



Az alkalmazott technika a hemagglutináció elvén alapul.

A vizsgálat célja:

A vörösvérsejt-antigén ellenes IgG (Rh-, Kell-, Duffy-, Kidd-, stb. rendszerebeli), és IgM (elsősorban anti-M, anti-N) antitestek azonosítása direkt agglutinációs, ill. indirekt Coombs (indirekt antiglobulin) módszerekkel. Alacsony ionerősségű közegben végezve a vizsgálatokat megnevelhető a módszer érzékenysége és csökkenthető a reakcióidő. Az additív alacsony ionerős oldatokat mindenkor a gyártó előírása szerint kell használni.

Összetétele:

A panelejt sorozat 11 darab „0” csoportú, ismert antigén-összetételű, egyedi donoroktól származó vörösvérsejt-szuspenzióból áll. Az aktuális panelejték antigén táblázatát mindig mellékeljük a termékekhez. Konzerváló anyag: 1 mmol/l klóramfenikol, 0,4 mmol/l neomicin-szulfát. A vörösvérsejt 3 ± 0,5 %-os használatra kész szuszpenzió formájában, 5 ml-es, cseppentővel ellátott üvegcsékben kerülnek kiszérésre. A cseppentő térfogata kb. 50 µl. Ha a felülülőző hemolitikus, a termék nem használható. Felhasználás előtt a sejteket óvatos forgatással homogenizáljuk.

Tárolás, szállítás:

A panelejteket +2 és +8 °C között kell tárolni és szállítani. A reagensek teljesítményét a gyártó a javasolt módszerekkel, a felbontástól a cikmiken szereplő lejárati ideig garantálja. A lejárati időn túl ne használjuk! Ajánlott a reagenseket minél rövidebb ideig tartani hűtőszekrényen kívül és kerülni, hogy két használat között szobahőmérsékleten maradjanak. A KÉSZÍTMÉNYT NEM SZABAD LEFAGYASZTANI!

Vizsgálati anyag:

48 óránál nem idősebb, +2 és +8 °C közötti hőmérsékleten tárolt natív vérminta savója, vagy alvadásban gátolt vérminta plazmája. (Ha a mintát később akarják vizsgálni, a savót/plazmát -20 és -30 °C közötti hőmérsékleten fagyaszva kell tárolni.)

Kontroll:

Belső minőségellenőrzésre a **Rea IQC Total Blood Kit** (REF 44130) használatát javasoljuk.

Szükséges eszközök és reagensek:

- Kézi csöves módszer:
- csövek
 - pipetták (30 µl, 50 µl, 100 µl)
 - vízfürdő 37 °C-os
 - puffertölt fiziológiai sóoldat, pH=7,2 (REF 15015)
 - ReaSol hígító oldat (REF 11114)
 - alacsony ionerős oldat (AGGI-LISS, REF 13110)
 - Coombs (antihuman globulin reagens) savó
 - laboratóriumi centrifuga/sejtmosó

Módszerek:

Kézi csöves módszer:

1. Számozzuk be a csöveket 1-től 12-ig, a 12-es lesz az autokontrollé. Minden csőre írjuk rá a vizsgálandó vérminta azonosítóját is. **Autokontrollé készítése:** a vizsgálandó vérminta puffertölt fiziológiai sóoldattal (pH=7,2) kétszer mosott vörösvérsejt-üledékből készítsünk kb. 3%-os szuszpenziót a ReaSol hígító oldattal oly módon, hogy 1 ml oldatba bemérünk 30 µl mosott üledéket.

