

## GEBRAUCHSANWEISUNG

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

**REF** 690461A

#### ZWECKBESTIMMUNG

Monoklonal agglutinierendes Anti-K (KEL1) – Testserum wird aus Zellkulturüberständen einer Heterohybridoma-Zelllinie gewonnen, die Antikörper vom IgM-Typus sezerniert. Der Antikörper ist dabei humanes Protein. Das Testserum wird zur Bestimmung des Vorhandenseins oder Fehlens des Blutgruppenantigens K auf menschlichen Erythrozyten verwendet. Die beschriebenen Verfahren gelten für die aufgeführten manuellen Methoden und für die Anwendung mit Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassetten auf den Automaten ORTHO VISION™ Analyzer und ORTHO AutoVue® Innova. Die Anwendung dieses Testserums ist nur für qualifiziertes und geschultes Fachpersonal vorgesehen.

#### PRINZIP DES VERFAHRENS

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

#### TESTSEREN

Das aufgeführte Blutgruppentestserum wird von folgendem Zellklon produziert:

Anti-K monoklonal, human IgM (Klon: AEK-4)

Das Testserum enthält als Konservierungsmittel <0,1% (w/v) Natriumazid. Außer dem aktiven Antikörper-Bestandteil beinhaltet das Testserum Natriumchlorid, hochmolekulare Verbindungen und Rinderalbumin.

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

#### LAGERUNG

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

#### HINWEISE

- Die Stärke der positiven Reaktion ist vom Alter des verwendeten Blutes abhängig.
- Es sollten bei jeder Austestung positive und negative Kontrollen mitgeführt werden.
- Unsachgemäße Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit des Produktes.
- Zentrifugieren außerhalb des angegebenen Drehzahl-Bereiches kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Das auszutestende Blut sollte möglichst rasch geprüft werden. Nicht sofort getestetes Blut ist bei +2 bis +8 °C zu lagern. Mit EDTA oder Natriumzitrat antikoagulierte Blutproben müssen innerhalb von 14 Tagen getestet werden.
- Die beschriebenen Verfahren zur Anwendung gelten nur für die aufgeführten Methoden und Automaten. Werden andere Automaten oder halbautomatische Systeme verwendet, müssen die Laboratorien die Angaben der Gerätehersteller befolgen und Validierungen nach anerkannten Verfahren durchführen.
- Bei der Anwendung des Testserums sind alle gültigen nationalen Gesetze, Verordnungen und Richtlinien zu beachten, in Deutschland insbesondere die „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) in ihrer gültigen Fassung.

#### VORBEREITUNG DER TESTSEREN

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

#### VERFAHRENSWEISE

Nicht im Lieferumfang enthaltene, aber benötigte Materialien bei der:

##### Röhrchenmethode

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

##### Mikrotiterplattenmethode

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

##### Verwendung von Ortho BioVue® Kassetten

- Ortho BioVue® System Zentrifuge
- Isotonische Kochsalzlösung (0,85 – 0,9 % Natriumchlorid)
- Mikroliterpipette für 10 µL, 40 µL und 50 µL
- Einweg-Pipettenspitzen
- Ortho BioVue® System Arbeitsstände
- Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassetten

#### Testdurchführung

##### Röhrchen-Zentrifugationstest

- Nur 2-5%ige Erythrozytensuspension in isotonischer Kochsalzlösung (ein- bis dreimal gewaschen mit isotonischer Kochsalzlösung) verwenden.
- In jedes Teströhrchen 100 µL (alternativ je einen Tropfen (ca. 50 µL)) des Testserums geben.
- Geben Sie zu jedem Teströhrchen 100 µL (alternativ je einen Tropfen (ca. 50 µL)) der entsprechenden Erythrozytensuspension.
- Die Erythrozyten-/Testserummischungen durch leichtes Schütteln vermischen.
- Teströhrchen 15 Minuten bei Raumtemperatur (+15 bis +30 °C) inkubieren.
- Teströhrchen 1 Minute bei 2.000 U/min (ca. 800 – 1.000 g) zentrifugieren.
- Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig resuspendieren und innerhalb von 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination untersuchen. Ergebnisse protokollieren.

##### Mikrotiterplattentest

- Herstellen einer 2-5%igen Erythrozytensuspension in isotonischer Kochsalzlösung. Falls gewünscht, können die Erythrozyten bis zu drei Mal in isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden.
- Geben Sie einen Tropfen (ca. 50 µL) der Erythrozytensuspension in jede Testkavität.
- Einen Tropfen (ca. 50 µL) des Testserums in die Vertiefung geben.
- Mischen Sie die Mikrotiterplatte auf einem Mikrotiterplatten-Schüttler.

**HINWEIS:** Empfohlene Dauer für mechanische Schüttler:

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

- Zentrifugieren Sie die Platte.

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

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

- Resuspendieren Sie die Erythrozytenknöpfe
- Positionieren Sie die Platte für das Ablesen.
- Lesen Sie das Ergebnis ab und protokollieren Sie es.
- Inkubieren Sie negative oder fragliche Tests für eine Dauer von 5 bis 10 Minuten bei Raumtemperatur (+15 bis +30 °C).
- Wiederholen Sie die Schritte 5 bis 8 nach der Inkubation bei Raumtemperatur.

**HINWEIS:** Alle Ansätze sollten unmittelbar nach der Zentrifugation und Resuspension ausgewertet werden.

#### Manuelle Testmethode in Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassetten

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

- Zur Vorbereitung der Kassetten befolgen Sie bitte in der Gebrauchsanweisung für Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassetten den Abschnitt „Testdurchführung“ Punkt 1 und 2.
- Eine 3-5%ige Erythrozytensuspension in isotonischer Kochsalzlösung herstellen. Falls gewünscht, können die Erythrozyten bis zu drei Mal in isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden.
- Geben Sie 10 µL der 3-5%igen Erythrozytensuspension in die entsprechende Reaktionskammer der Kassette.
- Geben Sie 40 µL des Antiserums in die entsprechenden Reaktionskammern der Kassette dazu. Berühren Sie mit der Pipettenspitze nicht den Rand der Reaktionskammer. Sollte dies dennoch passieren, wechseln Sie bitte die Pipettenspitze, bevor Sie die nächste Reaktionskammer befüllen.
- Zentrifugieren Sie die Kassette mit der Ortho BioVue® System Zentrifuge.
- HINWEIS:** Die Zentrifugation muss innerhalb von 30 Minuten nach Zugabe der Proben in die Reaktionskammern erfolgen.
- Nach Beendigung des Tests überprüfen Sie die Vorder- und Rückseite der einzelnen Säulen auf Agglutination und/oder Hämolyse.
- Die Reaktionsstärke von der Seite mit dem ausgeprägteren positiven Ergebnis aufzeichnen.

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

Bitte befolgen Sie die Anweisungen im Benutzerhandbuch des jeweiligen Gerätes.

## INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

„Vorsichtiges Schütteln“ beim Röhren-Zentrifugationstest, sowie Mischen der Mikrotiterplatten auf einem Plattenschüttler:

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

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

## GRENZEN DER METHODE









- Ungenauigkeiten bei der Einhaltung der Anweisungen in den Abschnitten „Testdurchführung“ und „Interpretation der Testergebnisse“ können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Mitgeführte Kontrollen mit nicht eindeutigen oder falschen Ergebnissen führen automatisch zur nicht Verwertbarkeit aller Ergebnisse.
- Enzymbehandelte Erythrozyten können mit diesen Reagenzien unspezifisch reagieren.
- Auf Grund der unterschiedlichen Ausprägung der Antigene kann es bei bestimmten Phänotypen mit diesen Reagenzien zu einer schwächeren Reaktion kommen als mit Kontrollerythrozyten.
- Bei Erythrozyten, die mit Alloantikörpern oder Autoantikörpern derselben oder einer ähnlichen Spezifität wie das Testserum sensibilisiert sind (z.B. Erythrozyten positiv im direkten Antiglobulintest), kann es zu schwach ausgeprägten Reaktionen kommen. In äußerst seltenen Fällen kann es zu falsch-negativen Resultaten kommen.
- Bei Erythrozyten, die stark mit Antikörpern beladen sind (Erythrozyten positiv im direkten Antiglobulintest), kann es in der Kassetten-Technik zu falsch-positiven Resultaten kommen. Diese Zellen reagieren auch ohne Testserum positiv!
- Beachten Sie Angaben zu Grenzen in der Gebrauchsanweisung von eingesetzten Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassetten und im Benutzerhandbuch des verwendeten Automaten.

