

Für die Röhren-, Karten- und Mikrotiterplatten-Methode
NUR ZUR IN-VITRO-DIAGNOSTIK

ZWECKBESTIMMUNG

Das Reagenz wird zum qualitativen In-vitro-Nachweis des Vorhandenseins oder Fehlens des Blutgruppenantigens K auf menschlichen Erythrozyten verwendet. Die Anwendung dieses Testserums ist nur für qualifiziertes und geschultes Fachpersonal zur Durchführung von immunhämatologischen Screening-Tests im Rahmen der Praxis der Transfusionsmedizin bei der Allgemeinbevölkerung vorgesehen. Die bei Verwendung dieses Testserums angewendeten Testmethoden beruhen auf dem Prinzip der Agglutinationstechnik und wird nicht automatisiert durchgeführt. Normale menschliche Erythrozyten, die das entsprechende Antigen tragen, werden durch den korrespondierenden Antikörper agglutiniert.

INDIKATION / CONTRA-INDIKATION

Das monoklonale Anti-K-Blutgruppentestserum wird verwendet, um Erythrozyten von Patienten oder Spendern auf das Vorhandensein des K-Antigens zu testen. Die Typisierung von Spenderzellen erleichtert die Auswahl geeigneter antigennegativer Einheiten für die Transfusion an Patienten mit diesem Antikörper. Die Zelltypisierung dient auch der endgültigen Überprüfung der Identifizierung von Anti-K in Patienten- oder Spenderseren. Es besteht keine Kontraindikation für die Durchführung des In-vitro-Tests an Blutproben. Das Produkt wurde mit Proben validiert, die in der Europäischen Union von Patienten mit unbekanntem ethnischem Hintergrund gesammelt wurden.

Die ungefähren Häufigkeiten des K-Antigens:

Phänotyp	Europäer	Afrikaner
K+k-	0,2%	selten
K+k+	8,8%	2%
K-k+	91%	98%

TESTSEREN

Das aufgeführte Blutgruppentestserum enthält Antikörper des folgenden Klon:

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

Das Testserum wird aus Zellkulturüberständen einer Hetero-Hybridoma-Zelllinie gewonnen, die Antikörper vom IgM-Typus sezerniert, die spezifisch gegen das korrespondierende Blutgruppenantigen gerichtet sind. Der Antikörper ist dabei humanes Protein. Das Testserum enthält als Konservierungsmittel <0.1% (w/v) Natriumazid. Außer dem aktiven Antikörperbestandteil beinhaltet das Testserum Natriumchlorid, hochmolekulare Verbindungen und Rinderalbumin, das negativ auf Vesicular Stomatitis Virus und Bluetongue getestet wurde. Das Rinderalbumin stammt von Tieren aus den USA, aus USDA und APHIS zugelassenen Einrichtungen, zur Verwendung für In-Vitro-Diagnostikreagenzien gemäß den Verordnungen (EG) 1069/2009 / (EG) 142/2011.

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

Ungeöffnet und nach dem erstmaligen Öffnen gut verschlossen bei +2 bis +8 °C, kurzzeitig zur Anwendung auch bei Raumtemperatur, lagern. Für die Simulierung einer Gebrauchsstudie wurden die Seren 30 Mal bei Raumtemperatur für 2 Stunden gelagert und zeigten anschließend bis zum Verfallsdatum keine Unterschiede bei den qualitativen Tests. Das Testserum ist bis zum angegebenen Verfallsdatum anwendbar. (Format des Verfallsdatums: Jahr xxxx Monat xx Tag xx).

HINWEISE

- Es sollten bei jeder Austestung positive und negative Kontrollen mitgeführt werden.
- Unschonbare Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit des Produktes.
- 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 (Verstärkung der Trübung oder eine Farbveränderung durch Temperatureinwirkung) des Testserums festgestellt wird, sollte das Testserum nicht mehr eingesetzt werden, es kann auf eine mikrobielle Kontamination hinweisen.
- Keine undichten, unetikettierte oder gebrochene Flaschen verwenden.
- 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 Kartenmethode kann der Einsatz einer anderen kartenspezifischen Zentrifuge (jede Kartenzentrifuge hat seine festgelegte unveränderliche g-Zahl) auf Grund der dadurch veränderten g-Zahl zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Die beschriebenen Testmethoden zur Anwendung gelten ausschließlich für die manuellen Methoden und müssen nach den Angaben der Gebrauchsinformation durchgeführt werden. a) Bei Änderungen der Technik / Abweichungen zu der Gebrauchsinformation b) Einsatz von Automaten oder halbautomatische Systeme müssen die Laboratorien die Angaben der Gerätehersteller befolgen und Validierungen nach anerkannten Verfahren durchführen.
- Bei der Anwendung des Testserums sind alle gültigen nationalen Gesetze, Verordnungen und Richtlinien in ihrer gültigen Fassung zu beachten, in Deutschland insbesondere die „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“¹.
- Die Angaben zum Einsatz der Testkarten (ein Kunststoffrahmen mit 6 oder 8 Mikroröhrchen befüllt mit einem gepufferten Medium) in der zugehörigen Gebrauchsinformation sind unbedingt zu beachten.
- Die Hinweise zur Verwendung der unterschiedlichen zusätzlichen Materialien in den jeweiligen Gebrauchsinformationen sind zu beachten.
- Dieses Reagenz wurde mit der Röhrenzentrifugationsmethode, der Kartenmethode und der Mikroplattenmethode validiert und zugelassen.

PROBENTNAHME UND AUFBEREITUNG

- Blutproben sollten mit einer zugelassenen Entnahmetechnik gewonnen werden und mit den folgenden Koagulanzen, EDTA, Natriumzitrat, ACD, CPD-A, enthaltenen Röhrchen oder mit dem Koagulanz PAGGS-M enthaltenen Konservendeckel abgenommen werden.
- Das auszutestende Blut sollte sofort 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, CPD-A und ACD behandelte Proben innerhalb von 14 Tagen nach der Entnahme getestet werden. Konserven/Spenderblute (mit PAGGS-M) können bis zum Verfallsdatum ausgetestet werden.
- Blutproben nicht einfrieren.

VORBEREITUNG DER TESTSEREN

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

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL UND DIE ZUGEHÖRIGE VERFAHRENSANWEISUNG**Röhrenmethode:****Materialien:**

- Teströhrchen (10 x 75 mm oder 12 x 75 mm)
- Mikroliterpipette
- Zentrifuge
- Kurzzeitwecker
- isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)

Verfahren:

- 2-5%ige Erythrozytensuspensionen in isotonischer Kochsalzlösung vorbereiten. (Erythrozyten können vorab 1-3 Mal 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. 50µl Erythrozytensuspension zu einem Tropfen = ca. 50 µl Testserum gegeben werden.
- Die Erythrozyten-/Testserummischung durch leichtes Schütteln mischen.
- 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.

Mikrotitermethode:**Materialien:**

- Mikrotiterplatte mit 96 U-Vertiefungen
- Teströhrchen (10 x 75 mm oder 12 x 75 mm)
- Mikroliterpipette
- Zentrifuge
- Kurzzeitwecker
- Mikrotiterplatten-Schüttler
- Mikrotiterplatten-Zentrifuge
- isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)

Verfahren:

- 2-5%ige Erythrozytensuspensionen in isotonischer Kochsalzlösung vorbereiten. (Erythrozyten können vorab 1-3 Mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
- In eine beschriftete Vertiefung 50 µL des entsprechenden Testserums geben.
- In die Vertiefung 50 µL der entsprechenden Erythrozytensuspension zugeben.
- Die Erythrozyten-/Testserummischung in der Mikrotiterplatte auf einem Mikrotiterplatten-Schüttler für 30 Sekunden auf mittlerer Stufe schütteln.
- Die Mikrotiterplatte in einer entsprechenden Mikrotiterplatten-Zentrifuge für 30 Sekunden bei 400 x g zentrifugieren.
- Die Mikrotiterplatte auf dem Mikrotiterplatten-Schüttler für 30 Sekunden auf mittlerer Stufe schütteln.
- Die Testergebnisse direkt nach dem aufschütteln makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
- Ergebnis 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.

Kartenmethode:**Materialien:****für die Kartentechnik manuell Grifols:**

- Karten: Grifols „DG Gel Neutral“ REF 210343
- Teströhrchen (10 x 75 mm oder 12 x 75 mm)
- Mikroliterpipette
- Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)
- Zentrifuge
- Kartenspezifisches Verdünnungsmittel: "DG Gel Sol" REF 210354
- Grifols Karten-Zentrifuge: "DG-Spin"

Verfahren: Neutralkarte

- 0,8%ige Erythrozytensuspensionen in DG Gel Sol (kartenspezifisches Verdünnungsmedium) vorbereiten (Erythrozyten können vorab 1-3 Mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
- In jedes beschriftete Mikroröhrchen 50 µL der entsprechenden Erythrozytensuspension geben.
- In jedes Mikroröhrchen 25 µL des Testserums zugeben.
- Keine Inkubations-/ Reaktionszeit bei der „DG Gel Neutral“ Karte.
- Zentrifugation in der Grifols Kartenzentrifuge mit der, für die Zentrifuge, unveränderlichen g-Zahl.
- Innerhalb von 30 Min. makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
- Ergebnisse protokollieren.

