

GEBRAUCHSANWEISUNG

Anti-E (RH3), monoclonal IgM (human)

REF 690291A

ZWECKBESTIMMUNG

Monoklonal agglutinierendes Anti-E – Testserum wird aus Zellkulturüberständen von Heterohybridoma-Zelllinien gewonnen, die Antikörper vom IgM-Typus sezernieren. Der Antikörper ist dabei humanes Protein. Das Testserum wird zur Bestimmung des Vorhandenseins oder Fehlens des Blutgruppenantigens E auf menschlichen Erythrozyten verwendet. 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 aus folgenden Zellklonen produziert:

Anti-E monoklonal, human IgM (Klone: MS-258 und 906)

Dieses 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 Produkt wegen nie völlig auszuschließender Gefährdung durch Krankheitsreger 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). Grundsätzlich nur bis zum angegebenen Verfalldatum 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 ausschließlich für manuelle Methoden. Werden Automaten oder halbautomatische Systeme verwendet, müssen die Laboratorien die Angaben der Gerätehersteller befolgen und Validierungen nach anerkannten Verfahren durchführen.
- Bei der Anwendung 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 dem Fläschchen entnommen und eingesetzt.

VERFAHRENSWEISE

Nicht im Lieferumfang enthaltene, aber benötigte Materialien bei der:

Objektträgermethode

- Objektträger
- Pasteurpipette
- Rührstäbchen

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 (optional)
- Ablesepegel für Mikrotiterplattentests (optional)
- Mikroliterpipetten zur Abgabe von ca. 50 µL
- Isotonische Kochsalzlösung (0,85 – 0,9 % Natriumchlorid)
- Einweg Pipettenspitzen

Testdurchführung

Objektträgertest

- Nur Erythrozytensediment oder Vollblut verwenden.
- Auf einen Objektträger je einen Tropfen (ca. 50 µL) des Testserums auftropfen.
- Geben Sie zu jedem Tropfen Testserum auf den Objektträgern mit einer Pasteurpipette einen Tropfen (ca. 50 µL) Erythrozytensediment oder Vollblut.
- Die Erythrozyten-/Testserummischung mit einem Rührstäbchen gut vermischen und ausbreiten (Kreis von ca. 2 cm Durchmesser).
- Bei leichtem Schwenken des Objektträgers innerhalb einer Minute auf Agglutination prüfen (Reaktionsbeginn nach Sekunden). Ergebnisse protokollieren. Unspezifische Reaktionen können beim Eintrocknen des Reaktionsansatzes bzw. Erwärmen des Objektträgers auftreten.

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 Erythrozytensuspension.
- Die Erythrozyten-/Testserummischung durch leichtes Schütteln vermischen.
- Teströhrchen 1-15 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 isotoner Kochsalzlösung. Falls gewünscht, können die Erythrozyten bis zu drei Mal in isotoner Kochsalzlösung gewaschen werden.
- Einen Tropfen (50 µL) des Testserums in die Vertiefung geben.
- Geben Sie einen Tropfen (50 µL) der Erythrozytensuspension in jede Testkavität.
- 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 ungefähr 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 kann. 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.

- Lösen Sie die Erythrozytenknöpfe auf dem Schüttler und positionieren Sie die Platte für das Ablesen.
- Lesen Sie das Ergebnis ab und protokollieren Sie es (Siehe 4.).
- Inkubieren Sie negative oder fragile Tests für eine Dauer von 5 bis 10 Minuten bei Raumtemperatur (+15 bis +30 °C).
- Wiederholen Sie die Schritte 5 bis 7 nach der Inkubation bei Raumtemperatur.

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

INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

„Vorsichtiges Schwenken/ Schütteln“ beim Objektträger-Schnelltest und beim Röhrchen-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.

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 diesem Testserum unspezifisch reagieren.
- Auf Grund der unterschiedlichen Ausprägung der Antigene kann es bei bestimmten Phänotypen mit diesem Testserum 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.