## LEISTUNG

Eine Leistungsbewertung für das Produkt wurde entsprechend der Common Technical Specification (CTS Entscheidung der Kommission vom 03. Februar 2009) durchgeführt. Es wurden unterschiedliche Proben (Spender-, Patienten-, Panelblute) eingesetzt und mit anderen Produkten verglichen. Die ermittelte Sensitivität und Spezifität war wie folgt.

	Anzahl der getesteten Proben	Proben pos mit Anti-K	Spezifität	Proben neg mit Anti-K	Sensitivität
Röhren / Mikrotiterplatte	310	196	100%	114	100%
Handmethode BioVue®	262	72	100%	190	99,47%
AutoVue®	102	16	100%	86	100%

## SYMBOL - LEGENDE

 Lagerung von - bis	 Artikel- Nummer	 Verfallsdatum	 Hersteller nach 98/79/EG
 Los	 Klon(e)	 In-vitro- Diagnostikum	 EG CE-Symbol

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental

730-22-0812 Version 012 / 30. Mrz 2015



**In vitro diagnostic Medical Device**

For Tube and Microplate Test and for combination with Ortho BioVue® Reverse Diluent Cassettes

# INSTRUCTIONS FOR USE

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

 690461A

### INTENDED USE

Monoclonal agglutinating Anti-K (KEL1) test serum is produced from cell culture supernatants of a heterohybridoma cell line. The cells secrete an antibody of IgM-type. The antibody is human protein. The test serum is used to determine whether red blood cells possess or lack the corresponding blood group antigen K. The procedures described are for the listed manual methods and application with Ortho BioVue® Reverse Diluent cassettes on the ORTHO VISION™ Analyzer and ORTHO AutoVue® Innova. The test serum is intended to be used by qualified technical personnel only.

### PRINCIPLE OF PROCEDURE

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

### REAGENT

The listed reagent is available with following clone:

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

This reagent contains <0.1% (w/v) sodium azide as preservative. Additionally the reagent is comprised of active antibody, sodium chloride, macromolecules and bovine albumin.

**CAUTION:** Please handle reagent with proper care: This reagent was prepared from supernatants of cell cultures. Handle as if capable of transmitting infectious agents. The reagent contains sodium azide, which may be toxic and may react with lead or copper to form highly explosive salts. On disposal, flush with large quantities of water.

### STORAGE REQUIREMENTS

Store at +2 to +8 °C (unopened / opened), or shortly at room temperature (+15 to +30 °C) while in use. If the devices ORTHO VISION™ Analyzer or ORTHO Auto Vue® Innova are used, the reagents may remain a maximum of 5 days on the device (+15 bis +30 °C). Do not use reagents beyond the stated expiration date!

### REMARKS

- Strength of positive reactions also depends on age of used blood.
- It is recommended that each lot of reagent be tested with appropriate positive and negative controls.
- Inappropriate storage impairs efficacy of the reagent.
- Overcentrifugation or undercentrifugation may lead to false results.
- Blood samples to be tested should be used as soon as possible. If a delay in testing occurs, samples should be stored at +2 to +8 °C. Blood drawn into sodium citrate or EDTA should be tested within 14 days.
- The procedures described are for the listed manual methods and analyzers only. When using other automated or semi-automated instruments, follow the device manufacturer's procedures in the operator's manual. Laboratories must follow approved validation procedures.
- For usage of this test serum all effective national laws, directives and guidelines must be followed. [In Germany especially: „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“.]

