



# GEBRAUCHSANWEISUNG (DE)

In-vitro-Diagnostikum

Für den Objektträger- und den Röhrchen-Test

## Anti-P1, monoclonal IgM (mouse) OrthoClone

REF 691181A

### ZWECKBESTIMMUNG

Monoklonal agglutinierendes Anti-P<sub>1</sub> Testserum wird aus Zellkulturüberständen einer Hybridoma-Zelllinie gewonnen, die Antikörper vom IgM Typus sezerniert, die spezifisch gegen das korrespondierende Blutgruppenantigen gerichtet sind. Das Testserum wird zum qualitativen In-Vitro-Nachweis des Vorhandenseins oder Fehlens des Blutgruppenantigens P<sub>1</sub> 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 Agglutinationstechnik. Normale menschliche Erythrozyten, die das entsprechende Antigen tragen, werden durch den korrespondierenden Antikörper agglutiniert.

### TESTSEREN

Das aufgeführte Blutgruppentestserum enthält Antikörper des folgenden Klons:

Anti-P<sub>1</sub> monoclonal, mouse clone: 650

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 dieses 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

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 eine leichte Trübung nicht beeinträchtigt. Eine bakterielle und chemische Kontamination **des Testserums** ist zu vermeiden. Wenn eine sichtbare Veränderung des Testserums festgestellt wird, sollte das Testserum nicht mehr eingesetzt werden, es kann auf eine mikrobielle Kontamination hinweisen.
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.
6. Die beschriebenen Testmethoden zur Anwendung gelten ausschließlich für die manuelle Methode. Werden Automaten oder halbautomatische Systeme verwendet, müssen die Laboratorien die Angaben der Gerätehersteller befolgen und Validierungen nach anerkannten Verfahren durchführen.
7. Bei der Anwendung dieses Testserums sind alle gültigen nationalen Gesetze, Verordnungen und Richtlinien in ihrer gültigen Fassung zu beachten, in Deutschland insbesondere die „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“<sup>1</sup>.

### PROBENVORBEREITUNG

1. Blutproben sollten mit einer der üblichen Entnahmetechnik gewonnen werden.
2. Das auszutestende Blut sollte so bald wie möglich nach der Blutentnahme geprüft werden, um die Gefahr falsch positiver bzw. falsch negativer Reaktionen, durch unsachgemäße 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 Testserum kann direkt aus den Fläschchen entnommen und eingesetzt werden.

### VERFAHRENSWEISE

Nicht im Lieferumfang enthaltene, aber benötigte Materialien:

Objektträgermethode:	Röhrchenmethode:
1. Objektträger	1. Teströhrchen, 10 x 75 mm oder 12 x 75 mm
2. Pasteurpipette	2. Mikroliterpipette für 50µL/100 µL
3. Rührstäbchen	3. Einwegpipettenspitzen
4. Kurzzeitwecker	4. Kurzzeitwecker
	5. Zentrifuge
	6. Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)

### Testdurchführung

#### Objektträgermethode

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

#### 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 100µL (alternativ einen Tropfen, ca. 50 µL) des Testserums geben.
3. Zu dem Teströhrchen 100µL (alternativ einen Tropfen, ca. 50 µL) der entsprechenden Erythrozytensuspension geben.
4. Die Erythrozyten- / Testserummischung durch leichtes Schütteln vermischen.
5. Teströhrchen 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
6. Teströhrchen 1 Minute bei 2.000 U/min (ca. 800-1.000 x g) zentrifugieren.
7. Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig vom Röhrchenboden lösen und innerhalb 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination prüfen.
8. Ergebnis protokollieren.

### INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

„Vorsichtiges Schwenken“ bei der Objektträgermethode / „Vorsichtiges Schütteln“ bei der Röhrchen-Zentrifugationsmethode:

**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 auf menschlichen Erythrozyten kann es bei bestimmten Phänotypen mit dem oben aufgeführten Testserum zu einer schwächeren Reaktion kommen als mit Kontrollerythrozyten.
7. Kein einzelnes Testserum oder eine einzelne Methode können garantieren alle seltenen oder schwachen "Antigene" und alle Varianten der "Antigene" zu detektieren.<sup>2</sup>
8. Erythrozyten, die mit Alloantikörpern oder Autoantikörpern derselben oder einer ähnlichen Spezifität wie das für den Test eingesetzte Testserum sensibilisiert sind (z.B. Erythrozyten positiv im direkten Antiglobulintest), sind für die Austestung ungeeignet.


## 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, 4. 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/EU
 Los	 Klon(e)	 In-vitro- Diagnostikum	 EG CE-Symbol
 Unique Device Identification	 Gebrauchsinformation beachten		

730-22-2706 Version 006 / 15.08.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Deutschland

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



# INSTRUCTIONS FOR USE (EN)

## Anti-P1, monoclonal IgM (mouse) OrthoClone

REF 691181A

### INTENDED USE

Monoclonal agglutinating Anti-P<sub>1</sub> reagent is produced from cell culture supernatants of a hybridoma-cell line. The cells are secreting antibodies of IgM type which reacts specific with the corresponding blood group antigen. The reagent is used to in-vitro determine qualitative whether human red blood cells possess or lack the blood group antigen P<sub>1</sub>.

