

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

ZWECKBESTIMMUNG

Monoklonal agglutinierende Anti-A, Anti-B und Anti-AB -Testseren werden aus Zellkultur-überständen von Maus-Hybridoma-Zelllinien gewonnen, die Antikörper vom IgM-Typus sezernieren, die spezifisch gegen das jeweilige korrespondierende Blutgruppenantigen gerichtete sind. Die Testseren werden zum qualitativen In-Vitro Nachweis des Vorhandenseins oder Fehlens der Blutgruppenantigene A bzw. B auf menschlichen Erythrozyten verwendet.

Die Anwendung dieser Testseren ist nur für qualifiziertes und geschultes Fachpersonal vorgesehen.

PRINZIP DES VERFAHRENS

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

TESTSEREN

Die aufgeführten Blutgruppentestseren enthalten Antikörper der folgenden Klone:

- Anti-A monoclonal, IgM clone: Birma-1
- Anti-B monoclonal, IgM clone: LB-2
- Anti-AB monoclonal, IgM clones: ES-15, ES-4

Diese Testseren enthalten als Konservierungsmittel $\leq 0,1\%$ (w/v) Natriumazid. Außer dem aktiven Antikörperbestandteil beinhalten die Testseren Natriumchlorid, hochmolekulare Verbindungen und Rinderalbumin, das durch die US-Veterinär service Inspektoren überprüft und zertifiziert wurde.

WARNUNG

Diese Testseren werden aus Zellkulturüberständen hergestellt. Unabhängig davon sollten diese biologischen Produkte wegen der völlig auszuschließender Gefährdung durch Krankheitserreger als potentiell infektiös angesehen werden. Die Testseren enthalten Natriumazid, das toxisch wirken und mit Blei oder Kupfer explosive Salze bilden kann. Bei der Entsorgung mit reichlich Wasser nachspülen. Aus den oben genannten Gründen sollten die Testseren mit angemessener Sorgfalt gehandhabt werden.

LAGERUNG

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

HINWEISE

- Es ist immer eine Serumgegenprobe durchzuführen. Das Ergebnis muss mit der Antigenbestimmung übereinstimmen.
- Es sollten bei jeder Austestung positive und negative Kontrollen mitgeführt werden.
- Unschöne Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit der Produkte.
- Die Reaktionsfähigkeit eines der oben aufgeführten Testseren wird durch eine leichte Trübung nicht beeinträchtigt. Eine bakterielle und chemische Kontamination der Testseren ist zu vermeiden. Wenn eine sichtbare Veränderung eines Testserums festgestellt wird, sollte das Testserum nicht mehr eingesetzt werden, es kann auf eine mikrobielle Kontamination hinweisen.
- 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 manuelle Verfahren. Werden Automaten oder halbautomatische Systeme verwendet, müssen die Laboratorien die Angaben der Gerätehersteller befolgen und Validierungen nach anerkannten Verfahren durchführen.
- Bei der Anwendung dieser Testseren sind alle gültigen nationalen Gesetze, Verordnungen und Richtlinien zu beachten, in Deutschland insbesondere die „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“¹ in ihrer gültigen Fassung.
- Die Angaben zum Einsatz der Testkarten, in der jeweils zugehörigen Gebrauchsinformation, sind unbedingt zu beachten.

PROBENVORBEREITUNG

- Blutproben sollten mit einer der üblichen Entnahmetechnik gewonnen werden.
- Das auszusetzende Blut sollte so bald wie möglich nach der Blutentnahme geprüft werden, um die Gefahr falsch positiver bzw. falsch negativer Reaktionen, durch unschöne Lagerung oder Kontamination der Probe, zu minimieren. Nicht sofort getestetes Blut ist bei +2 bis +8 °C zu lagern. Mit EDTA antikoagulierte Blutproben müssen innerhalb von 7 Tagen und mit Natriumzitrat behandelte Proben innerhalb von 14 Tagen nach der Entnahme getestet werden. Konserven/Spenderbilute können bis zum Verfallsdatum ausgetestet werden.