Materialien:**für die Kartentechnik manuell BIO-RAD (DiaMed):**

- Karten: Bio-Rad "NaCl, Enzyme Test and cold Agglutinins" REF 005014
- Teströhrchen (10 x 75 mm oder 12 x 75 mm)
- Mikroliterpipette
- Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)
- Zentrifuge
- Kartenspezifisches Verdünnungsmittel: "ID-Diluent 2" REF 009280
- Bio-Rad Karten-Zentrifuge: ID-Zentrifuge 24S

Verfahren: „NaCl, Enzyme Test and cold Agglutinins“

- 0,8%ige Erythrozytensuspensionen in "ID-Diluent 2" (kartenspezifisches Verdünnungsmedium) vorbereiten (Erythrozyten können vorab 1-3 Mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
- In jedes beschriftete Mikroröhrchen 50 µL der entsprechenden Erythrozytensuspension geben.
- In jedes Mikroröhrchen 25 µL des Testserums zugeben.
- Keine Inkubations-/ Reaktionszeit bei der „NaCl, Enzyme Test and cold Agglutinins“ Karte.
- Zentrifugation in der Bio-Rad Kartenzentrifuge mit der, für die Zentrifuge, unveränderlichen g-Zahl.
- Innerhalb von 30 Min. makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
- Ergebnisse protokollieren.



Materialien:

für die Kartentechnik manuell BioVue® System:

1. Karten: Ortho BioVue® "Reverse Diluent Kassette" REF 707550
2. Teströhrchen (10 x 75 mm oder 12 x 75 mm)
3. Mikroliterpipette
4. Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)
5. Zentrifuge
6. Kartenspezifisches Verdünnungsmittel: Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% NaCl)
7. Ortho Karten-Zentrifuge: „BioVue Workstation“

Verfahren: Reversekarte

1. 3-5%ige Erythrozytensuspensionen in Isotonische Kochsalzlösung vorbereiten (Erythrozyten können vorab 1-3 Mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
2. In jedes beschriftete Mikroröhrchen 40 µL des Testserums geben.
3. In jedes Mikroröhrchen 10 µL der entsprechenden Erythrozytensuspension zugeben.
4. Keine Inkubations-/ Reaktionszeit bei der "Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassette".
5. Zentrifugation in der Ortho BioVue® Kartenzentrifuge mit der, für die Zentrifuge, unveränderlichen g-Zahl.
6. Die Testergebnisse sollen direkt nach Ende der Zentrifugation abgelesen werden.
7. Ergebnisse protokollieren.

INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

Positives Ergebnis (+): Tritt innerhalb der akzeptierten Grenzen des Testverfahrens eine Agglutination der Erythrozyten auf, ist das Testergebnis als positiv zu werten und zeigt die Anwesenheit des entsprechenden Antigens an.

Negatives Ergebnis (-): Tritt innerhalb der akzeptierten Grenzen des Testverfahrens keine Agglutination der Erythrozyten auf, ist das Testergebnis als negativ zu bewerten und das entsprechende Antigen ist nicht nachweisbar.

Die Ablesung und Interpretation der Ergebnisse nach "vorsichtigem Schütteln" bei der Röhrchen-Zentrifugations- / Mikrotiterplatten Methode:

Negativ	Keine erkennbaren Agglutinate, homogene Rotfärbung der Flüssigkeit
Positiv	Ein insgesamt vollständiges Agglutinat
	Kein vollständiges Agglutinat, einige einzelne Agglutinate
	Rotfärbung der Flüssigkeit, die nur kleine / Miniaturagglutinate enthält

Die Ablesung und Interpretation der Ergebnisse bei den Kartenmethoden entsprechend der jeweiligen Karten Gebrauchsinformation durchführen.

Negativ	Alle Erythrozyten sind durch die Säule. Ein Streifen von Erythrozyten unten in der Säule und keine sichtbaren Agglutinationen im Rest der Säule
Positiv	Wenig kleine Agglutinate in der unteren Hälfte der Säule und ein Streifen von Erythrozyten unten in der Säule.
	Einige kleine Agglutinationen in der unteren Hälfte der Säule.
	Kleine oder mittelgroße Agglutinationen über die ganze Säule verteilt.
	Mittelgroße Agglutinationen in der oberen Hälfte der Säule
	Streifen / Bande agglutinerter Erythrozyten im oberen Bereich / am oberen Ende der Säule.

GRENZEN DER TESTMETHODEN

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 anderen proteinhaltigen Lösungen können zu unspezifischen Reaktionen führen.
4. Hämolytierte, trübe, kontaminierte oder geronnene Blutproben dürfen nicht im Test eingesetzt werden.
5. Eine Erythrozytensuspension mit einer Konzentration, die von der angegebenen Konzentration abweicht, kann zu falsch positiven oder falsch negativen Ergebnissen führen.
6. Die Verwendung eines anderen Verdünnungsmittels als bei den einzelnen Karten für die Erythrozytensuspensionen angeben, kann zu einem veränderten Reaktionsverhalten führen.
7. Die Zugabe von Volumina, die von den in der Methode angegebenen Volumina abweichen, kann zu einem veränderten Reaktionsverhalten führen.
8. 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.
9. Kein einzelnes Testserum oder eine einzelne Methode kann garantieren alle seltenen oder schwachen Antigene und alle Varianten der Antigene zu detektieren.*
10. Bei Erythrozyten mit einem starken positiven direkten Coombs-Test kann es in seltenen Fällen zu falsch positiven Ergebnissen kommen.
11. Die Angaben zu Grenzen der Testkarten in der jeweiligen Gebrauchsanweisung sind zu beachten.

VORFÄLLE IM ZUSAMMENHANG MIT DEM OBEN AUFGEFÜHRTEM PRODUKT

Jeder schwerwiegende Vorfall, der im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten ist, muss dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats gemeldet werden, in dem der Benutzer und/oder der Patient niedergelassen ist.

LEISTUNGSDATEN

Eine Leistungsbewertung für die Produkte wurde entsprechend der Durchführungsverordnung (CS Common Specification of 04. July 2022) durchgeführt. Das erforderliche Probenmaterial wurde eingesetzt und mit anderen Referenzmethoden / Produkten verglichen.

Produkt	Anti-K (KEL1) monoclonal, human IgM clone: AEK-4			
	Positive Blute n	Sensitivität	Negative Blute n	Spezifität
Röhrchenmethode	15 / 15	100 %	110 / 110	100 %
Mikrotitermethode	15 / 15	100 %	110 / 110	100 %
Grifols „DG Gel Neutral“ manuell	9 / 9	100 %	129 / 129	100 %
Bio-Rad "NaCl, Enzyme test and cold Agglutinins" manuell	9 / 9	100 %	129 / 129	100 %
Ortho BioVue® "Reverse Diluent Kassette" manuell	9 / 9	100 %	129 / 129	100 %

Diagnostische Sensitivität: Die Wahrscheinlichkeit, dass das Testserum bei dem Vorhandensein des korrespondierenden Antigens ein positives Ergebnis anzeigt.

Diagnostische Spezifität: Die Wahrscheinlichkeit, dass das Testserum bei dem nicht Vorhandensein des korrespondierenden Antigens ein negatives Ergebnis anzeigt.

Anti-K (KEL1) monoclonal human IgM clone: AEK-4 ist gleichwertig und unterscheidet sich qualitativ nicht von vergleichbaren auf dem Markt erhältlichen Reagenzien.

UNTERSCHIEDE ZWISCHEN CHARGEN

Die Validierung zwischen drei Chargen über die gesamte Laufzeit ergab keine Unterschiede.

INTERFERENZ STUDIE

Die Interferenzstudien zeigten keine Beeinträchtigung der qualitativen Tests bei der Verwendung der folgenden Störsubstanzen in den folgenden Konzentrationen: Heparin 720 U/dl, Albumin 15000 mg/dl, Triglyceride 1500 mg/dl, Bilirubin 40mg/dl, Ethanol 620 mg/dl, Glucose 1000 mg/dl. Für die Antikoagulantien (EDTA, Natriumzitrat, ACD, CPD-A, PAGGS-M) wurde die dreifache Konzentration der empfohlenen Konzentration getestet.

ZUSAMMENFASSUNG VON SICHERHEIT UND LEISTUNG

Die Zusammenfassung der Sicherheit und Leistung dieses Testserums ist über die ANTI TOXIN (www.antitoxin-gmbh.de) erhältlich und kann über die EUDAMED-Datenbank abgerufen werden.

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.
5. Körmöczy, C. et al. Immunhämatologische Untersuchungen bei Patienten. Österreichische Gesellschaft für Blutgruppenserologie, Transfusionsmedizin, Regenerative Medizin und Immungenetik (ÖGBT), Ausgabe Mai 2015.
6. Chu, T. H., Yazdanbakhsh, K., Oyen, R., Smart, E., & Reid, M. E. (1999). Production and characterization of anti-kell monoclonal antibodies using transfected cells as the immunogen. British journal of haematology, 106(3), 817–823.
7. Redman, C. M., & Lee, S. (1995). The Kell blood group system. Transfusion clinique et biologique ; journal de la Société française de transfusion sanguine, 2(4), 243–249.
8. Dean L. Blood Groups and Red Cell Antigens [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2005. Chapter 8, The Kell blood group.

REF	Artikel-Nummer	LOT	Charge
	Lagerung von - bis		Verfallsdatum
IVD	In-Vitro Diagnostikum	CE	EU CE Symbol
	Hersteller nach (EU) 2017/746		Gebrauchsinformation beachten
UDI	Unique Device Identification		Vertreiber

REF

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



ANTI TOXIN GmbH Industriestraße 88 69245 Bammental Deutschland

+49 (0) 6223/ 8661-0

+49 (0) 6223/ 8661-13

gara@antitoxin-gmbh.de

01.169- / Version R003 / 2024-03-18

Kennzeichnung der Änderungen

Unterstrichen: Ergänzung oder wesentliche Änderung; ◆ Löschung von Texten

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

English

For Tube-, Card- and Micoplate-Method
FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

INTENDED USE

The reagent is used to in-vitro determine qualitative whether human red blood cells possess or lack the corresponding blood group antigen K.
The reagent is intended to be used by qualified and technical personnel only to perform immunohematology screening tests as part of the practice of transfusion medicine in the general population.
The test method used with this reagent is based on the principle of agglutination, performed not automated.
Normal human erythrocytes, possessing the corresponding antigen, will agglutinate in the presence of the specific antibody directed toward the antigen.

INDICATION / CONTRA-INDICATION

The Anti-K monoclonal blood grouping reagent is used to test patient or donor red cells for the presence of the K antigen. Typing of donor cells facilitates the selection of suitable antigen-negative units for transfusion to patients with this antibody. Cell typing also serves as final verification of the identification of Anti-K in patient or donor sera.
There is no contra-indication to perform the in-vitro-test on blood samples.
The product was validated with sample collected in Europe from patients of unknown ethnic background.

The approximate frequencies of K antigen:

Phenotype	European	African
K+k-	0,2%	seldom
K+k+	8,8%	2%
K-k+	91%	98%

REAGENTS

The listed reagent contains antibodies of the following cell clone:

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

The reagent is produced from cell culture supernatant of hetero-hybridoma-cell lines, which secreting antibodies from IgM-Type that reacts specifically with the corresponding antigen. The antibodies are human protein.
The reagent contains <0.1% (w/v) sodium azide as preservative.
In addition to the active antibody component the test serum contains, sodium chloride, macromolecules, bovine albumin, which has been tested negative for Vesicular Stomatitis Virus and Bluetongue.
The BSA was derived from US sourced animals from USDA and APHIS approved facilities, to be used for in vitro diagnostic reagents, in compliance with EC 1069/2009 and EU 142/2011.

WARNING

This reagent is prepared from supernatants of cell cultures. Nevertheless, 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 REQUIREMENT

Store opened and unopened products at +2 to +8°C. May be at room temperature while in use.
For the stimulation of an In Use Study, the sera were stored 30 times at room temperature for 2 hours and subsequently showed no differences in the qualitative tests until the expiry date.
In principle, store and use the reagent to declared expiry date only.
(Format for the expiry date: Year xxxx Month xx Day xx)

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 (increase in turbidity or colour change due to temperature) is detected, the reagent should no longer be used, this sign may indicate a microbiological contamination.
4. Do not use leaking, unlabeled or broken vials.
5. Strength of positive reactions also depends on age of used blood.
6. Centrifugation outside the specified speed range may lead to false results.
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.
7. The test method identified below is for manual testing only and must be carried out according to the instructions for use.
 - a) In case of changes in technology / deviations from the Instructions for Use
 - b) use of automated or semi-automated systemsthe laboratories have to follow the procedures that are contained in the operator's manual provided by the device manufacturer and carry out validations according to recognized procedures.
8. For usage of the reagent all effective national laws, directives and guidelines have to be observed in its actual form, in Germany especially the „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“
9. The information on the use of the test cards (a plastic frame with 6 or 8 microtubes filled with a buffered medium) in the relevant insert must be observed.
10. The information on the use of the different materials in the relevant insert must be observed.
11. This reagent has been validated and approved with the Tube Centrifugation Method, the Card Method and the Microplate Method.

SAMPLE PREPARATION

1. Blood sample should be obtained using an acceptable phlebotomy technique.
Sample drawn into tubes containing EDTA, Sodium Citrate, CPD-A, ACD or Blood bag containing PAGGS-M may be used.
2. Blood samples to be tested should be used immediately after blood collection to reduce the risk of false-positive and false-negative results due to improper storage or contamination of the samples.
Samples that cannot be tested immediately should be stored at +2 to +8°C.
Blood drawn into EDTA should be tested within 7 days and samples treated with sodium citrate, CPD-A and ACD within 14 days after collection.
Blood bag / Donor Blood (with PAGGS-M) can be tested until the expiry date.
3. Do not freeze samples.

REAGENT PREPARATION

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

ADDITIONAL REQUIRED MATERIAL NOT SUPPLIED AND THE ASSOCIATED PROCEDURAL INSTRUCTION

Tube Method:

Materials:

1. Tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm)
2. Microliter pipette
3. Centrifuge
4. Timer
5. isotonic saline (0,85 - 0,9% sodium chlorid)

Procedure:

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. 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 one drop = approximately 50 µL test serum.
3. Mix Erythrocytes-/Reagent mixture well by slightly shaking.
4. Incubate tube at room temperature for 15 min.
5. Centrifugation of tube for 1 minute at 2.000 rpm (approximately 800-1.000 x g).
6. Gently shake the red cells completely from the bottom of the tube and check macroscopically for agglutination within 3 minutes.
7. Document the result.

Micoplate-Method:

Materials:

1. Microplate with 96 U-wells
2. Tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm)
3. Microliter pipette
4. Centrifuge
5. Timer
6. Microplate shaker
7. Microplate centrifuge
8. Isotonic saline (0,85 - 0,9% sodium chlorid)

Procedure:

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 50 µL of appropriate reagent into a marked well.
3. Add 50 µL of appropriate cell suspension to the well.
4. Shake the red cell/test serum mixture in the microtitre plate on a microtitre plate shaker for 30 seconds on medium speed.
5. Centrifugation of the microplate in appropriate microplate centrifuge for 30 seconds at 400 x g.
6. Shake microplate for 30 seconds on a microplate shaker with medium speed.
7. Examine the test results macroscopically for agglutination immediately after shaking.
8. Document the result.
9. Tests with negative or doubtful results have to be incubated for 5 to 10 minutes at room temperature.
10. Repeat steps 5 to 8 after incubation.

Card Method:

Materials:

Card Method manually Grifols:

1. Card: Grifols_DG Gel Neutral" REF 210343
2. Tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm)
3. Microliter pipette
4. Isotonic saline (0,85 - 0,9% sodium chlorid)
5. Centrifuge
6. Card specific diluent "DG Gel Sol" REF 210354
7. Grifols Card Centrifuge "DG-Spin"

Procedure: Neutral Card

1. Prepare 0,8 % suspensions of red blood cells in "DG Gel Sol" (card specific diluent). (red blood cells may be washed 1 - 3 times with isotonic saline).
2. Add 50 µL of appropriate cell suspension to each labeled microtube.
3. Add 25 µL of the reagent to each microtube.
4. No Incubation- / Reaction time for the "DG Gel Neutral" card
5. Centrifugation in Grifols card centrifuge with the, for the respective centrifuge, unchangeable g-force.
6. Check macroscopically for agglutination within 30 minutes.
7. Document the result.

Materials:

Card Method manually BIO-RAD (DiaMed):

1. Card: Bio-Rad "NaCl, Enzyme test and cold Agglutinins " REF 005014
2. Tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm)
3. Microliter pipette
4. Isotonic saline (0,85 - 0,9% sodium chlorid)
5. Centrifuge
6. Card specific diluent: "ID-Diluent 2" REF 009280
7. Bio-Rad Card Centrifuge: ID-Centrifuge 24S

Procedure: „NaCl, Enzyme Test and cold Agglutinins card“

1. Prepare 0,8 % suspensions of red blood cells in "ID-Diluent 2" (card specific diluent). (red blood cells may be washed 1 - 3 times with isotonic saline).
2. Add 50 µL of appropriate cell suspension to each labeled microtube.
3. Add 25 µL of the reagent to each microtube.
4. No Incubation- / Reaction time for the „NaCl, Enzyme Test and cold Agglutinins" card.
5. Centrifugation in Bio-Rad card centrifuge



Materials:**Card Method manually BioVue® System:**

1. Card: Ortho BioVue® "Reverse Diluent Cassette" REF 707550
2. Tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm)
3. Microtiter pipette
4. Isotonic saline (0,85 - 0,9% sodium chlorid)
5. Centrifuge
6. Card specific diluent: Isotonic saline (0,85 - 0,9% NaCl)
7. Ortho Card centrifuge: „BioVue Workstation"

Procedure: Reverse Card

1. Prepare 3% to 5% suspensions of red blood cells in isotonic saline (red blood cells may be washed 1-3 times with isotonic saline)
2. Add 40 µL of the reagent to each labeled microtube.
3. Add 10 µL of appropriate cell suspension to each microtube.
4. No Incubation- / Reaction time for the "Ortho BioVue® Reverse Diluent Cassette".
5. Centrifugation in Ortho BioVue® card centrifugation with the, for the respective centrifuge, unchangeable g-force.
6. Check macroscopically for agglutination immediately after the end of centrifugation.
7. Document the result.

INTERPRETATION OF RESULTS

Positive results (+): If agglutination of the erythrocytes occurs within the accepted limitations of the test procedure, the test result is positive and indicates the presence of the corresponding antigen.

Negative results (-): If agglutination of the erythrocytes does not occur within the accepted limitations of the test procedure, the test result is negative and indicates the absence of the corresponding antigen.

The reading and interpretation of the results after "careful shaking" at the Tube Centrifugation Method / Microplate Method

Negative	One complete agglutinate.
Positive	Red colouration of the liquid containing only small / miniature agglutinates.
	No complete agglutinate, some individual agglutinates
	No detectable agglutinates, homogeneous red coloration of the liquid.

Read and interpret the results of the card methods in accordance with the respective card instructions

Negative	All erythrocytes are through the column. A strip of red cells at the bottom of the column and no visible agglutinated cells in the rest of the column.
Positive	Few small agglutinations in the lower half of the column and a strip of cells at the bottom of the column.
	Some small agglutinations in the lower half of the column.
	Small or medium-sized agglutinations distributed throughout the column.
	Medium-sized agglutinations in the upper half of the column.
	Strip / band of agglutinated erythrocytes in the upper area / at the upper end of the column.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. Inaccuracy at compliance with instructions written under section "Procedures" and "Interpretation of results" may lead to incorrect results.
2. No valid conclusion concerning the test result can be reached, if controls with uncertain or false results occur.
3. Enzyme treated erythrocytes or addition of bovine albumin and / or other solutions containing protein may cause unspecific reactions.
4. Hemolyzed, turbid, contaminated or clotted blood samples must not be used in this test.
5. A red blood cell suspension with a concentration that deviates from the indicated concentration may lead to false positive or false negative results.
6. The use of a diluent other than the one indicated on the individual cards for the erythrocyte suspensions may lead to an altered reaction behaviour.
7. The addition of volumes that deviate from the volumes specified in the method may lead to altered reaction behavior.
8. Due to variability of antigen expression on human red blood cells, reactivity of the reagent mentioned above, against certain phenotypes, may give weaker reactivity compared to control cells.
9. No one specific antiserum or technique can be guaranteed to detect all rare, weak or variants of antigens.2
10. Red blood cells with a strong positive direct Coombs-test may give false positive results in rare cases.
11. Pay attention to all statements to limitations in the instruction for use of the cards.

INCIDENTS RELATED TO THE DEVICE

Any serious incident that has occurred in relation to the device must be reported to the manufacturer and the competent authority of the Member State where the user and/or patient is established.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

A performance evaluation for the products was carried out in accordance with the Common Specification (CS Common Specification of 04. July 2022). The required samples were used and compared with other reference methods / products.

Product	Anti-K (KEL1) monoclonal, human IgM clone: AEK-4			
	Positive Bleeds n	Sensitivity	Negative Bleeds n	Specificity
Tube methode	15 / 15	100 %	110 / 110	100 %
Mikroplate methode	15 / 15	100 %	110 / 110	100 %
Grifols „DG Gel Neutral" manually	9 / 9	100 %	129 / 129	100 %
Bio-Rad "NaCl, Enzyme test and cold Agglutinins" manually	9 / 9	100 %	129 / 129	100 %
Ortho BioVue® "Reverse Diluent Cassette" manually	9 / 9	100 %	129 / 129	100 %

Diagnostic Sensitivity: The probability that the device gives a positive result in the presence of the target marker.

Diagnostic Specificity: The probability that the device gives a negative result in the absence of the target marker.

Anti-K (KEL1) monoclonal human IgM clone: AEK-4 is equivalent and does not differ in quality from comparable reagents available on the market.

DIFFERENCES BETWEEN BATCHES

Validation between three batches over the entire shelf life showed no differences.

INTERFERENCE STUDY

The interference studies showed no impairment for the qualitative test when using the following interfering substances:

Heparin 720 U/dl, Albumin 15000 mg/dl, Triglycerides 1500 mg/dl, Bilirubin 40mg/dl, Ethanol 620 mg/dl, Glucose 1000 mg/dl.



For the anticoagulants (EDTA, Sodium Citrate, ACD, CPD-A, PAGGS-M) three times the recommended concentration was tested.

SUMMARY OF SAFETY AND PERFORMANCE

The Summary of Safety and Performance of this reagent is available via ANTITOXIN (www.antitoxin-gmbh.de) and can be accessed via the EUDAMED database.

LITERATURE

1. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung in 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.
5. Körmöczy, G. et al. Immunhämatologische Untersuchungen bei Patienten. Österreichische Gesellschaft für Blutgruppenserologie, Transfusionsmedizin, Regenerative Medizin und Immunogenetik (ÖGBT), Ausgabe Mai 2015.
6. Chu, T. H., Yazdanbakhsh, K., Oyen, R., Smart, E., & Reid, M. E. (1999). Production and characterization of anti-kell monoclonal antibodies using transfected cells as the immunogen. British journal of haematology, 106(3), 817–823.
7. Redman, C. M., & Lee, S. (1995). The Kell blood group system. Transfusion clinique et biologique : journal de la Societe francaise de transfusion sanguine, 2(4), 243–249.
8. Dean L. Blood Groups and Red Cell Antigens [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2005. Chapter 8, The Kell blood group.

REF	Product code	LOT	Batch
	Store from - to		Expiration Date
IVD	In-Vitro Diagnostic	CE	EU CE Symbol
	Manufacture according to (EU) 2017/746		Consult instruction for use
UDI	Unique Device Identification		Distributor

REF

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

CE 0483

 ANTITOXIN GmbH Industriestraße 88 69245 Bammental Germany

 +49 (0) 6223/ 8661-0

 +49 (0) 6223/ 8661-13

 gara@antitoxin-gmbh.de

 01.169- / Version R003 / 2024-03-18

Marking of changes

Underlined: addition or substantial change; ◆ Deletion of texts

Para los métodos de tubos, tarjetas y microplacas
PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO

FINALIDAD

El reactivo se utiliza para demostrar in vitro de forma cualitativa la presencia o ausencia del antígeno del grupo sanguíneo K en eritrocitos humanos. El uso de este suero de ensayo está concebido únicamente para personal cualificado, formado e instruido en la realización de pruebas de cribado inmunohematológico en la práctica médica de transfusión de la población general. Los métodos de ensayo empleados con este suero de ensayo se basan en el principio de la técnica de aglutinación y no están automatizados. Los eritrocitos humanos normales que llevan el antígeno correspondiente se aglutinan mediante el anticuerpo correspondiente.

INDICACIÓN / CONTRAINDICACIÓN

El suero de ensayo monoclonal anti-K se utiliza para analizar la presencia de antígeno K en eritrocitos de pacientes o donantes. La tipología de células donantes facilita la selección de las unidades antigénicas negativas adecuadas para la transfusión a pacientes con este anticuerpo. La tipificación celular también se utiliza para la verificación final de la identificación de Anti-K en sueros de pacientes o donantes. No hay contraindicación para realizar pruebas in vitro con muestras de sangre. El producto se ha validado con muestras recogidas en la Unión Europea de pacientes con antecedentes éticos desconocidos.

Frecuencia aproximada de antígeno K:

Fenotipo	Europeo	Africano
K+k-	0,2%	raro
K+k+	8,8%	2%
K-k+	91%	98%

SUEROS DE ENSAYO

El suero de ensayo de grupo sanguíneo enumerado contiene anticuerpos del siguiente clon:

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

Los sueros monoclonal Anti-K se obtiene de sobrenadante de cultivos de líneas celulares heterohíbridomas. Las células segregan un anticuerpo del tipo IgM, que reacciona específicamente con el correspondiente antígeno. El anticuerpo es proteína humana. Estos reactivos contiene <0,1% (p/v) de azida sódica como conservante. Además del componente del anticuerpo activo, el suero de ensayo contiene cloruro sódico, uniones de alto peso molecular y albúmina bovina, que se ha sometido a pruebas negativas para detectar virus de la estomatitis vesicular y fiebre catarral ovina. La albúmina bovina procede de animales de EE. UU., de instituciones aprobadas por USDA y APHIS, para su uso en reactivos de diagnóstico in vitro de conformidad con los ordenamientos (CE) 1069/2009 / (CE) 142/2011.

AVVERTENZA

Estos reactivos se obtienen de sobrenadante de cultivos celulares. Se trata de un producto biológico que debe considerarse potencialmente infeccioso debido a la imposibilidad de excluir por completo la presencia de agentes patógenos que puedan suponer un riesgo. Los reactivos de prueba contiene azida sódica, que tiene un efecto tóxico y puede formar sales explosivas en contacto con plomo o cobre. Aclarar con abundante agua para su eliminación. Por los motivos arriba mencionados, los reactivos de prueba debe manipularse con el debido cuidado

ALMACENAMIENTO

Sin abrir y tras la primera apertura, conservar bien cerrado de +2 a +8 °C, para su uso durante períodos breves de tiempo, también a temperatura ambiente. Para simular un estudio de uso, los sueros se almacenaron 30 veces a temperatura ambiente durante 2 horas y no mostraron ninguna diferencia en las pruebas cualitativas hasta la fecha de caducidad. El suero de ensayo es aplicable hasta la fecha de caducidad indicada. (Formato de la fecha de caducidad: año xxxx mes xx día xx).

OBSERVACIONES

- Se deberían incluir controles positivos y negativos en cada prueba.
- La conservación inadecuada de los reactivos reduce su eficacia.
- Un enturbiamiento ligero no afecta a la capacidad de reacción del suero de ensayo. Debe evitarse la contaminación bacteriana y química del suero de ensayo. Si se detecta un cambio visible en el suero de ensayo (aumento de la turbidez o cambio de color debido a la exposición a la temperatura), el suero de ensayo no debe utilizarse más y puede indicar contaminación microbiana.
- No utilice botellas con fugas, sin etiquetar o rotas.
- 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 correspondiente de tarjetas. 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 métodos de prueba descritos para la aplicación son válidos exclusivamente para los métodos manuales y deben realizarse según las indicaciones de las instrucciones de uso. a) En caso de modificaciones/divergencias técnicas con respecto a las instrucciones de uso b) El uso de máquinas automáticas o semiautomatizadas requiere que los laboratorios sigan las indicaciones de los fabricantes de los equipos y realicen validaciones de acuerdo con procedimientos reconocidos.
- Para la utilización de estos reactivos deberán contemplarse todas las guías, directrices y leyes nacionales en la versión actual.; específicamente en Alemania la "Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)".
- Es imprescindible tener en cuenta las indicaciones sobre el uso de las tarjetas de ensayo (un marco de plástico con 6 u 8 microtubos llenos medio tamponado) incluidas en las instrucciones de uso correspondientes.
- Deben observarse las instrucciones de uso de los distintos materiales adicionales en las respectivas instrucciones de uso.
- Este reactivo ha sido validado y aprobado utilizando el método de centrifugación en tubo, el método de la tarjeta y el método de la microplaca.

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

- Las muestras de sangre deben obtenerse utilizando una técnica de obtención de muestras aprobada y deben recogerse con los siguientes coagulantes, EDTA, citrato sódico, ACD, CPD-A, tubos incluidos o el producto en conserva que contiene la coagulación PAGGS-M.
- 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.
- No congelar las muestras de sangre.

PREPARACIÓN DE LOS SUEROS DE ENSAYO

No se requiere preparación del reactivo.
 Sacar y usar el reactivo directamente de los viales

MATERIALES NECESARIOS ADICIONALES NO SUMINISTRADOS Y LAS INSTRUCCIONES DE PROCEDIMIENTO CORRESPONDIENTES**Métodos de tubos:****Materiales:**

- Tubos de 10x75 mm o 12x75 mm
- Micropipeta
- Centrifuga
- Despertador
- Solución salina isotónica (0,85 - 0,9% cloruro sódico)

Procedimiento:

- Prepare suspensiones de eritrocitos al 2-5 % en solución salina isotónica. (Los eritrocitos se pueden lavar previamente de 1 a 3 veces con solución salina isotónica).
- Coloque primero 100 µL del suero de ensayo correspondiente en un tubo de ensayo etiquetado y, a continuación, añada 100 µL de la suspensión de eritrocitos correspondiente en el tubo de ensayo. Como alternativa, se puede añadir una gota = aprox. 50 µl de suspensión de eritrocitos a una gota = aprox. 50 µl de suero de ensayo.
- 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).
- Añada 50 µL de la suspensión del fondo del tubo agitándolas suavemente y examínelas macroscópicamente para ver si se aglutinan en 3 minutos.
- Documentar el resultado.

Métodos de microplacas:**Materiales:**

- Microplaca de 96 U-pocillos
- Tubos de 10x75 mm o 12x75 mm
- Micropipeta
- Centrifuga
- Despertador
- Microplaca-agitador
- Microplaca-centrifuga
- Solución salina isotónica (0,85 - 0,9% cloruro sódico)

Procedimiento:

- Prepare suspensiones de eritrocitos al 2-5 % en solución salina isotónica. (Los eritrocitos se pueden lavar previamente de 1 a 3 veces con solución salina isotónica).
- Añada 50 µL del suero de ensayo correspondiente en un hueco etiquetado.
- Añada 50 µL de la suspensión de eritrocitos correspondiente en el hueco.
- Agite la placa de microtitulación en un agitador de microplacas a velocidad media durante 30 segundos.
- Centrifugue la placa de microtitulación en una centrifugadora de microplacas adecuada durante 30 segundos a 400 x g.
- Agite brevemente la placa de microtitulación en el agitador de microplacas a velocidad media durante 30 segundos.
- Inspeccionar macroscópicamente los resultados de la prueba en busca de aglutinación inmediatamente después de agitarla.
- Documentar el resultado.
- Incuba las pruebas con resultados negativos o cuestionables durante 5-10 minutos a temperatura ambiente.
- Después de la incubación a temperatura ambiente, repita los pasos 5-8.

Métodos de tarjetas:**Materiales:**

- para el método de tarjetas manual Grifols:**
- Tarjetas: Grifols „DG Gel Neutral“ REF 210343
 - Tubos de 10x75 mm o 12x75 mm
 - Micropipeta
 - Solución salina isotónica (0,85 - 0,9% cloruro sódico)
 - Centrifuga
 - Diluyente específico de la tarjeta: "DG Gel Sol" REF 210354
 - Grifols centrifuga de tarjetas: "DG-Spin"

Procedimiento: Neutralkarte

- Preparar suspensiones de eritrocitos al 0,8% en "DG Gel Sol" (Diluyente específico de la tarjeta) (Los eritrocitos se pueden lavar previamente de 1 a 3 veces con solución salina isotónica).
- Añadir 50 µL de la suspensión de hematíes correspondiente en cada microtubo etiquetado..
- Añadir 25 µL del reactivo correspondiente en cada microtubo.
- Sin tiempo de incubación/tiempo de reacción con la tarjeta "DG Gel Neutral".
- Centrifugación en la centrifuga de tarjetas Grifols con el número g invariable para la centrifuga.
- Comprobar macroscópicamente si existe aglutinación (en los siguientes 30 minutos).
- Documentar el resultado.

Materiales:**para el método de tarjetas manual BIO-RAD (DiaMed):**

- Tarjetas: Bio-Rad "NaCl, Enzyme test and cold Agglutinins " REF 005014
- Tubos de 10x75 mm o 12x75 mm
- Micropipeta
- Solución salina isotónica (0,85 - 0,9% cloruro sódico)
- Centrifuga
- Diluyente específico de la tarjeta: "ID-Diluent 2" REF 009280
- Bio-Rad centrifuga de tarjetas: ID- Centrifuga 24S

Procedimiento: „NaCl, Enzyme Test and cold Agglutinins“

- Preparar suspensiones de eritrocitos al 0,8% en "ID-Diluent 2" (Diluyente específico de la tarjeta) (Los eritrocitos se pueden lavar previamente de 1 a 3 veces con solución salina isotónica).
- Añadir 50 µL de la suspensión de hematíes correspondiente en cada microtubo etiquetado.
- Añadir 25 µL del reactivo correspondiente en cada microtubo.
- Sin tiempo de incubación/tiempo de reacción con la tarjeta „NaCl, Enzyme Test and cold Agglutinins“.
- Centrifugación en la centrifuga de tarjetas Bio-Rad con el número g invariable para la centrifuga.
- Comprobar macroscópicamente si existe aglutinación (en los siguientes 30 minutos).
- Documentar el resultado.



