

## GEBRAUCHSANWEISUNG (DE)

### Anti-K (KEL1), monoclonal IgM (human) OrthoClone

**REF** 690461A

#### ZWECKBESTIMMUNG

Monoklonal agglutinierendes Anti-K (KEL1)-Testserum wird aus Zellkulturüberständen einer Hetero-Hybridoma-Zelllinie gewonnen, die Antikörper vom IgM-Typus sezerniert, 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 K auf menschlichen Erythrozyten verwendet. Die beschriebenen Verfahren gelten für die aufgeführten manuellen Methoden und für die Anwendung mit Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassetten auf den Automaten ORTHO VISION™ Analyzer und ORTHO AutoVue® Innova.

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 Agglutinationstechnik. Normale menschliche Erythrozyten, die das entsprechende Antigen tragen, werden durch den korrespondierenden Antikörper agglutiniert.

#### TESTSEREN

Das aufgeführte Blutgruppentestserum wird von dem folgenden Zellklon produziert:

Anti-K (KEL1) monoclonal, human IgM clone: AEK-4

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 Inspectoren überprüft und zertifiziert wurde.

**WARNUNG:** Dieses Testserum wurde 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 dieses Testserum mit angemessener Sorgfalt gehandhabt werden.

#### LAGERUNG

Bei +2 bis +8 °C (ungeöffnet / angebrochen) lagern, kurzzeitig zur Anwendung auch bei Raumtemperatur. Werden die Geräte ORTHO VISION™ Analyzer oder ORTHO AutoVue® Innova eingesetzt, können die Testseren maximal 5 Tage auf dem Gerät verbleiben (+15 bis +30 °C). Grundsätzlich nur bis zum angegebenen Verfallsdatum lagern und anwenden!

#### HINWEISE

1. Es sollten bei jeder Austestung positive und negative Kontrollen mitgeführt werden.
2. Unsachgemäße Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit des Produktes.
3. Die Reaktionsfähigkeit des Testserums wird durch leichte Trübung nicht beeinträchtigt. Eine bakterielle und chemische Kontamination ist zu vermeiden. Wenn eine sichtbare Veränderung des Testserums festgestellt wird, kann es auf eine mikrobielle Kontamination hinweisen und das Testserum sollte nicht mehr eingesetzt werden.
4. Die Stärke der positiven Reaktion ist vom Alter des verwendeten Blutes abhängig.
5. Zentrifugieren außerhalb des angegebenen Drehzahl-Bereiches kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Bei der Kartenmethode kann der Einsatz einer anderen kartenspezifischen Zentrifuge (jede Kartenzentrifuge hat seine festgelegte unveränderliche g-Zahl) auf Grund der dadurch veränderten g-Zahl zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
6. Das auszutestende Blut sollte möglichst rasch geprüft werden. Nicht sofort getestetes Blut ist bei +2 bis +8 °C zu lagern. Mit EDTA antikoagulierte Blutproben müssen innerhalb von 7 Tagen und mit Natriumzitrat antikoagulierte Blutproben müssen innerhalb von 14 Tagen nach der Entnahme getestet werden. Konserven/Spenderblute können bis zum Verfallsdatum ausgetestet werden.
7. Die beschriebenen Testmethoden zur Anwendung gelten ausschließlich für manuelle Verfahren. Werden Automaten oder halbautomatische Systeme verwendet, müssen die Labore die Angaben der Gerätehersteller befolgen und Validierungen nach anerkannten Verfahren durchführen.
8. 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)“<sup>1</sup> in ihrer gültigen Fassung.
9. Die Angaben zum Einsatz der Testkarten, in der zugehörigen Gebrauchsinformation, sind unbedingt zu beachten.

#### VORBEREITUNG DER TESTSEREN

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

#### VERFAHRENSWEISE

Nicht im Lieferumfang enthaltene, aber benötigte Materialien bei der:

##### Röhrenmethode

1. Teströhrchen, 10 x 75 mm oder 12 x 75 mm
2. Mikrotiterpipette für 50µL/100 µL
3. Kurzzeitwecker
4. Zentrifuge
5. Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)
6. Einweg Pipettenspitzen

##### Mikrotiterplattenmethode

1. Mikrotiterplatte mit U-Boden, ggf. vorbehandelt
2. Laborzentrifuge, die Mikrotiterplatten(-träger) aufnehmen kann
3. Mikrotiterplattenträger für Zentrifugen (optional)
4. Mikrotiterplatten-Schüttler
5. Ablesespiegel für Mikrotiterplattentests (optional)
6. Teströhrchen, 10 x 75 mm oder 12 x 75 mm
7. Mikrotiterpipette für 50 µL
8. Kurzzeitwecker
9. Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9 % Natriumchlorid)
10. Einweg-Pipettenspitzen

##### Verwendung von Ortho BioVue® Kassetten

1. Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassetten
2. Isotonische Kochsalzlösung (0,85-0,9 % Natriumchlorid)
3. Teströhrchen, 10 x 75 mm oder 12 x 75 mm
4. Mikrotiterpipette für 10 µL, 40 µL und 50 µL
5. Einweg-Pipettenspitzen
6. Kurzzeitwecker
7. Zentrifuge
8. Ortho BioVue® System Arbeitsstände
9. Ortho BioVue® System Zentrifuge

#### Testdurchführung

##### Röhrchen-Zentrifugationstest

1. 2-5%ige Erythrozytensuspensionen in isotonischer Kochsalzlösung vorbereiten. (Erythrozyten können vorab 1-3 mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
2. In ein beschriftetes Teströhrchen als erstes 100 µL des entsprechenden Testserums 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.
3. Die Erythrozyten-/Testserummischung durch leichtes Schütteln mischen.
4. Teströhrchen 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
5. Teströhrchen 1 Minute bei 2.000 U/min (ca. 800 - 1.000 g) zentrifugieren.
6. Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig vom Röhrchenboden lösen und innerhalb von 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
7. Ergebnis protokollieren.

##### Mikrotiterplattentest

1. 2-5%igen Erythrozytensuspensionen in isotonischer Kochsalzlösung vorbereiten. (Erythrozyten können vorab 1-3 mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
2. In eine beschriftete Vertiefung einen Tropfen (ca. 50 µL) des entsprechenden Testserums geben.
3. In die Testkavität einen Tropfen (ca. 50 µL) der entsprechenden Erythrozytensuspension zugeben.
4. Die Erythrozyten-/Testserummischung in der Mikrotiterplatte auf einem Mikrotiterplatten-Schüttler schütteln.  
HINWEIS: Empfohlene Dauer für mechanische Schüttler:  
(1) Mischen: 10 bis 30 Sekunden bei mittlerer Schüttelstärke;  
(2) 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.
5. Zentrifugieren Sie die Platte.  
Vorgeschlagene Zentrifugationsdauer: 30 Sekunden bei ca. 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-/Testserummischung angewandte Zentrifugalkraft sollte die minimale Kraft sein, mit der ein Erythrozytenknopf und ein klarer Überstand erzeugt werden können. 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.

6. Lösen Sie die Erythrozytenknöpfe auf dem Schüttler und positionieren Sie die Platte für das Ablesen.
7. Lesen Sie das Ergebnis ab und protokollieren Sie es.
8. Inkubieren Sie die Tests mit negativen oder fraglichen Ergebnissen 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.

## Manuelle Testmethode in Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassetten

Das im Folgenden geschilderte Verfahren gilt ausschließlich für die manuelle Testdurchführung mit Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassetten. Beachten Sie bitte in der Gebrauchsanweisung für Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassetten die Abschnitte LAGERUNG, VORSICHTSMASSNAHMEN, PROBENENTNAHME und -VORBEREITUNG, VORBEREITUNG DER TESTSEREN sowie INTERPRETATION DER ERGEBNISSE und - soweit zutreffend – BEGRENZUNG DES VERFAHRENS.

- Zur Vorbereitung der Kassetten befolgen Sie bitte in der Gebrauchsanweisung für Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassetten den Abschnitt „Testdurchführung“ Punkt 1 und 2.
- 3-5%ige Erythrozytensuspensionen in isotonischer Kochsalzlösung vorbereiten. (Erythrozyten können vorab 1-3 mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
- 10 µL der entsprechenden 3-5%igen Erythrozytensuspension in die beschriftete Reaktionskammer der Kassette geben.
- 40 µL des entsprechenden Testserums in die Reaktionskammer zugeben. (Berühren Sie mit der Pipettenspitze nicht den Rand der Reaktionskammer. Sollte dies dennoch passieren, wechseln Sie bitte die Pipettenspitze, bevor Sie die nächste Reaktionskammer befüllen.)
- Zentrifugieren Sie die Kassette mit der Ortho BioVue® System Zentrifuge, mit der, für die Zentrifuge unveränderliche g-Zahl.  
**HINWEIS:** Die Zentrifugation muss innerhalb von 30 Minuten nach Zugabe der Proben in die Reaktionskammern erfolgen.
- Nach Beendigung des Tests überprüfen Sie die Vorder- und Rückseite der einzelnen Säulen auf Agglutination und/oder Hämolyse.
- Die Reaktionsstärke von der Seite mit dem ausgeprägteren positiven Ergebnis protokollieren.

## Test in Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassetten mit den Automaten ORTHO VISION™ Analyzer oder ORTHO AutoVue® Innova

Bitte befolgen Sie die Anweisungen in dem Benutzerhandbuch des jeweiligen Gerätes.

### INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

„Vorsichtiges Schütteln“ bei der Röhren-Zentrifugationsmethode, sowie bei 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.

**Kassetten:** Zur Beurteilung der Ergebnisse in Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassetten bei der manuellen Methode befolgen Sie bitte den Abschnitt „INTERPRETATION DER ERGEBNISSE“ in der zugehörigen Gebrauchsanweisung. Bei den Automaten erfolgt die Ablesung und Auswertung durch das Gerät.

### GRENZEN DER METHODE

- Ungenauigkeiten bei der Einhaltung der Anweisungen in den Abschnitten „Testdurchführung“ und „Interpretation der Testergebnisse“ können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Mitgeführte Kontrollen mit nicht eindeutigen oder falschen Ergebnissen führen automatisch zur nicht Verwertbarkeit aller Ergebnisse.
- Enzymbehandelte Erythrozyten oder die Zugabe von Rinderalbumin und/oder anderer proteinhaltiger Lösungen können mit diesem Testserum zu unspezifischen Reaktionen führen.
- Hämolytierte, trübe, kontaminierte oder geronnene Blutproben dürfen nicht eingesetzt werden.
- Aufgrund der unterschiedlichen Ausprägung der Antigene kann es bei bestimmten Phänotypen mit diesem Reagenz zu einer schwächeren Reaktion kommen als mit Kontrollerythrozyten.
- Kein einzelnes Testserum oder eine einzelne Methode kann garantieren alle seltenen oder schwachen Antigene und alle Varianten der Antigene zu detektieren.<sup>2</sup>
- Bei Erythrozyten, die mit Alloantikörpern oder Autoantikörpern derselben oder einer ähnlichen Spezifität wie das Testserum sensibilisiert sind (z.B. Erythrozyten positiv im direkten Antiglobulintest), sind für diese Austestungen ungeeignet.
- Bei Erythrozyten mit positivem direktem Coombs-Test kann es in der Kassetten-Technik zu falsch positiven Ergebnissen kommen. Diese Zellen reagieren auch ohne Testserum positiv.
- Beachten Sie Angaben zu Grenzen in der Gebrauchsanweisung von eingesetzten Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassetten und im Benutzerhandbuch des verwendeten Automaten.

### 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.

	Anzahl der getesteten Proben	Proben pos mit Anti-K	Spezifität	Proben neg mit Anti-K	Sensitivität
Röhrchen / Mikrotiterplatte	310	196	100%	114	100%
Handmethode BioVue®	142	42	100%	100	99,47%
AutoVue®	102	16	100%	86	100%

### LITERATUR




- Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blut-produkten (Hämotherapie)
- CLSI, I/LA33-A - Validatin of Automated System for Immunhematological Testing Before Implementation; Approved Guideline CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE Dezember 2009
- Peter D. Issit, David J. Anstee Applied Blood Group Serology, fourth edition, Montgomery Scientific Publications 1998
- 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 / Charge	 Gebrauchsinformation beachten	 In-vitro- Diagnostikum	 EG CE-Symbol

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental

730-22-0813 Version 013 / 01. Oktober2020

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

## INSTRUCTIONS FOR USE (EN)

### Anti-K (KEL1), monoclonal IgM (human) OrthoClone

**REF** 690461A

#### INTENDED USE

Monoclonal agglutinating Anti-K (KEL1) reagent is produced from cell culture supernatants of a hetero-hybridoma-cell line. The cells secrete an antibody of IgM-type which reacts specific with the corresponding blood group antigen. The antibody is human protein. The reagent is used for In-Vitro-Diagnostic, to determine qualitative whether human red blood cells possess or lack the corresponding blood group antigen K. The procedures described are for the listed manual methods and application with Ortho BioVue® Reverse Diluent cassettes on the ORTHO VISION™ Analyzer and ORTHO AutoVue® Innova.

The test serum is intended to be used by qualified 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 contain antibody of the following clone:

Anti-K(KEL1) monoclonal, human IgM clone: AEK-4

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

**CAUTION:** This reagent is 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 reagent contain sodium azide, which may be toxic and may react with lead or copper to form highly explosive salts.

On disposal, flush with large quantities of water. For the reasons mentioned above please handle reagent with proper care.

#### STORAGE REQUIREMENTS

Store at +2 to +8 °C (unopened / opened), or shortly at room temperature while in use. If the devices ORTHO VISION™ Analyzer or ORTHO Auto Vue® Innova are used, the reagent may remain a maximum of 5 days on the device (+15 bis +30 °C). Do not use reagent beyond the stated 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, this sign may indicate a microbiological contamination, the reagent should no longer be use.
4. Strength of positive reactions also depends on age of blood used.
5. Centrifugation outside the specified speed range may lead to false results. With the card method, the use of another card-specific centrifuge (each card centrifuge has its specified unchangeable g-force) may lead to false results due to the changed g-force.
6. Blood samples to be tested should be used as soon as possible. If a delay in testing occurs, samples should be stored at +2 to +8 °C. Blood drawn into EDTA should be tested within 7 days and sample drawn into natrium citrate within 14 days after collection. Blood bag / Donor Blood can be tested until the expiry date.
7. The procedure identified below is 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.
8. 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)“<sup>1</sup> in its current version.
9. The information on the use of the Ortho BioVue® Reverse Diluent Test-Kassette in the associated instructions must be observed.

#### REAGENT PREPARATION

There is no specific preparation of the reagent required. Take and use reagent directly from the vial.

#### PROCEDURE

Material required but not provided:

Tube Centrifugation Method

1. Test tubes, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm
2. Pipettes designed to deliver 50µL/100 µL
3. Timer
4. Centrifuge
5. Isotonic saline (0,85 - 0,9% sodium chloride)
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. Test tubes, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm
7. Pipette for 50 µL
8. Timer
9. Isotonic saline (0.85 - 0.9 % sodium chloride)
10. Disposable pipette tips

Application of BioVue® Cassettes

1. Ortho BioVue® Reverse Diluent Cassettes
2. Isotonic saline (0,85 - 0,9 % sodium chloride)
3. Test tubes, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm
4. Mikroliter pipette for 10 µL, 40 µL and 50 µL
5. Disposable pipette tips
6. Timer
7. Centrifuge
8. Ortho BioVue® System Work Rack
9. Ortho BioVue® System centrifuge

#### Test procedure

##### Tube Centrifugation Method

1. Prepare 2% to 5% suspensions of red blood cells in isotonic saline only (red blood cells may be washed one time or up to three times with isotonic saline).
2. At first put 100 µL of appropriate 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 well by slightly shaking.
4. Incubate tube at room temperature for 15 min.
5. Centrifugation of tube for 1 minute at 2.000 rpm (approximately 800-1.000 g).
6. Gently resuspend the red cells and within 3 minutes check macroscopically for agglutination.
7. Document the result.

##### Microplate Method

1. Prepare 2% to 5% suspensions of red blood cells in isotonic saline (red blood cells may be washed one time or up to three times with isotonic saline).
2. Add one drop (approximately 50 µL) of appropriate reagent into a marked well.
3. Add one drop (approximately 50 µL) of cell suspension into the 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 cannot be recommended. Each laboratory has to test and validate its equipment for speed and duration to obtain best results.
6. Resuspend the erythrocytes buttons with 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.
10. Repeat steps 5 to 7 after incubation at room temperature.
 

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

##### Manual Test Method in Ortho BioVue® Reverse Diluent Cassettes

The procedure described below is for manual Ortho BioVue® Reverse Diluent Cassettes testing only. Please refer to the instructions for use of the Ortho BioVue® Reverse Diluent Cassettes, sections STORAGE REQUIREMENT, PRECAUTIONS, SPECIMEN COLLECTION and PREPARATION, REAGENT PREPARATION and INTERPRETATION OF RESULTS, as well as -where applicable- LIMITATIONS OF THE PROCEDURE.

1. For preparation of the cassettes, please refer to the instructions for use for Ortho BioVue® Reverse Diluent Cassettes, chapter „PROCEDURE“ point 1 and 2.
2. Prepare 3 % to 5% suspensions of red blood cells in isotonic sodium chloride solution. (red blood cells may be washed one time or up to three times with isotonic saline)
3. Add 10 µL of a appropriate 3 to 5% red blood cell suspension to the marked reaction chamber of the cassette.
4. Add 40 µL appropriate reagent to the appropriate reaction chambers of the cassette.  
(The pipette tips shall not contact the rim of the reaction chambers. If this should adversely happen, please replace the tip with a new one, before you will fill the next reaction chamber.)

5. Centrifuge the cassette in the Ortho BioVue® System centrifuge with the for this centrifuge unchangeable g-force.  
**Note:** Centrifugation must be performed within 30 minutes after addition of specimens to the reaction chambers.
6. After completion of test, read each column from the cassette's front and rear sides for agglutination and/or hemolysis.
7. Protocol the final test result from the cassette side with the more clearly expressed positive reading.

**Test in Ortho BioVue® Reverse Diluent Cassettes on ORTHO VISION™ Analyzer or ORTHO AutoVue® Innova**

Please follow the instructions in the user manual of the respective analyzer.

### INTERPRETATION OF RESULTS

"Slightly shaking" at Tube Centrifugation Method and using a microplate shaker at 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.

**Cassettes:** As for the manual method, for interpretation of results, please refer to the instructions for use of Ortho BioVue® Reverse Diluent Cassettes, chapter „INTER-PRATATION OF RESULTS“.  
 As for analyzers, reading and interpretation is effected automatically by each device.

### 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 blood samples must not be used in this test.
5. Due to variability of antigen expression, reactivity of this reagent against certain phenotypes may produce a weaker reaction compared to control cells.
6. No one specific antiserum or technique can be guaranteed to detect all rare, weak or variant antigens <sup>2</sup>.
7. Red blood cells coated with alloantibodies or autoantibodies of the same or similar specificity as the reagent (i.e., cells that are positive in the direct antiglobulin-test [DAT]) may not suitable for this test procedure.
8. Red blood cells coated with antibodies (cells that are positive in the direct antiglobulin-test (DAT)) may give false-positive results in cassettes method. These cells react positive without reagent too.
9. Pay attention to all statements to limitations in inserts of used Ortho BioVue® Reverse Diluent Cassettes and the user manual of respective analyzer.

### PERFORMANCE









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

	Number of specimens tested	Specimens pos with Anti-K	Specificity	Specimens neg with Anti-K	Sensitivity
Tube / Mikroplate	310	196	100%	114	100%
Manual BioVue®	142	42	100%	100	99,47%
AutoVue®	102	16	100%	86	100%

### LITERATURE




1. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blut-produkten (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, fourth edition, Montgomery Scientific Publications 1998
4. Christian Mueller-Eckhardt, Volker Kiefel Transfusionsmedizin, 3. Auflage, Springer-Verlag 2004.

### LEGEND OF SYMBOLS

 Store from - to	 REF	Product Code	 Expiration Date	 Manufacturer as to 98/79/EU
 LOT	 i	Observe instructions for use	 IVD	 CE EU CE-symbol

 Antitoxin GmbH, Industriestrasse 88, 69245 Bammental

730-22-0813 Version 013 / 01 October 2020

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

## ISTRUZIONI PER L'USO (IT)

### Anti-K (KEL1), monoclonal IgM (human) OrthoClone

**REF** 690461A

#### USO PREVISTO

Il reagente monoclonale agglutinante Anti-K (KEL1) è ricavato da supernatanti di colture cellulari di una linea cellulare di eteroidridoma che secreta anticorpi di tipo IgM specifici per l'antigene corrispondente. L'anticorpo in questo caso è la proteina umana. Il reagente viene impiegato per l'analisi qualitativa in vitro della presenza o assenza dell'antigene del gruppo sanguigno K su eritrociti umani. Le procedure individuate sono per i metodi manuali quotati e applicazione delle cassette BioVue® Reverse Diluent sulle seguenti macchine ORTHO VISION™ Analyzer e ORTHO AutoVue® Innova. L'uso dell'antisiero deve essere fatto solamente da personale tecnico qualificato.

#### PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

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

#### REAGENTI

Il reagente del gruppo sanguigno è prodotto dal seguente clone:

Anti-K (KEL1) monoclonal, human IgM clone: AEK-4

Il reagente contiene <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. I reagenti contenenti 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 ambiente mentre sono in uso. Se utilizzate i dispositivi ORTHO VISION™ Analyzer o ORTHO AutoVue® Innova, i reagenti può rimanere nel dispositivo fino a 5 giorni (da +15 a +30 °C). Conservare ed utilizzare i reagenti solamente fino alla data di scadenza.

#### NOTE

- In ogni sessione di test devono essere eseguiti controlli positivi e negativi.
- Una conservazione inadeguata compromette l'efficacia del reagente.
- La debole torbidità del reagente non influisce sulla sua reattività. Evitare la contaminazione batterica e chimica del prodotto. Se viene rilevato un cambiamento visibile, potrebbe trattarsi di un segno di contaminazione microbiologica e il reagente non deve più essere utilizzato.
- La forza delle reazioni positive dipende anche dall'età del sangue usato.
- Una centrifugazione molto differente da quella consigliata può causare risultati non adeguati. Con il metodo della scheda l'uso di un'altra centrifuga per scheda specifica (ogni centrifuga per schede ha la sua specifica forza g non modificabile) può portare a risultati falsi a causa della forza g modificata.
- I campioni di sangue da testare devono essere testati quanto prima. Se vengono testati in tempi successivi, devono essere conservati tra +2 ed +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.
- Le procedure sotto descritte si riferiscono all'esecuzione manuale dei test e strumentazioni automatiche. Utilizzando altri strumentazioni automatiche o semi-automatiche, seguire le procedure contenute nei manuali forniti dal produttore dello strumento. I laboratori devono seguire procedure di validazione approvate.
- Per l'utilizzo di questo reagente è necessario rispettare tutte le leggi, direttive e linee guida nazionali vigenti. In Germania in particolare le "Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)"<sup>1</sup> nella versione attuale.
- Le informazioni sull'uso della cassetta per test del diluente inverso Ortho BioVue® nelle relative istruzioni per l'uso devono essere rispettate.

#### PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Non è necessario eseguire una preparazione del reagente. Il siero vengono prelevati direttamente dalle provette e utilizzati.

#### PROCEDURA

Materiale necessario ma non fornito:

Metodo in Provetta con Centrifugazione

- Provette, 10 x 75 mm o 12 x 75 mm
- Micropipetta da 50µL/100 µL
- Cronometro
- Centrifuga
- Soluzione fisiologica isotoni (0,85 - 0,9% Cloruro di Sodio)
- Puntali per micropipetta

Metodo in Micropiastrella

- Micropiastrella con fondo ad U, se possibile pre-trattata
- Centrifuga, con possibilità di centrifugazione delle micropiastre
- Porta-piastre per centrifuga (opzionale)
- Agitatore per micropiastre
- Specchio per micropiastre (opzionale)
- Provette, 10 x 75 mm o 12 x 75 mm
- Micropipetta da 50 µL
- Cronometro
- Soluzione fisiologica Isotonica (0,85 - 0,9% Cloruro di Sodio)
- Puntali per micropipetta

Utilizzare Cassette Ortho BioVue®

- Cassette Ortho BioVue® Reserve Diluent
- Soluzione fisiologica isotonica (0,85 - 0,9% Cloruro di Sodio)
- Provette, 10 x 75 mm o 12 x 75 mm
- Micropipetta da 10 µL, 40 µL e 50 µL
- Puntali per micropipetta
- Cronometro
- Centrifuga
- Stazione di lavoro Ortho BioVue® System
- Centrifuga Ortho BioVue® System

#### Procedura del test

##### Metodo in Provetta con Centrifugazione

- Preparare sospensioni eritrocitaria in soluzione fisiologica al 2-5% di emazie (è possibile emazie lavate da una a tre volte con soluzione fisiologica isotonica).
- Aggiungere prima 100 µL del reagente di prova appropriato in una provetta etichettata e quindi aggiungere 100 µL della sospensione eritrocitaria appropriata. In alternativa una goccia ± circa 50 µL, della appropriata sospensione eritrocitaria può essere aggiunta a una goccia ± circa 50 µL di siero di prova.
- Mescolare bene agitando leggermente.
- Incubare la provetta a temperatura ambiente per 15 Minuti.
- Centrifugare 1 Minuto a 2.000 rpm (ca. 800 - 1.000 g).
- Staccare delicatamente i globuli rossi dal fondo della provetta e, entro 3 minuti, controllare macroscopicamente l'agglutinazione.
- Registrare il risultato.

##### Metodo in Micropiastrella

- Preparare sospensioni eritrocitaria in soluzione fisiologica al 2-5% di emazie (è possibile emazie lavate da una a tre volte con soluzione fisiologica isotonica).
- Aggiungere in pozzetto contrassegnata una goccia (ca. 50 µL) della sospensione eritrocitaria.
- Aggiungere in pozzetto una goccia (ca. 50 µL) del reagente.
- Agitare la micropiastrella 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.
- Centrifugazione della micropiastrella.  
Tempo di centrifugazione consigliato: 30 Secondi a circa 400 x g o quanto è necessario per produrre le migliori reazioni positive con le emazie antigene positive, pur avendo ancora una facile risospensione delle emazie antigene 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.
- Allentare i pulsanti eritrociti sul shaker e posizionare la micropiastrella per la lettura.
- Leggere la micropiastrella e documentare i risultati.
- I test con risultati negativi o dubbi devono essere incubati da 5 a 10 minuti a temperatura ambiente.
- Ripetere i passi da 5 a 7 dopo l'incubazione a temperatura ambiente.
- Note: Tutti i tests dovranno essere rispesi e valutati direttamente dopo la centrifugazione.



## Methodo di Test Manuale in Cassette Ortho BioVue® Reverse Diluent

Il metodo descritto di seguito è valido unicamente per analisi manuale sulle cassette Ortho BioVue®. Fare per favore riferimento alle istruzioni per l'uso delle Cassette Ortho BioVue® Reverse Diluente, sezione MODALITÀ DI CONSERVAZIONE, PRECAUZIONI, PRELIEVO E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE, PREPARAZIONE DEI REAGENTI e INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI, AL MEGLIO - DOVE APPLICABILE - LIMITI DELLA PROCEDURA.

1. Per la preparazione delle cassette, fare riferimento alle istruzioni per l'uso delle Cassette Ortho BioVue® Reverse Diluent, capitolo "PROCEDURA" punto 1 o 2.
2. Preparare sospensioni eritrocitaria in soluzione fisiologica al 3-5% di emazie. (è possibile emazie lavate da una a tre volte con soluzione fisiologica isotonica).
3. Aggiungere 10 µL della appropriata sospensione eritrocitaria al 3-5% del campione in esame alla appropriata camera di reazione della cassetta.
4. Aggiungere 40 µL di appropriata antisiero nella colonna di reazione.

Il puntale non deve venire a contatto con la camera di dispensazione. Se questo avviene è indispensabile sostituire il puntale stesso prima di passare alla dispensazione successiva. Qualora si dispensino antisieri di specificità differente occorre altresì cambiare il puntale monouso della pipetta.

5. Centrifugare le cassette nella centrifuga Ortho BioVue® System per schede con la forza g non modificabile per questa centrifuga.

**Note:** La centrifugazione deve essere eseguita entro 30 minuti dal momento dell'aggiunta dei campioni nella camera di reazione.

6. Al termine del test, leggere ogni colonna della cassetta da entrambi i lati per rilevare agglutinazione e/o emolisi.

7. Registrare il risultato finale del test considerando la faccia della cassetta che ha espresso il risultato positivo più evidente.

## Tests in Cassette Ortho BioVue® Reverse Diluent su ORTHO VISION™ Analyzer o ORTHO AutoVue® Innova

Si prega di seguire le istruzioni nel manuale utente del rispettivo dispositivo.

## INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Metodo in Provetta con Centrifugazione e Metodo in Micropietra:

**Risultati Positivi (+):** L'agglutinazione visibile di emazie è un risultato positivo ed indica la presenza dei corrispondenti antigeni.

**Risultati Negativi (-):** Una agglutinazione non visibile degli eritrociti è un risultato negativo ed indica l'assenza degli antigeni corrispondenti.

Cassette:

Per l'interpretazione dei risultati in cassette Ortho BioVue® Reverse nel metodo manuale, fare riferimento alle istruzioni per l'uso delle cassette, capitolo "INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI". Per gli analizzatori, la lettura e l'interpretazione viene effettuata automaticamente da ogni dispositivo.

## 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. A causa delle diverse espressioni degli antigeni, è possibile che in determinati fenotipi questi reagenti determini una reazione più debole che con eritrociti di controllo.
6. Non è possibile garantire l'esistenza di un antisiero o di una tecnica specifica per rilevare tutti gli antigeni varianti, deboli o rari.<sup>2</sup>
7. È possibile che in eritrociti sensibilizzati con alloanticorpi o autoanticorpi di specificità pari o simile a quella del reagente (per es. eritrociti positivi al test diretto dell'antiglobulina) non sono adatti per questo test.
8. Gli eritrociti con un test di Coombs diretto positivo possono causare reazioni di falso-positivo nel metodo in schedina.
9. Prestare attenzione a tutte le indicazioni per le limitazioni in inserti di Ortho BioVue® Reverse Diluent Cassette utilizzate e il manuale utente del analizzatore rispettivo.

## 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 Metodi di riferimento / prodotti.

	Numero di campioni testati	Campioni pos con Anti-K	Specificità	Campioni neg con Anti-K	Sensibilità
Provetta / Micropietra	310	196	100%	114	100%
Manualmente BioVue®	142	42	100%	100	99,47%
AutoVue®	102	16	100%	86	100%

## LETTERATURA




1. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blut-produkten (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, fourth edition, Montgomery Scientific Publications 1998
4. Christian Mueller-Eckhardt, Volker Kiefel Transfusionsmedizin, 3. Auflage, Springer-Verlag 2004.

## SIMBOLI

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

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental

730-22-0813 Version 013 / 01 Ottobre 2020

 +49 (0) 6223/ 8661-0  +49 (0) 6223/ 8661-13  [qara@antitoxin-gmbh.de](mailto:qara@antitoxin-gmbh.de)

# INSTRUKCJA UŻYCIA (PL)

## Anti-K (KEL1), monoklonalny IgM (ludzki) OrthoClone

REF 690461A

### PRZEZNACZENIE

Surowica monoklonalne anti-K testowa uzyskiwane są z supernatantów hodowli komórkowych linii komórkowych heterohybridoma wydzielających przeciwciała typu IgM skierowane swoiście przeciwko odpowiednim antygenom grup krwi. Przeciwciała w każdym przypadku jest ludzkim białkiem. Surowica testowa są stosowane do jakościowego wykrywania in vitro obecności lub braku antygenów grupy krwi K na ludzkich erytrocytach. Opisane procedury odnoszą się do wymienionych metod manualnych oraz do stosowania kaset Ortho BioVue® Reverse Diluent w analizatorach ORTHO VISION™ i ORTHO AutoVue® Innova.

Użycie ta surowica testowa jest przeznaczone wyłącznie dla wykwalifikowanego i przeszkolonych specjalistów.

### ZASADA POSTĘPOWANIA

Metody testowe stosowane w przypadku tej produktowa oparte są na zasadzie aglutynacji. Normalne ludzkie erytrocyty nosące odpowiedni antygen są aglutynowane przez odpowiednie przeciwciała.

### SUROWICE TESTOWE

Wymieniona surowica do badania grup krwi są produkowane z następujących klonu komórkowych:

Anti-K (KEL1) monoclonal, human IgM clone: AEK-4

Surowica testowa zawierają <0,1% (w/v) azydku sodu jako środka konserwującego. Oprócz aktywnego składnika przeciwciała, surowica testowa zawierają chlorek sodu, dużą masę cząsteczkową Związki i albumina wołowa, która została skontrolowana i certyfikowana przez inspektorów amerykańskich służb weterynaryjnych.

**OSTRZEŻENIE:** Ta surowica testowa są produkowane z supernatantów hodowli komórkowych. Niezależnie od tego ten produkt biologiczne należy traktować jako potencjalnie zakaźne ze względu na ryzyko wystąpienia patogenów, którego nigdy nie można całkowicie wykluczyć. Surowica testowa zawierają azydki sodu, który może być toksyczny i tworzyć wybuchowe sole z ołowiem lub miedzią. Przy usuwaniu spłukać dużą ilością wody. Z powyższych powodów, surowica testowa powinny być traktowane z odpowiednią ostrożnością.

### PRZECHOWYWANIE

Przechowywać w temperaturze +2 do +8 °C (nieotwarte / otwarte), przez krótki czas do użycia również w temperaturze pokojowej. Jeżeli używane są urządzenia ORTHO VISION™ Analyzer lub ORTHO AutoVue® Innova, surowica testowa mogą pozostać na urządzeniu przez maksymalnie 5 dni (+15 do +30 °C). Przechowywać i używać tylko do podanej daty ważności!

### NOTATKI

1. Pozytywne i negatywne kontrole powinny być przeprowadzone z każdym testem.
2. Niewłaściwe przechowywanie obniża skuteczność działania produktów.
3. Lekkie zmętnienie nie ma wpływu na reaktywność z wyżej wymienionych surowicy testowej. Należy unikać skażenia bakteryjnego i chemicznego.  
W przypadku wykrycia widocznych zmian w surowicy testowej nie należy jej używać, ponieważ może to wskazywać na zanieczyszczenie mikrobiologiczne.
4. Siła reakcji dodatniej zależy od wieku użytej krwi.
5. Wirowanie poza podanym zakresem prędkości może prowadzić do błędnych wyników. W metodzie kartkowej użycie innej wirówki specyficznej dla danej karty (każda wirówka kartkowa ma swoją stałą, niezmienną liczbę g) może prowadzić do nieprawidłowych wyników z powodu wynikającej z tego zmiany liczby g.
6. Krew do badania powinna być badana możliwie jak najszybciej po jej pobraniu. Krew, która nie jest natychmiast badana, powinna być przechowywana w temperaturze od +2 do +8 °C. Próbkę krwi poddanej antykoagulacji z użyciem EDTA muszą być zbadane w ciągu 7 dni, a próbki poddane działaniu cytrynianu sodu w ciągu 14 dni od pobrania. Krew w puszkach/darowiznach może być badana do upływu terminu ważności.
7. Opisane sposoby postępowania obowiązują tylko dla wymienionych metod ręcznych. Jeżeli stosowane są inne zautomatyzowane lub półautomatyczne systemy, laboratoria muszą postępować zgodnie z instrukcjami producentów sprzętu i przeprowadzać walidacje zgodnie z uznanymi procedurami.
8. Podczas stosowania surowica testowa należy przestrzegać wszystkich obowiązujących krajowych ustaw, rozporządzeń i wytycznych, w Niemczech w szczególności „Wytycznych dotyczących pobierania krwi i składników krwi oraz stosowania produktów krwiopochodnych (hemoterapia) 1 z późniejszymi zmianami.
9. Należy przestrzegać informacji dotyczących stosowania kart kontrolnych zawartych w odpowiednich instrukcjach użytkowania.

### PRZYGOTOWANIE SUROWIC TESTOWYCH

Przygotowanie surowica testowa nie jest konieczne. Surowica są pobierane bezpośrednio z fiolet i wprowadzane.

### PROCEDURA

Materiały nie wchodzące w zakres dostawy, ale niezbędne do wykonania:

Metoda próbówkowa	Metoda płytek mikrotitracyjnych	Ortho BioVue®kasety
1. Probówka, 10 x 75 mm lub 12 x 75 mm	1. Płytki mikrotitracyjne z dnem w kształcie liter w razie potrzeby poddane obróbce wstępnej	1. Kasetki do Reverse Diluent (Rozcieńczalnik Ortho BioVue®)
2. Pipeta mikrolitrowa do 50 µL/100 µL	2. Wirówka laboratoryjna, płytki mikrotitracyjne (nośniki) może pobierać	2. Izotoniczny roztwór soli (0,85-0,9% chlorku sodu)
3. Budzik krótkotermino	3. Wytrząsarka do płytek mikrotitracyjnych	3. Probówka, 10 x 75 mm lub 12 x 75 mm
4. Wirówka	4. Lusterko do odczytu dla testów mikroplakietkowych (opcjonalnie)	4. Pipeta mikrolitrowa do dozowania 10 µL, 40µL i 50µL
5. Izotoniczny roztwór soli (0,85-0,9% chlorku sodu)	5. Probówki 10x75 mm lub 12x75 mm	5. Jednorazowe końcówki do pipet
6. Jednorazowe końcówki do pipet	6. Pipety mikrolitrowe do odmierzenia 50 µL	6. Budzik krótkotermino
	7. Budzik krótkotermino	7. Wirówka
	8. Izotoniczny roztwór soli (0,85 - 0,9 % chlorku sodu)	8. Stanowisko robocze systemu Ortho BioVue®
	9. Izotoniczny roztwór soli (0,85 - 0,9 % chlorku sodu)	9. Wirówka systemu Ortho BioVue®
	10. Jednorazowe końcówki do pipet	

Procedura testowa

#### Test odwirowania próbówki

1. Przygotować 2-5% zawiesinę krwinek czerwonych w izotonicznym roztworze soli fizjologicznej (krwinki czerwone można uprzednio przepłukać 1-3 razy izotonicznym roztworem solifizjologicznej).
2. Umieścić w oznakowanej próbówce jako pierwszą 100 µL surowicy badanej, a następnie dodać 100 µL odpowiedniej zawiesiny erytrocytów do próbówki.  
Alternatywnie, jedna kropli = około 50 µL zawiesiny erytrocytów może być dodana do jednej kropli = około 50 µL surowicy testowej.
3. Wymieszać mieszaninę czerwonych krwinek i surowicy testowych, delikatnie wstrząsając.
4. Inkubować próbówkę przez 15 minut w temperaturze pokojowej.
5. Odwirować próbówkę przez 1 minutę przy 2,000 rpm (ok. 800 - 1,000 g).
6. Całkowicie oddzielić komórki od dna próbówki przez ostrożne wstrząsanie i zbadać makroskopowo pod kątem aglutynacji w ciągu 3 minut..
7. Zaprojektować wyniki.

#### Test mikroplakietek

1. Przygotować 2-5% zawiesinę erytrocytów w izotonicznym roztworze soli fizjologicznej. (Krwinki czerwone można wcześniej przepłukać 1-3 razy izotonicznym roztworem soli fizjologicznej).
2. Umieścić jedną kroplę (około 50 µL) odpowiedniej surowicy testowej w oznaczonym baseniku.
3. Dodać jedną kroplę (około 50 µL) odpowiedniej zawiesiny krwinek czerwonych do studzienki testowej.
4. Wymieszać płytkę mikrotitracyjną na wytrząsarce do płytek mikrotitracyjnych.

**UWAGA:** Zalecany czas trwania dla wytrząsarek mechanicznych:

- (1) Mieszanie: 10 do 30 sekund przy średniej sile wstrząsania;
- (2) Ponownie zawiesić: 10-30 sekund przy średniej sile wstrząsania lub przy czasie trwania i prędkości, które pozwalają na całkowite ponowne zawieszenie całego gałki komórkowej bez niszczenia reakcji pozytywnych.

5. Odwirować płytkę.

Zalecany czas wirowania: 30 sekund przy około 400 x g lub tak długo, jak jest to konieczne, aby umożliwić najsilniejszą reakcję przeciwciał z czerwonymi krwinkami zawierającymi antygen przy użyciu wirówki i płytki mikromiarczeczkowej, gdzie ponownie zawieszenie czerwonych krwinek ujemnych pod względem antygenowym jest nadal łatwe możliwe.

**UWAGA:** Siła odśrodkowa przyłożona do mieszaniny komórek i surowicy testowej powinna być minimalną siłą, która spowoduje powstanie guzka czerwonekrwinkowego i klarownego supernatantu. Ze względu na dużą liczbę wirówek dostępnych w handlu, nie można zalecić jednoznacznej prędkości lub czasu trwania wirowania, które byłyby idealne dla wszystkich konfiguracji. Każde laboratorium musi skalibrować istniejące urządzenie i sprawdzić, jak długo należy wirować z daną prędkością, aby uzyskać pożądany wynik.

6. Poluzować pokręta czerwonych krwinek na wytrząsarce i ustawić płytkę do odczytu.
7. Odczytać wynik i zapisz go.
8. Testy negatywne lub wątpliwe inkubować przez 5 do 10 minut w temperaturze pokojowej.
9. Powtórzyć kroki 5-7 po inkubacji w temperaturze pokojowej.