LEISTUNG

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

Produkt	Positiv	Falsch negativ	Sensitivität	Negativ	Falsch positiv	Spezifität
Anti-E (Klone: MS-258, 906)	327	0	100%	908	0	100%

SYMBOL - LEGENDE

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

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental

731-22-0515 Version 015 / 01. Sep 2014



In vitro diagnostic Medical Device
For Slide, Tube and Microplate Test and for combination

INSTRUCTIONS FOR USE

Anti-E (RH3), monoclonal IgM (human)

REF 690291A

INTENDED USE

Monoclonal agglutinating Anti-E reagent is produced from cell culture supernatants of heterohybridoma cell lines. The cells secrete an antibody of IgM-type, that reacts specifically with the corresponding antigen. The antibody is human protein. The reagent is used to determine whether red blood cells possess or lack the corresponding blood group antigens. The test sera are intended to be used by qualified technical personnel only.

PRINCIPLE OF PROCEDURE

The procedures used with this reagent are 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 clones:

Anti-E monoclonal, human IgM (clones: MS-258 and 906)

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 at room temperature (+15 to +30 °C) while in use. Do not use reagent beyond its labeled 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 identified below are for manual testing only. When using automated or semi-automated instruments, follow the procedures that are contained in the operator's manual provided by the device manufacturer. Laboratories must follow approved validation procedures to demonstrate compatibility of this product on automated systems.
- For usage of this reagent all effective national laws, directives and guidelines must be followed.
[In Germany especially: „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“.]

REAGENT PREPARATION

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

PROCEDURE

Material required but not provided:

Slide Method

- Glass slide
- Pasteur pipette
- Mixing stick

Tube Centrifugation Method

- Test tubes, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm
- Pipettes designed to deliver approximately 50 µL/100 µL
- Centrifuge
- Isotonic saline (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)
- 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 (option)
- Microplatetest mirror (option)
- Pipette for 50 µL
- Isotonic saline (0.85 – 0.9 % sodium chloride)
- Disposable pipette tips

Test procedure

Slide Method

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

Tube Centrifugation Method

1. 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).
2. Add 100 µL (alternative: one drop, approximately 50 µL) of reagent to each tube.
3. Add 100 µL (alternative: one drop, approximately 50 µL) of cell suspension to each tube.
4. Mix well by slightly shaking.
5. Incubate tube at room temperature (+15 to +30 °C) for 1-15 min.
6. Centrifugation of tube for 1 minute at 2.000 rpm (approximately 800 – 1.000 g).
7. 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 one time or up to three times with isotonic saline.
2. Add one drop (50 µL) of reagent into each well.
3. Add one drop (50 µL) of cell suspension 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 can not be recommended. Each laboratory has to test and validate its equipment for speed and duration to obtain best results.

6. Loosen the erythrocyte knobs on the shaker and position microplate for reading.
7. Read microplate and document the result.
8. Tests with negative or doubtful results have to be incubated for 5 to 10 minutes at room temperature (+15 to +30 °C).
9. Repeat steps 5 to 7 after incubation at room temperature.

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

INTERPRETATION OF RESULTS

"Slightly rotating / shaking " at Slide Method and 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.

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.

PERFORMANCE

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

Product	Positive	False negative	Sensitivity	Negative	False positive	Specificity
Anti-E (clones: MS-258, 906)	327	0	100%	908	0	100%

LEGEND OF SYMBOLS

 Store from - to	 REF	Product Code	 Expiration Date	 Manufacturer as to 98/79/EU			
 LOT	Lot	 CLON	Clone(s)	 IVD	In vitro diagnostic medical device	 CE 0483	EU CE-symbol

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental

731-22-0515 Version 015 / 01. Sep 2014




SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

Per test su vetrino, in provetta e in micropietra e in combinazione

ISTRUZIONI PER L'USO

Anti-E (RH3), monoclonal IgM (human)

 690291A

USO PREVISTO

L' Antisiero Monoclonali agglutinanti Anti-E è preparati da sovrinatanti di colture cellulari di linee cellulari di etero-ibridomi. Le cellule secernono un anticorpo di tipo IgM, che reagisce specificamente con il corrispondente antigene. L'anticorpo è una proteina umana. L' antisiero è utilizzati per determinare se gli eritrociti abbiano o meno i corrispondenti antigeni gruppo ematici. L'uso di questo 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 stesso.