Direkt módszer:

2. A vizsgálandó vérminta savójából/plazmájából mérjünk be minden csőbe 100-100 µl-t.
3. Mérjünk be mindegyik panelejt-szuspenzióból 50-50 µl-t a megfelelő csövekbe.
4. Rázzuk össze a csövek tartalmát, majd inkubáljuk 60 percig 37 °C-on, vagy 100 µl alacsony ionerős oldat hozzáadásával 15 percre csökkenthetjük az inkubálási időt.
5. Centrifugáljuk le a csöveket 20 másodpercig 1000 g relatív forgató erővel, vagy 60 másodpercig 150 g-vel.
6. Vizsgáljuk meg a felülülőzőkat, látható-e bennük hemolízis. Az eredményt jegyezzük fel a táblázatba.
7. Óvatos rázogatós mellett, lehetőleg fehér alapon, lámpás nagyítóval vizsgáljuk meg, látható-e agglutináció, az eredményt jegyezzük fel az antigén táblázat erre a célra szolgáló rubrikába. Az agglutináció erősségét kereszttekkel jelöljük.
8. Értékeljük az agglutináció-, illetve hemolízis sémát a táblázat segítségével.

Indirekt módszer

9. Mossuk háromszor a csövek tartalmát puffertölt fiziológiai sóoldattal.
10. Mérjünk minden csőbe 100-100 µl Coombs savót.
11. Centrifugáljuk le a csöveket 20 másodpercig 1000 g relatív forgató erővel, vagy 60 másodpercig 150 g-vel.
12. Olvassuk le az eredményt lehetőleg fehér alapon, lámpás nagyítóval és jegyezzük fel az antigén táblázat erre a célra szolgáló rubrikába. Az agglutináció erősségét kereszttekkel jelöljük.
13. Értékeljük az agglutináció sémát a táblázat segítségével.

A panelejteket automata csöves módszerrel is használhatóak (pl. ACT 24 automata, ACT robot). Ebben az esetben kövessük a gép használati utasításában leírtakat. Bármilyen alacsony ionerős oldat használható; azok alkalmazásánál a gyártó cég használati utasításait kell betartani, és az egyes lépéseket annak megfelelően kell elvégezni. Pozitív, negatív és mosási ellenőrzéseket kell minden vizsgálathoz alkalmazni (lásd. OVVSZ módszertani levél).

Értékelés:

Pozitív eredmény:

- ha a reakció elegyben agglutinációt látunk +.....++++-ig
- ha hemolízist észlelünk

Negatív eredmény:

- ha a reakció elegy homogén szuszpenzió maradt

A vizsgálat során kapott reakciókat összehasonlíthatjuk az antigén táblázat antigén konfigurációjával. Az antigén táblázat minden sorozatnál egyedi és specifikus. Minden termék csomagolásához mellékelve van. Minden ellenanyag-azonosítás mellett, szigorúan azonos körülmények (közeg, módszer) között el kell végezni a vizsgált egyén autokontrollját is. A kontroll pozitívítását tisztázni kell (bizonyos betegségek, gyógyszerek, stb. okozhatják). Néha szükséges lehet az azonosításhoz egyéb tesztesetek igénybevétele. Az ellenanyag-azonosítás eredményeit alátámaszthatjuk a vizsgált egyén vörösvérsejt antiténjeinek meghatározásával.

Hibaforrások:

Alnegatív eredmények okai:

- vizsgálati vérmintát és/vagy diagnosztikumokat nem helyesen tárolták és elvesztették reakcióképességüket
- az inkubáció ideje és/vagy hőmérséklete nem megfelelő
- a sejtek nem megfelelő centrifugálása
- túl erős rázogatós a gyenge reakciókat tönkréteszi
- az AHG reagens neutralizálódhatott (pl. nem megfelelő a sejtek mosása)

Álpozitív eredmények okai:

- tesztesetek bakteriális vagy egyéb szennyeződése
- nem megfelelő centrifugálás és homogenizálás
- ritka esetben a vizsgált plazma vagy savó tartalmazhat olyan antitestet, mely a tesz vörösvérsejtek hígító oldatának valamely alkotórésze ellen irányultak

A módszer korlátai

- A tartósított tesztesetek reakcióképessége a felhasználási időn belül esetleg csökkenhet, ennek mértéke függ az egyes donorok egyedi tulajdonságaitól is, melyet sem ellenőrizni, sem előre jelezni nem tud a gyártó.
- Autokontroll pozitívításánál a vizsgált savóban / plazmában előfordulhat autoantitest, mely további vizsgálatokat kíván.
- A kapott negatív eredmény nem jelenti azt, hogy nem fordulhat elő nagyon ritka antitest a vizsgált savóban.
- A nagyon nagy gyakoriságú antitestek vagy többszörös antitestek jelenléte esetében szükség lehet megfelelő ritka sejtekre, illetve az antitesteket differenciálni képes egyéb módszerekre is.

