

Für den Objektträger- und den Röhrchen-Test
NUR ZUR IN-VITRO-DIAGNOSTIK

ZWECKBESTIMMUNG

Monoklonal agglutinierendes Anti-P₁-Testserum wird aus Zellkulturüberständen von einer Hybridoma-Zelllinie gewonnen, die Antikörper vom IgM-Typus sezerniert, die spezifisch mit dem korrespondierenden Antigen reagieren. Das Testserum wird zum qualitativen In-vitro-Nachweis des Vorhandenseins oder Fehlens des Blutgruppenantigens P₁ auf menschlichen Erythrozyten verwendet. Die Anwendung dieser Testseren ist nur für qualifiziertes und geschultes Fachpersonal vorgesehen.

PRINZIP DES VERFAHRENS

Die bei Verwendung dieses Testserum angewendeten Testmethoden beruhen auf dem Prinzip der Agglutinations-Technik. Normale menschliche Erythrozyten, die das entsprechende Antigen tragen, werden durch den korrespondierenden Antikörper agglutiniert.

TESTSEREN

Das aufgeführte Blutgruppentestserum enthält Antikörper des folgenden Klons:

Anti-P₁ monoclonal, mouse clone: 650

Das Testserum enthält als Konservierungsmittel <0.1% (w/v) Natriumazid. Außer dem aktiven Antikörperbestandteil beinhaltet das Testserum Natriumchlorid, hochmolekulare Verbindungen und Rinderalbumin, das durch die US Veterinary service Inspectoren überprüft und zertifiziert wurde.

WARNUNG

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

LAGERUNG

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

HINWEISE

1. Es sollten bei jeder Austestung positive und negative Kontrollen mitgeführt werden.
2. Unsachgemäße Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit des Produktes.
3. Die Reaktionsfähigkeit des Testserums wird durch leichte Trübung nicht beeinträchtigt. Bakterielle und chemische Kontamination des Testserums ist zu vermeiden. Wenn eine sichtbare Veränderung des Testserums festgestellt wird, sollte das Testserum nicht mehr eingesetzt werden, es kann auf eine bakterielle Kontamination hinweisen.
4. Die Stärke der positiven Reaktion ist vom Alter des verwendeten Blutes abhängig.
5. Zentrifugieren außerhalb des angegebenen Drehzahl-Bereichs kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
6. Die beschriebene Testmethode zur Anwendung gilt ausschließlich für die manuelle Methode. Werden Automaten oder halbautomatische Systeme verwendet, müssen die Laboratorien die Angaben der Gerätehersteller befolgen und Validierungen nach anerkannten Verfahren durchführen.
7. 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)“¹ in ihrer gültigen Fassung.

PROBENVORBEREITUNG

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

VORBEREITUNG DER TESTSEREN

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

VERFAHRENSWEISE

Nicht im Lieferumfang enthaltene, aber benötigte Materialien

Objektträgermethode

1. Objektträger
2. Pasteurpipette
3. Rührstäbchen
4. Kurzzeitwecker

Röhrchen - Zentrifugationsmethode

1. Teströhrchen (10 x 75 mm oder 12 x 75 mm)
2. Mikroliterpipette
3. Kurzzeitwecker
4. Zentrifuge
5. Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)

Testdurchführung

Objektträgertest

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

Röhrchen - Zentrifugationsmethode

1. 2-5 %ige Erythrozytensuspensionen in isotonische Kochsalzlösung vorbereiten. (Erythrozyten können vorab 1-3 Mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden.)
2. In jedes beschriftete Teströhrchen als erstes 100 µl des entsprechenden Testserums geben und anschließend in jedes Teströhrchen 100 µl der entsprechenden Erythrozytensuspension zugeben. Alternativ können ein Tropfen = ca. 50 µl Erythrozytensuspension zu einem Tropfen = ca. 50 µl Testserum gegeben werden.
3. Die Erythrozyten- / Testserummischung durch leichtes Schütteln mischen.
4. Teströhrchen 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
5. Teströhrchen 1 Minute bei 2.000 U/min (ca. 800-1.000 x g) zentrifugieren.
6. Zellen durch vorsichtiges Schütteln vom Röhrchenboden lösen und innerhalb 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination prüfen
7. Ergebnisse protokollieren.

INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

„Vorsichtiges Schwenken/Schütteln“ bei dem Objektträger-Schnelltest und bei der Röhrchen-Zentrifugationsmethode

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 TESTMETHODEN

1. Ungenauigkeiten bei der Einhaltung der Anweisungen in den Abschnitten „Testdurchführung“ und „Interpretation der Testergebnisse“ können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
2. Mitgeführte Kontrollen mit nicht eindeutigen oder falschen Ergebnissen führen automatisch zur nicht Verwertbarkeit aller Ergebnisse.
3. Enzymbehandelte Erythrozyten oder die Zugabe von Rinderalbumin und /oder anderen proteinhaltigen Lösungen können mit diesem Testserum zu unspezifischen Reaktionen führen.
4. Hämolytierte, trübe, kontaminierte oder geronnene Blutproben dürfen nicht im Test eingesetzt werden.
5. Aufgrund der unterschiedlichen Ausprägung der Antigene auf menschlichen Erythrozyten kann es bei bestimmten Phänotypen, mit dem oben aufgeführten Testserum, zu einer schwächeren Reaktion kommen als mit Kontrollerythrozyten.
6. Beim Objektträger Schnelltest können unspezifische Reaktionen können beim Eintrocknen des Reaktionsansatzes bzw. Erwärmen des Objektträgers auftreten.
7. Kein einzelnes Testserum oder eine einzelne Methode können garantieren alle seltenen oder schwache Antigene und alle Varianten der Antigene zu detektieren.²

LITERATUR

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

PRÄSENTATION

213071 Anti-P₁ monoclonal, mouse clone: 650 5 ml

730-13-2706 Version 006 / 15. Januar 2021



Antitoxin GmbH - Industriestraße 88 - 69245 Bammental

For Slide and Tube Test
FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

INTENDED USE

Monoclonal agglutinating Anti-P₁ reagent is produced from cell culture supernatants of hybridoma-cell line. The cells are secreting an antibody of IgM-type that reacts specific with the corresponding antigen. The reagent is used to in-vitro determine qualitative whether red blood cells possess or lack the corresponding blood group antigen. The reagent is intended to be used by qualified and technical personnel only.

PRINCIPLE OF PROCEDURE

The test methods used with this reagent are based on the principle of agglutination. Normal human erythrocytes, possessing the antigen, will agglutinate in the presence of the corresponding antibody.

REAGENTS

The listed reagent contains antibodies of the following cell clone:

Anti-P₁ monoclonal, mouse clone: 650

The reagent contains <0.1% (w/v) sodium azide as preservative. Beside the part active antibody, the reagent contains sodium chloride, macromolecules and bovine albumin, which has been tested and certified by the US Veterinary service inspectors.

WARNING

This reagent is prepared from supernatants of cell cultures. As biological product it should be looked upon as potentially infectious because of never complete exclusion of danger through excitants of disease. The reagent contains sodium azide, that may be toxic and may react with lead or copper to form highly explosive salts. On disposal, flush with large quantities of water.

For the reasons mentioned above the reagent should be handled with proper care.

STORAGE REQUIREMENT

Store opened and unopened products at 2 to 8°C.

May be at room temperature while in use.

In principle, store and use the reagent to declared expiry date only.

REMARKS

1. With each testing positive and negative controls should be performed.
2. Inappropriate storage impairs efficacy of the reagent.
3. Weak turbidity of the reagent does not affect its reactivity. Bacteria and chemical contamination of the product should be avoided. If a visible change is detected, the reagent should no longer be used, this sign may indicate a microbiological contamination.
4. Strength of positive reactions also depends on age of used blood.
5. Centrifugation highly different from appointed relative centrifugal force may lead to false results.
6. The test method identified below is 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.
7. For usage of this reagent 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)“²¹ in its actual form.

SAMPLE PREPARATION

1. Blood sample should be collected by approved medical procedure.
2. 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 included but necessary materials:

Slide Method

1. Glass slide
2. Pasteur pipette
3. Mixing stick
4. Timer

Tube Centrifugation Method

1. Test tubes, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm
2. Microliter pipette
3. Timer
4. Centrifuge
5. Isotonic saline (0,85 - 0,9% sodium chloride)

Test procedure

Slide Method

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

Tube Centrifugation Method

1. Prepare 2-5 % suspensions of red blood cells in Isotonic saline (red blood cells may be washed one time or up to three times with isotonic saline)
2. At first put 100 µl of appropriate reagent in each marked tube subsequently add 100 µl of appropriate cell suspension in each tube. Alternative one drop = 50 µl cell suspension can be added to one drop = 50 µl reagent.
3. Mix Erythrocytes-/Reagent-mixture well by slightly shaking.
4. Incubate tube at room temperature for 15 min.
5. Centrifugation of the tubes for 1 minute at 2.000 rpm (approximately 800-1.000 x g).
6. Gently shake the red cells from the bottom of the tube and check macroscopically for agglutination within 3 minutes
7. Document the results.

