



## Gebrauchsinformation

Rev. 002/06-2021

Beschreibung	REF
<b>Anti-N</b> Klon: 1422C7 2 ml	23102
<b>Anti-N</b> Klon: 1422C7 5 ml	23105

## IN VITRO DIAGNOSTIKUM

### ZUSAMMENFASSUNG

Landsteiner und Levine entdeckten 1927 das MN-System und stellten durch Immunisierung von Kanninchen Anti-M und Anti-N Seren her, die die Merkmale M und N nachwiesen. In der kaukasischen Bevölkerung läßt sich M 78,7 % und N mit 70,2 % nachweisen.

Antikörper gegen das N-Blutgruppenmerkmal sind überwiegend Kälte reaktive Antikörper. Typisch für das Antigen ist der Dosisseffekt.

### ZWECKBESTIMMUNG

Anti-N monoklonal (muriner IgG, Klon 1422C7) dient zum spezifischen, qualitativen Nachweis des korrespondierenden Antigens auf Erythrozyten und ist geeignet für den Objektträger-, Tüpfelplatten-, Mikrotiterplatten- und Röhrchentest.

Die angegebenen Testmethoden beruhen auf dem Prinzip der Hämagglutination. Nach Zugabe von Erythrozyten zu den Testreagenzien findet eine spezifische Antigen-Antikörper-Reaktion statt, wenn das korrespondierende Antigen auf den Erythrozyten vorhanden ist. Diese Reaktion ist optisch durch die Agglutination der Erythrozyten erkennbar. Wenn keine Agglutination stattfindet, zeigt dies ein negatives Ergebnis an und weist unter Berücksichtigung der Einschränkungen der Testmethoden auf die Abwesenheit des korrespondierenden Antigens hin.

### PRODUKTINFORMATION

Das monoklonale Anti-N Testreagenz (IgG, 1422C7) wird aus murinen Hybridom-Zelllinien gewonnen. Die Antikörper sind in einer gepufferten 0,9%igen NaCl-Lösung suspendiert, die Rinderalbumin (ohne Stabilisator), EDTA sowie Reagenzien, die eine leichtere Resuspension des Zellknopfes nach der Zentrifugation ermöglicht, enthält. Konservierungsmittel: Na-Azid (<0,1%).

Alle Testreagenzien werden ohne weitere Verdünnung/Zusätze angewendet.

LOT und Verfallsdatum befinden sich auf dem Etikett des Fläschchens.

### LAGERUNG

Die Testreagenzien sind bei Lagerung von +2°C - +8°C bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum verwendbar. Nach dem erstmaligen Öffnen sind die Testreagenzien gut verschlossen bei +2°C - +8°C zu lagern.

### PROBENGEWINNUNG UND AUFBEREITUNG DER BLUTPROBEN

Die Blutproben sollten entsprechend den üblichen medizinischen Verfahren in EDTA- oder Citrat-Röhrchen entnommen werden. Die Auswertung sollte so bald wie möglich nach der Blutentnahme durchgeführt werden. Sollten die Blute nicht gleich verwendet werden, so sind die Röhrchen bei +2°C - +8°C zu lagern. Blutproben, die Hämolyse oder eine mikrobielle Kontamination aufweisen, dürfen nicht für den Test verwendet werden. Solche Blutproben können zu falschen Ergebnissen führen.

Alle Blutproben werden für den Röhrchen- und Mikrotiterplattentest vor Verwendung zweimal in 0,9% NaCl-Lösung gewaschen. Für den Objektträgerertest wird Vollblut (35-45% Erythrozytensuspension) verwendet, für den Tüpfelplattentest Vollblut oder eine 10%ige Erythrozytensuspension in 0,9% NaCl-Lösung.