Övrendszabályok:

Minden verből készült reagenst és a mintákkal közvetlen kapcsolatba kerülő anyagot potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni. A termék előállításához használt vörösvérsejt koncentrátumokat az Országos Vérellátó Szolgálat vette le és ellenőrizte a transzfúziós célú vérkészítményekre vonatkozó 3/2005. (II. 10.) EüM rendelet érvényes szabályozásának megfelelően. Azok a humán vérkészítmények, amelyekből a termék készült, az Európa Tanács által javasolt lues, HIV 1-2, HbsAg és HCV vizsgálatok szerint nem bizonyultak reaktívának, ez azonban nem zárja ki bármilyen fertőzés átvitelének lehetőségét. Ajánlott védőkesztyű- és szemüveg viselése. A maradványok megsemmisítésekor az érvényes higiéniai szabályozásnak megfelelően kell eljárni.

Kiszerezés:

REF 43100 11 x 5 ml

Felhasznált irodalom:

Transzfúziós szabályzat – OVVSZ módszertani levele 2. kiadás, OVVSZ, Bp. 2008
AABB Technical Manual 18th Edition Bethesda, Maryland USA 2015

Váratlan esemény jelentése:

A termékkel kapcsolatban előforduló súlyos váratlan eseményt be kell jelenteni a gyártónak: REAGENS Kft., 1155 Budapest Wysocki utca 1 tel: 06-1 -349 8775 fax: 06-1-350 8354, email info@reagensekft.hu email címre, és az NNGYK-EETIT Orvostechnikai Főosztálynak az alábbi linken <https://ogve.gov.hu/varatlan-esemeny-jelentes> vagy emailben az amd.vig@ogve.gov.hu emailcímen.

Jelképek:

LOT	Gyártási idő	IVD	in vitro diagnosztikum
REF	Cikkszám	Tárolási hőmérséklet tartomány	Gyártó
	Lejáratási idő		
	Összesen az a használati útmutató		

Gyártó:

REAGENS Kft.
1155 Budapest,
Wysocki u. 1.
Magyarország

Készült: 2023.08.15.
Verzió: 11v

Az alkalmazott technika a hemagglutináció elvén alapul.

A vizsgálat célja:

A vörösvérsejt-antigén ellenes IgG (Rh-, Kell-, Duffy-, Kidd-, stb. rendszerebeli), és IgM (elsősorban anti-M, anti-N) antitestek azonosítása direkt agglutinációs, ill. indirekt Coombs (indirekt antiglobulin) módszerekkel gélkártyán.

Összetétele:

A panelejt sorozat 11 darab „0” csoportú, ismert antigén-összetételű, egyedi donoroktól származó vörösvérsejt-szuspenzióból áll. Az aktuális panelejték antigén táblázatát mindig mellékeljük a termékekhez. Konzerváló anyag: 1 mmol/l klóramfenikol, 0,4 mmol/l neomicin-szulfát. A vörösvérsejt 0,8 ± 0,1 %-os használatra kész szuszpenzió formájában, 5 ml-es, cseppentővel ellátott üvegcsékben kerülnek kiszérésre. A cseppentő térfogata kb. 50 µl. Ha a felülülőző hemolitikus, a termék nem használható. Felhasználás előtt a sejteket óvatos forgatással homogenizáljuk.

Tárolás, szállítás:

A panelejteket +2 és +8 °C között kell tárolni és szállítani. A reagensek teljesítményét a gyártó a javasolt módszerekkel, a felbontástól a cikmiken szereplő lejárati ideig garantálja. A lejárati időn túl ne használjuk! Ajánlott a reagenseket minél rövidebb ideig tartani hűtőszekrényen kívül és kerülni, hogy két használat között szobahőmérsékleten maradjanak. A KÉSZÍTMÉNYT NEM SZABAD LEFAGYASZTANI!