VORBEREITUNG DER TESTSEREN

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

VERFAHRENSWEISE

Nicht im Lieferumfang enthaltene, aber benötigte Materialien

- Objektträgermethode: Objektträger; Pasteurpipette; Rührstäbchen; Kurzzeitwecker
- Röhrenmethode: Teströhrchen (10 x 75 mm oder 12 x 75 mm); Mikroliterpipette; Zentrifuge; Kurzzeitwecker; isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid) Grifols "DG Gel Neutral"; Röhren; Mikroliterpipette; Zentrifuge; Kurzzeitwecker; entsprechende Kartenzentrifuge; kartenspezifisches Verdünnungsmittel; isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)
- Gelkartenmethode: Mikrotiterplatte mit 96 U-Vertiefungen; Mikroliterpipette; Kurzzeitwecker; Zentrifuge; Mikrotiterplatten-Schüttler; ; Mikrotiterplatten-Zentrifuge; Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)

Testdurchführung

Objektträgertest

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

Röhren-Zentrifugationstest

- Eine 2-5%ige Erythrozytensuspension in isotonischer Kochsalzlösung vorbereiten. (Erythrozyten können vorab 1-3 Mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
- In ein beschriftetes Teströhrchen 100 µL des entsprechenden Testserums geben und anschließend in das Teströhrchen 100 µL der entsprechenden Erythrozytensuspension zugeben. Alternativ können ein Tropfen = ca. 50 µL Erythrozytensuspension zu einem Tropfen = ca. 50 µL Testserum gegeben werden.
- Die Erythrozyten-/Testserummischung durch leichtes Schütteln mischen.
- Teströhrchen 1 - 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
- Teströhrchen 1 Minute bei 1.000 U/min (ca. 180-270 x g) zentrifugieren.
- Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig vom Röhrenboden lösen und innerhalb 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
- Ergebnisse protokollieren.

Gelkartentest

- Eine 0,8%ige Erythrozytensuspension im kartenspezifischen Verdünnungsmedium vorbereiten. (Erythrozyten können vorab 1-3 Mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
- In ein beschriftetes Mikroröhrchen 50 µL der entsprechenden Erythrozytensuspension geben.
- In das Mikroröhrchen 25 µL des entsprechenden Testserums zugeben.
- Die Karte innerhalb von 30 Minuten in der jeweils entsprechenden Kartenzentrifuge mit der, für die Zentrifuge unveränderliche g-Zahl, zentrifugieren.
- Innerhalb von 30 Minuten Mikroröhrchen makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
- Ergebnis protokollieren.

Mikrotiterplattentest

- Eine 2-5%ige Erythrozytensuspension 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 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 kurz 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

INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

"Vorsichtiges Schwenken/Schütteln" / Röhren-Zentrifugationsmethode / Mikrotiterplattenmethode: bei der Objektträgermethode / Röhren-Zentrifugationsmethode / Mikrotiterplattenmethode: 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. Die Ableitung und Interpretation der Ergebnisse bei der Kartenmethode entsprechend der Grifols Gebrauchsinformation durchführen.

GRENZEN DER TESTMETHODEN

- Ungenauigkeiten bei der Einhaltung der Anweisungen in den Abschnitten „Testdurchführung“ und „Interpretation der Testergebnisse“ können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Mitgeführte Kontrollen mit nicht eindeutigen oder falschen Ergebnissen führen automatisch zur nicht Verwertbarkeit aller Ergebnisse.
- Enzymbehandelte Erythrozyten oder die Zugabe von Rinderalbumin und/oder anderer proteinhaltiger Lösungen können mit diesen Testseren zu unspezifischen Reaktionen führen.
- Hämolytierte, trübe, kontaminierte oder geronnene Blutproben dürfen nicht eingesetzt werden.
- Bei der Objektträgermethode können unspezifische Reaktionen beim Eintrocknen des Reaktionsansatzes bzw. beim Erwärmen des Objektträgers auftreten.
- Aufgrund der unterschiedlichen Ausprägung der Antigene kann es bei bestimmten Phänotypen mit diesen Testseren zu einer schwächeren Reaktion kommen als mit Kontrollerythrozyten.
- Das Testserum Anti-A reagiert nicht mit allen AX Bluten
- Das Testserum Anti-B reagiert nicht mit "aquires B".
- Kein einzelnes Testserum oder eine einzelne Methode kann garantieren alle seltenen oder schwachen Antigene und alle Varianten der Antigene zu detektieren.
- Bei Erythrozyten, die stark mit Antikörpern beladen sind (Erythrozyten positiv im direkten Antiglobulintest), kann es in der Kartenmethode zu falsch-positiven Ergebnissen kommen. Diese Zellen reagieren auch ohne Testserum positiv.
- Angaben zu Grenzen in der Gebrauchsanweisung von eingesetzten Karte sind zu beachten.