### VORSICHTSMAßNAHMEN

1. Die Reagenzien sind nur für den in-vitro-diagnostischen Laborgebrauch bestimmt
2. Die Reagenzien dürfen nur von autorisiertem und geschultem Fachpersonal angewendet werden.
3. Die Testseren sind nicht für die Eigenanwendung vorgesehen.
4. Nach dem Verfallsdatum dürfen die Testseren nicht mehr verwendet werden
5. Beschädigte Fläschchen dürfen nicht verwendet werden.
6. Leichte Trübungen beeinflussen nicht die Reaktivität des Produktes.
7. Die Testseren enthalten als Konservierungsmittel < 0,1% Natrium-Azid.
8. Bei Verwendung der Produkte Schutzkleidung wie Kittel und Einmalhandschuhe tragen
9. Die Testseren wurden durch eine 0,2µm-Membran filtriert, um die Keimlast zu reduzieren.
10. Nach dem Öffnen sollte der Inhalt bis zum Verfallsdatum verbraucht werden. Sollte es nach dem Öffnen zu einer Trübung oder Kontamination kommen, ist der Inhalt zu verwerfen.
11. CE-Immundiagnostika GmbH kann nicht garantieren, dass menschliches und tierisches Ausgangsmaterial frei von infektiösen Agentien sind, daher sollten die Produkte mit Vorsicht angewendet werden.

### ENTSORGUNG UND DEKONTAMINATION

Für die Entsorgung der Testseren oder die Dekontamination bei Verschütten fordern Sie bitte das Sicherheitsdatenblatt bei CE-Immundiagnostika GmbH an.

### KONTROLLEN/EMPFEHLUNG

1. Bei jedem Versuch sind positive und negative Kontrollerythrozyten mitzuführen. Sollten die Kontrollen nicht die zu erwartenden Ergebnisse zeigen, so ist der Versuchsansatz zu verwerfen.
2. 1 Tropfen aus dem Pipettenfläschchen entspricht 35-45µl.
3. Nur autorisiertes Fachpersonal darf die Ergebnisse ablesen und auswerten.
4. Die Testreagenzien dürfen nur wie hier beschrieben angewendet werden.

### BENÖTIGTES MATERIAL UND REAGENZIEN

- 0,9% NaCl-Lösung
- Glasröhrchen
- Röhrchenständer
- Zentrifuge
- Mikrotiterplatte, Schüttler
- Tüpfelplatte
- Objektträger aus Glas
- Rührstab
- Positive und negative Kontrollerythrozyten
- Zeitmesser

### EMPFOHLENE METHODE

#### A. METHODE: RÖHRCHENTEST

1. Es wird eine 2-4%ige Erythrozytensuspension in 0,9% NaCl-Lösung hergestellt
2. 1 Tropfen Antiserum und 1-2 Tropfen Erythrozytensuspension werden in ein beschriftetes Röhrchen gegeben.



## Gebrauchsinformation

Rev. 002/06-2021

Anti-N 23102  
Anti-N 23105

3. Gut mischen, 10 – 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren und 1 Min. bei 400g (bzw. bei alternativer Drehzahl mit angepasster Zeit) zentrifugieren.
4. Das Ergebnis sofort ablesen: das Erythrozytenpellet durch vorsichtiges Schütteln vom Röhrchenboden lösen und die Agglutinationsstärke makroskopisch ablesen und protokollieren.

### B. METHODE: MIKROTITERPLATTENTEST

#### Vorbehandeln der Mikrotiterplatten (MTP):

MTP von verschiedenen Herstellern / Lieferanten zeigen unterschiedliche statische Eigenschaften, die nicht spezifische Reaktionen von roten Blutkörperchen und Proteinen zur Folge haben können. Es wird empfohlen, unbenutzte MTP vor der Verwendung vorzubehandeln, um die Anhaftung von roten Blutkörperchen zu minimieren. Es werden MTP mit U-Profil aus Kunststoff empfohlen.