Materiales:**para el método de tarjetas manual BioVue® System:**

1. Tarjetas: „Ortho BioVue® Reverse Diluent“ REF 707550
2. Tubos de 10x75 mm o 12x75 mm
3. Micropipeta
4. Solución salina isotónica (0,85 - 0,9% cloruro sódico)
5. Centrífuga
6. Diluyente específico de la tarjeta: Solución salina isotónica (0,85 - 0,9% cloruro sódico)
7. Ortho centrífuga de tarjetas: „BioVue Workstation“

Procedimiento: Reversekarte

1. Prepare suspensiones de eritrocitos al 3-5 % en solución salina isotónica.
(Los eritrocitos se pueden lavar previamente de 1 a 3 veces con solución salina isotónica).
2. Añadir 40 µL del reactivo en cada microtubo etiquetado.
3. Añadir 10 µL de la suspensión de hematies correspondiente en cada microtubo.
4. Sin tiempo de incubación/tiempo de reacción con la tarjeta "Ortho BioVue® Reverse Diluent".
5. Centrifugación en la centrífuga de tarjetas Ortho BioVue® con el número g invariable para la centrífuga.
6. Los resultados de la prueba se deben leer de inmediato tras finalizar el centrifugado.
7. Documentar el resultado.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA

Resultado positivo (+): Si se produce una aglutinación de los eritrocitos dentro de los límites aceptados del procedimiento de prueba, el resultado de la prueba debe considerarse positivo e indicar la presencia del antígeno correspondiente.

Resultado negativo (-): Si no se produce ninguna aglutinación de los eritrocitos dentro de los límites aceptados del procedimiento de prueba, el resultado de la prueba debe ser negativo y no se puede detectar el antígeno correspondiente.

La lectura e interpretación de los resultados después de «agitar con cuidado» en el método de centrifugado de tubos/microplacas:

Negativo	Sin aglutinatos detectables, coloración roja homogénea del líquido.
Positivo	De color rojo del líquido, que solo contiene aglutinatos pequeños/miniatura.
	Se acabó el aglutinado total, algunas aglutinatas individuales.
	Un aglutinado total.

Leer e interpretar los resultados de los métodos de tarjeta conforme a la información de uso de las tarjetas correspondientes.

Negativo	Todos los eritrocitos pasan por la columna. Una tira de eritrocitos en la parte inferior de la columna y ninguna aglutinación visible en el resto de la columna.
Positivo	Pocos aglutinatos en la mitad inferior de la columna y una tira de eritrocitos en la parte inferior de la columna.
	Algunas aglutinaciones pequeñas en la mitad inferior de la columna.
	Agglutinaciones pequeñas o medianas distribuidas por toda la columna.
	Agglutinaciones medianas en la mitad superior de la columna.
	Tiras / bandas de eritrocitos aglutinados en la parte superior/extremo superior de la columna vertebral.

LÍMITES DE LOS MÉTODOS DE ENSAYO

1. La inexactitud en el seguimiento de las instrucciones descritas en las secciones "Procedimiento" e "Interpretación de los resultados" puede conducir a resultados incorrectos.
2. No se puede obtener conclusiones válidas respecto de los resultados si los controles reportan resultados inciertos o falsos.
3. El tratamiento con enzimas de los eritrocitos o la adición de albúmina bovina u otras soluciones que contengan proteínas pueden causar reacciones no específicas.
4. No emplee muestras de sangre hemolizada, turbia, contaminada o coagulada en este ensayo.
5. Una suspensión de eritrocitos con una concentración que se desvíe de la concentración especificada puede dar lugar a resultados falsos positivos o falsos negativos.
6. El uso de un diluyente que no sea el especificado para cada tarjeta de suspensión de eritrocitos puede provocar un cambio en el comportamiento de la reacción.
7. La adición de volúmenes distintos a los especificados en el método puede provocar un cambio en el comportamiento de la reacción.
8. 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.
9. Ningún antisuero o técnica concretos pueden garantizar la detección de todos los antígenos raros o con una expresión débil, ni tampoco todas las variantes.²
10. En el caso de los eritrocitos con un resultado positivo en la prueba de Coombs directa, en raras ocasiones podría arrojar un resultado falso positivo.
11. Prestar atención a las limitaciones y precauciones indicadas en las instrucciones de uso de la tarjetas.

INCIDENTES RELACIONADOS CON EL PRODUCTO ANTERIOR

Cualquier incidente grave que se haya producido en relación con el producto debe comunicarse al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro donde residan el usuario o el paciente.

DATOS DE RENDIMIENTO

Se llevó a cabo una evaluación del rendimiento de los productos de acuerdo con el reglamento de aplicación (Especificación técnicas común CS, de 04 de julio de 2022).

Se utilizaron las muestra requeridas y se compararon con otros métodos/productos de referencia.

Producto	Anti-K (KEL1) monoclonal, human IgM clone: AEK-4			
	Positivo Blute n	Sensibilidad	Negativo Blute n	Especificidad
Métodos de tubos	15 / 15	100 %	110 / 110	100 %
Métodos de microplacas	15 / 15	100 %	110 / 110	100 %
Grifols „DG Gel Neutral“ manual	9 / 9	100 %	129 / 129	100 %
Bio-Rad "NaCl, Enzyme test and cold Agglutinins" manual	9 / 9	100 %	129 / 129	100 %
Ortho BioVue® "Reverse Diluent " manual	9 / 9	100 %	129 / 129	100 %

Sensibilidad de diagnóstico: La probabilidad de que el suero de ensayo muestre un resultado positivo en presencia del antígeno correspondiente.

Especificidad de diagnóstico: La probabilidad de que el suero de ensayo muestre un resultado negativo si no existe el antígeno correspondiente.

Anti-K (KEL1) monoclonal human IgM clone: AEK-4 es equivalente y no es cualitativamente diferente a los reactivos comparables disponibles en el mercado.

DIFERENCIAS ENTRE LOTES

La validación entre tres lotes a lo largo del tiempo de ejecución no ha mostrado diferencias.

ESTUDIO DE INTERFERENCIA

Los estudios de interferencia no mostraron ningún efecto adverso en las pruebas cualitativas con el uso de las siguientes sustancias interferentes en las siguientes concentraciones: Heparina 720 U/dl, Albúmina 15000 mg/dl, Triglicéridos 1500 mg/dl, Bilirrubina 40mg/dl, Etanol 620 mg/dl, Glucosa 1000 mg/dl. Para los anticoagulantes (EDTA, citrato sódico, ACD, CPD-A, PAGGS-M) se ha probado la concentración recomendada tres veces.

RESUMEN DE SEGURIDAD Y RENDIMIENTO

El resumen de la seguridad y el rendimiento de este suero de ensayo está disponible en ANTITOXIN (www.ANTITOXIN-gmbh.de) y se puede consultar a través de la base de datos EUDAMED.

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.
5. Körmöczy, G. et al. Immunhämatologische Untersuchungen bei Patienten. Österreichische Gesellschaft für Blutgruppenserologie, Transfusionsmedizin, Regenerative Medizin und Immunogenetik (ÖGBT), Ausgabe Mai 2015.
6. Chu, T. H., Yazdanbakhsh, K., Oyen, R., Smart, E., & Reid, M. E. (1999). Production and characterization of anti-kell monoclonal antibodies using transfected cells as the immunogen. British journal of haematology, 106(3), 817–823.
7. Redman, C. M., & Lee, S. (1995). The Kell blood group system. Transfusion clinique et biologique ; journal de la Société française de transfusion sanguine, 2(4), 243–249.
8. Dean L. Blood Groups and Red Cell Antigens [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2005. Chapter 8, The Kell blood group.