The reagent is intended to be used by qualified and technical personnel only.

### PRINCIPLE OF PROCEDURE

The test methods used with this reagent is based on the principle of agglutination. Normal human erythrocytes, processing the corresponding antigen, will agglutinate in the presence of the specific antibody.

### REAGENT

The listed reagent contains antibodies of the following clone:

Anti-P<sub>1</sub> monoclonal, mouse clone: 650

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

**CAUTION:** The reagent is prepared from supernatants of cell cultures. Regardless, as biological product, it should be looked upon as potentially infectious because of never complete exclusion of danger through excitants of disease. The reagent 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.

For the reasons mentioned above, the reagent 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. With each testing positive and negative controls should be performed.
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 the reagent all effective national laws, directives and guidelines in its current version have to be observed, in Germany especially the "Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)"<sup>1)</sup>.

### 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.

Take and use reagent directly from the vial.

### PROCEDURE

Not provided material, additionally needed:

Slide Method	Tube Centrifugation Method
1. Glass slide	1. Tubes, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm
2. Pasteur pipette	2. Pipettes designed to deliver 50 µL/100 µL
3. Mixing stick	3. Disposable pipette tips
4. Timer	4. Timer
	5. Centrifuge
	6. Isotonic saline (0.85 – 0.9% sodium chloride)

### 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 2% to 5% suspensions of red blood cells in isotonic saline (red blood cells may be washed 1-3 times with isotonic saline).
2. Add 100 µL (alternative: one drop, approximately 50 µL) of reagent to a marked tube.
3. Add 100 µL (alternative: one drop, approximately 50 µL) of appropriate cell suspension to the tube.
4. Mix well by shaking slightly.
5. Incubate tube at room temperature for 15 min.
6. Centrifuge tube for 1 minute at 2.000 rpm (approximately 800–1.000 x g).
7. Gently shake the red cells from the bottom of the tube and check macroscopically for agglutination within 3 minutes.
8. Document the result.

### INTERPRETATION OF RESULTS

"Slightly rotation" at Slide Method / "slightly shaking" at Tube Centrifugation 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.











### LIMITATION 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 obtained, if controls with unclear or false results should 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 on human red blood cells, reactivity of the reagent against certain phenotypes, may give weaker reactivity compared to control cells.
7. No one specific antiserum or technique can be guaranteed to detect all rare, weak or variant Antigens.<sup>2</sup>
8. Red blood cells coated with alloantibodies or autoantibodies of the same or similar specificity as that reagent used for the test (i.e., cells that are positive in the direct antiglobulin-test (DAT)) are not suitable for this test procedure.


### 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, 4. edition, Montgomery Scientific Publications 1998
4. Christian Mueller-Eckhardt, Volker Kiefel Transfusionsmedizin, 3. Auflage, Springer-Verlag 2004.

### SYMBOL - LEGENDE

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

730-22-2706 Version 006 / 15.08.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Germany

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

**SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO**

Per test su vetrino ed in Provetta

## ISTRUZIONI PER L'USO (IT)

### Anti-P1, monoclonale IgM (mouse) OrthoClone

**REF** 691181A

#### USO PREVISTO

Il reagente monoclonale agglutinante Anti-P<sub>1</sub> è preparato da supernatanti di colture cellulari di una linea cellulare di hybridoma che secreta anticorpi di tipo IgM specificamente diretti contro il corrispondente antigene del gruppo sanguigno. Il reagente è utilizzato per l'analisi qualitativa in vitro della presenza o assenza di antigeni del gruppo sanguigno P<sub>1</sub>.

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

#### PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

I metodi utilizzate con questo reagente sono basate sul principio dell'agglutinazione. I normali eritrociti umani che contengono il relativo antigene vengono agglutinati dall'anticorpo corrispondente.

#### REAGENTI

Il reagente del gruppo sanguigno indicato contiene anticorpi dal seguente clone:

Anti-P<sub>1</sub> monoclonal, mouse clone: 650

Il reagente contiene <0.1% (w/v) di azoturo di sodio come conservante. Oltre al componente anticorpale attivo, il siero di prova contiene cloruro di sodio, macromolecole ed albumina bovina, che sono stati testati e certificati dagli ispettori del servizio veterinario statunitense.

**AVVERTENZE:** Questo reagente è preparato da surnatanti 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 siero debbono essere maneggiati con estrema cura.

#### CONSERVAZIONE

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

#### NOTE

1. Con ogni test devono essere eseguiti controlli positivi e negativi.
2. Una conservazione inadeguata compromette 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. La forza delle reazioni positive dipende anche dall'età del sangue usato.
5. Una centrifugazione molto differente da quella consigliata può causare risultati non adeguati.
6. I metodi di test per l'uso descritti valgono esclusivamente per metodo manuale. 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'utilizzo di questo reagente è necessario rispettare tutte le leggi, direttive e linee guida nazionali vigenti nella versione corrente. In Germania in particolare le "Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten Hämotherapie"<sup>1</sup>.

#### 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. Il siero vengono prelevati direttamente dalle provette e utilizzati.

#### PROCEDURA

Materiale necessario ma non fornito

##### Metodo su Vetrino

1. Vetrino
2. Pipetta Pasteur
3. Bastoncino per miscelar
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. Puntali per micro-pipetta
4. Cronometro
5. Centrifuga
6. Soluzione fisiologica Isotonica (0,85 - 0,9% Cloruro di Sodio)

#### Procedura del test

##### Metodo su Vetrino

1. Usare emazie sedimentate
2. Aggiungere una goccia (ca. 50 µL) del reagente sul vetrino.
3. Alla goccia reagente 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 sospensioni di emazie al 2 - 5% in soluzione fisiologica (è possibile lavare preventivamente gli eritrociti 1-3 volte con soluzione salina isotonica).
2. Posizionare 100 µL (in alternativa una goccia, ca. 50 µL) del reagente in una provetta.
3. Posizionare 100 µL (in alternativa una goccia, ca. 50 µL) della appropriata sospensione eritrocitaria alla provetta.
4. Miscelare bene con delicatezza.
5. Incubare la provetta a temperatura ambiente per 15 Minuti.
6. Centrifugare 1 Minuto a 2.000 rpm (ca. 800-1.000 x g).
7. Staccare completamente le cellule dal fondo della provetta scuotendole delicatamente ed esaminarle macroscopicamente per agglutinazione entro 3 Minuti.
8. Registrare il risultato.

#### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

"attenta ruotare" di Metodo su Vetrino / "attenta scuotere" di Metodo in Provetta con Centrifugazione":

**Risultati positivi (+):** L'agglutinazione visibile delle 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 di antigeni corrispondenti.






## LIMITI DELLA PROCEDURA

1. Il mancato rispetto delle istruzioni riportate nella sezione "Procedure" ed "Interpretazione dei risultati " può produrre risultati non corretti.
2. Nessuna conclusione valida concernente i risultati può essere raggiunta, se i risultati dei controlli sono dubbi o non conformi all'atteso.
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 apparire reazioni aspecifiche a causa dell'essiccazione o per il riscaldamento del vetrino.
6. A causa delle diverse espressioni degli antigeni sugli eritrociti umani, è possibile che in determinati fenotipi questo reagente determini una reazione più debole che con eritrociti 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.
8. Gli eritrociti sensibilizzati con allo o auto-anticorpi della stessa o di simile specificità del reagente appropriata (ad es., emazie che sono positive al Test dell'Antiglobulina Diretto (TAD)) non sono idonei per essere testati con questa procedura


## 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 Guidline 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....	<b>REF</b> Art.- N° Articolo	 Data di scadenza	 Fornitore 98/79/EU
<b>LOT</b> Codice lotto	<b>CLON</b> Clone	<b>IVD</b> In-Vitro-Diagnostic	 EU CE-symbol
<b>UDI</b> Unique Device Identification	 Osservare le istruzioni per l'uso		

730-22-2706 Versione 006 / 15.08.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Germania

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



# INSTRUKCJA UŻYCIA (PL)

## Anti-P1, monoclonal IgM (mouse) OrthoClone

REF 691181A

### PRZEZNACZENIE

Monoklonalna aglutynująca surowica testowa anti-P1 jest otrzymywana z supernatantów hodowli komórkowej linii komórkowej hybrydoma, która wydziela przeciwciała typu IgM specyficznym skierowane przeciwko odpowiedniemu antygenowi grupy krwi. Surowice testowe są stosowane do jakościowego wykrywania in vitro obecności lub braku antygenów grupy krwi P1 na ludzkich erytrocytach.

Użycie tej surowicy testowej jest przeznaczone wyłącznie dla wykwalifikowanych i przeszkolonych specjalistów.

### ZASADA POSTĘPOWANIA

Metody badania stosowane w przypadku teja produktów oparte są na zasadzie techniki aglutynacji. Normalne ludzkie erytrocyty niosące odpowiedni antygen są aglutynowane przez odpowiednie przeciwciała.

### SUROWICE TESTOWE

Wymieniona surowica do badania grupy krwi zawiera przeciwciała następującego klonu:

Anti-P<sub>1</sub> monoclonal, mouse clone: 650

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

**OSTRZEŻENIE:** Surowica testowa jest produkowane z supernatantów hodowli komórkowych. Niezależnie od tego produkty biologiczne należy traktować jako potencjalnie zakaźne ze względu na ryzyko wystąpienia patogenów, którego nigdy nie można całkowicie wykluczyć. Surowica testowa zawiera azydki sodu, który może być toksyczny i tworzyć wybuchowe sole z ołowiem lub miedzią.

Przy usuwaniu słuwać dużą ilością wody.

Z powyższych powodów, surowica testowe 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. 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 produktu.
3. Lekkie zmętnienie nie ma wpływu na reaktywność badanej surowicy. 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.
6. Opisane metody testowania mają zastosowanie wyłącznie do metod ręcznych i muszą być przeprowadzane zgodnie z instrukcjami użytkownika. W przypadku stosowania systemów automatycznych lub półautomatycznych laboratoria muszą postępować zgodnie z instrukcjami producentów sprzętu i przeprowadzać walidacje zgodnie z uznanymi procedurami.
7. Podczas stosowania surowic testowych należy przestrzegać wszystkich obowiązujących krajowych ustaw, rozporządzeń i wytycznych z późniejszymi zmianami., w Niemczech w szczególności „ Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) ”<sup>1</sup>.

### PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

1. Próbkę krwi powinny być pobierane przy użyciu jednej z powszechnie stosowanych technik pobierania.
2. Krew do badania powinna być badana możliwie jak najszybciej po jej pobraniu, aby zminimalizować ryzyko fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych reakcji z powodu niewłaściwego przechowywania lub zanieczyszczenia próbki.  
Krew, która nie jest natychmiast badana, powinna być przechowywana w temperaturze od +2 do +8 °C.  
Próbki krwi poddane 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.

### PRZYGOTOWANIE SUROWIC TESTOWYCH

Przygotowanie surowic testowych nie jest konieczne.

Surowica są pobierane bezpośrednio z fiolek i wprowadzane.

### PROCEDURA

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

Metoda szkiełka mikroskopowego      Metoda próbówkowa

1. Szkiełko mikroskopowe      1. Probówka, 10 x 75 mm lub 12 x 75 mm
2. Pipeta Pasteura              2. Pipeta mikrolitrowa do 50 µL/100 µL
3. Pręt do mieszania            3. Budzik krótkoterminowy
4. Budzik krótkoterminowy      4. Wirówka
5. Wirówka (0,85-0,9% chlorku sodu)
6. Jednorazowe końcówki

### Procedura testowa

#### Test preparatów

1. Stosować wyłącznie osad erytrocytów.
2. Upuścić kroplę (około 50 µL) odpowiedniej surowicy testowej na oznaczone szkiełko mikroskopowe.
3. Dodać jedną kroplę (ok. 50 µL) osadu erytrocytów do kropli surowicy testowej na szkiełku podstawowym, używając pipety Pasteura.
4. Dobrze wymieszać mieszaninę krwinek czerwonych i surowicy testowej za pomocą mieszadła i rozprzecznić ją tak, aby utworzyła okrąg o średnicy około 2 cm.
5. Sprawdzić aglutynację w ciągu jednej minuty, delikatnie wirując szkiełkiem (reakcja rozpoczyna się po kilku sekundach).
6. Zaprotokołować wyniki.

#### 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. Do każdej próbówki dodać 100 µL (alternatywnie po jednej kropli (ok. 50 µL)) odpowiedniej surowicy testowej.
3. Do każdej próbówki dodać 100 µL (ewentualnie po jednej kropli (ok. 50 µL)) odpowiedniej zawiesiny krwinek czerwonych.
4. Wymieszać mieszaninę czerwonych krwinek i surowic testowych, delikatnie wstrząsając.
5. Inkubować próbówki przez 15 minut w temperaturze pokojowej.
6. Odwirowywać próbówki przez 1 minutę przy 2,000 rpm (ok. 800 - 1,000 g).
7. Całkowicie oddzielić komórki od dna próbówki przez ostrożne wstrząsanie i zbadać makroskopowo pod kątem aglutynacji w ciągu 3 minut.
8. Zaprotokołować wyniki.

### INTERPRETACJA WYNIKÓW TESTU

"Odczyt i interpretacja wyników po "ostrożnym panoramowaniu" w metodzie szkiełkowej i ostrożnym wytrząsaniu" w metodzie próbówkowej:

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

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











## OGRANICZENIA METODY

1. Nieściśności w stosowaniu się do instrukcji zawartych w rozdziałach "Wykonanie testu" i "Interpretacja wyników testu" mogą prowadzić do błędnych wyników.
2. Kontrole przeprowadzone z niejednoznacznymi 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. W przypadku metody szkiełek mikroskopowych reakcje niespecyficzne mogą wystąpić, gdy mieszanina reakcyjna wyschnie lub gdy szkiełko zostanie podgrzane.
6. Ze względu na różną ekspresję antygenów, niektóre fenotypy mogą wykazywać słabszą reakcję z tymi odczynnikami niż eryocyty kontrolne.
7. Żadna pojedyncza surowica testowa ani metoda nie może zagwarantować wykrycia wszystkich rzadkich lub słabych antygenów oraz wszystkich wariantów antygenów 2.
8. Krwinki czerwone uczulone alloprzeciwciałami lub autoprzeciwciałami o takiej samej lub podobnej swoistości jak surowica badana (np. krwinki czerwone dodatnie w bezpośrednim teście antyglobulinowym) nie nadają się do tych testów.

## LITERATURA




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, 4. 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	 Klon(y)	 Diagnostyka in vitro	 Symbol WE CE
 Unique Device Identification	 Należy przestrzegać zaleceń zawartych w ulotce dołączonej do opakowania.		

730-22-2706 wersja 006 / 15.08.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Niemcy

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





## NAVODILA ZA UPORABO (SLO)

### Anti-P1, monoclonal IgM (mouse) OrthoClone

REF 691181A

#### NAMENSKA UPORABA

Testni serum monoklonskih anti-P1 je pridobivajo iz supernatantov celične kulture celičnih linij hibridoma, ki izločajo protitelesa tipa IgM, ki so specifično usmerjena proti ustreznemu antigenu krvne skupine. Testni serum je uporabljajo za kvalitativno in vitro detekcijo prisotnosti ali odsotnosti antigenov krvne skupine P1 na človeških eritrocitih.

Uporaba na testni serum je namenjena samo kvalificiranemu in usposobljenemu specializiranemu osebjem.

#### NAČELO POSTOPKA

Testne metode, ki se uporabljajo pri uporabi ta izdelek, temeljijo na principu aglutinacije. Normalni človeški eritrociti, ki nosijo ustrezen antigen, so aglutinirani z ustreznim protitelesom.

#### TESTNI SERUMI

Uvedeně testovacie sérum krvných skupín obsahuje protilátky tohto klonu:

Anti-P<sub>1</sub> monoclonal, mouse clone: 650

Ta testne serum vsebuje < 0,1 % (mase/prostornino) natrijevega azida kot konzervansa. Poleg aktivne komponente protiteles testni serum vsebujejo natrijev klorid, spojine z visoko molekulsko maso in goveji albumin, ki so ga pregledali in certificirali inšpektorji ameriškega veterinarske urada.

**OPOZORILO:** Ta testni serum je pridobljen iz supernatantov celične kulture. Ne glede na to je treba ta biološki proizvod obravnavati kot potencialno nalezljive zaradi nevarnosti patogenov, ki jih nikoli ni mogoče popolnoma izključiti. Testni serum vsebujejo natrijev azid, ki je strupen in lahko tvori eksplozivne soli s svinčcem ali bakrom.

Pri odstranjevanju sperite z veliko vode.

Iz zgoraj navedenih razlogov je treba s testni serum ravnati previdno.

#### HRAMBA

Shranjujte pri +2 do +8 °C (neodprto/odlomljeno), kratkotrajno za uporabo tudi pri sobni temperaturi.

Shranjujte in uporabljajte samo do navedenega roka uporabnosti!

#### OPOMBE

1. Pozitivne in negativne kontrole morajo biti vključene v vsak test.
2. Nepravilno shranjevanje bo vplivalo na učinkovitost izdelkov.
3. Mierne zakalenje nehoršuje reakčnú schopnosť testovacieho séra. Zabráňte bakteriálnej a chemickéj kontaminácii testovacieho séra. Ak sa pozoruje viditeľná zmena (zvyšenie zákalu alebo zmena farby v dôsledku pôsobenia teploty) testovacieho séra, testovacie sérum by sa už nemalo používať, môže to znamenať mikrobiálnu kontamináciu.
4. Moč pozitivne reakcije je odvisna od starosti uporabljene krvi.
5. Centrifugiranje zunaj določenega območja hitrosti lahko povzroči napačne rezultate.
6. Opisani postopki uporabe veljajo samo na manuálne metody. Če se uporabljajo avtomatski ali polavtomatski sistemi, morajo laboratoriji upoštevati navodila proizvajalcev naprav in izvajati validacije po priznanih metodah.
7. Pri uporabi testnih serumov je treba upoštevati vse veljavne nacionalne zakone, odloke in smernice v trenutni različici; v Nemčiji zlasti » Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)«.

#### PRIPRAVA VZORCA

1. Vzorce krvi je treba pridobiti s standardnimi tehnikami odvzema.
2. Kri za testiranje je treba testirati čim prej po odvzemu krvi, da zmanjšate tveganje lažno pozitivnih ali lažno negativnih reakcij zaradi nepravilnega shranjevanja ali kontaminacije vzorca.  
Kri, ki se ne testira takoj, je treba hraniti pri +2 do +8 °C.  
Vzorce krvi, antikoagulirane z EDTA, je treba testirati v 7 dneh, vzorce, obdelane z natrijevim citratom, pa v 14 dneh po odvzemu.  
Konzerve/krvni darovalcev je mogoče testirati do datuma izteka roka uporabnosti.

#### PRIPRAVA TESTNIH SERUMOV

Priprava testnih serumov ni potrebna.

Serumi se vzamejo neposredno iz stekleničk in uporabijo.

#### POSTOPEK

Materiali, ki niso vključeni v obseg dobave, vendar so potrebni za:

Metoda z objektnim stekelcem

1. Objektno stekelce
2. Pasterjeva pipeta
3. Mešalna paličica
4. Merilnik časa

Metoda z epruveto

1. Testne epruvete 10 x 75 mm ali 12 x 75 mm
2. Mikrolitrska pipeta za 50 µL/100 µL
3. Merilnik časa
4. Centrifuga
5. Izotonična fiziološka raztopina (0,85-0,9 % natrijevega klorida)
6. Pipetne konice za nekratno uporabo

#### Izvedba testa

##### Test z objektnim stekelcem

1. Uporabljajte samo sediment eritrocitov.
2. Kapnite kapljico (približno 50 µL) ustreznega testnega seruma na označeno stekelcu.
3. S pasterjevo pipeto kapnite eno kapljico (približno 50 µL) sedimenta eritrocitov v testni serum na objektnem stekelcu.
4. Mešanico eritrocitov in testnega seruma dobro premešajte z mešalno paličico in razporedite v krog s premerom približno 2 cm.
5. V eni minuti preverite aglutinacijo z nežnim vrtljivi objektnega stekelca (reakcija se začne v nekaj sekundah).
6. Zabeležite rezultate.

##### Test s centrifugiranjem epruvete

1. Pripravite 2-5-odstotno suspenzijo eritrocitov v izotonični fiziološki raztopini (rdeče krvne celice lahko predhodno sperete 1-3-krat z izotonično fiziološko raztopino).
2. Do vsake probówki dodaj 100 µL (alternatywnie po jednej kropli (ok. 50 µL)) surowicy testowej.
3. Do vsake probówki dodaj 100 µL (eventualnie po jednej kropli (ok. 50 µL)) odpowiedniej zawiesiny krwinek czerwonych.
4. Zmešajte mešanico eritrocitov in testnega seruma z nežnim stresanjem.
5. Inkubirajte epruveto pri sobni temperaturi 15 minut.
6. Epruveto centrifugirajte 1 minuto pri 2.000 vrt/min (približno 800-1.000 g).
7. V celoti odstranite celice z dna epruvete tako, da jih nežno stresete in v 3 minutah makroskopsko pregledate za aglutinacijo.
8. Zabeležite rezultate.

#### INTERPRETACIJA REZULTATOV TESTOV

»Previdno vrtljivi « pri metodi z objektnim in nežno stresete epruveto:

**Pozitivni rezultat (+):** Aglutinacijo eritrocitov je treba oceniti kot pozitiven rezultat testa in prikazati prisotnost ustreznega antigena.

**Negativni rezultat (-):** Odsotnost aglutinacije eritrocitov je treba oceniti kot negativen rezultat testa, ustrezni antigeni dokazljivi.











## OMEJITVE METODE

1. Netočnosti pri upoštevanju navodil v razdelkih »Izvedba testa« in »Razlaga rezultatov testov« lahko vodijo do napačnih rezultatov.
2. Kontrole z dvoumnimi ali napačnimi rezultati, samodejno vodijo do tega, da so vsi rezultati neuporabni.
3. Eritrociti, obdelani z encimi, ali dodajanje govejega albumina in/ali drugih raztopin, ki vsebujejo beljakovine, lahko povzročijo nespecifične reakcije s tem testnimi serum.
4. Hemoliziranih, motnih, kontaminiranih ali koaguliranih vzorcev krvi se ne sme uporabljati.
5. Pri metodi s stekelci lahko pride do nespecifičnih reakcij, ko se reakcijska zmes posuši ali ko se stekelce segreje.
6. Ze względu na różną ekspresję antygenów, niektóre fenotypy mogą wykazywać słabszą reakcję z tymi odczynnikami niż erythrocyty kontrolne.
7. Noben testni serum ali ena sama metoda ne zagotavlja, da bodo odkriti vsi redki ali šibki antigeni in vse različice antigenov 2.
8. Eritrociti, občutljivi na aloprotitelesa ali avtoprotitelesa enake ali podobne specifičnosti kot testni serum (npr. eritrociti, pozitivni v neposrednem antiglobulinskem testu), niso primerni za te teste.


## LITERATURA




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.

