

GEBRAUCHSANWEISUNG

Anti-E (RH3), monoclonal IgM (human)

REF 690291A

ZWECKBESTIMMUNG

Monoklonal agglutinierendes Anti-E - Testserum wird aus Zellkulturüberständen von Heterohybridoma-Zelllinien gewonnen, die Antikörper vom IgM-Typus sezernieren, die spezifisch gegen das korrespondierende Blutgruppenantigen gerichtet sind. Der Antikörper ist dabei humanes Protein. Das Testserum wird zum qualitativen In-Vitro Nachweis des Vorhandenseins oder Fehlens des Blutgruppenantigens E auf menschlichen Erythrozyten verwendet. Die Anwendung dieses Testserums ist nur für qualifiziertes und geschultes Fachpersonal vorgesehen.

PRINZIP DES VERFAHRENS

Die bei Verwendung dieses Testserums angewendeten Testmethoden beruhen auf dem Prinzip der Agglutination. Normale menschliche Erythrozyten, die das entsprechende Antigen tragen, werden durch den korrespondierenden Antikörper agglutiniert.

TESTSEREN

Das aufgeführte Blutgruppentestserum enthält Antikörper der folgenden Klone:

Anti-E monoclonal, human IgM clones: MS-258, 906

Das Testserum enthält als Konservierungsmittel <0,1% (w/v) Natriumazid.

Außer dem aktiven Antikörperbestandteil beinhaltet das Testserum Natriumchlorid, hochmolekulare Verbindungen und Rinderalbumin, das durch die US Veterinary service Inspektoren überprüft und zertifiziert wurde.

WARNUNG: Dieses Testserum wird aus Zellkulturüberständen hergestellt. Unabhängig davon sollte dieses biologische Produkt wegen nie völlig auszuschließender Gefährdung durch Krankheitserreger als potentiell infektiös angesehen werden. Das Testserum enthält Natriumazid, das toxisch wirken und mit Blei oder Kupfer explosive Salze bilden kann. Bei der Entsorgung mit reichlich Wasser nachspülen. Aus den oben genannten Gründen sollte das Testserum mit angemessener Sorgfalt gehandhabt werden.

LAGERUNG

Bei +2 bis +8 °C (ungeöffnet / angebrochen) lagern, kurzzeitig zur Anwendung auch bei Raumtemperatur. Grundsätzlich nur bis zum angegebenen Verfallsdatum lagern und anwenden!

HINWEISE

- Es sollten bei jeder Austestung positive und negative Kontrollen mitgeführt werden.
- Unschonungsmäßige Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit des Produktes.
- Die Reaktionsfähigkeit des oben aufgeführten Testserums wird durch leichte Trübung nicht beeinträchtigt. Eine bakterielle und chemische Kontamination des Testserums ist zu vermeiden. Wenn eine sichtbare Veränderung eines Testserums festgestellt wird, sollte das Testserum nicht mehr eingesetzt werden, es kann auf eine mikrobielle Kontamination hinweisen.
- Die Stärke der positiven Reaktion ist vom Alter des verwendeten Blutes abhängig.
- Zentrifugieren außerhalb des angegebenen Drehzahl-Bereiches kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Die beschriebenen Verfahren zur Anwendung gelten ausschließlich für manuelle Methoden. Werden Automaten oder halbautomatische Systeme verwendet, müssen die Laboratorien die Angaben der Gerätehersteller befolgen und Validierungen nach anerkannten Verfahren durchführen.
- Bei der Anwendung des Testserums sind alle gültigen nationalen Gesetze, Verordnungen und Richtlinien zu beachten, in Deutschland insbesondere die „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“¹ in ihrer gültigen Fassung.

PROBENVORBEREITUNG

- Blutproben sollten mit einer der üblichen Entnahmetechnik gewonnen werden.
- Das auszutestende Blut sollte so bald wie möglich nach der Blutentnahme geprüft werden, um die Gefahr falsch positiver bzw. falsch negativer Reaktionen, durch unschonungsmäßige Lagerung oder Kontamination der Probe, zu minimieren. Nicht sofort getestetes Blut ist bei +2 bis +8 °C zu lagern. Mit EDTA antikoagulierte Blutproben müssen innerhalb von 7 Tagen und mit Natriumzitrat behandelte Proben innerhalb von 14 Tagen nach der Entnahme getestet werden. Konserven/Spenderblute können bis zum Verfallsdatum ausgetestet werden.