LEISTUNGSSTAND

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

Produkt	Positive	Negative	Sensitivität	Spezifität
Anti- A	1382	1596	100%	100%
Anti- B	777	2201	100%	100%
Anti- AB	1541	980	100%	100%

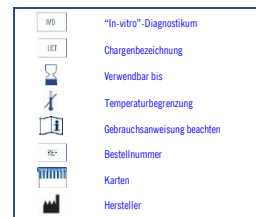
LITERATUR

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

PRÄSENTATION

213164	Anti-A	monoclonal, IgM	clone: Birma-1	10 ml
213165	Anti-B	monoclonal, IgM	clone: LB-2	10 ml
213166	Anti-AB	monoclonal, IgM	clones: ES-15, ES-4	10 ml

730-13-0112 Version 012 / 01.07.2021



CE 0483

ANTITOXIN GmbH Industriestraße 88 69245 Bammental Deutschland

gara@antitoxin-gmbh.de

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

INTENDED USE

Monoclonal agglutinating anti-A, anti-B and anti-AB -reagents are produced from cell culture supernatants of murine hybridoma cell lines. The cells are secreting an antibody of IgM-type that reacts specific with the corresponding blood group antigen. The reagents are used to determine for In-Vitro-Diagnostic, to determine qualitative whether human red blood cells possess or lack the corresponding blood group antigens A or B. The test sera are intended to be used by qualified and technical personnel only.

PRINCIPLE OF PROCEDURE

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

REAGENTS

The listed reagents contain antibodies of following cell clones:

Anti-A monoclonal, IgM clone: Birma-1
Anti-B monoclonal, IgM clone: LB-2
Anti-AB monoclonal, IgM clones: ES-15, ES-4

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

WARNING

These reagents were prepared from supernatants of cell cultures. As biological products they should be looked upon as potentially infectious because of never complete exclusion of danger through excipients of disease. The reagents contain sodium azide that may be toxic and may react with lead or copper to form highly explosive salts.

On disposal, flush with large quantities of water.
For the reasons mentioned above, reagents should be handled with proper care.

STORAGE REQUIREMENT

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

REMARKS

- It is always a reverse testing to perform. The result must agree with the antigen determination. Both results have to correspond.
- With each testing positive and negative controls should be performed.
- Inappropriate storage impairs efficacy of the reagents.
- Weak turbidity of the reagents mentioned above does not affect its reactivity. Bacteria and chemical contamination of the products should be avoided. If a visible change is detected, the reagent should no longer be used, this sign may indicate a microbiological contamination.
- Strength of positive reactions also depends on age of used blood
- Centrifugation outside the specified speed range may lead to false results. With the card method, the use of another card-specific centrifuge (each card centrifuge has its specified unchangeable g-force) may lead to false results due to the changed g-force.
- The test methods 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.
- For usage of these reagents all effective national laws, directives and guidelines have to be observed, in Germany especially the „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“ 1 in its current version.
- The information on the use of the test cards in the relevant insert must be observed.

SAMPLE PREPARATION

- Blood sample should be collected by approved medical procedure.
- Blood samples to be tested should be used as soon as possible after blood collection to reduce the risk of false-positive and false-negative results due to improper storage or contamination of the sample. If a delay in testing occurs, samples should be stored at 2 to 8°C. Blood drawn into EDTA should be tested within 7 days and samples treated with sodium citrate within 14 days after collection. Blood bag / Donor Blood can be tested until the expiry date.

REAGENT PREPARATION

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

PROCEDURE

Not provided material, additionally needed

Slide Method: glass slide; Pasteur pipette; mixing stick; timer
Tube Centrifugation Method: tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm); microliter pipette; centrifuge; timer; isotonic saline (0,85 - 0,9% sodium chloride)
Grifols „DG Gel Neutral“;

Card Method: tubes; microliter pipette; centrifuge; timer; corresponding card centrifuge; card specific diluent; isotonic saline (0,85 - 0,9% sodium chloride)

Microplate Method: microplate with 96 U-wells; microliter pipette; timer; centrifuge; microplate shaker; microplate centrifuge; isotonic saline (0,85 - 0,9% sodium chloride)

Test procedure

Slide Method

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

Tube Centrifugation Method

- Prepare a 2% to 5% suspension of red blood cells in isotonic saline (red blood cells may be washed 1-3 times with isotonic saline).
- At first put 100 µL of appropriate reagent in a marked tube subsequently add 100 µL of appropriate cell suspension in the tube. Alternative one drop = approximately 50 µL cell suspension can be added to one drop = approximately 50 µL test serum.
- Mix Erythrocytes / Reagent mixture well by slightly shaking.
- Incubate tube at room temperature for 1-15 min.
- Centrifugation of tube for 1 minute at 1000 rpm (approximately 180-270 x g).
- Gently shake the red cells completely from the bottom of the tube and check macroscopically for agglutination within 3 minutes.
- Document the result.