Vizsgálati anyag:

48 óránál nem idősebb, +2 és +8 °C közötti hőmérsékleten tárolt natív vérminta savója, vagy alvadásban gátolt vérminta plazmája. (Ha a mintát később akarják vizsgálni, a savót/plazmát -20 és -30 °C közötti hőmérsékleten fagyaszva kell tárolni.)

Kontroll:

Belső minőségellenőrzésre a **Rea IQC Total Blood Kit** (REF 44130) használatát javasoljuk.

Szükséges eszközök és reagensek:

- Géloszopos módszer:
- LISS Coombs-os / neutrális kártyák
 - kártya centrifuga
 - inkubátor 37 °C-os
 - pipetták (10 µl, 25 µl, 50 µl)
 - ReaSol hígító (REF 11114), illetve a gyártó által erre a célra kifejlesztett és forgalmazott oldat
 - puffertölt fiziológiai sóoldat, pH=7,2 (REF 15015)

Módszerek:

Géloszopos módszer:

A vizsgálat megkezdése előtt az eszközök, reagensek és a vérminták hőmérséklete érje el a szobahőmérsékletet. (A különböző gyártók által előállított gélkártyák használati utasításai eltérhetnek egymástól, ezért a vizsgálat megkezdése előtt mindig át kell tanulmányozni a gyártó által mellékelte leírást.)

Direkt módszer:

1. Neutrális kártyákat használunk. A kártyákra ráírjuk a beteg azonosítóját, és a panelejték sorszámát.
2. Eltávolítjuk a fóliát és 50-50 µl-t pipettázunk az egyes panelejt-szuspenziókból a megfelelő gélkamrába.
3. Mindegyik gélkamrába 25-25 µl-t adunk a vizsgálandó savóból vagy plazmából.
4. A kártyát 15 percig inkubáljuk 37 °C-on.
5. Centrifugáljuk öket 10 percig.
6. Leolvassuk és feljegyezzük a reakciókat az antigéntáblázat erre a célra szolgáló rubrikáiba. Az agglutináció erősségét kereszttekkel jelöljük.
7. Értékeljük az agglutináció-sémát a táblázat segítségével.

Indirekt módszer:

1. LISS/Coombs-os kártyákat használunk.
2. Eltávolítjuk a fóliát és 50-50 µl-t pipettázunk az egyes panelejt-szuspenziókból a megfelelő gélkamrába. Mindig először a vörösvérsejteket kell a gélkamrába pipettázni, hogy a savóban / plazmában lévő szabad immunoglobulinok ne kerüljenek be a gélbe és ne közömbösítsék a Coombs savót.
3. A 12.-be az autokontroll kerül. **Autokontrollé készítése:** a vizsgálandó vérminta puffertölt fiziológiai sóoldattal (pH=7,2) kétszer mosott vörösvérsejt-üledékből készítsünk kb. 3%-os szuszpenziót a ReaSol hígítóval oly módon, hogy 1 ml oldatba bemérünk 10 µl mosott üledéket.
4. Mindegyik gélkamrába 25-25 µl-t adunk a vizsgálandó savóból vagy plazmából.
5. A kártyát 15 percig inkubáljuk 37 °C-on.
6. Centrifugáljuk öket 10 percig.
7. Leolvassuk és feljegyezzük a reakciókat az antigéntáblázat erre a célra szolgáló rubrikáiba. Az agglutináció erősségét kereszttekkel jelöljük.
8. Értékeljük az agglutináció-sémát a táblázat segítségével.

A vizsgálathoz pozitív, negatív és mosási ellenőrzéseket kell alkalmazni (lásd. OVVSZ módszertani levél).

Értékelés:

Pozitív eredmény:

- ha a gélkamrában reakciót észlelünk

Negatív eredmény:

- ha a sejtek a gélkamra alján találhatók

A vizsgálat során kapott reakciókat összehasonlíthatjuk az antigén táblázat antigén konfigurációjával. Az antigén táblázat minden sorozatnál egyedi és specifikus. Minden termék csomagolásához mellékelve van. Minden ellenanyag-azonosítás mellett, szigorúan azonos körülmények (közeg, módszer) között el kell végezni a vizsgált egyén autokontrollját is. A kontroll pozitívítását tisztázni kell (bizonyos betegségek, gyógyszerek, stb. okozhatják). Néha szükséges lehet az azonosításhoz egyéb tesztesetek igénybevétele. Az ellenanyag-azonosítás eredményeit alátámaszthatjuk a vizsgált egyén vörösvérsejt antiténjeinek meghatározásával.

