsetzen, um die störenden Spezifitäten zu entfernen, ausgeschlossen.
3. Antikörper zu Xg^a-, Do^a-, Yt^a-, Co^b-, Wr^a-, Bg^a- und V^w werden möglicherweise bei Routine-Spezifitätstests nicht ausgeschlossen und die Erkennung hängt von der Verfügbarkeit der geeigneten Testzelle ab. Dies gilt auch für Yt^b, M^h und V^w und andere Antigene von geringer Häufigkeit, die möglicherweise bei Routine-Spezifitätstests nicht ausgeschlossen werden und deren Erkennung von der Verfügbarkeit der geeigneten Testzelle abhängt.
4. Die Qualitätskontrolle der Reagenzien 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 der Reagenzien 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 werden⁵.

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 6.
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.

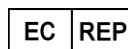
VERFÜGBARE GRÖSSEN DER REAGENZIEN

	Größe der Eprovette	Katalognummer	Tests je Eprovette
Anti-Kp ^a Polyclonal	2 ml	321002	40
	1000 ml	321000*	20.000
Anti-Kp ^b Polyclonal	2 ml	322002	40
	1000 ml	322000*	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, 2nd Flr.,
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta