

Für den Objektträger-, Röhrchen-, Mikrotiterplatten- und Karten-Methode
NUR ZUR IN-VITRO-DIAGNOSTIK

ZWECKBESTIMMUNG

Monoklonal agglutinierende Anti-K-Testseren werden aus Zellkulturüberständen von Hetero-Hybridoma-Zelllinien gewonnen, die Antikörper vom IgM-Typus sezernieren und spezifisch mit dem korrespondierenden Antigen reagieren. Der Antikörper ist dabei jeweils humanes Protein. Die Testseren werden zum qualitativen In-Vitro Nachweis des Vorhandenseins oder Fehlens des Blutgruppen-antigenen Kell auf menschlichen Erythrozyten verwendet. Die Anwendung dieser Testseren ist nur für qualifiziertes und geschultes Fachpersonal vorgesehen.

PRINZIP DES VERFAHRENS

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

TESTSEREN

Die aufgeführten Blutgruppentestseren enthalten Antikörper der folgenden Klone:

Anti-K (KEL1) monoclonal, human IgM clone: MS-56
Anti-K (KEL1) monoclonal, human IgM clone: AEK-4

Die Testseren enthalten als Konservierungsmittel < 0.1% (w/v) Natriumazid. Außer dem aktiven Antikörperbestandteil beinhalten die Testseren Natrium-chlorid, hochmolekulare Verbindungen und Rinderalbumin, das durch die US Veterinary Service Inspectoren überprüft und zertifiziert wurde.

WARNUNG

Diese Testseren werden aus Zellkulturüberständen hergestellt. Unabhängig davon sollten diese biologischen Produkte wegen nie völlig auszuschließender Gefährdung durch Krankheitserreger als potentiell infektiös angesehen werden. Die Testseren enthalten 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 sollten diese Testseren mit angemessener Sorgfalt gehandhabt werden.

LAGERUNG

Ungeöffnet und nach dem erstmaligen Öffnen gut verschlossen bei 2 bis 8 °C lagern, kurzzeitig zur Anwendung auch bei Raumtemperatur. Grundsätzlich nur bis zum angegebenen Verfallsdatum lagern und anwenden!

HINWEISE

- Es sollten bei jeder Austestung positive und negative Kontrollen mitgeführt werden.
- Unsaugmäßige Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit der Produkte.
- Die Reaktionsfähigkeit der Testseren wird durch eine leichte Trübung nicht beeinträchtigt. Eine bakterielle und chemische Kontamination ist zu vermeiden. Wenn eine sichtbare Veränderung eines Testserums festgestellt wird, kann es auf eine mikrobielle Kontamination hinweisen und das Testserum sollte nicht mehr eingesetzt werden.
- Die Stärke der positiven Reaktion ist vom Alter des verwendeten Blutes abhängig.
- Zentrifugieren außerhalb des angegebenen Drehzahl-Bereiches kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Bei der Kartentechnik verwenden Sie die Grifols Kartenzentrifuge. Der Einsatz einer anderen kartenspezifischen Zentrifuge (jede Kartenzentrifuge hat seine festgelegte unveränderliche g-Zahl) kann auf Grund der dadurch veränderten g-Zahl zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Die beschriebenen Verfahren zur Anwendung gelten ausschließlich für manuelle Methoden. Werden Automaten oder halbautomatische Systeme verwendet, müssen die Laboratorien die Angaben der Gerätehersteller befolgen und Validierungen nach anerkannten Verfahren durchführen.
- Bei der Anwendung der Testseren sind alle gültigen nationalen Gesetze, Verordnungen und Richtlinien zu beachten, in Deutschland insbesondere die „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“¹ in ihrer gültigen Fassung.
- Die Angaben zum Einsatz der Grifols Testkarten in der zugehörigen Gebrauchsinformation sind unbedingt zu beachten.

PROBENVORBEREITUNG

- Blutproben sollten mit einer der üblichen Entnahmetechnik gewonnen werden.
- Das auszulesende 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 14 Tagen nach der Entnahme getestet werden. Konserven-/Spenderblute können bis zum Verfallsdatum ausgetestet werden.

VORBEREITUNG DER TESTSEREN

Eine Vorbereitung der Testseren ist nicht erforderlich. Die Seren werden direkt aus den Fläschchen entnommen und eingesetzt.

VERFAHRENSWEISE

Nicht im Lieferumfang enthaltene, aber benötigte Materialien:

bei der Objektträgermethode: Objektträger; Pasteurpipette; Rührstäbchen; Kurzzeitwecker

bei der Röhrchenmethode: Teströhrchen, 10 x 75 mm oder 12 x 75 mm; Mikroliterpipette; Zentrifuge; Kurzzeitwecker; Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)

bei der Gelkarten-Technik: Gelkarte: Grifols „DG Gel Neutral“; Teströhrchen, 10 x 75 mm oder 12 x 75 mm; Mikroliterpipette; Grifols Kartenzentrifuge; kartenspezifisches Verdünnungsmittel (Diagnostic Grifols „DG Gel Sol“).

bei der Mikrotiterplattentechnik: Mikrotiterplatte mit 96 U-Vertiefungen; Teströhrchen, 10 x 75 mm oder 12 x 75 mm; Mikroliterpipette; Kurzzeitwecker; Mikrotiterplatten-Zentrifuge; Mikrotiterplatten-Schüttler; Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)

Testdurchführung

Objektträgertest (nur mit Klon: MS-56 anwendbar)

- Nur Erythrozytensediment verwenden.
- Auf einen beschrifteten Objektträger einen Tropfen (ca. 50 µL) des entsprechenden Testserums auftropfen.
- Zu dem Tropfen Testserum auf den Objektträger mit einer Pasteurpipette einen Tropfen (ca. 50 µL) Erythrozytensediment geben.
- Die Erythrozyten-/Testserenmischungen mit einem Rührstäbchen gut vermischen und zu einem Kreis von ca. 2 cm Durchmesser ausbreiten.
- Bei leichtem Schwenken des Objektträgers innerhalb einer Minute auf Agglutination prüfen (Reaktionsbeginn nach Sekunden). Unspezifische Reaktionen können beim Eintrocknen des Reaktionsansatzes bzw. Erwärmen des Objektträgers auftreten.
- Ergebnis protokollieren.

Röhrchen-Zentrifugationstest

- 2% - 5%ige Erythrozytensuspensionen in isotonischer Kochsalzlösung verwenden (Erythrozyten können vorab ein- bis dreimal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
- 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. 50 µl Erythrozytensuspension zu einem Tropfen = ca. 50 µl Testserum gegeben werden
- Die Erythrozyten-/Testserumischung durch leichtes Schütteln vermischen.
- Teströhrchen 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
- Teströhrchen 1 Minute bei 2.000 U/min (ca. 800-1.000 x g) zentrifugieren.
- Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig vom Röhrchenboden lösen und innerhalb von 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
- Ergebnis protokollieren.

Gelkartentest

- 0,8%ige Erythrozytensuspensionen im kartenspezifischen Verdünnungsmittel DG Gel Sol vorbereiten.
- In jedes Mikroröhrchen 50 µL der entsprechenden Erythrozytensuspension geben.
- Geben Sie in jedes Mikroröhrchen 25 µL des entsprechenden Testserums.
- Zentrifugieren Sie die Karte in der Grifols Kartenzentrifuge mit der, für die Zentrifuge, unveränderlichen g-Zahl, innerhalb 30 Minuten.
- Innerhalb von 30 Min. makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
- Ergebnisse protokollieren.

Mikrotiterplatte

- 2-5%ige Erythrozytensuspensionen in isotonischer Kochsalzlösung verwenden (Erythrozyten können vorab ein- bis dreimal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
- In eine beschriftete Vertiefung der Mikrotiterplatte 50 µL der entsprechenden Erythrozytensuspension geben.
- In die Vertiefung 50 µL des entsprechenden Testserums zugeben.
- Zum Mischen Mikrotiterplatte auf dem Mikrotiterplatten-Schüttler 30 Sekunden auf mittlerer Stufe schütteln.
- Die Platte in der entsprechenden Mikrotiterplatten-Zentrifuge 30 Sekunden bei 400 x g zentrifugieren.
- Auf dem Mikrotiterplatten-Schüttler die Platte 30 Sekunden auf mittlerer Stufe schütteln.
- Die Testergebnisse direkt nach dem aufschütteln makroskopisch auf Agglutination prüfen.
- Ergebnisse protokollieren.
- Die Tests mit negativen oder fraglichen Ergebnissen für eine Dauer von 5 bis 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
- Die Schritte 5 bis 8 nach der Inkubation wiederholen.

INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

"Vorsichtiges Schwenken/Schütteln" bei der : Objektträger-Methode, Röhrchen-Zentrifugationsmethode, 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.

Ablesen und Interpretieren der Ergebnisse bei der Gelkarte entsprechend der Grifols DG Gel Gebrauchsinformation.

GRENZEN DER TESTMETHODEN

- 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 diesen Testseren zu unspezifischen Reaktionen führen.
- Hämolytierte, trübe, kontaminierte oder geronnene Blutproben dürfen nicht eingesetzt werden.
- Beim Objektträgertest können unspezifische Reaktionen beim Eintrocknen des Reaktionsansatzes bzw. beim Erwärmen des Objektträgers auftreten.
- Aufgrund der unterschiedlichen Ausprägung der Antigene kann es bei bestimmten Phänotypen mit diesen Testseren zu einer schwächeren Reaktion kommen als mit Kontrollerythrozyten.
- Kein einzelnes Testserum oder eine einzelne Methode kann garantieren alle selteneren oder schwachen Antigene und alle Varianten der Antigene zu detektieren.²
- Bei 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 diese Austestung ungeeignet.

- Bei Erythrozyten, die stark mit Antikörpern beladen sind (Erythrozyten positiv im direkten Antiglobulintest), kann es im Gelkartentest zu falsch-positiven Resultaten kommen. Diese Zellen reagieren auch ohne Testserum positiv!
- Angaben zu Grenzen in der Gebrauchsanweisung von eingesetzten Gelkarten sind zu beachten.

LEISTUNGSDATEN

Eine Leistungsbewertung für die Produkte wurde entsprechend der Common Technical Specifications (CTS Entscheidung der Kommission vom 03. Februar 2009) durchgeführt. Es wurden unterschiedliche Proben (Spender-, Patienten-, Panelblute) eingesetzt und mit anderen Referenzmethoden / Produkten verglichen.

Produkt	Positive	Negative	Falsch Positive	Falsch Negative
Anti-K (clone MS-56)	614	1302	0	0
Anti-K (clone AEK-4)	569	546	0	0

Die errechneten Werte betragen für:

Produkt	Sensitivität	Spezifität
Anti-K (clone MS-56)	100%	100%
Anti-K (clone AEK-4)	100%	100%

LITERATUR

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

PRÄSENTATION

213176 Anti-K (KEL1) monoclonal, human IgM clone: MS-56 5 ml
213177 Anti-K (KEL1) monoclonal, human IgM clone: AEK-4 5 ml

730-13-0813 Version 013 / 01 Oktober 2020



CE 0483

Antitoxin GmbH - Industriestraße 88 - 69245 Bammental

For Slide, Tube, Microplate and Card Method
FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

INTENDED USE

Monoclonal agglutinating Anti-K-reagents are produced from cell culture supernatants of hetero-hybridoma-cell lines. The cells are secreting antibodies of IgM-type that reacts specific with the corresponding antigen. The antibody is human protein. The reagents are used to in-vitro-determine qualitative whether human red blood cells possess or lack the corresponding blood group antigen K. The reagents are intended to be used by qualified and trained technical personnel only.

PRINCIPLE OF PROCEDURE

The procedures used with these reagents are based on the principle of agglutination. Normal human erythrocytes, possessing the corresponding antigen, will agglutinate in the presence of the specific antibody directed toward the antigen.

REAGENTS

The listed reagents contain antibodies of the following cell clones:

Anti-K (KEL1) monoclonal, human IgM clone: MS-56

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

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

WARNING

These reagents are prepared from supernatants of cell cultures. As biological products they should be looked upon as potentially infectious because of never complete exclusion of danger through excitants of disease. The reagents contain 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 reagents should be handled with proper care.

STORAGE REQUIREMENT

Store opened and unopened products at 2 to 8°C. May be at room temperature while in use. In principle, store and use the reagents to declared expiry date only.

REMARKS

- With each testing positive and negative controls should be performed.
- Inappropriate storage impairs efficacy of the reagents.
- Weak turbidity of the reagents does not affect its reactivity. Bacteria and chemical contamination of the product should be avoided. If a visible change is detected, it may indicate a microbiological contamination, the reagent should no longer be used.
- Strength of positive reactions also depends on age of used blood.
- Centrifugation outside the specified speed range may lead to false results. In the card method use the Grifols card centrifuge. 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.
- The test method 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.
- For usage of these reagents all effective national laws, directives and guidelines have to be observed, in Germany especially the „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blut-produkten Hämotherapie“¹ in its actual form.
- The information on the use of the Grifols test cards in the relevant insert must be observed.

SAMPLE PREPARATION

- Blood sample should be collected by approved medical procedure.
- Blood samples 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, samples should be stored at 2 to 8°C.

Blood drawn into EDTA should be tested within 7 days and samples 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 preparation of the reagents required. Use reagents directly from the vials.

PROCEDURE

Not provided material, additionally needed:

at Slide Method: Glass slide; Pasteur pipette; Mixing stick; timer

at Tube Centrifugation Method: Test tubes, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm; microliter pipette; centrifuge; timer; isotonic saline (0,85 - 0,9% sodium chloride)

at Card Method: Cards: Grifols "DG Gel Neutral"; Test tubes, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm; microliter pipette; Grifols card centrifuge; card specific diluent (Grifols "DG Gel Sol");

at Microplate Method: Microplate with 96 U-wells; Test tubes, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm; microliter pipette; timer; microplate-centrifuge; microplate-shaker; Isotonic saline (0,85 - 0,9% sodium chloride)

Test procedure

Slide Method (use only with clone: MS-56)

- Use erythrocyte sediment only.
- Place one drop (approximately 50 µL) of appropriate reagent on a glass slide.
- Using a Pasteur pipette add one drop erythrocyte sediment (approximately 50 µL) to the glass slide.
- Mix the erythrocytes with reagent well with a stick and spread to a circle with a diameter of approximately 2 cm.
- By slightly rotating the slide, check for agglutination within 1 minute (reaction starts within seconds). Unspecific reactions might appear due to drying of the reaction-formation or if the slide is heated.
- Document the result.

Tube Centrifugation Method

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

Card Method

- Prepare 0,8 % suspensions of red blood cells in DG Gel Sol (card specific diluent).
- Add 50 µL of appropriate cell suspension to each marked micro tube.
- Add 25 µL of the appropriate reagent to each micro tube.
- Centrifuge the card in a Grifols card centrifuge with the for this centrifuge unchangeable g-force within 30 minutes.
- Check macroscopically for agglutination within 30 minutes.
- Document the result.

Microplate Method

- Prepare 2% to 5% suspensions of red blood cells in isotonic saline (cells may be washed one time or up to three times with isotonic saline).
- Add 50 µL of appropriate reagent to a marked well.
- Add 50 µL of appropriate cell suspension to the well.
- To mix both shake microplate for 30 seconds on microplate-shaker with medium speed.
- Centrifuge microplate in appropriate microplate-centrifuge for 30 seconds at 400 x g.
- Shake microplate for 30 seconds on a microplate shaker with medium speed.
- Evaluated macroscopically for agglutination directly after centrifugation.
- Document the result.
- Tests with negative or doubtful results have to be incubated for 5 to 10 Minutes at room temperature.
- Repeat steps 5 to 8 after incubation at room temperature

INTERPRETATION OF RESULTS

"Slightly rotating/shaking" at.

Slide Method, Tube Centrifugation Method; Microplate Method:

Positive results (+): visible agglutination of erythrocytes is a positive result and indicates the presence of the corresponding antigen.

Negative results (-): No visible agglutination of erythrocytes is a negative result and indicates the absence of the corresponding antigen.

Read and interpret the results of the card method according to the Grifols card instruction for use.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- Inaccuracy at compliance with instructions written under section "Procedures" and "Interpretation of results" may lead to incorrect results.
- No valid conclusion concerning the test result can be reached, if controls with uncertain or false results occur.
- Enzyme treated erythrocytes or addition of bovine albumin and/or other solutions containing protein may cause unspecific reactions.
- Hemolyzed, turbid, contaminated or clotted blood samples must not be used in this test.
- With the slide method, unspecific reactions might appear due to drying of the reaction-formation or if the slide is heated.
- Due to variability of antigen expression on human red blood cells, reactivity of the reagents, mentioned above, against certain phenotypes may give weaker reactivity compared to control cells.
- No one specific antiserum or technique can be guaranteed to detect all rare, weak or variant antigens. ²
- 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.
- Red blood cells with a positive direct Coombs-test may cause false-positive reactions in card method. These cells react positive without testserum too.
- Pay attention to all statements to limitations in inserts of Grifols card.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

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.

Product	Positive	Negative	False Positive	False Negative
Anti-K (clone: MS-56)	614	1302	0	0
Anti-K (clone: AEK-4)	569	546	0	0

The calculated values found for:

Product	Sensitivity	Specificity
Anti-K (clone: MS-56)	100%	100%
Anti-K (clone: AEK-4)	100%	100%

LITERATURE

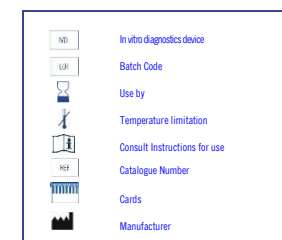
- Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)
- CLSI, I/LA33-A Validatin of Automated System for Immunhematological Testing Before Implementation; Approved Guidline CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Dezember 2009
- Peter D. Issit,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

PRESENTATION

213176 Anti-K (KEL1) monoclonal, human IgM clone: MS-56 5 ml

213177 Anti-K (KEL1) monoclonal, human IgM clone: AEK-4 5 ml

730-13-0813 Version 013 / 01. October 2020



Para métodos en porta, tubo, tarjeta y microplaca
PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO

INDICACIONES DE USO

Los sueros monoclonal Anti-K se obtiene de sobrenadante de cultivos de líneas celulares heterohibridomas. Las células segregan un anticuerpo del tipo IgM, que reacciona específicamente con el correspondiente antígeno. El anticuerpo es proteína humana. Las pruebas se usan para la detección cualitativa in vitro se usan para determinar si los hematíes poseen o carecen de los antígeno K. El reactivo debe ser usado exclusivamente por personal técnico cualificado.

FUNDAMENTO

El procedimiento usado con este reactivo se basa en el principio de aglutinación. Eritrocitos humanos normales, con el correspondiente antígeno, aglutinan en presencia de un anticuerpo específico dirigido hacia el antígeno.

COMPOSICIÓN

El reactivo contiene anticuerpos que provienen del siguiente clon celular:

Anti-K (KEL1) monoclonal, IgM human clone: MS-56
Anti-K (KEL1) monoclonal, IgM human clone: AEK-4

Este reactivo contiene <0,1% (p/v) de azida sódica como conservante. Adicionalmente, el reactivo se compone de anticuerpo activo, cloruro sódico, macromoléculas y albúmina bovina, probada y certificada por los inspectores del Servicio de Veterinaria de Estados Unidos.

AVISO

Este reactivo se obtiene de sobrenadante del cultivos celulares. Como producto biológico debe contemplarse como potencialmente infeccioso ya que nunca puede excluirse totalmente el peligro de causar enfermedades. El reactivo contiene azida sódica, que puede ser tóxica y puede reaccionar con plomo o cobre formando sales altamente explosivas. Al eliminar, enjuagar con grandes cantidades de agua. Por estos motivos, el reactivo debe usarse cuidadosamente.

CONSERVACIÓN

Mantener los productos, abiertos y no abiertos, entre 2 y 8 °C. Puede estar a temperatura ambiente durante su uso. En principio, conservar y usar los reactivos sólo hasta la fecha de caducidad indicada.

OBSERVACIONES

- Se deberían incluir controles positivos y negativos en cada prueba.
- La conservación inadecuada de los reactivos reduce su eficacia.
- Una débil turbiedad del reactivos no afecta su efectividad. Se debe evitar la contaminación química y bacteriana del productos. Si se detecta algún cambio visible, puede ser indica-tivo de contaminación microbiológica, estos reactivos no ya se debe usar.
- La fuerza de las reacciones positivas depende también de la antigüedad de la sangre usada.
- Una centrifugación notablemente diferente de la fuerza de centrifugado relativa indicada puede conducir a resultados incorrectos. Con la tecnología de la tarjeta usa la centrifuga de tarjetas Grifols. Una centrifugación notablemente diferente de la fuerza de centrifugado relativa indicada (cada centrifuga de tarjetas tiene una fuerza centrifuga relativa que es invariable y específica) puede conducir a resultados incorrectos.
- Los procedimientos especificados a continuación son exclusivamente para pruebas manuales. En caso de usar instrumentación automática o semiautomática, se deben seguir las instrucciones de uso incluidas en el manual proporcionado por el fabricante del instrumento. Los laboratorios deben seguir los procedimientos de validación.
- Para la utilización de estos reactivos deberán contemplarse todas las guías, directrices y leyes nacionales; específicamente en Alemania la "Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)"¹ en la versión actual.
- Prestar atención a las limitaciones y precauciones indicadas en las instrucciones de uso de las tarjetas Grifols.

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

- Las muestras de sangre se deben recoger con arreglo a un procedimiento médico aprobado.
- Las muestras de sangre por analizar deben emplearse lo antes posible tras su recogida a fin de reducir el riesgo de resultados falsos positivos y falsos negativos debido a una conservación inadecuada o a la contaminación de los reactivos. Si se retrasan los ensayos, las muestras se deberán almacenar a una temperatura de 2 a 8 °C. La sangre en EDTA debería analizarse en un plazo de 7 días y las muestras tratadas con citrato de sodio, en los 14 días siguientes a la recogida. Las bolsas de sangre o la sangre de donantes se pueden analizar hasta la fecha de caducidad.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

No se requiere preparación del reactivo. Usar el reactivo directamente de los viales.

PROCEDIMIENTO

Material necesario no suministrado:

- | | |
|-----------------------|--|
| en porta: | Porta de cristal; Pipeta Pasteur; Barita de mezcla; Avisador; |
| en tubo: | Tubos de 10x75 mm o 12x75 mm; Micropipeta; Centrifuga; Avisador; Solución salina isotónica (0,85 - 0,9% cloruro sódico) |
| En tarjeta: | Tarjetas: "DG Gel Neutral"; Micropipeta; Tubos de 10x75 mm o 12x75 mm; Centrifuga para Grifols tarjetas; Diluyente específico para tarjetas Grifols "DG Gel Sol". |
| Método de Microplaca: | Microplaca de 96 pocillos; Micropipeta; Tubos de 10x75 mm o 12x75 mm; Avisador; Microplaca-centrifuga; Microplaca-agitador; Solución salina isotónica (0.85-0.9% cloruro sódico) |

Procedimiento

En porta (sólo con clon MS-56 útil)

- Usar únicamente concentrado de hematíes.
- Dispensar una gota (50 µL aprox.) del reactivo correspondiente en un porta de cristal etiquetado.
- Usando una pipeta Pasteur, añadir una gota de concentrado de hematíes (50 µL aprox.) en el porta de cristal.
- Mezclar bien los eritrocitos con el reactivo con una barita y esparcir en un círculo de aproximadamente 2 cm de diámetro.
- Rotando ligeramente el porta, comprobar durante un minuto si se produce aglutinación (la reacción comienza en segundos). Pueden darse reacciones inespecíficas si se seca la reacción o se calienta el porta.
- Documentar el resultado

En tubo

- Preparar suspensiones del 2% al 5% de hematíes en solución salina (Los eritrocitos se pueden lavar de una a tres veces con solución salina isotónica de antemano).
- Primero añadir 100 µL del reactivo correspondiente a un tubo de ensayo etiquetado y luego añadir 100 µL de la suspensión de células correspondiente al tubo de ensayo. Alternativamente, una gota = aproximadamente 50 µL de suspensión de células se puede añadir a una gota = aproximadamente 50 µL de del reactivo correspondiente.
- Agitar suavemente para mezclar bien.
- Incubar el tubo a temperatura ambiente durante 15 minutos.
- Centrifugar el tubo durante 1 minuto a 2.000 rpm (800-1.000 x g)
- Separar las células por completo del fondo del tubo agitándolas suavemente y examínalas macroscópicamente para ver si se aglutinan en 3 minutos.
- Documentar el resultado.

En tarjetas

- Preparar suspensiones del 0,8% de hematíes en DG Gel Sol (diluyente específico para uso en tarjetas).
- Añadir 50 µL de la suspensión de hematíes correspondiente en cada microtubo etiquetado.
- Añadir 25 µL del reactivo correspondiente en cada microtubo.
- Centrifugar la tarjeta en la centrifuga correspondiente a la fuerza centrifuga relativa invariable (no dejar pasar más de 30 minutos)
- Comprobar macroscópicamente si existe aglutinación (en los siguientes 30 minutos).
- Documentar el resultado

En microplaca

- Preparar suspensiones del 2% al 5% de hematíes en solución salina (células pueden ser lavadas de una a tres veces en solución salina).
- Añadir 50 µL de la suspensión de hematíes a casa pocillo etiquetado.
- Añadir 50 µL del suero reactivo apropiado a cada pocillo.
- Agitar durante 30 segundos en agitador a velocidad media.
- Centrifugar la microplaca en centrifuga apropiada durante 30 segundos a 400 x g.
- Durante 30 segundos, agitar la placa en el agitador a velocidad media.
- Examine macroscópicamente los resultados de la prueba en busca de aglutinación inmediatamente después de agitar.
- Documentar el resultado.
- Incuba las pruebas con resultados negativos o cuestionables durante 5 a 10 minutos a temperatura ambiente.
- Repita los pasos 5 a 8 después de la incubación.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Resultados positivos (+): la aglutinación visible de eritrocitos indica un resultado positivo y la presencia del antígeno correspondiente.
Resultados negativos (-): la aglutinación no visible de eritrocitos indica un resultado negativo y la ausencia del antígeno correspondiente.

La lectura e interpretación de los resultados en tarjetas debe hacerse siguiendo las instrucciones específicas de la tarjeta Grifols.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- La inexactitud en el seguimiento de las instrucciones descritas en las secciones "Procedimiento" e "Interpretación de los resultados" puede conducir a resultados incorrectos.
- No se puede obtener conclusiones válidas respecto de los resultados si los controles reportan resultados inciertos o falsos.
- El tratamiento con enzimas de los eritrocitos o la adición de albúmina bovina u otras soluciones que contengan proteínas pueden causar reacciones no específicas.
- No emplee muestras de sangre hemolizada, turbia, contaminada o coagulada en este ensayo.
- Pueden darse reacciones inespecíficas si se seca la reacción o se calienta el porta.
- Debido a la variabilidad de la expresión antigénica, la reactividad de estos reactivos frente a ciertos fenotipos puede ocasionar reacciones más débiles comparadas con las células control.
- Ningún antisero o técnica concretos pueden garantizar la detección de todos los antígenos raros o con una expresión débil, ni tampoco todas las variantes. *
- Los hematíes sensibilizados con aloanticuerpos o autoanticuerpos de la misma o similar especificidad como el suero de prueba utilizado para la prueba (es decir, células que son positivas en la prueba de antiglobulina directa [DAT]) no son adecuados para esta prueba. Estas células reaccionan positivamente también sin reactivo.
- Los hematíes con un test de Coombs Directo positivo pueden causar falsos resultados positivos en el método con tarjeta.
- Prestar atención a las limitaciones y precauciones indicadas en las instrucciones de uso de las tarjetas Grifols.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

En cumplimiento de la decisión sobre las Especificaciones Técnicas Comunes (Decisión de la Comisión CTS del 03 de febrero de 2009) se ha llevado a cabo una evaluación de las características. Se utilizó material de muestra diferente (donante, paciente, recién nacido, sangre de panel) y se comparó con otros métodos / productos de referencia.

Anticuerpo	Positivo	Negativo	Falso Positivo	Falso Negativo
Anti-K (clone: MS-56)	614	1302	0	0
Anti-K (clone: AEK-4)	569	546	0	0

La sensibilidad y Especificidad obtenida son:

Anticuerpo	Sensibilidad	Especificidad
Anti-K (clone: MS-56)	100%	100%
Anti-K (clone: AEK-4)	100%	100%

LITERATURA

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

PRESENTATION

213176 Anti-K (KEL1) monoclonal, human IgM clone: MS-56 5 ml
213177 Anti-K (KEL1) monoclonal, human IgM clone: AEK-4 5 ml

730-13-0813 Versión 013 / 01. Octubre 2020

	Producto para diagnóstico "in vitro"
	Código de lote
	Fecha de caducidad
	Limitación de temperatura
	Consultar Instrucciones de utilización
	Número de catálogo
	Tarjetas
	Fabricante

CE 0483

Antitoxin GmbH - Industriestrasse 88 - 69245 Bammental

Para métodos em lâmina, tubo, card e microplaca
APENAS PARA USO EM DIAGNÓSTICO IN VITRO

UTILIZAÇÃO

Os reagentes monoclonais de aglutinação Anti-K (KEL1) é produzidos a partir do sobrenadantes de culturas celulares de linhas celulares hetero-hibridoma. As células segregam um anticorpo do tipo IgM que reage especificamente com o antígeno de grupo sanguíneo correspondente. Os anticorpos é uma proteína humana. Os reagentes é utilizado para determinar in vitro, qualitativamente, se os eritrócitos possuem ou não o antígeno K de grupo sanguíneo correspondente. Os reagentes deve ser utilizado apenas por pessoal técnico qualificado.

PRINCÍPIO DA TÉCNICA

Os métodos de teste utilizado com estes reagentes são baseadas no princípio de aglutinação. Os eritrócitos normais humanos, revestidos pelo antígeno correspondente serão aglutinados na presença do anticorpo específico dirigido a esse antígeno.

REAGENTES

Os reagentes contém anticorpos dos seguintes clone de células:

Anti-K (KEL1) monoclonal, human IgM clone: MS-56

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

Os reagentes contém azida de sódio a <0,1% (p/v) como conservante. Para além do anticorpo activo, os reagentes contém cloreto de sódio, macromoléculas e albumina bovina, que foi testada e certificada pelos inspetores do serviço de Medicina Veterinária dos EUA.

ATENÇÃO

Este reagentes é preparado a partir do sobrenadantes de culturas celulares. Como produtos biológicos devem ser considerado como potencialmente infeccioso uma vez que não pode ser excluído completamente o perigo de doença. Este reagentes contém azida de sódio que pode ser tóxica e pode reagir com chumbo ou cobre para formar sais altamente explosivos. Para eliminar, limpar com jacto abundante de água. Pelas razões referidas anteriormente, os reagentes deve ser manuseado com muito cuidado.

NECESSIDADES DE ARMAZENAMENTO

Podem ficar à temperatura ambiente enquanto estiverem a ser utilizados. Armazene e utilize os reagentes apenas dentro da data de validade indicada.

OBSERVAÇÕES

1. A cada teste, devem ser realizados controlos positivos e negativos.
2. Um armazenamento incorreto prejudica a eficácia do reagentes.
3. Uma fraca turvação do reagentes não afeta a sua reatividade. As bactérias e a contaminação química dos produtos devem ser evitadas. Se for detetada uma alteração visível, este sinal pode indicar uma contaminação microbiológica e os reagentes não deve ser utilizado.
4. A força das reações positivas depende também da idade do sangue utilizado.
5. Centrifugação muito diferente da força centrífuga descrita conduzirá a falsos resultados. Com o método do cartão utilize a centrífuga de cartões apropriada. A utilização de outra centrífuga específica para cartões (cada centrífuga de cartões tem a sua força g inalterável especificada) pode conduzir a resultados falsos devido à alteração da força g.
6. O método de teste identificado abaixo destina-se apenas a testes manuais. Se utilizar instrumentos automatizados ou semiautomatizados, siga os procedimentos descritos no manual do operador fornecido pelo fabricante do dispositivo. Os laboratórios devem seguir os procedimentos de validação.
7. Para a utilização deste reagentes, devem ser observadas todas as leis, diretivas e diretrizes nacionais em vigor. Na Alemanha, especialmente as "Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blut-produkten Hämotherapie"1 na versão atual.
8. Preste atenção a todas as declarações de limitações nos folhetos do cartão Grifols.

PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

1. As amostras de sangue devem ser colhidas através de um procedimento médico aprovado.
2. As amostras de sangue para teste devem ser utilizadas o mais rapidamente possível após a colheita de sangue, para reduzir o risco de resultados falso-positivos e falso-negativos devido a armazenamento indevido ou contaminação dos reagentes.
Se ocorrer um atraso no teste, as amostras devem ser armazenadas a uma temperatura de 2 a 8 °C.
O sangue colhido em EDTA deve ser testado dentro de 7 dias, e as amostras tratadas com citrato de sódio, dentro de 14 dias após a colheita.
Sangue de dador/ saco de sangue pode ser testado até à data de validade.

PREPARAÇÃO DO REAGENTE

Não é necessário preparar o reagentes. Retire e utilize os reagentes diretamente dos frascos..

PROCEDIMENTO

Material necessário e não fornecido

Para o Método em lâmina: Lâminas; Pipeta Pasteur; Vareta para misturar; cronómetro

Para o Método de Centrifugação em tubo: Tubos de teste 10 x 75 mm ou 12 x 75 mm; pipeta de precisão; Centrífuga; cronómetro; Soro fisiológico isotónico (0,85 - 0,9% cloreto de sódio)

Utilizando método por Card: Cards: "DG Gel Neutral" Tubos de teste 10 x 75 mm ou 12 x 75 mm; pipeta de precisão; Grifols Card Centrífuga; diluente específico do card Grifols "DG Gel Sol"

Método de Microplaca: microplaca de 96 poços; pipeta de precisão; centrífuga; cronómetro; microplaca agitador; microplaca centrífuga; Soro fisiológico isotónico (0,85 - 0,9% cloreto de sódio)

Técnica

Método em lâmina (use com clone MS-56 só)

1. Utilize apenas sedimento de eritrócitos.
2. Coloque uma gota (aproximadamente 50 µL) de reagente apropriado numa lâmina.
3. Com uma pipeta de Pasteur adicione uma gota de sedimento de eritrócitos (aproximadamente 50 µL) na lâmina.
4. Misture bem os eritrócitos com o reagente com um bastão de agitação e espalhe para formar um círculo de aproximadamente 2 cm de diâmetro.
5. Agitando a lâmina ligeiramente, observe a aglutinação dentro de 1 minuto (a reacção começa dentro de segundos). Reações não específicas podem surgir por secagem da reacção formada ou se a lâmina for aquecida.
6. Registe o resultado.