## SIMBOL - LEGENDA

 Skladiščenje od-do	 Številka artikla	 Rok uporabe	 Proizvajalec po 98/79/ES
 Šarža	 Klon(i)	 In vitro diagnostični medicinski pripomoček	 Simbol CE
 Unique Device Identification	 Upoštevajte navodila za uporabo		

730-22-2706 Razičica 006 / 15.08.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Nemčija

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



## UPUTE ZA UPOTREBU (HRV)

### Anti-P1, monoclonal IgM (mouse) OrthoClone

REF 691181A

#### NAMJENA

Monoklonski serum za ispitivanje Anti-P1 dobivaju se od supernatana staničnih kultura hibridnih staničnih linija koje izlučuju antitijela tipa IgM posebno usmjerena protiv odgovarajućeg antigena krvne grupe. Serum za ispitivanje upotrebljava se za kvalitativno in vitro otkrivanje prisutnosti ili odsutnosti nepostojanja antigena krvnih grupa P1 na ljudskim eritrocitima. Ovaj serum za ispitivanje namijenjen je samo kvalificiranom i obučenom stručnom.

#### PRINCIP POSTUPKA

Ispitne metode koje se primjenjuju pri upotrebi ovaj proizvod temelje se na načelu aglutinacije. Normalne ljudske eritrocite koji nose odgovarajući antigen aglutinira odgovarajuće antitijelo.

#### PRETRAŽIVANI SERUMI

Navedeni serum za ispitivanje krvne grupe sadržava antitijela sljedećeg klon:

Anti-P<sub>1</sub> monoclonal, mouse clone: 650

To pretraživani serum sadrži < 0,1 % (w/v) natrijeva azida kao konzervansa. Osim aktivnog sastojka antitijela pretraživani serum sadržavaju natrijev klorid, spojeve velike molekulske mase i goveđi albumin, koje su provjerili i certificirali inspektori Američke veterinarske službe (US Veterinary Service).

**UPOZORENJE:** Ovo pretraživani serum proizvode se od pernatana staničnih kultura. Neovisno o tome, treba ovaj biološki proizvod trebaju smatrati potencijalno zarazima zbog opasnosti od patogena koja se nikad ne može potpuno isključiti. Pretraživani serum sadržavaju natrijev azid, koji može djelovati otrovno te tvoriti eksplozivne soli s olovom ili bakrom. Pri zbrinjavanju isperite s puno vode. Iz gore navedenih razloga potrebno je oprezno rukovati pretraživani serum.

#### ČUVANJE

Čuvajte na temperaturi od 2 do 8 °C (neotvoreno/otvoreno), a kratkotrajno za upotrebu i na sobnoj temperaturi. Načelno čuvajte i upotrebljavajte samo do navedenog roka valjanosti!

#### NAPOMENE

1. Pri svakom testiranju potrebno je uz sebe imati pozitivne i negativne kontrole.
2. Neispravno čuvanje utječe na učinkovitost proizvoda.
3. Lagana mutnoća ne utječe na reaktivnost seruma za ispitivanje. Mora se spriječiti bakterijska i kemijska kontaminacija.
4. Ako primijetite vidljive promjene u pretraživanom serumu, nemojte ga više upotrebljavati jer to može upućivati na mikrobnu kontaminaciju.
5. Jakost pozitivne reakcije ovisi o starosti upotrijebljene krvi.
6. Centrifugiranje izvan specifičnog raspona broja okretaja može dovesti do netočnih rezultata.
7. Opisani postupci za primjenu vrijede samo za ručne metode. Ako se upotrebljavaju automatski ili poluautomatski sustavi, laboratoriji moraju slijediti upute proizvođača uređaja i provesti validaciju u skladu s prihvaćenim postupcima.
7. Prilikom primjene ispitivanje serum potrebno je pridržavati se svih važećih nacionalnih zakona, uredbi i smjernica najnovijoj verziji, a u Njemačkoj posebno „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“<sup>17</sup>

#### PRIPREMA UZORAKA

1. Uzorke krvi potrebno je prikupljati jednom od uobičajenih tehnika uzorkovanja.
2. Krv koja se ispituje potrebno je provjeriti čim prije nakon uzimanja uzorka kako bi se opasnost od lažno pozitivnih odnosno lažno negativnih reakcija zbog nepropisnog čuvanja ili kontaminacije uzorka svela na najmanju moguću mjeru. Krv koja se ne ispita odmah pohranite na temperaturi od 2 do 8 °C. Uzorke krvi antikoagulirane s pomoću EDTA-e potrebno je ispitati u roku od 7 dana, a uzorke obrađene natrijevim citratom u roku od 14 dana od prikupljanja. Konzervirana/darovana krv može se ispitati do datuma isteka valjanosti.

#### PRIPREMA PRETRAŽIVANIH SERUMA

Pretraživane serum nije potrebno pripremiti. Serum se uzimaju i upotrebljavaju izravno iz bočica.