REF	Número de	LOT	Número de lote
	Almacenamiento desde - hasta		Fecha de expiración
IVD	Diagnóstico in vitro	CE	EU CE Symbol
	Fabricante según (EU) 2017/746		Consulte las instrucciones de uso
UDI	Unique Device Identification		Distribuidor

REF

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

CE 0483

ANTITOXIN GmbH Industriestraße 88 69245 Bammental Alemania

+49 (0) 6223/ 8661-0

+49 (0) 6223/ 8661-13

gara@antitoxin-gmbh.de

01.169- / Versión R003 / 2024-03-18

Marcado de los cambios

Subrayado: Adición o cambio sustancial; † Supresión de texto

Para o método de tubos, cartões e microplacas
APENAS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

UTILIZAÇÃO PREVIST

O reagente é utilizado para a deteção qualitativa in vitro da presença ou ausência do antígeno K de grupo sanguíneo em eritrócitos humanos. A utilização deste soro de ensaio destina-se apenas a profissionais qualificados e com formação na realização de testes de rastreio imunohematológico na prática da medicina transfusional na população em geral. Os métodos de ensaio utilizados na utilização deste soro de ensaio baseiam-se no princípio da técnica de aglutinação e não são automatizados. Os eritrócitos humanos normais que transportam o antígeno correspondente são aglutinados pelo anticorpo correspondente

INDICAÇÕES/CONTRAINDICAÇÕES

O soro de ensaio anti-K monoclonal de grupo sanguíneo é utilizado para testar os eritrócitos de pacientes ou doadores quanto à presença de antígeno K. A tipificação de células doadoras facilita a seleção de unidades antígeno-negativas adequadas para a transfusão para pacientes com este anticorpo. A tipificação celular também é utilizada para verificar definitivamente a identificação do anti-K em soros de pacientes ou doadores. Não existem contra-indicações para que o teste in vitro seja realizado em amostras de sangue. O produto foi validado com amostras recolhidas na União Europeia de pacientes com antecedentes étnicos desconhecidos.

As frequências aproximadas do antígeno K:

Fenótipo	Europeu	Africano
K+k-	0,2%	raro
K+k+	8,8%	2%
K-k+	91%	98%

REAGENTES

O soro de ensaio de grupo sanguíneo listado contém anticorpos do seguinte clone:

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

Os reagentes monoclonais de aglutinação Anti-K (KEL1) é produzidos a partir do sobrenadantes de culturas celulares de linhas celulares hetero-híbrida. 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 contém azida de sódio a <0,1% (p/v) como conservante.

Além do componente do anticorpo ativo, o soro de ensaio contém cloreto de sódio, compostos de alto peso molecular e albumina bovina, que foi testado negativo para o vírus da estomatite vesiculosa e a febre catarral ovina.

A albumina bovina provém de animais dos EUA, instalações aprovadas pelo USDA e APHIS, para a utilização de reagentes de diagnóstico in vitro, em conformidade com os Regulamentos (CE) 1069/2009 / (CE) 142/2011.

AVISO

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.

REQUISITO DE ARMAZENAMENTO

Armazenar abrir e por armazenar bem fechado a +2 até +8 °C.

Podem ficar à temperatura ambiente enquanto estiverem a ser utilizados.

Para a simulação de um estudo de utilização, os soros foram armazenados 30 vezes à temperatura ambiente durante 2 horas e, em seguida, não apresentaram diferenças nos testes qualitativos até a data de expiração.

O soro de ensaio pode ser aplicado até à data de validade especificada.

(Formato da data de validade: Ano xxxx Mês xx Dia xx).

NOTA

1. A cada teste, devem ser realizados controlos positivos e negativos.
2. Um armazenamento incorreto prejudica a eficácia do reagentes.
3. A reação do soro de ensaio não é afetada por uma leve turbidez. Deve ser evitada a contaminação bacteriana e química do soro de ensaio. Se for detetada uma alteração visível (aumento da turbidez ou mudança de cor devido à temperatura) do soro de ensaio, o soro de ensaio deve deixar de ser utilizado, pois tal pode indicar uma contaminação microbiana.
4. Não utilizar frascos com fugas, sem etiqueta ou quebrados.
5. A força das reações positivas depende também da idade do sangue utilizado.
6. 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 e inalterável especificada) pode conduzir a resultados falsos devido à alteração da força g.
7. Os métodos de ensaio descritos para utilização aplicam-se apenas aos métodos manuais e devem ser efetuados de acordo com as instruções do folheto.
 - a) Em caso de alterações na tecnologia/desvios em relação à informação de utilização.
 - b) Utilização de sistemas automáticos ou semiautomáticos. Os laboratórios devem seguir as instruções fornecidas pelos fabricantes do equipamento e realizar validações de acordo com os procedimentos reconhecidos.
8. Para a utilização deste reagentes, devem ser observadas todas as leis, diretivas e diretrizes nacionais em vigor na versão válida. Na Alemanha, especialmente as "Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)"¹.
9. Devem ser respeitadas as informações relativas à utilização dos cartões de teste (uma estrutura de plástico com 6 ou 8 microtubos preenchida com num meio tamponado) contidas no folheto que o acompanha.
10. Devem ser respeitadas as instruções de utilização dos diferentes materiais adicionais nas respectivas instruções de utilização.
11. Este reagente foi validado e aprovado através do método de centrifugação em tubo, do método do cartão e do método da microplaca.

PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

1. As amostras de sangue devem ser obtidas através de uma técnica de colheita aprovada e retiradas com os tubos incluídos com os seguintes anticoagulantes, EDTA, citrato de sódio, ACD, CPD-A, ou as bolsas de plasma incluídas com o coagulante PAGGS-M.
2. As amostras de sangue a serem testadas devem ser usadas logo que possível para reduzir o risco de reações positivas e negativas indevidas provocadas pelo armazenamento e contaminação inadequados da amostra. O sangue não testado de imediato deve ser armazenado a +2 até +8 °C. As amostras de sangue anticoaguladas com EDTA devem ser testadas dentro de 7 dias e as amostras tratadas com citrato de sódio dentro de 14 dias após a colheita. Os conservantes/colheitas de sangue do dador podem ser verificados até à data de validade.
3. Não congelar as amostras de sangue.

PREPARAÇÃO DO REAGENTES

Não é necessária preparação do reagentes.

Retire e utilize o reagente diretamente dos frascos.

MATERIAL ADICIONAL NECESSÁRIO E INSTRUÇÕES DE PROCEDIMENTO APLICÁVEIS**Método de tubos:****Materiais:**

1. Tubos de teste 10 x 75 mm ou 12 x 75 mm)
2. Pipeta de precisão
3. Centrífuga
4. Cronómetro
5. solução salina isotónica (0,85 - 0,9% cloreto de sódio)

Procedimento:

1. Prepare suspensões de glóbulos vermelhos de 2% a 5% em solução salina isotónica (Os eritrócitos podem ser previamente lavados 1-3 vezes com solução salina isotónica).
2. Adicionar primeiro 100 µL do soro de ensaio correspondente num tubo de ensaio rotulado e, em seguida, adicionar 100µl da suspensão de eritrócitos correspondente no tubo de ensaio. Em alternativa, pode adicionar-se uma gota de aprox. 50µL de suspensão de eritrócitos a uma gota de cerca de 50 µl de soro de ensaio.
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 800-1000 x g).
6. Agitando suavemente as células completamente do fundo do tubo e observe macroscopicamente a presença de aglutinação dentro de 3 minutos.
7. Registar o resultado.

Método de microplacas:**Materiais:**

1. microplaca de 96 U-poços
2. Tubos de teste (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm)
3. Pipeta de precisão
4. Centrífuga
5. Cronómetro
6. Microplaca agitador
7. Microplaca centrífuga
8. solução salina isotónica (0,85 - 0,9% cloreto de sódio)

Procedimento:

1. Preparar as suspensões de eritrócitos de 2-5% numa solução salina isotónica. (Os eritrócitos podem ser previamente lavados 1-3 vezes com solução salina isotónica).
2. Adicionar 50 µL do soro de ensaio correspondente a uma célula (poço) rotulada.
3. Adicionar 50 µL da suspensão de eritrócitos correspondente na célula (poço).
4. Agitar a microplaca num sacudidor de microplacas até uma velocidade média durante 30 segundos.
5. Centrifugar a microplaca numa centrífuga de microplacas adequada a 400 x g durante 30 segundos.
6. Agitar por breves instantes a microplaca no sacudidor de microplacas durante 30 segundos a uma velocidade média
7. Examinar macroscopicamente os resultados do teste quanto a aglutinação imediatamente após a agitação.
8. Registar o resultado.
9. Incubar os testes com os resultados negativos ou questionáveis durante 5 a 10 minutos à temperatura ambiente.
10. Repetir os passos 5 a 8 após a incubação.

Método de cartões:**Materiais:****para o manual de método de cartões Grifols:**

1. Cartões: Grifols „DG Gel Neutral“ REF 210343
2. Tubos de teste (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm)
3. Pipeta de precisão
4. Solução salina isotónica (0,85 - 0,9% cloreto de sódio)
5. Centrífuga
6. Diluente específico de cartões: "DG Gel Sol" REF 210354
7. Centrífuga de cartões Grifols: "DG-Spin"

Procedimento: „DG Gel Neutral“

1. Prepare suspensões a 0,8% de eritrócitos em DG Gel Sol (Diluente específico de cartões). (Os eritrócitos podem ser previamente lavados 1-3 vezes com solução salina isotónica).
2. Adicione 50 µl de suspensão celular apropriada a cada microtubo marcado.
3. Adicione 25 µl de reagente correspondente em cada microtubo.
4. Sem tempo de incubação/reação para o cartão "DG Gel Neutral".
5. Centrifugue o cartão na centrífuga Grifols com a força g inalterável desta centrífuga no espaço de 30 minutos.
6. Verifique macroscopicamente a aglutinação no espaço de 30 minutos.
7. Registar o resultado.