VORBEREITUNG DER TESTSEREN

Eine Vorbereitung des Testserums ist nicht erforderlich. Das Serum wird direkt aus dem Fläschchen entnommen und eingesetzt.

VERFAHRENSWEISE

Nicht im Lieferumfang enthaltene, aber benötigte Materialien bei der:

Objektträgermethode

- Objektträger
- Pasteurpipette
- Rührstäbchen
- Kurzzeitwecker

Röhrchenmethode

- Teströhrchen, 10 x 75 mm oder 12 x 75 mm
- Mikroliterpipette für 50 µL/100 µL
- Kurzzeitwecker
- Zentrifuge
- Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)
- Einweg Pipettenspitzen

Mikrotiterplattenmethode

- Mikrotiterplatten mit U-Boden, ggf. vorbehandelt
- Laborzentrifuge, die Mikrotiterplatten(-träger) aufnehmen kann
- Mikrotiterplattenträger für Zentrifugen (optional)
- Mikrotiterplatten-Schüttler
- Ablesepegel für Mikrotiterplattentests (optional)
- Mikroliterpipetten zur Abgabe von ca. 50 µL
- Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9 % Natriumchlorid)
- Einweg Pipettenspitzen

Testdurchführung

Objektträgertest

- Nur Erythrozytensediment verwenden.
- Auf einen beschrifteten Objektträger einen Tropfen (ca. 50 µL) des Testserums auftropfen.
- Zu dem Tropfen Testserum auf dem Objektträger einen Tropfen (ca. 50 µL) Erythrozytensediment mit einer Pasteurpipette geben.
- Die Erythrozyten-/Testserummischung mit einem Rührstäbchen gut vermischen und zu einem Kreis von ca. 2 cm Durchmesser ausbreiten.
- Bei leichtem Schwenken des Objektträgers innerhalb einer Minute auf Agglutination prüfen (Reaktionsbeginn nach Sekunden).
- Ergebnisse protokollieren.

Röhrchen-Zentrifugationstest

- 2-5%ige Erythrozytensuspension in isotonischer Kochsalzlösung vorbereiten. (Erythrozyten können vorab 1-3 mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
- In ein beschriftetes Teströhrchen als erstes 100 µL Testserum geben und anschließend in das Teströhrchen 100µl der entsprechenden Erythrozytensuspension zugeben. Alternativ können ein Tropfen = ca. 50µl Erythrozytensuspension zu einem Tropfen = ca. 50 µl Testserum gegeben werden.
- Die Erythrozyten-/Testserenmischung durch leichtes Schütteln vermischen.
- Teströhrchen 1-15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
- Teströhrchen 1 Minute bei 2.000 U/min (ca. 800 - 1.000 g) zentrifugieren.
- Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig vom Röhrchenboden lösen und innerhalb von 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
- Ergebnisse protokollieren.

Mikrotiterplattentest

- Eine 2-5-%igen Erythrozytensuspension in isotonischer Kochsalzlösung vorbereiten (Erythrozyten können vorab 1-3 Mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
- In eine beschriftete Vertiefung 50 µL des entsprechenden Testserums geben.
- In die Vertiefung 50 µL der entsprechenden Erythrozytensuspension zugeben.
- Mischen Sie die Mikrotiterplatte auf einem Mikrotiterplatten-Schüttler.

HINWEIS: Empfohlene Dauer für mechanische Schüttler:

- Mischen: 10 bis 30 Sekunden bei mittlerer Schüttelstärke;
- Resuspendieren: 10 bis 30 Sekunden bei mittlerer Schüttelstärke bzw. mit einer Dauer und Geschwindigkeit, die eine vollständige Resuspension des gesamten Zellknopfes erlaubt, ohne die positiven Reaktionen zu zerstören.

- Zentrifugieren Sie die Platte.

Vorgeschlagene Zentrifugationsdauer: 30 Sekunden bei ungefähr 400 x g oder so lange, wie erforderlich, um mit der verwendeten Zentrifuge und Mikrotiterplatte die stärkste Reaktion der Antikörper mit den Antigen tragenden Erythrozyten zu erlauben, bei der die Resuspension der Antigen negativen Erythrozyten noch leicht möglich ist.