Método de Centrifugação em tubo

1. Prepare suspensões de glóbulos vermelhos de 2% a 5% em soro fisiológico isotónico (Os eritrócitos podem ser lavado uma a três vezes com soro fisiológico isotónico anteriormente.)
2. Primeiro adicione 100 µL do reagente correspondente a um tubo de teste rotulado e, em seguida, adicione 100 µL da suspensão de eritrócitos correspondente ao tubo de teste.
Alternativamente, uma gota = aproximadamente 50 µL de suspensão de eritrócitos pode ser adicionada a uma gota = aproximadamente 50 µL reagente.
3. Misture bem agitando ligeiramente.
4. Incube o tubo à temperatura ambiente durante 15 min.
5. Centrifugue o tubo durante 1 min a 2.000 rpm (aproximadamente 800-1000x g).
6. Agitando suavemente as células completamente do fundo do tubo e observe macroscopicamente a presença de aglutinação dentro de 3 minutos.
7. Documente o resultado.

Instruções de uso- Método por Card

1. Prepare suspensões a 0,8% de eritrócitos em DG Gel Sol (diluente específico do cartão).
- (Os eritrócitos podem ser lavado uma a três vezes com soro fisiológico isotónico).
2. Adicione 50 µL de suspensão celular apropriada a cada microtubo marcado.
3. Adicione 25 µL do reagente corespondente em cada microtubo.
5. Centrifugue o cartão na centrífuga para cartões apropriada com a força g inalterável desta centrífuga no espaço de 30 minutos.
6. Verifique macroscopicamente a aglutinação no espaço de 30 minutos.
7. Documente os resultados.

Em microplaca

1. Preparar suspensões de 2% a 5% de eritrócitos em solução salina. (Os eritrócitos podem ser lavado uma a três vezes com soro fisiológico isotónico anteriormente.)
2. Adicionar 50 µL da suspensão de eritrócitos a cada poço marcado.
3. Adicionar 50 µL do soro reactivo apropriado a poço.
4. Agitar durante 30 segundos em agitador à velocidade médio.
5. Centrifugar a microplaca em centrífuga apropriada durante 30 segundos a 400 x g.
6. Durante 30 segundos, agitar a placa em agitador à velocidade média
7. Observar os resultados macroscopicamente imediatamente após a agitação.
8. Documentar o resultado
9. Incube os testes com resultados negativos ou questionáveis por 5 a 10 minutos em temperatura ambiente.
10. Repita as etapas 5 a 8 após a incubação.

INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS

"Agitação ligeira" no Método em lâmina e no método de centrifugação em tubo microplaca

Resultados positivos (+): a aglutinação visível dos eritrócitos é um resultado positivo e indica a presença do antígeno correspondente.

Resultados negativos (-): nenhuma aglutinação visível dos eritrócitos é um resultado negativo e indica a ausência do antígeno correspondente.

Leia e interprete os resultados do método do cartão de acordo com as instruções de utilização do cartão Grifols.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

1. A imprecisão no cumprimento das instruções incluídas nas secções "Procedimentos" e "Interpretação dos resultados" pode conduzir a resultados incorretos.
2. Não é possível obter uma conclusão válida sobre o resultado do teste se ocorrerem controlos com resultados incertos ou falsos.
3. Os eritrócitos tratados com enzimas ou a adição de albumina bovina e/ou outras soluções contendo proteínas podem causar reações inespecíficas.
4. Não devem ser utilizadas amostras de sangue hemolisadas, turvas, contaminadas ou coaguladas neste teste.
5. Reações não específicas podem surgir por secagem da reacção formada ou se a lâmina for aquecida.
6. Devido à variabilidade da expressão do antígeno nos eritrócitos humanos, a reatividade dos reagentes referida acima contra determinados fenótipos pode dar uma reatividade mais fraca comparativamente às células de controlo.
7. Não é possível garantir que um antissor ou técnica específica detete todos os antígenos raros, fracos ou variantes.2
8. Os eritrócitos revestidos com aloanticorpos ou autoanticorpos com a mesma ou similar especificidade do reagente utilizado para o teste [isto é, células positivas no teste direto de antiglobulina (DAT)] não são adequados para este procedimento de teste.
9. Os eritrócitos com teste de Coombs direto positivo podem causar reações. Estas células reagem positivamente também sem reagente.
10. Preste atenção a todas as declarações de limitações nos folhetos do cartão Grifols.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMENTO

Em cumprimento com as Especificações Técnicas Comuns (decisão da comissão CTS de 03 de Fevereiro de 2009) foi efectuada uma avaliação das características de desempenho. Para tal foram utilizadas diferentes amostras (dadores, doentes, painéis de amostras positivas e negativas) e foram comparadas com outros métodos de referência / produtos.

Producto	Positivo	Negativo	Falso Positivo	Falso Negativo
Anti-K (clone: MS-56)	614	1302	0	0
Anti-K (clone: AEK-4)	569	546	0	0

Os valores calculados foram para:

Producto	Sensibilidade	Especificidade
Anti-K (clone: MS-56)	100%	100%
Anti-K (clone: AEK-4)	100%	100%

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. Dezembro 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.

APRESENTAÇÃO

213176 Anti-K (KEL1) monoclonal, human IgM clone: MS-56 5 ml
213177 Anti-K (KEL1) monoclonal, human IgM clone: AEK-4 5 ml

730-13-0813 Versão 013 / 01. Outubro 2020



CE 0483

Antitoxin GmbH - Industriestrasse 88 - 69245 Bammental