### REAGENT PREPARATION

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

### PROCEDURE

Material required but not provided:

#### Tube Centrifugation Method

- Test tubes, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm
- Pipettes designed to deliver 50 µL/100 µL
- Centrifuge
- Isotonic saline (0,85 - 0,9% sodium chloride)
- Disposable pipette tips

#### Microplate Method

- Microplate with U-bottom, (optional: pre-treated)
- Centrifuge, suitable for centrifugation of microplates
- Microplate-carrier for centrifuge (option)
- Microplate shaker
- Microplatetest mirror (option)
- Pipette for 50 µL
- Isotonic saline (0.85 - 0.9 % sodium chloride)
- Disposable pipette tips

#### Application of BioVue® Cassettes

- Ortho BioVue® System centrifuge
- Isotonic saline (0,85 - 0,9 % sodium chloride)
- Mikroliter pipette for 10 µL, 40 µL and 50 µL
- Disposable pipette tips
- Ortho BioVue® System Work Rack
- Ortho BioVue® Reverse Diluent Cassettes

### Test procedure

#### Tube Centrifugation Method

- Use a 2% to 5% suspension of red blood cells in isotonic saline only (cells washed one time or up to three times with isotonic saline).
- Add 100 µL (alternative: one drop, approximately 50 µL) of reagent to each tube.
- Add 100 µL (alternative: one drop, approximately 50 µL) of appropriate cell suspension to each tube.
- Mix well by slightly shaking.
- Incubate tube at room temperature (+15 to +30 °C) for 15 min.
- Centrifugation of tube for 1 minute at 2.000 rpm (approximately 800-1.000 g).
- Gently resuspend the red cells and within 3 minutes check macroscopically for agglutination. Document the result.

### Microplate Method

1. Prepare a 2% to 5% suspension of red blood cells in isotonic saline. Cells can be washed up to three times with isotonic saline.
2. Add one drop (approximately 50 µL) of appropriate cell suspension into each well.
3. Add one drop (approximately 50 µL) of reagent into each well.
4. Mix microplate on a microplate shaker.  
**Note:** Recommended:  
(1) To mix: 10 to 30 seconds at medium strength.  
(2) To resuspend: 10 to 30 seconds at medium strength respectively with duration and strength, allowing a full resuspension of sediment without destruction of positive reactions.
5. Centrifugation of microplate.  
Recommended duration of centrifugation: 30 seconds at approximately 400 x g, or as long as necessary to produce best positive reactions with antigen positive cells, with used centrifuge and microplate, and still have an easy resuspension of antigen negative cells.  
**Note:** The used centrifugal force should be the minimum force to produce a sediment and a clear supernatant. Because of multitude offered centrifuges a general speed or duration for best results cannot be recommended. Each laboratory has to test and validate its equipment for speed and duration to obtain best results.
6. Resuspend the erythrocytes buttons
7. Position microplate for reading.
8. Read microplate and document the result.
9. Tests with negative or doubtful results have to be incubated for 5 to 10 minutes at room temperature (+15 to +30 °C).
10. Repeat steps 5 to 8 after incubation at room temperature.  
**Note:** All tests should be resuspended and evaluated directly after centrifugation.

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

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

1. For preparation of the cassettes, please refer to the instructions for use for Ortho BioVue® Reverse Diluent Cassettes, chapter „PROCEDURE“ point 1 and 2..
2. Prepare a 3 % to 5% erythrocyte suspension in isotonic sodium chloride solution. Optionally, the erythrocytes may be washed up to three times in isotonic sodium chloride solution.
3. Add 10 µL of a 3 to 5% suspension of test erythrocytes to the appropriate reaction chamber of the cassette.
4. Add 40 µL reagent to the appropriate reaction chambers of the cassette. The pipette tips shall not contact the rim of the reaction chambers. If this should adversely happen, please replace the tip with a new one, before you will fill the next reaction chamber.
5. Centrifuge the cassette in the Ortho BioVue® System centrifuge.  
**Note:** Centrifugation must be performed within 30 minutes after addition of specimens to the reaction chambers.
6. After completion of test, read each column from the cassette's front and rear sides for agglutination and/or hemolysis.
7. Protocol the final test result from the cassette side with the more clearly expressed positive reading.