HINWEIS: Die auf die Zell-/Testserenmischung angewandte Zentrifugalkraft sollte die minimale Kraft sein, mit der ein Erythrozytenknopf und ein klarer Überstand erzeugt werden kann. Wegen der großen Zahl der im Handel erhältlichen Zentrifugen kann keine eindeutige Zentrifugationsgeschwindigkeit oder -dauer empfohlen werden, die für alle Konfigurationen ideal wäre. Jedes Labor muss das vorhandene Gerät kalibrieren und testen, wie lange bei einer gegebenen Geschwindigkeit zentrifugiert werden muss, um das gewünschte Ergebnis zu erhalten.

- Lösen Sie die Erythrozytenknöpfe auf dem Schüttler und positionieren Sie die Platte für das Ablesen.
- Ergebnis protokollieren.

8. Inkubieren Sie negative oder fragliche Tests für eine Dauer von 5 bis 10 Minuten bei Raumtemperatur.
 9. Wiederholen Sie die Schritte 5 bis 7 nach der Inkubation bei Raumtemperatur.
- HINWEIS:** Alle Ansätze sollten unmittelbar nach der Zentrifugation und Resuspendierung ausgewertet werden.

INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

„Vorsichtiges Schwenken/ Schütteln“ bei der Objektträgermethode, Röhrchen-Zentrifugationsmethode und der Mikrotiterplatten Methode:

- Positives Ergebnis (+):** Eine Agglutination der Erythrozyten ist als positives Testergebnis zu werten und zeigt die Anwesenheit des entsprechenden Antigens an.
Negatives Ergebnis (-): Das Fehlen einer Agglutination der Erythrozyten ist als negatives Testergebnis zu bewerten, das entsprechende Antigen ist nicht nachweisbar.

GRENZEN DER METHODE

1. Ungenauigkeiten bei der Einhaltung der Anweisungen in den Abschnitten „Testdurchführung“ und „Interpretation der Testergebnisse“ können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
2. Mitgeführte Kontrollen mit nicht eindeutigen oder falschen Ergebnissen führen automatisch zur nicht Verwertbarkeit aller Ergebnisse.
3. Enzymbehandelte Erythrozyten oder die Zugabe von Rinderalbumin und/oder anderer proteinhaltiger Lösungen können mit diesem Testserum zu unspezifischen Reaktionen führen.
4. Hämolytierte, trübe, kontaminierte oder geronnene Blutproben dürfen nicht eingesetzt werden.
5. Bei der Objektträgermethode können unspezifische Reaktionen beim Eintrocknen des Reaktionsansatzes bzw. beim Erwärmen des Objektträgers auftreten.
6. Aufgrund der unterschiedlichen Ausprägung der Antigene kann es bei bestimmten Phänotypen mit diesem Reagenz zu einer schwächeren Reaktion kommen als mit Kontrollerythrozyten.
7. Kein einzelnes Testserum oder eine einzelne Methode kann garantieren alle seltenen oder schwachen Antigene und alle Varianten der Antigene zu detektieren.²

LEISTUNG




Eine Leistungsbewertung für das Produkt wurde entsprechend der Common Technical Specifications (CTS Entscheidung der Kommission vom 03. Februar 2009) durchgeführt. Es wurde unterschiedliches Probenmaterial (Spender-, Patienten-, Panelblute) eingesetzt und mit anderen Referenzmethoden / Produkten verglichen.

| Produkt | Positiv | Falsch negativ | Sensitivität | Negativ | Falsch positiv | Spezifität |
|--|---------|----------------|--------------|---------|----------------|------------|
| Anti-E monoclonal, human IgM clones: MS-258, 906 | 327 | 0 | 100% | 908 | 0 | 100% |


LITERATUR




1. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)
2. CLSI, I/LA33-A Validatin of Automated System for Immunhematological Testing Before Implementation; Approved Guidline CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE Dezember 2009
3. Peter D. Issit, David J. Anstee Applied Blood Group Serology, fourth edition, Montgomery Scientific Publications 1998
4. Christian Mueller-Eckhardt, Volker Kiefel Transfusionsmedizin, 3. Auflage, Springer-Verlag 2004.