1. In jedes MTP-Well 1 Tropfen 22% Bovine albumin (BSA) geben.
2. Durch vorsichtige Bewegungen oder auf einem MTP-Schüttler mischen, sodass die Wells gleichmäßig beschichtet sind.
3. Die MTP mind. 10- max. 15 Min. bei Raumtemperatur (18-25°C) stehen lassen.
4. Das BSA abgießen und den Inhalt der MTP-Wells in einen geeigneten Abfallbehälter geben.
5. Die MTP mindestens 10-mal mit Leitungswasser spülen.
6. Dann die MTP 2-mal mit destilliertem oder entionisiertem Wasser spülen.
7. Die MTP kippen und abtupfen, um überschüssiges Wasser zu entfernen.
8. Die MTP vor der Verwendung trocknen lassen.

Alternative Methoden sind möglich, sofern diese vom Anwender entsprechend validiert wurden.

#### Durchführung des Tests:

1. Herstellen einer 2 - 4% Erythrozytensuspension in 0,9% NaCl-Lösung. (Empfehlung 2% Suspension)
2. 30 µl des entsprechenden Testreagenzes in die gekennzeichneten MTP Vertiefungen pipettieren.
3. Zugabe von 30 µl der vorbereiteten Erythrozytensuspension auf die MTP.
4. MTP manuell oder auf einem Schüttler 30 Sek. mischen.
5. MTP 1 Min. bei 400g (bzw. bei alternativer Drehzahl mit angepasster Zeit) zentrifugieren. MTP kurz aufschütteln, ggf. mit Schüttler.
6. Ergebnis und Reaktionsstärke protokollieren.

Beim Einsatz von Lesegeräten müssen diese validiert sein. Der Gebrauch von zusätzlichen visuellen Hilfsmitteln wie Testablespiegeln oder Vergrößerungsgläsern kann die Ablesung erleichtern.

### C. METHODE: OBJEKTRÄGERTEST

1. Für den Objektträger test wird Vollblut verwendet (35-45%ige Erythrozytensuspension)
2. 1 Tropfen Testreagenz und einen Tropfen Erythrozytensuspension auf den Objektträger geben.
3. Beide Tropfen gründlich mit einem sauberen Glasstab mischen über eine Fläche von etwa 20x40mm.
4. Den Objektträger langsam hin und her bewegen
5. Das Ergebnis nach max. 2 Min makroskopisch ablesen und protokollieren.
6. Bei unsachgemäßer Behandlung oder zu langer Inkubationszeit kann es zu Trocknungsartefakten kommen, der Test muss verworfen werden.

### D. METHODE: TÜPFELPLATTENTEST

1. Für den Tüpfelplattentest wird Vollblut (35-45%ige Erythrozytensuspension) oder eine 10%ige Erythrozytensuspension in 0,9% NaCl-Lösung verwendet.
2. 1 Tropfen Testreagenz + 1 Tropfen Erythrozytensuspension auf die Tüpfelplatte geben.
3. Beide Tropfen mit einem sauberen Rührstab gründlich mischen.
4. 5-10 Min. bei Raumtemperatur inkubieren.
5. Das Ergebnis makroskopisch ablesen und protokollieren.

Bei unsachgemäßer Behandlung oder zu langer Inkubationszeit kann es zu Trocknungsartefakten kommen.

### INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

1. **Positiv:** Die Agglutination der Erythrozyten weist auf die Anwesenheit des zu bestimmenden Antigens auf den Erythrozyten hin. Bitte die Grenzen der Testmethode beachten (s.u.).
2. **Negativ:** keine Agglutination weist auf das Nichtvorhandensein des zu bestimmenden Antigens auf den Erythrozyten hin. Bitte die Grenzen der Testmethode beachten (s.u.).