Materiais:**para o manual de método de cartões BIO-RAD (DiaMed):**

1. Cartões: Bio-Rad "NaCl, Enzyme test and cold Agglutinins" REF 005014
2. Tubos de teste (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm)
3. Pipeta de precisão
4. Solução salina isotónica (0,85 - 0,9% cloreto de sódio)
5. Centrífuga
6. Diluente específico de cartões: "ID-Diluent 2" REF 009280
7. Centrífuga de cartão Bio-Rad: ID-Zentrifuge 24S

Procedimento: „NaCl, Enzyme Test and cold Agglutinins“

1. Prepare suspensões a 0,8% de eritrócitos em DG Gel Sol (Diluente específico de cartões). (Os eritrócitos podem ser previamente lavados 1-3 vezes com solução salina isotónica).
2. Adicione 50 µl de suspensão celular apropriada a cada microtubo marcado.
3. Adicione 25 µl de reagente correspondente em cada microtubo.
4. Sem tempo de incubação/reação para o cartão „NaCl, Enzyme Test and cold Agglutinins“.
5. Centrifugue o cartão na centrífuga Bio-Rad com a força g inalterável desta centrífuga no espaço de 30 minutos.
6. Verifique macroscopicamente a aglutinação no espaço de 30 minutos.
7. Registar o resultado.



Materiais:**para o manual de método de cartões BioVue® System:**

1. Cartões: Ortho BioVue® "Reverse Diluent Kasette" REF 707550
2. Tubos de teste (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm)
3. Pipeta de precisão
4. solução salina isotónica (0,85 - 0,9% cloreto de sódio)
5. Centrífuga
6. Diluente específico de cartões: solução salina isotónica (0,85 - 0,9% cloreto de sódio)
7. Centrífuga de cartão: "BioVue Workstation"

Verfahren: Reversekarte

1. Prepare suspensões de glóbulos vermelhos de 3% a 5% em solução salina isotónica (Os eritrócitos podem ser previamente lavados 1-3 vezes com solução salina isotónica).
2. Adicione 40 µl de reagente apropriada a cada microtubo marcado.
3. Adicione 10 µl de suspensão celular correspondente em cada microtubo.
4. Sem tempo de incubação/reacção para o cartão "Ortho BioVue® Reverse Diluent".
5. Centrifugue o cartão na centrífuga Ortho BioVue® com a força g inalterável desta centrífuga.
6. Verifique macroscopicamente a aglutinação no espaço de 30 minutos.
7. Registrar o resultado.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DO ENSAIO

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.

A leitura e interpretação dos resultados após "agitação cuidadosa" no método de centrifugação do tubo/microplaca:

Negativo	Sem aglutinados identificáveis, cor vermelha homogênea do fluido.
Positivo	Cor vermelha do líquido contendo apenas pequenos aglutinados/aglutinados em miniatura
	Sem outro aglutinado completo, alguns aglutinados individuais
	Um total de aglutinados completo

Efetuar a leitura e interpretação dos resultados para os métodos de cartões de acordo com os cartões relevantes a utilizar.

Negativo	Todos os eritrócitos passam pela coluna. Uma tira de eritrócitos na parte inferior da coluna e sem aglutinação visível no resto da coluna
Positivo	Pequenos aglutinados na metade inferior da coluna e uma tira de eritrócitos na metade inferior da coluna.
	Algumas pequenas aglutinações na metade inferior da coluna.
	Agglutinações de pequeno ou médio porte distribuídas por toda a coluna.
	Agglutinações médias na metade superior da coluna.
	Tiras/bandas de eritrócitos aglutinados na área superior/extremidade superior da coluna.

LIMITES DOS MÉTODOS DE ENSAIO

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 reacções inespecíficas.
4. Não devem ser utilizadas amostras de sangue hemolisadas, turvas, contaminadas ou coaguladas neste teste.
5. Uma suspensão de glóbulos vermelhos com uma concentração que se desvia da concentração especificada pode levar a resultados falsos positivos ou falsos negativos.
6. A utilização de um diluente diferente do indicado nos cartões individuais para as suspensões de eritrócitos poderá resultar numa alteração de comportamento.
7. A adição de volumes que difiram dos volumes especificados no método pode resultar numa alteração do comportamento.
8. 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.
9. Não é possível garantir que um antissoro ou técnica específica detete todos os antígenos raros, fracos ou variantes.²
10. Em glóbulos vermelhos com um teste de Coombs direto fortemente positivo, podem ocorrer resultados falsos positivos em casos raros.
11. Devem observar-se as indicações relativas aos limites incluídos nas instruções de utilização dos cartões utilizados.

INCIDENTES RELACIONADOS COM O PRODUTO LISTADO ACIMA

Qualquer incidente grave que tenha ocorrido no âmbito do produto deve ser comunicado ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro onde o utilizador e/ou o doente estejam estabelecidos.

DADOS DE DESEMPENHO

Foi efetuada uma avaliação do desempenho dos produtos de acordo com o regulamento de execução (CS Common Specification de 04 de julho de 2022).

As amostras necessárias foram utilizadas e comparadas com outros métodos/produtos de referência.

Método	Producto			
	Anti-K (KEL1) monoclonal, human IgM clone: AEK-4			
	Positivo Blute n	Sensibilidade de	Negativo Blute n	Especificidade
Método de tubos	15 / 15	100 %	110 / 110	100 %
Método de microplacas	15 / 15	100 %	110 / 110	100 %
Grifols „DG Gel Neutral" manual	9 / 9	100 %	129 / 129	100 %
Bio-Rad "NaCl, Enzyme test and cold Agglutinins" manual	9 / 9	100 %	129 / 129	100 %
Ortho BioVue® "Reverse Diluent" manual	9 / 9	100 %	129 / 129	100 %

Sensibilidade de diagnóstico: A probabilidade de o soro de ensaio apresentar um resultado positivo se o antígeno correspondente estiver presente.

Especificidade diagnóstica: A probabilidade de o soro de ensaio apresentar um resultado negativo se o antígeno correspondente não estiver presente.

Anti-K (KEL1) monoclonal human IgM clone: AEK-4 é equivalente e não difere qualitativamente dos reagentes comparáveis disponíveis no mercado.

DIFERENÇAS ENTRE LOTES

A validação entre os três lotes ao longo de todo o tempo de execução não apresentou quaisquer diferenças.

ESTUDO DE INTERFERÊNCIA

Os estudos de interferência não apresentam qualquer influência dos testes qualitativos quanto a utilizar as seguintes substâncias interferentes nas seguintes concentrações:

Heparina 720 U/dL, Albumina 15000 mg/dL, Triglicédeos 1500 mg/dL, Bilirrubina 40 mg/dL, Etanol 620 mg/dL, Glicose 1000 mg/dL.

Para anticoagulantes (EDTA, citrato de sódio, ACD, CPD-A, PAGGS-M), a concentração recomendada foi triplicada para efeitos de teste.

RESUMO DE SEGURANÇA E DESEMPENHO

O resumo de segurança e desempenho deste soro de ensaio está disponível a partir de ANTITOXINA (www.antitoxin-gmbh.de) e pode ser acedido a partir da base de dados EUDAMED.

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 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.
5. Körmöczy, G. et al. Immunhämatologische Untersuchungen bei Patienten. Österreichische Gesellschaft für Blutgruppenserologie, Transfusionsmedizin, Regenerative Medizin und Immungenetik (ÖGBT), Ausgabe Mai 2015.
6. Chu, T. H., Yazdanbakhsh, K., Oyen, R., Smart, E., & Reid, M. E. (1999). Production and characterization of anti-kell monoclonal antibodies using transfected cells as the immunogen. British journal of haematology, 106(3), 817–823.
7. Redman, C. M., & Lee, S. (1995). The Kell blood group system. Transfusion clinique et biologique; *journal de la Société française de transfusion sanguine*, 2(4), 243–249.
8. Dean L. Blood Groups and Red Cell Antigens [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2005. Chapter 8, The Kell blood group.

REF	Número de item	LOT	Número do lote
	Armazenamento de - até		Data de expiração
IVD	Diagnóstico In Vitro	CE	EU CE Symbol
	Fabricante de acordo com (EU) 2017/746		Consulte as instruções de utilização
UDI	Unique Device Identification		Distribuidor

REF

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

CE 0483

ANTITOXIN GmbH Industriestraße 88 69245 Bammental Alemanha

+49 (0) 6223/ 8661-0

+49 (0) 6223/ 8661-13

gara@antitoxin-gmbh.de

01.169- / Versão R003 / 2024-03-18

Marcação das alterações

Sublinhado: Aditamento ou alteração substancial; † Supressão de texto