INTERPRETATION OF RESULTS

"Slightly rotating/shaking" at Slide Method and at Tube Centrifugation 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.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. Inaccuracy at compliance with instructions written under section "Procedures" and "Interpretation of results" may lead to incorrect results.
2. No valid conclusion concerning the test result can be reached, if controls with uncertain or false results occur.
3. Enzyme treated erythrocytes or addition of bovine albumin and/or other solutions containing protein may cause unspecific reactions.
4. Hemolyzed, turbid, contaminated or clotted blood samples must not be used in this test.
5. Due to variability of antigen expression on human red blood cells, reactivity of the reagent, mentioned above, against certain phenotypes may give weaker reactivity compared to control cells.
6. With the slide method unspecific reactions might appear due to drying of the reaction-formation or if the slide is heated.
7. No one specific antiserum or technique can be guaranteed to detect all rare, weak or variant antigens.²








LITERATURE

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

PRESENTATION

213071 Anti-P₁ monoclonal, mouse clone: 650 5 ml

730-13-2706 Version 006 / 15. January 2021

	In vitro diagnostics device
	Batch Code
	Use by
	Temperature limitation
	Consult instructions for use
	Catalogue Number
	Manufacturer



 Antitoxin GmbH - Industriestrasse 88 - 69245 Bammental

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

INDICACIONES DE USO

El suero monoclonal Anti-P₁ se obtiene de sobrenadante de cultivos de líneas de celulares heterohíbridos. Las células segregan un anticuerpo del tipo IgM que reacciona específicamente con el antígeno correspondiente. El reactivo se usa para la detección cualitativa in vitro las pruebas se usan para determinar si los hematíes poseen o carecen de los antígenos P₁ del correspondientes.

El reactivo debe ser usado 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, son aglutinados por el anticuerpo correspondiente.

COMPOSICIÓN

El reactivo contiene anticuerpos que provienen del siguiente clon celular:

Anti-P₁ monoclonal, mouse clone: 650

El reactivo contiene <0,1% (p/v) de azida sódica como conservante.

Además del anticuerpo activo, el reactivo contiene cloruro sódico, macromoléculas y albúmina bovina, probada y certificada por los inspectores del Servicio de Veterinaria de Estados Unidos.

AVISO

Este reactivo se obtiene de sobrenadante de cultivos celulares. Como producto biológico, debe contemplarse como potencialmente infeccioso, ya que nunca puede excluirse totalmente el peligro de causar enfermedades. El reactivo contiene 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, el reactivo debe usarse cuidadosamente.

CONSERVACIÓN

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

OBSERVACIONES

- Se deberían incluir controles positivos y negativos en cada prueba.
- La conservación inadecuada del reactivo 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.
- El procedimiento especificados a continuación es exclusivamente para pruebas manuales. En caso de usar instrumentación automática o semiautomática, 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 la utilización de este reactivo deberán contemplarse todas las guías, directrices y leyes nacionales; específicamente en Alemania la "Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blut-produkten (Hämotherapie)"¹ en la versión actual.

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

- Las muestras de sangre se deben recoger con arreglo a un procedimiento médico aprobado.
- Las muestras de sangre por analizar deben emplearse lo antes posible tras su recogida a fin de reducir el riesgo de resultados falsos positivos y falsos negativos debido a una conservación inadecuada o a la contaminación de los reactivos.

Si se retrasan los ensayos, las muestras se deberán almacenar a una temperatura de 2 a 8 °C.

La sangre en EDTA debería analizarse en un plazo de 7 días y las muestras tratadas con citrato de sodio, en los 14 días siguientes a la recogida.

Las bolsas de sangre o la sangre de donantes se pueden analizar hasta la fecha de caducidad.

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 método de centrifugación en tubo

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

Procedimiento

En porta

- Usar únicamente concentrado de hematíes
- Dispensar una gota (50 µL aprox.) del reactivo correspondiente en un porta de cristal.
- Usando una pipeta Pasteur, añadir una gota de concentrado de hematíes (50 µL aprox.) en el 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).