### GRENZEN DER TESTMETHODEN

1. Nicht frisch eingesetztes Blut kann zu schwächeren Ergebnissen führen. Empfohlen wird höchstens zwei Tage altes Blut.
2. Die Reaktionsstärke sollte 2+ bis 4+ betragen, schwächere Reaktionen sollten mit einer längeren Inkubationszeit erneut überprüft werden.
3. Falsch positive oder falsch negative Ergebnisse können verursacht werden durch:
  - Kontamination des zu testenden Materials
  - Falsche Lagerung, falsche Erythrozytenkonzentration, falsche Inkubationszeit, falsche Temperatur
  - Falsche Zentrifugation
  - Abweichungen von den empfohlenen Methoden
4. Patienten mit bestimmten Erkrankungen können falsch positive/negative Reaktionen zeigen. Nabelschnurblute mit Wharton'scher Sulze können mit falsch positiven Ergebnissen reagieren.
5. Die Enzymbehandlung von Erythrozyten kann zur Zerstörung des N-Antigens führen.
6. Bei Raumtemperatur > +20 °C wird empfohlen das Reagenz zuvor auf + 2 °C bis + 8 °C abzukühlen.
7. **Zur Bestimmung des N-Antigens müssen nach der Richtlinie Hämotherapie Kapitel 4.4.8, 2017 stets zwei verschiedene Testreagenzien eingesetzt werden.**

### STABILITÄT DER ERGEBNISSE

1. Röhrchen- und Mikrotiterplattentests müssen sofort nach der Zentrifugation abgelesen werden.
2. Objektträger tests müssen innerhalb von 2 Min. abgelesen werden, um die Spezifität zu gewährleisten und um falsch positive Ergebnisse durch Trocknungsartefakte zu vermeiden.
3. Sollte eine andere als die empfohlene Temperatur gewählt worden sein, so sind die Ergebnisse zu verwerfen



**Gebrauchsinformation**

Rev. 002/06-2021

Anti-N 23102  
 Anti-N 23105

**SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE**

1. Die Antiseren wurden mit der Methode vor der Freigabe getestet, die sich an der GTS-Richtlinie orientieren, da keine Spezifikationen vorgeschrieben sind.
2. Jedes LOT der monoklonalen Antiseren wird vor der Freigabe gegen ein Panel mit antigenpositiven Erythrozyten getestet, um eine gute Reaktivität zu gewährleisten.
3. Die Spezifität von monoklonalen Antikörpern wird mittels Panels mit antigennegativen Erythrozyten bewiesen.
4. In der Qualitätskontrolle werden zweimal in 0,9% Kochsalzlösung gewaschene Erythrozyten bzw. Vollblut eingesetzt.
5. Getestet an über 500 Proben mit Sensitivität und Spezifität von 100%.

**HAFTUNGSAUSSCHLUSS**

1. Der Anwender haftet, wenn eine andere als die empfohlene angewendet wird.
2. Alle Abweichungen von der empfohlenen Testmethode müssen vor der Anwendung validiert werden.

**BIBLIOGRAPHIE**

1. Cutbush M, Mollison PL, Parkin DM. A new human blood group. Nature 1950; 165: 188.
2. Allen FH, Diamond LK, Niedziela B. A new blood group antigen. Nature 1951; 167: 482
3. Race RR, Sanger R. Blood groups in man. 6th ed. Oxford, Blackwell Scientific Publications; 1975:336.
4. Daniels G. Human Blood Groups, 2002, 2<sup>nd</sup> Edition, Blackwell Science Publications

**ERKLÄRUNG DER SYMBOLE**

	Chargennummer		In-vitro Diagnosticum
	Produkt-Code		Lagerung bei +2 °C bis + 8 °C
	Verfallsdatum		Hersteller
	Gebrauchsanweisung innenliegend		

**ARTIKELNUMMERN**

REF Produkt Klon	Mögliche Versandmenge
23102 Anti-N Klon: 1422C7	1 x 1 x 5 ml 5 x 1 x 5 ml 10 x 1 x 5 ml 50 x 1 x 5 ml
23105 Anti-N Klon: 1422C7	1 x 1 x 5 ml 5 x 1 x 5 ml 10 x 1 x 5 ml 50 x 1 x 5 ml