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

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

### INTERPRETATION OF RESULTS

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

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

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

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

### LIMITATIONS OF THE PROCEDURE









1. The "Procedure" and "Interpretation of Results" sections must be followed closely to assure the accuracy of the test results.
2. No valid conclusion concerning the test result can be reached, if controls with uncertain or false results occur.
3. Enzyme treated erythrocytes may react unspecifically.
4. Due to variability of antigen expression, reactivity of these reagents against certain phenotypes may produce a weaker reaction compared to control cells.
5. Red blood cells coated with alloantibodies or autoantibodies of the same or similar specificity as the reagent (i.e., cells that are positive in the direct antiglobulin-test [DAT]) may give weak reactions. In extreme cases, false-negative results may occur.
6. Red blood cells coated with antibodies (cells that are positive in the direct antiglobulin-test (DAT)) may give false-positive results in cassettes method. These cells react positive without reagent too.
7. Pay attention to all statements to limitations in inserts of used Ortho BioVue® Reverse Diluent Cassettes and the user manual of respective analyzer.

### PERFORMANCE

In compliance with Common Technical Specification (CTS Commission Decision of 03. February 2009) a performance evaluation was conducted for the product. Different samples (donor, patient, panel blood) was used and compared with other products. The determined sensitivity and specificity was as follows.

	Number of specimens tested	Specimens pos with Anti-K	Specificity	Specimens neg with Anti-K	Sensitivity
Tube / Mikroplate	310	196	100%	114	100%
Manual BioVue®	262	72	100%	190	99,47%
AutoVue®	102	16	100%	86	100%

### LEGEND OF SYMBOLS

	Store from - to		Product Code		Expiration Date		Manufacturer as to 98/79/EU
	Lot		Clone(s)		In vitro diagnostic medical device		EU CE-symbol

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental

730-22-0812 Version 012 / 30. Mrz 2015



### SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

Per test in provetta e in micropiastra e in combinazione con cassette Ortho BioVue® Reverse Diluent

## ISTRUZIONI PER L'USO

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

 690461A

#### USO PREVISTO

L'antisiero agglutinante Anti-K (KEL1) è preparato da sovranatanti di colture cellulari di linee cellulari di etero-ibridomi. Le cellule secernono un anticorpo di tipo IgM. L'anticorpo è in ogni proteina umana. Gli antisieri sono utilizzati per determinare se gli eritrociti abbiano o meno i corrispondenti antigeni gruppo ematici. Le procedure individuate sono per i metodi manuali quote e applicazione delle cassette BioVue® Reverse Diluent sulle seguenti macchine ORTHO VISION™ Analyzer e ORTHO AutoVue® Innova. L'uso dell'antisiero deve essere fatto solamente da personale tecnico qualificato.

#### PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

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

#### REAGENTI

Il reagente è prodotto dal seguenti clone:

**Anti-K** monoclonale, umano IgM (Clone: AEK-4)

Il reagente contiene <0.1% (w/v) di Sodio Azide come conservante. In aggiunta il reagente contiene anticorpo attivo, cloruro di sodio, macromolecole ed albumina bovina.

**AVVERTENZE:** Questo reagente è preparato da sovranatanti di colture cellulari. Come tutti i prodotti biologici deve essere trattato come materiale potenzialmente infettivo a causa della impossibilità di escludere totalmente il pericolo di trasmissione di malattie. I reagenti contenenti Sodio Azide, possono essere tossici e possono reagire con piombo o rame formando sali ad alto potenziale esplosivo. Durante lo smaltimento, sciacquare abbondantemente con acqua. Per questi motivi debbono essere maneggiati con estrema cura.

## CONSERVAZIONE

Conservare (chiuso non ancora usato/chiuso già usato) da +2 a +8 °C. Tenere a temperatura di laboratorio (da +15 a +30 °C) mentre sono in uso. Se utilizzate i dispositivi ORTHO VISION™ Analyzer o ORTHO AutoVue® Innova, i reagenti può rimanere nel dispositivo fino a 5 giorni (da +15 a +30 °C). Conservare ed utilizzare i reagenti solamente fino alla data di scadenza.