SYMBOL - LEGENDE

| | | | |
|--|---|--|--|
|  Lagerung von - bis |  Artikel- Nummer |  Verfallsdatum |  Hersteller nach 98/79/EG |
|  Los |  Klon(e) |  In-vitro- Diagnostikum |  EG CE-Symbol |
|  Unique Device Identification |  Gebrauchsinformation beachten | | |

731-22-0516 Version 016 / 01.07.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Deutschland

 +49 (0) 6223/ 8661-0  +49 (0) 6223/ 8661-13  gara@antitoxin-gmbh.de

INSTRUCTIONS FOR USE

Anti-E (RH3), monoclonal IgM (human)

REF 690291A

INTENDED USE

Monoclonal agglutinating Anti-E reagent is produced from cell culture supernatants of hetero-hybridoma cell lines. The cells secrete an antibody of IgM-type that reacts specifically with the corresponding antigen. The antibody is human protein. The reagent is used for In-Vitro-Diagnostic, to determine whether human red blood cells possess or lack the corresponding blood group antigen E.
The reagent is intended to be used by qualified and technical personnel only.

PRINCIPLE OF PROCEDURE

The procedures used with this reagent is based on the principle of agglutination. Normal human erythrocytes, possessing the corresponding antigen, will agglutinate in the presence of the specific antibody directed towards the antigen.

REAGENT

The listed reagent contains antibodies of the following cell clone:

Anti-E monoclonal, human IgM clones: MS-258, 906

This reagent contains <0.1% (w/v) sodium azide as preservative. Additionally the reagent is comprised of active antibody, sodium chloride, macromolecules and bovine albumin, which has been tested and certified by the US Veterinary service inspectors.

CAUTION: Please handle biological reagent with proper care: This test serum was prepared from supernatants of cell cultures. As biological product it should be looked upon as potentially infectious because of never complete exclusion of danger through excitants of disease. The test serum contains sodium azide that may be toxic and may react with lead or copper to form highly explosive salts. On disposal, flush with large quantities of water. Found from the above reasons test serum should be handled with proper care.

STORAGE REQUIREMENTS

Store at +2 to +8 °C (unopened / opened), or at room temperature while in use. Do not use reagent beyond its labelled expiration date!

REMARKS

1. It is recommended that each lot of reagent be tested with appropriate positive and negative controls.
2. Inappropriate storage impairs efficacy of the reagent.
3. Weak turbidity of the reagent does not affect its reactivity. Bacteria and chemical contamination of the product should be avoided. If a visible change is detected, the reagent should no longer be used, this sign may indicate a microbiological contamination.
4. Strength of positive reactions also depends on age of used blood.
5. Centrifugation outside the specified speed range may lead to false results.
6. The test methods identified below are for manual testing only. When using automated or semi-automated instruments, follow the procedures that are contained in the operator's manual provided by the device manufacturer. Laboratories must follow approved validation procedures
7. For usage of this reagent all effective national laws, directives and guidelines must be followed.
[In Germany especially: „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“.¹ in its actual form.]

SAMPLE PREPARATION

1. Blood sample should be collected by approved medical procedure.
2. Blood sample to be tested should be used as soon as possible after blood collection to reduce the risk of false-positive and false-negative results due to improper storage or contamination of the sample.
If a delay in testing occurs, sample should be stored at +2 to +8°C.
Blood drawn into EDTA should be tested within 7 days and sample treated with sodium citrate within 14 days after collection.
Blood bag / Donor Blood can be tested until the expiry date.

REAGENT PREPARATION

There is no specific preparation of the reagent required. Use reagent directly from the vials.