Card Method

- Prepare 0,8 % suspension of red blood cells in card specific diluent (red blood cells may be washed 1-3 times with isotonic saline).
- Add 50 µL of appropriate cell suspension to a marked micro tube.
- Add 25 µL of appropriate reagent to the micro tube.
- Centrifuge the card in appropriate card centrifuge with the for this centrifuge unchangeable g-force after latest 30 minutes.
- Check macroscopically micro tube for agglutination within 30 minutes.
- Document the result.

Microplate Method

- Prepare 2-5% suspension of red blood cells in isotonic saline (red blood cells may be washed 1-3 times with isotonic saline).
- Add 50 µL of appropriate reagent to a marked well.
- Add 50 µL of appropriate cell suspension to the well.
- Shake microplate for 30 seconds on shaker with medium speed.
- Centrifugation of the microplate in appropriate microplate centrifuge for 30 seconds at 400 x g.
- Shake microplate for 30 seconds on a microplate shaker with medium speed.
- Evaluated macroscopically for agglutination directly after centrifugation.
- Document the result.
- Tests with negative or doubtful results have to be incubated for 5 to 10 minutes at room temperature.
- Repeat steps 5 to 8 after incubation at room temperature.

INTERPRETATION OF RESULTS

*Slightly rotating/shaking

at Slide Method/ at Tube Centrifugation Method / Microplate Method:
Positive results (+): visible agglutination of erythrocytes is a positive result and indicates the presence of the corresponding antigen.

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

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

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- Inaccuracy at compliance with instructions written under section "Procedures" and "Interpretation of results" may lead to incorrect results.
- No valid conclusion concerning the test result can be reached, if controls with uncertain or false results occur.
- Enzyme treated erythrocytes or addition of bovine albumin and/or other solutions containing
- Hemolyzed, turbid, contaminated or clotted samples should not be used.
- With the slide method, unspecific reactions might appear due to drying of the reaction-Formation or if the slide is heated.
- Due to variability of antigen expression, reactivity of these reagents against certain phenotypes may give weaker reactivity compared to control cells.
- Anti-A will not react with all A_x-bloods.
- The test serum Anti-B doesn't react with "acquired B".
- No one specific antiserum or technique can be guaranteed to detect all rare, weak or variant antigens.‡
- Red blood cells coated with antibodies (cells that are positive in the direct antiglobulin-test (DAT)) may give false-positive results in card method. These cells react positive without test serum too.
- Pay attention to all statements to limitations in inserts of used gel cards.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

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	Negative	Sensitivity	Specificity
Anti- A	1382	1596	100%	100%
Anti- B	777	2201	100%	100%
Anti- AB	1541	980	100%	100%

LITERATURE

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

PRÄSENTATION

213164 Anti-A monoclonal, IgM clone: Birma-1 10 ml
213165 Anti-B monoclonal, IgM clone: LB-2 10 ml
213166 Anti-AB monoclonal, IgM clones: ES-15, ES-4 10 ml

730-13-0112 Version 012 / 01.07.2012



CE 0483

ANTITOXIN GmbH Industriestraße 88 69245 Bammental Germany

@ qara@antitoxin-gmbh.de

Anti-A, Anti-B, Anti-AB monoclonal, IgM

Español

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

INDICACIONES DE USO

Los sueros monoclonales Anti-A, Anti-B y Anti-AB se obtienen de sobrenadante de cultivo de líneas de células murinas. Las células segregan un anticuerpo del tipo IgM, el cual reacciona específicamente con el correspondiente antígeno. Estos reactivos se usan cualitativamente in vitro para determinar si los hemáticos poseen o no los correspondientes antígenos de grupo A o B. Los sueros deben ser usados exclusivamente por personal técnico cualificado.

FUNDAMENTO

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

COMPOSICIÓN

Estos reactivos contienen anticuerpos de los siguientes clones celulares:

Anti-A monoclonal, IgM clone: Birma-1
Anti-B monoclonal, IgM clone: LB-2
Anti-AB monoclonal, IgM clones: ES-15, ES-4

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

AVISO

Estos reactivos se obtienen de sobrenadante de cultivos celulares. Como productos biológicos deben contemplarse como potencialmente infecciosos ya que nunca puede excluirse totalmente el peligro de causar enfermedades. Estos reactivos contienen azida sódica, que puede ser tóxica y puede reaccionar con plomo o cobre formando sales altamente explosivas. Al eliminar, enjuagar con grandes cantidades de agua. Por estos motivos, estos reactivos deben usarse cuidadosamente.

CONSERVACIÓN

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

OBSERVACIONES

- Siempre se debe realizar una verificación contra-prueba sérica. El resultado debe coincidir con la determinación del antígeno.
- Se deberían incluir controles positivos y negativos en cada prueba.
- La conservación inadecuada de los reactivos reduce su eficacia.
- Una débil turbiedad del reactivo no afecta su efectividad. Se debe evitar la contaminación química y bacteriana del producto. Si se detecta algún cambio visible, no se debe emplear el reactivo, pues este signo puede ser indicativo de contaminación microbiológica.
- 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.
- on el método de la tarjeta, una centrifugación notablemente diferente de la fuerza de centrifugado relativa indicada (cada centrifuga de tarjetas tiene una fuerza centrifuga relativa que es invariable y específico) puede conducir a resultados incorrectos.
- Los procedimientos especificados a continuación son exclusivamente para pruebas manuales. En caso de usar instrumentación automática o semi-automática, se deben seguir las instrucciones de uso incluidas en el manual proporcionado por el fabricante del instrumento. Los laboratorios deben seguir los procedimientos de validación.
- Para el uso de estos reactivos deberán contemplarse todas las guías, directrices y leyes nacionales; específicamente en Alemania la "Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)"¹
- Prestar atención a las limitaciones y precauciones indicadas en las instrucciones de uso de las tarjetas Grifols.

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

- Las muestras de sangre se deben recoger siguiendo un procedimiento médico aprobado.
- Las muestras de sangre por analizar deben testarse 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 una contaminación de las muestras reactivas. Si se retrasan los ensayos, las muestras se deberán almacenar a una temperatura de 2 a 8 °C. La sangre en EDTA debería analizarse en un plazo de 7 días y las muestras tratadas con citrato de sodio, en los 14 días siguientes a la recogida. Las bolsas de sangre o la sangre de donantes se pueden analizar hasta la fecha de caducidad.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

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

PROCEDIMIENTO

Material necesario no suministrado:

- en Porta: porta de cristal; pipeta Pasteur; barita de mezcla; cronómetro
en Tubo: tubos de 10x75 mm o 12x75 mm; micropipeta; centrifuga; cronómetro
solución salina isotónica (0,85 - 0,9% cloruro sódico)
- en Tarjeta: Grifols "DG Gel Neutral"; micropipeta; tubos, cronómetro; centrifuga; centrifuga para tarjetas de Grifols; DG Gel Sol diluyente específico para cada tarjeta; solución salina isotónica (0,85 - 0,9% cloruro sódico)
- en Microplaca: microplaca de 96 pocillos en U; micropipeta; cronómetro; centrifuga; agitador de microplaca; centrifuga de microplaca; solución salina isotónica (0,85 - 0,9% cloruro sódico)

Procedimiento

En porta

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

En tubo

- Preparar una suspensión del 2% al 5% de hemáticas en solución salina (células lavadas de una a tres veces con solución salina).
- Añadir 100 µL del reactivo correspondiente en un tubo de ensayo etiquetado y luego agregar 100 µL de la suspensión de eritrocitos correspondiente al tubo. Alternativamente, una gota = aproximadamente 50 µL de suspensión de eritrocitos se puede añadir a una gota = aproximadamente 50 µL de suero de ensayo
- Agitar suavemente para mezclar bien.
- Incubar el tubo a temperatura ambiente durante 1 - 15 minutos.
- Centrifugar el tubo durante 1 minuto a 1.000 rpm (180-270 x g)
- Resolver completamente las células de la parte inferior del tubo agitando suavemente y comprobar macroscópicamente la aglutinación en 3 minutos.
- Documentar el resultado.