## NOTE

1. Il grado di reazione positiva dipende anche dal periodo di conservazione del campione utilizzato.
2. Durante ogni sessione di test devono essere eseguiti controlli positivi e negativi.
3. Una conservazione inadeguata diminuisce l'efficacia del reagente.
4. Una centrifugazione molto differente da quella consigliata può causare risultati non adeguati.
5. I campioni di sangue da testare devono essere testati quanto prima. Se vengono testati in tempi successivi, devono essere conservati tra +2 ed +8 °C. Il sangue prelevato in Sodio Citrato o in EDTA deve essere testato entro 14 giorni dal prelievo.
6. Le procedure sotto descritte si riferiscono all'esecuzione manuale dei test e strumentazioni automatiche. Utilizzando altri strumentazioni automatiche o semi-automatiche, seguire le procedure contenute nei manuali forniti dal produttore dello strumento. I laboratori devono seguire procedure di validazione approvate.
7. Per l'uso di questi antisieri vanno osservate tutte le leggi nazionali, direttive e linee guida in vigore. In Germania la „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“.

## PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Non è richiesta alcuna preparazione dell'antisiero. Utilizzare direttamente l'antisiero dai flaconi.

## PROCEDURA

Materiale necessario ma non fornito:

### Metodo in Provetta con Centrifugazione

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

### Metodo in Micropiastra

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

### Utilizzare Cassette Ortho BioVue®

1. Centrifuga Ortho BioVue® System
2. Soluzione fisiologica isotonica (0,85 - 0,9% Cloruro di Sodio)
3. Micropipetta da 10 µL, 40 µL e 50 µL
4. Puntali per micropipetta
5. Stazione di lavoro Ortho BioVue® System
6. Cassette Ortho BioVue® Reserve Diluent

## Procedura del test

### Metodo in Provetta con Centrifugazione

1. Usare solamente una sospensione di emazie al 2-5% in soluzione fisiologica isotonica (emazie lavate da una a tre volte con soluzione fisiologica isotonica).
2. Aggiungere 100 µL (alternativa una goccia, ca. 50 µL) del reagente in ogni provetta.
3. Aggiungere 100 µL (alternativa una goccia, ca. 50 µL) della appropriata sospensione eritrocitaria in ogni provetta.
4. Miscelare bene con delicatezza.
5. Incubare la provetta a temperatura ambiente (da +15 a +30 °C) per 15 Minuti.
6. Centrifugare 1 Minuto a 2.000 rpm (ca. 800 – 1.000 g).
7. Rispendere delicatamente le emazie e verificare macroscopicamente per agglutinazione entro 3 Minuti. Registrare il risultato.

### Metodo in Micropiastra

1. Preparare una sospensione eritrocitaria in soluzione fisiologica al 2-5%. Le emazie devono essere lavate da una a tre volte con Soluzione fisiologica isotonica.
2. Aggiungere in ogni pozzetto una goccia (ca. 50 µL) della sospensione eritrocitaria.
3. Aggiungere in ogni pozzetto una goccia (ca. 50 µL) del reagente.
4. Agitare la micropiastra su un agitatore per micropiastre.  
**Note:** Raccomandazioni:  
(1) Agitare da 10 a 30 secondi con media velocità;  
(2) Risospensione: da 10 a 30 Secondi con media velocità e forza adeguata, permettendo una completa risospensione delle emazie senza distruggere i risultati positivi.
5. Centrifugazione della micropiastra.  
Tempo di centrifugazione consigliato: 30 Secondi a circa 400 x g o quanto è necessario per produrre le migliori reazioni positive con le emazie antigene positive, pur avendo ancora una facile risospensione delle emazie antigene negative.  
**Note:** La forza di centrifugazione usata dovrebbe essere la forza minima utile a produrre un sedimento con un sovrantante limpido. A causa delle differenze fra le centrifughe utilizzate non può essere suggerita una velocità o durata di centrifugazione ottimale. Ogni laboratorio deve testare e validare la sua attrezzatura per la velocità ed i tempi di centrifugazione ottimali.
6. Rispendere eritrociti bottoni
7. Posizionare la micropiastra per la lettura.
8. Leggere la micropiastra e documentare i risultati.
9. I test con risultati negativi o dubbi devono essere incubati da 5 a 10 minuti a temperatura ambiente (da +15 a +30 °C).
10. Ripetere i passi da 5 a 8 dopo l'incubazione a temperatura ambiente.  
**Note:** Tutti i tests dovranno essere risospesi e valutati direttamente dopo la centrifugazione.