PROCEDURE

Material required but not provided:

Slide Method

1. Glass slide
2. Pasteur pipette
3. Mixing stick
4. Timer

Tube Centrifugation Method

1. Test tubes, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm
2. Pipettes designed to deliver 50 µL/100 µL
3. Timer
4. Centrifuge
5. Isotonic saline (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)
6. Disposable pipette tips

Microplate Method

1. Microplate with U-bottom, (optional: pre-treated)
2. Centrifuge, suitable for centrifugation of microplates
3. Microplate-carrier for centrifuge (option)
4. Microplate shaker
5. Microplatetest mirror (option)
6. Pipette for 50 µL
7. Isotonic saline (0.85 – 0.9 % sodium chloride)
8. Disposable pipette tips

Test procedure

Slide Method

1. Use erythrocyte sediment only.
2. Place one drop (approximately 50 µL) of the reagent on a marked glass slide.
3. Using a Pasteur pipette add one drop erythrocyte sediment (approximately 50 µL) to the drop of reagent on the glass slide.
4. Mix the erythrocytes with reagent well with a stick and spread to a circle with a diameter of approximately 2 cm.
5. By slightly rotating the slide, check for agglutination within 1 minute (reaction starts within seconds).
6. Document the result.

Tube Centrifugation Method

1. Prepare a 2% to 5% suspension of red blood cells in isotonic saline (red blood cells may be washed 1-3 times with isotonic saline).
2. At first put 100 µL of the reagent in a marked tube subsequently add 100 µL of appropriate cell suspension in the tube.
Alternative one drop = approximately 50 µL cell suspension can be added to one drop = approximately 50 µL test serum.
3. Mix Erythrocytes-/Reagent mixture well by slightly shaking.
4. Incubate tube at room temperature for 1-15 min.
5. Centrifugation of tube for 1 minute at 2.000 rpm (approximately 800-1.000 x g).
6. Gently shake the red cells completely from the bottom of the tube and check macroscopically for agglutination within 3 minutes.
7. Document the result.

Microplate Method

1. Prepare 2-5% suspension of red blood cells in isotonic saline (red blood cells may be washed 1-3 times with isotonic saline).
2. Add one drop (50 µL) of reagent into each well.
3. Add one drop (50 µL) of cell suspension into each well.
4. Mix microplate on a microplate shaker.

Note: Recommended : (1) To mix: 10 to 30 seconds at medium strength. (2) To resuspend: 10 to 30 seconds at medium strength respectively with duration and strength, allowing a full resuspension of sediment without destruction of positive reactions.

5. Centrifugation of microplate. Recommended duration of centrifugation: 30 seconds at approximately 400 x g, or as long as necessary to produce best positive reactions with antigen positive cells, with used centrifuge and microplate, and still have an easy resuspension of antigen negative cells.

Note: The used centrifugal force should be the minimum force to produce a sediment and a clear supernatant. Because of multitude offered centrifuges a general speed or duration for best results can not be recommended. Each laboratory has to test and validate its equipment for speed and duration to obtain best results.

6. Loosen the erythrocyte knobs on the shaker and position microplate for reading.
7. Read microplate and document the result.
8. Tests with negative or doubtful results have to be incubated for 5 to 10 minutes at room temperature.
9. Repeat steps 5 to 7 after incubation at room temperature.

Note: All tests should be resuspended and evaluated directly after centrifugation.

INTERPRETATION OF RESULTS

" Slightly rotating / shaking " at Slide Method, Tube Centrifugation Method and Microplate Method:

Positive result (+): visible agglutination of erythrocytes indicates the presence of the corresponding antigen.

Negative result (-): no visible agglutination of erythrocytes indicates the absence of the corresponding antigen.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. The "Procedure" and "Interpretation of Results" sections must be followed closely to assure the accuracy of the test results.
2. No valid conclusion concerning the test result can be reached, if controls with uncertain or false results occur.
3. Enzyme treated erythrocytes or addition of bovine albumin and/or other solutions containing protein may cause unspecific reactions.
4. Hemolyzed, turbid, contaminated or clotted samples should not be used.
5. With the slide method, unspecific reactions might appear due to drying of the reaction-formation or if the slide is heated.
6. Due to variability of antigen expression, reactivity of this reagent against certain phenotypes may produce a weaker reaction compared to control cells.
7. No one specific antiserum or technique can be guaranteed to detect all rare, weak or variant antigens ².