En tarjeta

- Preparar suspensión de hemáticas al 0,8% con en DG Gel Sol (diluyente específico para uso en tarjetas).
- Añadir 50 µL de la suspensión de hemáticas correspondiente en microtubo de ensayo etiquetado.
- Añadir 25 µL del reactivo correspondiente e microtubo.
- Centrifugar la tarjeta en la centrifuga correspondiente a la fuerza centrifuga relativa invariable (en los siguientes 30 minutos).
- Comprobar macroscópicamente si existe aglutinación (en los siguientes 30 minutos).
- Documentar el resultado

En microplaca

- Preparar suspensión de hemáticas al 2-5% en solución salina isotónica (células lavadas de una a tres veces con solución salina).
- Añadir 50 µL del reactivo apropiado a un pocillo etiqueto.
- Añadir 50 µL de la suspensión de hemáticas al pocillo.
- Agitar la microplaca en el agitador a la velocidad media durante 30 segundos.
- Centrifugar la microplaca en la correspondiente centrifuga durante 30 segundos a 400 x g.
- Agitar la microplaca en el agitador durante 30 segundos a velocidad media.
- Comprobar macroscópicamente si existe aglutinación inmediatamente después de agitar.
- Documentar el resultado
- Incuba las pruebas con resultados negativos o cuestionables durante 5 a 10 minutos a temperatura ambiente.
- Repite los pasos 5 a 8 después de la incubación.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

"rotando / agitando ligeramente"

el porta / tubo / microplaca

Resultados positivos (+): aglutinación visible de eritrocitos indica un resultado positivo y la presencia del antígeno correspondiente.

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

La lectura e interpretación de las tarjetas de gel debe hacerse tal y como indican las instrucciones de uso de las tarjetas DG Gel utilizadas.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- La inexactitud en el seguimiento de las instrucciones descritas en las secciones "Procedimientos" e "Interpretación de resultados" puede conducir a resultados incorrectos.
- Controles con resultados inesperados o poco precisos, invalidan el resultado de la prueba.
- El tratamiento con enzimas de los eritrocitos o la adición de albúmina bovina u otras soluciones que contengan proteínas pueden causar reacciones no específicas.
- No emplee muestras de sangre hemolizada, turbia, contaminada o coagulada en este ensayo.
- Pueden darse reacciones inespecíficas si se seca la reacción o se calienta el porta
- Debido a la variabilidad de la expresión antigénica, la reactividad de estos reactivos frente a ciertos fenotipos puede ocasionar reacciones más débiles comparadas con las células control.
- El anti-A no reacciona con todos los subgrupos Ax.
- El suero anti-B no reacciona con "B adquirido".
- 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
- Hemáticas sensibilizadas con anticuerpos (células positivas en la prueba de aglutinación directa (DAT)) pueden presentar falsos resultados positivos en el método con tarjeta. Estas células reaccionan positivamente también sin reactivo.
- Prestar atención a las limitaciones de cada sistema anunciadas en las instrucciones de uso de las tarjetas utilizadas.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

En cumplimiento de la decisión sobre las Especificaciones Técnicas Comunes (Decisión de la Comisión CTS del 03 de febrero de 2009) se ha llevado a cabo una evaluación de las características.

Anticuerpo	Positivo	Negativo	Sensibilidad	Especificidad
Anti- A	1382	1596	100%	100%
Anti- B	777	2201	100%	100%
Anti- AB	1541	980	100%	100%

LITERATURA

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

PRESENTACIÓN

213164	Anti-A monoclonal, IgM clone: Birma-1	10 ml
213165	Anti-B monoclonal, IgM clone: LB-2	10 ml
213166	Anti-AB monoclonal, IgM clones: ES-15, ES-4	10 ml

730-13-0112 Versión 012 / 01.07.2021

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

CE 0483

ANTTTOXIN GmbH Industriestraße 88 69245 Bammental Alemania

qara@antitoxin-gmbh.de

GRIFOLS

GRIFOLS

Anti-A, Anti-B, Anti-AB monoclonal, IgM

Português

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

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Os soros de teste monoclonais de aglutinação Anti-A, Anti-B e Anti-AB são produzidos a partir do sobrenadante de culturas celulares de linhas híbridoma de murinos. As células segregam um anticorpo IgM que reage especificamente com o antígeno correspondente. Os reagentes são usados para determinar qualitativamente "in vitro" se os glóbulos vermelhos humanos possuem ou não os correspondentes antígenos do grupo sanguíneo A ou B.

O reagente deve ser utilizado apenas por pessoal técnico qualificado

PRINCÍPIO DO TESTE

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

REAGENTES

Os reagentes listados contêm anticorpos dos seguintes clones:

Anti-A	monoclonal, IgM	clone: Birma-1
Anti-B	monoclonal, IgM	clone: LB-2
Anti-AB	monoclonal, IgM	clones: ES-15, ES-4

Os reagentes contêm azida de sódio <0.1% (p/v) como conservante. Além disso, o anticorpo activo, estes reactivos contêm cloreto de sódio, macromoléculas e albumina bovina, probada e certificada por los inspectores del Servicio de Veterinaria de Estados Unidos.