#### POSTUPAK

Materijali koji nisu uključeni u isporuku, ali su potrebni:

Metoda predmetnih stakalaca	Metoda epruveta
1. Predmetno stakalce	1. Epruveta, 10 x 75 mm ili 12 x 75 mm
2. Pasteurova pipeta	2. Mikrolitarska pipeta za 50 µL/100 µL
3. Štapići za miješanje	3. Brojač vremena
4. Brojač vremena	4. Centrifuga
	5. Izotonična fiziološka otopina (0,85-0,9 % natrijeva klorida)
	6. Jednokratni nastavci za pipetu

#### Provođenje ispitivanja

##### Test predmetnog stakalca

1. Upotrebljavajte samo sediment eritrocita.
2. Na označeno predmetno stakalce nanesite jednu kap (oko 50 µL) odgovarajućeg pretraživanog seruma.
3. Kapi pretraživanog seruma na predmetnom stakalcu s pomoću Pasteurove pipete dodajte jednu kap (oko 50 µL) sedimenta eritrocita.
4. Dobro promiješajte smjesu eritrocita i pretraživanog seruma štapićem za miješanje i rasporedite je u obliku kruga promjera oko 2 cm.
5. Uz jednogminutno lagano njihanje predmetnog stakalca provjerite je li došlo do aglutinacije (početak reakcije nakon nekoliko sekundi).
6. Zabilježite rezultate.

##### Test centrifugiranja epruveta

1. Pripremite 2 – 5 %-tnu suspenziju eritrocita u izotoničnoj fiziološkoj otopini (eritrociti se mogu prethodno 1-3 puta oprati izotoničnom fiziološkom otopinom).
2. U svaku epruvetu dodajte 100 µL (alternativno po jednu kap (oko 50 µL)) odgovarajućeg pretraživanog seruma.
3. U svaku epruvetu dodajte 100 µL (alternativno po jednu kap (oko 50 µL)) odgovarajuće suspenzije eritrocita.
4. Lagano protresite smjesu eritrocita i pretraživanog seruma.
5. Inkubirajte epruvete pri sobnoj temperaturi 15 minuta.
6. Centrifugirajte epruvete 1 minutu pri 2000 okr./min (oko 800-1000 g).
7. Stanice oprezno u potpunosti otresite s dna epruveta i u roku od 3 minute makroskopski provjerite je li došlo do aglutinacije.
8. Zabilježite rezultate.

#### TUMAČENJE REZULTATA TESTA

„Lagano njihanje“ pri metodama predmetnih stakalaca i „oprezno protresanje“ pri metodama epruveta:

**Pozitivni rezultat (+):** Aglutinacija eritrocita smatra se pozitivnim rezultatom testa i pokazuje prisutnost odgovarajućeg antigena.

**Negativni rezultat (-):** Izostanak aglutinacije eritrocita smatra se negativnim rezultatom testa te se odgovarajući antigen ne može otkriti.





## OGRAIČENJA METODE

1. Nepravilnosti u pridržavanju uputa iz odjeljaka „Provođenje ispitivanja“ i „Tumačenje rezultata testa“ mogu dovesti do pogrešnih rezultata.
2. Provedene kontrole s nejasnim ili netočnim rezultatima automatski dovode do neiskoristivosti svih rezultata.
3. Enzimski obrađeni eritrociti ili dodavanje govedeg albumina i/ili drugih otopina koje sadržavaju proteine mogu dovesti do nespecifičnih reakcija s ovim pretraživanim serumima.
4. Ne smiju se upotrebljavati hemolizirani, mutni, kontaminirani ili zgrušani uzorci krvi.
5. Pri metodi predmetnih stakalaca može doći do nespecifičnih reakcija pri sušenju reakcijske smjese odnosno zagrijavanju predmetnog stakalca.
6. Zbog različite manifestacije antigena pri određenim fenotipovima s tim reagensima može doći do slabije reakcije nego s kontrolnim eritrocitima.
7. Nijedan pojedinačni pretraživani serum i nijedna pojedinačna metoda ne može jamčiti otkrivanje svih rijetkih ili slabih antigena i svih varijanti antigena 2.
8. Eritrociti koji su senzibilizirani aloantitijelima ili autoantitijelima iste ili slične specifičnosti kao pretraživani serum (npr. eritrociti pozitivni u izravnom antiglobulinskom testu) nisu prikladni za ove testove.

## POPIS 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, 4. edition, Montgomery Scientific Publications 1998
4. Christian Mueller-Eckhardt, Volker Kiefel Transfusionsmedizin, 3. Auflage, Springer-Verlag 2004.

## SIMBOL – LEGENDA

 Čuvanje od – do	<b>REF</b> Broj artikla	 Rok valjanosti	 Proizvođač prema 98/79/EZ
<b>LOT</b> Serija	<b>CLON</b> Klon/klonovi	<b>IVD</b> In vitro dijagnostički medicinski proizvod	<b>CE</b> Simbol CE EZ-a
<b>UDI</b> Unique Device Identification	 Obratiti pozornost na upute za upotrebu		

730-22-2706 Verzija 006 / 15.08.2021



Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Njemačka



+49 (0) 6223/ 8661-0



+49 (0) 6223/ 8661-13



gara@antitoxin-gmbh.de