PERFORMANCE






In compliance with Common Technical Specifications (CTS Commission Decision of 03. February 2009) a performance evaluation was conducted. Different samples (donor, patient, panel blood) was used and compared with other products.

| Product | Positive | False negative | Sensitivity | Negative | False positive | Specificity |
|--|----------|----------------|-------------|----------|----------------|-------------|
| Anti-E monoclonal, human IgM clones: MS-258, 906 | 327 | 0 | 100% | 908 | 0 | 100% |


LITERATURE




1. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)
2. CLSI, I/LA33-A Validatin of Automated System for Immunhematological Testing Before Implementation; Approved Guidline CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE Dezember 2009
3. Peter D. Issit, David J. Anstee Applied Blood Group Serology, fourth edition, Montgomery Scientific Publications 1998
4. Christian Mueller-Eckhardt, Volker Kiefel Transfusionsmedizin, 3. Auflage, Springer-Verlag 2004.

SYMBOL - LEGENDE

| | | | |
|---|--|---|---|
|  Store from - to | REF Product Code |  Expiration Date |  Manufacturer as to 98/79/EU |
| LOT Lot | CLON Clone(s) | IVD In vitro diagnostic medical device |  EU CE-symbol |
| UDI Unique Device Identification |  Consult Instrucion for use | | |

731-22-0516 Version 016 / 01.07.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Germany

 +49 (0) 6223/ 8661-0  +49 (0) 6223/ 8661-13  gara@antitoxin-gmbh.de

ISTRUZIONI PER L'USO

Anti-E (RH3), monoclonal IgM (human)

REF 690291A

USO PREVISTO

L'Antisiero Monoclonale agglutinante Anti-E è preparato da sovranatanti di colture di linee cellulari di etero-ibridomi. Le cellule secernono un anticorpo di tipo IgM, che reagisce specificamente con il corrispondente antigene. L'anticorpo è una proteina umana. Il reagente viene impiegato per l'analisi qualitativa in vitro della presenza o assenza dell'antigene del gruppo sanguigno E su eritrociti umani.

L'uso di questo antisiero deve essere fatto unicamente da personale tecnico qualificato.

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

Le procedure utilizzate con questo reagente sono basate sul principio dell'agglutinazione. Gli eritrociti umani, che possiedono il corrispondente antigene, agglutinano in presenza dello specifico anticorpo diretto contro l'antigene.

REAGENTI

Il reagente del gruppo sanguigno indicato contiene anticorpi de seguente clones:

Anti-E monoclonal, human IgM clones: MS-258, 906

Il reagente contengono <0.1% (w/v) di Sodio Azide come conservante. Oltre alla componente di anticorpi attiva, questo reagente contiene anche cloruro di sodio, macromolecole e albumina bovina, che sono stati testati e certificati dagli ispettori del servizio veterinario statunitense.

AVVERTENZE: Questo reagente è preparato da sovranatanti di colture cellulari. Come tutti i prodotti biologici deve essere trattato come materiale potenzialmente infettivo a causa della impossibilità di escludere totalmente il pericolo di trasmissione di malattie. Il reagente contiene Sodio Azide possono essere tossici e possono reagire con piombo o rame formando sali ad alto potenziale esplosivo. Durante lo smaltimento, sciacquare abbondantemente con acqua. Per i motivi di cui sopra questo reagente deve essere maneggiato con la dovuta cautela.

CONSERVAZIONE

Conservare (chiuso non ancora usato/chiuso già usato) da +2 a +8 °C. Tenere a temperatura di laboratorio mentre sono in uso. Conservare ed utilizzare il reagente solamente fino alla data di scadenza segnalata.

NOTE

1. In ogni sessione di test devono essere eseguiti controlli positivi e negativi.
2. Una conservazione inadeguata diminuisce l'efficacia del reagente.
3. La debole torbidità del reagente non influisce sulla sua reattività. Evitare la contaminazione batterica e chimica del prodotto. Se viene rilevato un cambiamento visibile, interrompere l'uso del reagente. Potrebbe trattarsi di un segno di contaminazione microbiologica.
4. Il grado di reazione positiva dipende anche dal periodo di conservazione del campione utilizzato.
5. Una centrifugazione molto differente da quella consigliata può causare risultati non adeguati.
6. Le procedure sotto descritte si riferiscono all'esecuzione manuale dei test. Qualora impieghino sistemi automatici o semiautomatici, i laboratori sono tenuti a seguire le istruzioni del produttore del dispositivo e a eseguire le convalide secondo procedimenti riconosciuti.
7. Per l'uso di questo antisiero va osservate tutte le leggi nazionali, direttive e linee guida in vigore. In Germania la „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“¹ nella versione attuale.

PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

1. I campioni di sangue devono essere raccolti secondo una procedura medica approvata.
2. I campioni di sangue da testare devono essere utilizzati il prima possibile Dopo il prelievo di sangue, in modo da ridurre il rischio di risultati falsi positivi e falsi negativi a causa della conservazione inadeguata o della contaminazione dei reagenti. Se si verifica un ritardo nel test, i campioni devono essere conservati a una temperatura compresa tra +2 e +8°C. I campioni di sangue anticoagulati con EDTA devono essere analizzati entro 7 giorni e quelli trattati con citrato di sodio entro 14 giorni dal prelievo. Sacca di sangue / Il sangue del donatore può essere testato entro la data di scadenza.

PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Non è richiesta alcuna preparazione del reagente. Utilizzare direttamente il reagente dai flaconi.

PROCEDURA

Materiale non provvisto, ma necessario:

Metodo su Vetrino

1. Vetrino
2. Pipetta Pasteur
3. Bastoncino per miscelare
4. Cronometro

Metodo in Provetta con Centrifugazione

1. Provette, 10 x 75 mm o 12 x 75 mm
2. Micropipetta da 50 µL/100 µL
3. Cronometro
4. Centrifuga
5. Soluzione fisiologica Isotonica (0,85 - 0,9% Cloruro di Sodio)
6. Puntali per micro-pipetta

Metodo in Micropiastra

1. Micropiastra con fondo ad U, se possibile pre-trattata
2. Centrifuga, con possibilità di centrifugazione delle micropiastre
3. Porta-piastre per centrifuga (opzionale)
4. Agitatore per micropiastre (opzionale)
5. Specchio per micropiastre (opzionale)
6. Micropipetta da 50 µL
7. Soluzione fisiologica Isotonica (0,85 - 0,9% Cloruro di Sodio)

Procedura del test

Metodo su Vetrino

1. Usare emazie sedimentate.
2. Porre una goccia (ca. 50 µL) del reagente sul vetrino contrassegnata.
3. Usando una pipetta Pasteur aggiungere una goccia di emazie sedimentate (ca. 50 µL) sul vetrino.
4. Miscelare reagente ed emazie con un bastoncino in maniera circolare di circa 2 cm di diametro.
5. Ruotando dolcemente il vetrino, controllare per agglutinazione entro 1 minuto (la reazione parte in pochi secondi).
6. Registrare il risultato.

Metodo in Provetta con Centrifugazione

1. Preparare una sospensione in soluzione fisiologica al 2 - 5% di emazie (è possibile lavare preventivamente gli eritrociti 1-3 volte con soluzione salina isotonica).
2. Aggiungere 100 µL del reagente in una provetta contrassegnata et quindi aggiungere 100 µL della appropriata sospensione eritrocitaria alla provetta. In alternativa, una goccia = circa 50 µL di sospensione di eritrociti a una goccia = è possibile aggiungere circa 50 µl di siero di prova.
3. Miscelare reagente ed emazie bene con delicatezza.
4. Incubare la provetta a temperatura ambiente per 1-15 Minuti.
5. Centrifugare 1 Minuto a 2.000 rpm (ca. 800 - 1.000 g).
6. Staccare completamente le cellule dal fondo scuotendole delicatamente e verificare macroscopicamente per agglutinazione entro 3 Minuti.
7. Registrare il risultato.

Metodo in Micropiastra

1. Preparare una sospensione in soluzione fisiologica al 2 - 5% di emazie (è possibile lavare preventivamente gli eritrociti 1-3 volte con soluzione salina isotonica).
2. Aggiungere in ogni pozzetto una goccia (ca. 50 µL) del reagente.
3. Aggiungere in ogni pozzetto una goccia (ca. 50 µL) della sospensione eritrocitaria.
4. Agitare la micropiastra su un agitatore per micropiastre.

Note: Raccomandazioni: (1) Agitare da 10 a 30 Secondi con media velocità; (2) Risospensione: da 10 a 30 Secondi con media velocità e forza adeguata, permettendo una completa risospensione delle emazie senza distruggere i risultati positivi.