ATENÇÃO

Estes reagentes são preparados a partir do sobrenadante de culturas celulares. Como produtos biológicos deverão ser considerados como potencialmente infecciosos uma vez que não pode ser excluído completamente o perigo de doença. Os reagentes contêm 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.

Por estes motivos o reagente deverá ser manuseado com muito cuidado.

NECESSIDADES DE ARMAZENAMENTO

Armazene os produtos abertos e fechados a temperaturas compreendidas entre 2 a 8°C. Podem estar à temperatura ambiente enquanto em utilização. Armazene e utilize os reagentes até à data de validade descrita.

OBSERVAÇÕES

- Deve ser sempre efetuado um contra-teste do soro. O resultado deve estar de acordo com a determinação do antígeno
- Em cada teste devem ser executados controlos positivos e negativos.
- O armazenamento impróprio prejudica a eficácia dos reagentes.
- Uma turvação fraca do reagente não afeta a sua reatividade. As bactérias e a contaminação química do produto devem ser evitadas. Se for detectada uma alteração visível no soro de teste, o soro de teste não deve mais ser usado, isso pode indicar contaminação microbiana.
- A força das reações positivas também depende da idade do sangue usado.
- Centrifugação muito diferente da força centrífuga designada conduzirá a falsos resultados... Com o método do cartão, a utilização de outra centrifugadora específica des cartão (cada centrifugadora de cartão tem a sua força-g específica imutável) pode dar origem a resultados falsos devido à força-g alterada.
- Os procedimentos identificados abaixo são apenas para teste manual. Ao usar equipamentos automatizados siga os procedimentos que estão contidos no manual do utilizador fornecidos pelo fabricante do dispositivo. Os laboratórios devem seguir os procedimentos de validação aprovados.
- Para o uso destes soros de teste devem ser observadas todas as leis nacionais, directivas e normas, na Alemanha especialmente o "Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)" 1 na versão actual.
- Preste atenção a todas as declarações de limitações nos folhetos do cartão Grifols.

PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

- As amostras de sangue devem ser obtidas usando uma técnica de amostragem padrão.
- As amostras de sangue depois de tomar sangue a serem testadas devem ser usadas logo que possível, minimizar o risco de reações falso-positivas ou falso-negativas devido ao armazenamento inadequado ou contaminação da amostra. Se ocorrer um atraso nos testes, as amostras devem ser armazenadas entre 2 e 8 °C. O sangue extraído para EDTA deve ser testado dentro de 7 dias e as amostras tratadas com citrato de sódio dentro de 14 dias, após a colheita. Sacos de sangue /sangue conservado ser testado até o prazo de validade.

PREPARAÇÃO DO REAGENTE

Não é necessário preparar o reagente. Remover e use o reagente directamente do frasco.

PROCEDIMENTO

Material necessário é não fornecido..

Para o Método em lâmina: lâminas; pipeta Pasteur; vareta para misturar; cronómetro
Para o Método de Centrifugação em tubo: tubos de teste (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm); micropipetas; cronómetro; centrífuga;
soro fisiológico isotónico (com cloreto de sódio 0,85 - 0,9%)
cartões: „DG Gel Neutral“;

Para Método por Card: tubo de vidro; micropipeta; cronómetro; centrífuga;
Centrifuga para cartões DG-Gel;
DG Gel Sol (diluyente específico para cartões DG Gel);
soro fisiológico isotónico; (com cloreto de sódio 0,85 - 0,9%)
microplaca com 96 poços em U;

Para método em microplaca: Micropipetas; cronómetro; centrífuga;
microplaca - agitador; microplaca - centrífuga;
soro fisiológico isotónico; (com cloreto de sódio 0,85 - 0,9%)

Técnica

Método em lâmina

- Utilize apenas sedimento de eritrócitos.
- Coloque uma gota (aproximadamente 50 µL) de reagente apropriado numa lâmina.
- Com uma pipeta de Pasteur adicione uma gota de sedimento de eritrócitos (aproximadamente 50 µL) na lâmina.
- Misture bem os eritrócitos com o reagente com uma vareta e espalhe num círculo diâmetro 2 cm.
- Agitando a lâmina ligeiramente, observe a aglutinação dentro de 1 minuto (a reacção começa dentro de segundos).
- Registe o resultado.