REAGENTI

Il reagente è prodotto dai seguenti cloni:

Anti-E monoclonale, IgM umano (Cloni: MS-258 e 906)

Il reagente contengono <0.1% (w/v) di Sodio Azide come conservante. In aggiunta, i reagente contengono anticorpi attivi, cloruro di sodio, macromolecole ed albumina bovina.

AVVERTENZE: Questo reagente sonè 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. Il reagente 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. Conservare ed utilizzare il reagente solamente fino alla data di scadenza segnalata.

NOTE

1. Il grado di reazione positiva dipende anche dal periodo di conservazione del campione utilizzato.
2. In 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 valutati il più presto possibile. Se sono 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. Utilizzando strumentazioni automatiche, seguire le procedure contenute nei manuali forniti dal produttore dello strumento. I laboratori devono seguire procedure di validazione approvate per dimostrare la compatibilità di questo prodotto con i sistemi automatici.
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 del reagente. Utilizzare direttamente il reagente dai flaconi.

PROCEDURA

Materiale non provvisto, ma necessario:

Slide Method

1. Vetrino
2. Pipetta Pasteur
3. Bastoncino per miscelare

Metodo in Provetta con Centrifugazione

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

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 (opzionale)
5. Specchio per micropiastre (opzionale)
6. Micropipetta da 50 µL
7. Soluzione fisiologica Isotonica (0,85 - 0,9% Cloruro di Sodio)

Procedura del test

Metodo su Vetrino

1. Usare emazie sedimentate o sangue intero.
2. Aggiungere una goccia (ca. 50 µL) del reagente sul vetrino.
3. Usando una pipetta Pasteur aggiungere una goccia di emazie sedimentate o di sangue intero (ca. 50 µL) sul vetrino.
4. Miscelare reagente ed emazie con un bastoncino in maniera circolare (diametro 2 cm).
5. Ruotando dolcemente il vetrino, controllare per agglutinazione entro 1 minuto (la reazione parte in pochi secondi). Registrare il risultato. Possono riscontrarsi reazioni aspecifiche da artefatti dovuti all'essiccazione o per il riscaldamento del vetrino.

Metodo in Provetta con Centrifugazione

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

Metodo in Micropiastra

1. Preparare un'asospensione eritrocitaria in soluzione fisiologica al 2 – 5%. Le emazie devono essere lavate da una a tre volte con Soluzione fisiologica.
2. Aggiungere in ogni pozzetto una goccia (ca. 50 µL) del reagente appropriato.
3. Aggiungere in ogni pozzetto una goccia (ca. 50 µL) della sospensione eritrocitaria.
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 antigeniche positive, pur avendo ancora una facile risospensione delle emazie antigeniche negative.

Note: La forza di centrifugazione usata dovrebbe essere la forza minima utile a produrre un sedimento con un sovranatante limpido. A causa delle differenze fra le centrifughe utilizzate non può essere suggerita una velocità o durata di centrifugazione ottimale. Ogni laboratorio deve testare e validare la sua attrezzatura per la velocità ed i tempi di centrifugazione ottimali.

6. Posizionare la micropiastra per la lettura.
7. Leggere la micropiastra e documentare i risultati.
8. I test con risultati negativi o dubbi devono essere incubati da 5 a 10 minuti a temperatura ambiente (da 15 a +30 °C).
9. Ripetere i passi da 5 a 7 dopo l'incubazione a temperatura ambiente.

Note: Tutti i tests dovranno essere risospesi e valutati direttamente dopo la centrifugazione.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Metodo su Vetrino, Metodo in Provetta con Centrifugazione e Metodo in Micropiastra:

Risultati Positivi (+): L'agglutinazione visibile di emazie è un risultato positivo ed indica la presenza del corrispondente antigene.

Risultati Negativi (-): Una agglutinazione non visibile degli eritrociti è un risultato negativo ed indica l'assenza del corrispondente antigene.

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 questo reagente 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.

PRESTAZIONI

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

Prodotto	Positivo	Falso negativo	Sensibilità	Negativo	Falso positivo	Specificità
Anti-E (cloni: MS-258, 906)	327	0	100%	908	0	100%

SIMBOLI

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