5. Centrifugazione della micropiastra. Tempo di centrifugazione consigliato: 30 Secondi a circa 400 x g o quanto è necessario per produrre le migliori reazioni positive con le emazie antigeniche positive, pur avendo ancora una facile risospensione delle emazie antigeniche negative.

Note: La forza di centrifugazione usata dovrebbe essere la forza minima utile a produrre un sedimento con un sovranatante limpido. A causa delle differenze fra le centrifughe utilizzate non può essere suggerita una velocità o durata di centrifugazione ottimale. Ogni laboratorio deve testare e validare la sua attrezzatura per la velocità ed i tempi di centrifugazione ottimali.

6. Posizionare la micropiastra per la lettura.
7. Leggere la micropiastra e documentare i risultati.
8. I test con risultati negativi o dubbi devono essere incubati da 5 a 10 minuti a temperatura ambiente.
9. Ripetere i passi da 5 a 7 dopo l'incubazione a temperatura ambiente.

Note: Tutti i tests dovranno essere risospesi e valutati direttamente dopo la centrifugazione.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

"Attenta rotazione / agitazione" per il metodo su vetrino, di centrifugazione del tubo e in micropiastra:

Risultati Positivi (+): L'agglutinazione visibile di emazie è un risultato positivo ed indica la presenza del corrispondente antigene.

Risultati Negativi (-): Una agglutinazione non visibile degli eritrociti è un risultato negativo ed indica l'assenza del corrispondente antigene.

LIMITI DELLA PROCEDURA

1. Il mancato rispetto delle istruzioni riportate nella sezione „Procedure“ ed „Interpretazione dei risultati“ può produrre risultati non corretti.
2. Se i controlli sono dubbi o non corretti, non può essere raggiunta alcuna conclusione valida per quanto riguarda i risultati.
3. Gli eritrociti trattati con enzimi o l'aggiunta di albumina bovina e/o altre soluzioni proteiche possono dare luogo a reazioni aspecifiche.
4. Campioni di sangue emolizzati, torbidi, contaminati o coagulati non possono essere impiegati nel test.
5. Possono riscontrarsi reazioni aspecifiche da artefatti dovuti all'essiccazione o per il riscaldamento del vetrino.
6. A causa della variabilità degli antigeni, la reattività di questo reagente verso alcuni fenotipi potrebbe dare reazioni più deboli rispetto a quelle ottenute con le emazie di controllo.
7. Non è possibile garantire l'esistenza di un antisiero o di una tecnica specifica per rilevare tutti gli antigeni varianti, deboli o rari.²

PRESTAZIONI











Una valutazione delle prestazioni dei prodotti è stata effettuata in conformità con le Common Technical Specifications (decisione CTS della Commissione, del 3 febbraio 2009). Ci sono stati diversi campioni (del donatore, del paziente, pannelli sangue) sono confrontati e utilizzati con altri prodotti. I valori diagnostici calcolati per questo studio sono:

| Prodotto | Positivo | Falso negativo | Sensibilità | Negativo | Falso positivo | Specificità |
|--|----------|----------------|-------------|----------|----------------|-------------|
| Anti-E monoclonal, human IgM clones: MS-258, 906 | 327 | 0 | 100% | 908 | 0 | 100% |

LETTERATURA




1. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)
2. CLSI, I/LA33-A Validatin of Automated System for Immunhematological Testing Before Implementation; Approved Guideline CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE Dezember 2009
3. Peter D. Issit, David J. Anstee Applied Blood Group Serology, 4. edition, Montgomery Scientific Publications 1998
4. Christian Mueller-Eckhardt, Volker Kiefel Transfusionsmedizin, 3. Auflage, Springer-Verlag 2004.

SIMBOLI

| | | | |
|--|--|---|--|
|  Conservare da..... a..... °C |  Art.- N° Articolo |  Data di scadenza |  Fornitore 98/79/EU |
|  Codice lotto |  Clone |  In-Vitro-Diagnostic |  EU CE-symbol |
|  Unique Device Identification |  Consultare le istruzioni per l'uso | | |

731-22-0516 Versione 016 / 01.07.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Germania

 +49 (0) 6223/ 8661-0  +49 (0) 6223/ 8661-13  gara@antitoxin-gmbh.de