Método de Centrifugação em tubo

- Prepare suspensões de glóbulos vermelhos de 2% a 5% em soro fisiológico isotónico (Os eritrócitos podem ser lavado uma a três vezes com soro fisiológico isotónico anteriormente)
- Primeiro adicione 100 µL do reagente correspondente a um tubo de teste rotulado e, em seguida, adicione 100 µL da suspensão de eritrócitos correspondente ao tubo de teste. Alternativamente, uma gota = aproximadamente 50 µL de suspensão de eritrócitos pode ser adicionada a uma gota = aproximadamente 50 µL reagente.
- Misture bem agitando ligeiramente.
- Incube o tubo à temperatura ambiente durante 1 - 15 min.
- Centrifugue o tubo durante 1 min a 1.000 rpm (aproximadamente 180-270 x g).
- Agitando suavemente as células completamente do fundo do tubo e observe macroscopicamente a presença de aglutinação dentro de 3 minutos.
- Registe o resultado.

Método por Card

- Prepare suspensões a 0,8% de eritrócitos em DG Gel Sol (diluyente específico do cartão). (células lavadas uma a três vezes com soro fisiológico isotónico).
- Adicione 50 µL de suspensão celular apropriada a cada microtubo marcado.
- Adicione 25 µL de reagente correspondente em cada microtubo.
- Centrifugue o cartão na centrífuga para cartões apropriada com a força g inalterável desta centrífuga dentro 30 minutos.
- Verifique macroscopicamente a aglutinação no espaço de 30 minutos.
- Documente o resultado.

Método em microplaca

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

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Rotando / sacudir em lâmina, em Centrifugação de tubo e em microplaca método:

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

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

A leitura e interpretação dos resultados dos cartões devem ser feitas seguindo as instruções específicas dos cartões DG Gel.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- Inexatidão no cumprimento das instruções escritas na secção "Procedimento" e "Interpretação de resultados" podem originar resultados incorrectos
- Não se podem tirar conclusões válidas em relação aos resultados se os controlos indicam resultados incertos ou falsos
- Os eritrócitos tratados com enzima ou a adição de albumina bovina e/ou outras soluções que contenham proteína podem provocar reacções inespecíficas.
- Neste teste não devem ser usadas amostras de sangue hemolizadas, turvas, contaminadas ou coaguladas.
- Reacções não específicas podem surgir por secagem da reacção formada ou se a lâmina for aquecida.
- Devido à variabilidade da expressão dos antígenos, a reactividade destes reagentes contra certos fenótipos pode dar uma reacção mais fraca quando comparada com células de controlo.
- O Anti-A pode não detectar todos os exemplos de células Ax.
- O soro de teste Anti-B não reage com o "B adquirido".
- Nenhum antissoro ou técnica específica podem ser garantidos para detetar todos os antígenos raros, fracos ou variantes. †
- Os eritrócitos positivos na prova de antiglobulina directa (DAT) podem dar falsos resultados positivos no método com cartões DG Gel. Estas células reagem positivamente também sem reagente.
- Preste atenção a todas as declarações de limitações nos folhetos do cartão Grifols.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMENTO

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

Producto	Positivo	Negativo	Sensibilidade	Especificidade
Anti- A	1382	1596	100%	100%
Anti- B	777	2201	100%	100%
Anti- AB	1541	980	100%	100%

LITERATURA

- Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)
- CLSI, I/LA32-A. Validation of Automated System for Immunhematological Testing Before Implementation: Approved Guideline CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Dezember 2009
- Peter D. Issit, David J. Anstee Applied Blood Group Serology, fourth edition, Montgomery Scientific Publications 1998
- Christian Mueller-Eckhardt, Volker Kiefel Transfusionsmedizin, 3. Auflage, Springer-Verlag 2004.

APRESENTAÇÃO

213164	Anti-A	monoclonal, IgM	clone: Birma-1	10 ml
213165	Anti-B	monoclonal, IgM	clone: LB-2	10 ml
213166	Anti-AB	monoclonal, IgM	clones: ES-15, ES-4	10 ml

730-13-0112 Versão 012 / 01.07.2021

ND	Dispositivo médico para diagnóstico "in vitro"
LOI	Código de lote
🕒	Deve ser usado até
🌡️	Limitação da temperatura
📖	Consultar Instruções de Uso
HS	Número de catálogo
🏠	Placas
🏭	Fabricante

CE 0483

ANTITOXIN GmbH Industriestraße 88 69245 Bammental Alemanha

qara@antitoxin-gmbh.de

GRIFOLS

GRIFOLS