Hibaforrások:

Alnegatív eredmények okai:

- vizsgálati vérmintát és/vagy diagnosztikumokat nem helyesen tárolták és elvesztették reakcióképességüket
- az inkubáció ideje és/vagy hőmérséklete nem megfelelő
- a sejt nem megfelelő centrifugálása
- az AHG reagens neutralizálódhatott

Álpozitív eredmények okai:

- tesztesetek bakteriális vagy egyéb szennyeződése
- nem megfelelő centrifugálás és homogenizálás
- ritka esetben a vizsgált plazma vagy savó tartalmazhat olyan antitestet, mely a tesz vörösvérsejtek hígító oldatának valamely alkotórésze ellen irányultak

A módszer korlátai:

- A tartósított tesztesetek reakcióképessége a felhasználási időn belül esetleg csökkenhet, ennek mértéke függ az egyes donorok egyedi tulajdonságaitól is, melyet sem ellenőrizni, sem előre jelezni nem tud a gyártó.
- Autokontroll pozitívításánál a vizsgált savóban / plazmában előfordulhat autoantitest, mely további vizsgálatokat kíván.
- A kapott negatív eredmény nem jelenti azt, hogy nem fordulhat elő nagyon ritka antitest a vizsgált savóban.
- A nagyon nagy gyakoriságú antitestek vagy többszörös antitestek jelenléte esetében szükség lehet megfelelő ritka sejtekre, illetve az antitesteket differenciálni képes egyéb módszerekre is.
- Géloszopos módszernél NEM szabad további additív alacsony ionerős oldatot használni!

Övrendszabályok:

Minden verből készült reagenst és a mintákkal közvetlen kapcsolatba kerülő anyagot potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni. A termék előállításához használt vörösvérsejt koncentrátumokat az Országos Vérellátó Szolgálat vette le és ellenőrizte a transzfúziós célú vérkészítményekre vonatkozó 3/2005. (II. 10.) EüM rendelet érvényes szabályozásának megfelelően. Azok a humán vérkészítmények, amelyekből a termék készült, az Európa Tanács által javasolt lues, HIV 1-2, HbsAg és HCV vizsgálatok szerint nem bizonyultak reaktívának, ez azonban nem zárja ki bármilyen fertőzés átvitelének lehetőségét. Ajánlott védőkesztyű- és szemüveg viselése. A maradványok megsemmisítésekor az érvényes higiéniai szabályozásnak megfelelően kell eljárni.

Kiszerezés:

REF 43500 11 x 5 ml

Felhasznált irodalom:

Transzfúziós szabályzat – OVVSZ módszertani levele 2. kiadás, OVVSZ, Bp. 2008
AABB Technical Manual 18th Edition Bethesda, Maryland USA 2015

Váratlan esemény jelentése:

A termékkel kapcsolatban előforduló súlyos váratlan eseményt be kell jelenteni a gyártónak: REAGENS Kft., 1155 Budapest Wysocki utca 1 tel: 06-1 -349 8775 fax: 06-1-350 8354, email info@reagensekft.hu email címre, és az NNGYK-EETIT Orvostechnikai Főosztálynak az alábbi linken <https://ogve.gov.hu/varatlan-esemeny-jelentes> vagy emailben az amd.vig@ogve.gov.hu emailcímen.

Jelképek:

LOT	Gyártási idő	IVD	in vitro diagnosztikum
REF	Cikkszám	Tárolási hőmérséklet tartomány	Gyártó
	Lejáratási idő		
	Összesen az a használati útmutató		

Gyártó:

REAGENS Kft.
1155 Budapest,
Wysocki u. 1.
Magyarország

Készült: 2023.08.15.
Verzió: 10v