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

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

1. Per la preparazione delle cassette, fare riferimento alle istruzioni per l'uso delle Cassette Ortho BioVue® Reverse Diluent, capitolo "PROCEDURA" punto 1 o 2.
2. Preparare una sospensione eritrocitaria al 3-5% in soluzione fisiologica. In modo facoltativo, gli eritrociti potrebbero essere lavati più di tre volte in soluzione fisiologica.
3. Aggiungere 10 µL della sospensione eritrocitaria al 3-5% del campione in esame alla appropriata camera di reazione della cassetta.
4. Aggiungere 40 µL di antisiero nella colonna di reazione. Il puntale non deve venire a contatto con la camera di dispensazione. Se questo avviene è indispensabile sostituire il puntale stesso prima di passare alla dispensazione successiva. Qualora si dispensino antisieri di specificità differente occorre si cambiari il puntale monouso della pipetta.
5. Centrifugare le cassette nella centrifuga Ortho BioVue® System.  
**Note:** La centrifugazione deve essere eseguita entro 30 minuti dal momento dell'aggiunta dei campioni nella camera di reazione.
6. Al termine del test, leggere ogni colonna della cassetta da entrambi i lati per rilevare agglutinazione e/o emolisi.
7. Registrare il risultato finale del test considerando la faccia della cassetta che ha espresso il risultato positivo più evidente.

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

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

## INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Metodo in Provetta con Centrifugazione e Metodo in Micropiastra:

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

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

Cassette:

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

## LIMITI DELLA PROCEDURA









1. Il mancato rispetto delle istruzioni riportate nella sezione „Procedure“ ed „Interpretazione dei risultati“ può produrre risultati non corretti.
2. Se i controlli sono dubbi o non corretti, non può essere raggiunta alcuna conclusione valida per quanto riguarda i risultati.
3. Gli eritrociti trattati con enzima possono reagire aspecificamente.
4. A causa della variabilità degli antigeni, la reattività di questi reagenti verso alcuni fenotipi potrebbe dare reazioni più deboli rispetto a quelle ottenute con le emazie di controllo.
5. Le procedure descritte prevedono l'uso di Siero di Coombs prodotto da Antitoxin GmbH. Possono essere utilizzati anche Sieri di Coombs di altri produttori; il laboratorio deve seguire le procedure di quel produttore. Anche i laboratori devono seguire procedure di validazione approvate che dimostrino la compatibilità di questo prodotto.
6. Gli eritrociti con un test di Coombs diretto positivo possono causare reazioni di falso-positivo nel metodo su cassette.
7. Prestare attenzione a tutte le indicazioni per le limitazioni in inserti di Ortho BioVue® Reverse Diluent Cassette utilizzate e il manuale utente del analizzatore rispettivo.

## PRESTAZIONI

Una valutazione delle prestazioni del prodotto è stata effettuata in conformità con le Common Technical Specifications (decisione CTS della Commissione, del 3 febbraio 2009). Ci sono stati diversi campioni (del donatore, del paziente, pannelli sangue) sono confrontati e utilizzati con altri prodotti. La sensibilità e la specificità determinata è stata la seguente.

	Numero di campioni testati	Campioni pos con Anti-K	Specificità	Campioni neg con Anti-K	Sensibilità
Provetta / Micropiastra	310	196	100%	114	100%
Manualmente BioVue®	262	72	100%	190	99,47%
AutoVue®	102	16	100%	86	100%

## SIMBOLI

	Conservare da.... a.... °C		Art.- N° Articolo		Data di scadenza		Fornitore 98/79/EU
	Codice lotto		Clone		In-Vitro-Diagnostic		EU CE-symbol