**UWAGA:** Wszystkie preparaty powinny być oceniane natychmiast po odwirowaniu i ponownym zawieszeniu.

## Metoda testu ręcznego w kasetach z rozcieńczalnikiem odwrotnym Ortho BioVue® Reverse Diluent

rocedura opisana poniżej odnosi się wyłącznie do ręcznego testowania kaset Ortho BioVue® Reverse Diluent. Informacje na temat PRZECHOWYWANIA, ŚRODKÓW OSTROŻNOŚCI, POBIERANIA I PRZYGOTOWYWANIA PRÓBEK, I PRZYGOTOWYWANIA, SUROWICY TESTOWEJ I INTERPRETACJI WYNIKÓW oraz OGRANICZEŃ PROCEDURY, jeśli dotyczy, znajdują się w instrukcji użytkownika kaset z odwrotnym rozcieńczalnikiem Ortho BioVue® Reverse Diluent.

1. W celu przygotowania kaset należy postępować zgodnie z instrukcją użycia kaset Ortho BioVue® Reverse Diluent, rozdział "Procedura testowa" punkt 1 i 2.
  2. Eine Przygotować 3-5% zawiesinę erytrocytów w izotonicznym roztworze soli fizjologicznej. (Erytrocyty można uprzednio przepłukać 1-3 razy izotonicznym roztworem soli fizjologicznej).
  3. Dodać 10 µl odpowiedniej zawiesiny krwinek czerwonych o stężeniu od 3 do 5 % do oznaczonej komory reakcyjnej kasety.
  4. Dodać 40 µl odpowiedniej surowicy testowej do komory reakcyjnej.  
(Nie dotykać końcówką pipety krawędzi komory reakcyjnej. Jeśli nadal tak się dzieje, należy zmienić końcówkę pipety przed napełnieniem następnej komory reakcyjnej).
  5. Odwirować kasety w wirówce systemu Ortho BioVue®, stosując siłę g niezmienną dla wirówki.
- UWAGA:** Wirowanie musi być przeprowadzone w ciągu 30 minut od dodania próbek do komór reakcyjnych.
6. Po zakończeniu testu sprawdzić przód i tył każdej kolumny pod kątem aglutynacji i/lub hemolizy.
  7. Zapisać siłę reakcji od strony z bardziej wyraźnym wynikiem pozytywnym.

## Test w kasetkach ORTHO BioVue® Reverse Diluent za pomocą automatu ORTHO VISION™ Analzyer lub ORTHO AutoVue® Innova

Należy postępować zgodnie z instrukcjami zawartymi w podręczniku użytkownika danego urządzenia.

### INTERPRETACJA WYNIKÓW TESTU

„Ostrożne wirowanie/wstrząsanie” metodą próbówki, jak również płytki mikrotitracyjnej:

Wynik pozytywny (+): Aglutynacja erytrocytów jest uważana za pozytywny wynik testu i wskazuje na obecność odpowiedniego antygeny.

Wynik ujemny (-): Brak aglutynacji erytrocytów należy uznać za negatywny wynik testu, odpowiadający im antygen nie jest wykrywalny.

Kasety: Aby ocenić wyniki w kasetkach Ortho BioVue® Reverse Diluent podczas stosowania metody manualnej, należy postępować zgodnie z rozdziałem "INTERPRETACJA WYNIKÓW" w dołączonej instrukcji użytkownika. W przypadku automatów odczyt i analiza odbywa się za pomocą urządzenia.

### OGRANICZENIA METODY

1. Nieścisłości w stosowaniu się do instrukcji zawartych w rozdziałach "Wykonanie testu" i "Interpretacja wyników testu" mogą prowadzić do błędnych wyników.
2. Kontrole przeprowadzone z niejednoznaczными lub fałszywymi wynikami automatycznie prowadzą do braku możliwości wykorzystania wszystkich wyników.
3. Krwinki czerwone poddane działaniu enzymów lub dodanie albuminy wołowej i/lub innych roztworów zawierających białko mogą powodować niespecyficzne reakcje z tymi surowicami testowymi.
4. Nie wolno używać próbek krwi hemolizowanej, mętnej, skażonej lub zakrzepłej.
5. Ze względu na różną ekspresję antygenów, niektóre fenotypy mogą wykazywać słabszą reakcję z tymi odczynnikami niż erytrocyty kontrolne.
6. Żadna pojedyncza surowica testowa ani metoda nie może zagwarantować wykrycia wszystkich rzadkich lub słabych antygenów oraz wszystkich wariantów antygenów <sup>2</sup>.
7. Krwinki czerwone uczulone allopzeciwciami lub autoprzeciwciami o takiej samej lub podobnej swoistości jak surowica badana (np. krwinki czerwone dodatnie w bezpośrednim teście antyglobulinowym) nie nadają się do tych testów.
8. Krwinki czerwone z pozytywnym bezpośrednim testem Coombsa mogą dawać fałszywie pozytywne wyniki w technice kasetowej. Komórki te reagują dodatkowo nawet bez surowicy testowej.
9. Należy przestrzegać informacji o wartościach granicznych zawartych w instrukcji użytkownika kaset z rozcieńczalnikiem odwrotnym Ortho BioVue® Reverse Diluent oraz w instrukcji obsługi używanego urządzenia.

### WYDAJNOŚĆ









Ocena właściwości użytkowych produktów została przeprowadzona zgodnie ze Wspólnymi Specyfikacjami Technicznymi (Decyzja Komisji CTS z dnia 03 lutego 2009 r.). Użyto różnych próbką (dawca, pacjent, krew panelowa) i porównano je z innymi Metody referencyjne / produktami.

	Liczba testowanych próbek	Próbki pozytywne z Anty-K	Swoistość	Próbki negatywne z Anty-K	Czułość
Próbki /płytki mikrotitracy	310	196	100%	114	100%
metoda ręczna BioVue®	142	42	100%	100	99,47%
AutoVue®	102	16	100%	86	100%

### LITERATURA




1. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blut-produkten (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, fourth edition, Montgomery Scientific Publications 1998
4. Christian Mueller-Eckhardt, Volker Kiefel Transfusionsmedizin, 3. Auflage, Springer-Verlag 2004.

### SYMBOL - LEGENDA

 Przechowywa nie od - do	 Numer katalogowy	 Data ważności	 Producent zgodnie z 98/79/WE
 Partia	 Należy przestrzegać zaleceń zawartych w ulotce dołączonej do opakowania.	 Diagnostyka in vitro	 Symbol WE CE

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Niemcy

730-22-0813 Wersja 013 / 01. Październik 2020

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