En método de centrifugación en tubo

- Preparar suspensiones del 2 -5 % de hematíes en solución salina (los hematíes se pueden lavar de 1 a 3 veces con solución salina).
- Primero agregue 100 ml del reactivo correspondiente a todos los tubos de ensayo etiquetado y luego agrague 100 µl de la suspensión de eritrocitos los tubo de ensayo.
Alternativamente, una gota = aproximadamente 50 µl de suspensión de eritrocitos se puede agregar a una gota = correspondiente en cada etiquetado tubo aproximadamente 50 µl de reactivo.
- La mezcla de eritrocitos / reactivo agitar suavemente para mezclar bien.
- Incubar el tubo a temperatura ambiente durante 15 minutos.
- Centrifugar el tubo durante 1 minuto a 2.000 rpm (800-1.000 x g).
- Resolver completamente las células de la parte inferior del tubo agitándolas suavemente y compruebe macroscópicamente la aglutinación en 3 minutos.
- Documentar los resultados.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados se observan rotando ligeramente el porta o agitando ligeramente el tubo de centrifugación.

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

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

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- La inexactitud en el seguimiento de las instrucciones descritas en las secciones "Procedimiento" e "Interpretación de los resultados" puede conducir a resultados incorrectos.
- No se puede obtener conclusiones válidas respecto de los resultados si los controles reportan resultados inciertos o falsos.
- 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.
- Debido a la variabilidad de la expresión antigénica, la reactividad de este reactivo frente a ciertos fenotipos puede ocasionar reacciones más débiles comparadas con las células control.
- Durante la prueba de portaobjetos, pueden ocurrir reacciones inespecíficas cuando la mezcla de reacción se seca o cuando el portaobjetos se calienta.
- 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

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, fourth edición, Montgomery Scientific Publications 1998
- Christian Mueller-Eckhardt, Volker Kiefel Transfusionsmedizin, 3. Auflage, Springer- Verlag 2004.

PRESENTACIÓN

213071 Anti-P₁ monoclonal, mouse clone: 650 5 mL

730-13-2706 Versión 006 / 15. Enero 2021

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



Antitoxin GmbH - Industriestrasse 88 - 69245 Bammental

Para Teste em Lâmina e Tubo
PARA USO EXCLUSIVO EM DIAGNÓSTICO "IN VITRO"

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O soro de teste Anti-P₁ é produzido a partir do sobrenadante de culturas celulares de linhas celulares híbridoma. As células segregam um anticorpo do tipo IgM que reage especificamente com o antígeno correspondente. O reagente é utilizado para determinar in vitro utilizado para determinar se os glóbulos vermelhos possuem ou não o correspondente antígeno P1 de grupo sanguíneo.

O reagente deve ser utilizado apenas por pessoal técnico qualificado. O reagente deve ser utilizado apenas por pessoal técnico qualificado.

PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

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 dirigida a esse antígeno.

REAGENTES

O reagente contém anticorpos do seguinte clone de células:

Anti-P₁ monoclonal, mouse clone: 650

O reagente contém azida de sódio a <0,1% (p/v) como conservante.

Para além das partes de anticorpo ativo, o reagente contém cloreto de sódio, macromoléculas e albumina bovina, que foi testada e certificada pelos inspetores do serviço de Medicina Veterinária dos EUA.

AVISO

Este reagente é preparado a partir do sobrenadante de culturas celulares. Como produto biológico deve ser considerado potencialmente infeccioso, dado que nunca existe uma eliminação completa do perigo através de estimulantes da doença. O reagente contém azida de sódio, que pode ser tóxico e reagir com chumbo ou cobre para formar sais altamente explosivos.

Quando for eliminado, lave com grandes quantidades de água. Pelas razões referidas anteriormente, o reagente deve ser manipulado com o devido cuidado.

REQUISITO DE ARMAZENAMENTO

Armazene o produto abertos e fechados a uma temperatura de 2 a 8 °C. Podem ficar à temperatura ambiente enquanto estiverem a ser utilizados. Armazene e utilize o reagente apenas dentro da data de validade indicada.

OBSERVAÇÕES

1. A cada teste, devem ser realizados controlos positivos e negativos.
2. Um armazenamento incorreto prejudica a eficácia do reagente.
3. Uma fraca turvação do reagente não afeta a sua reatividade. As bactérias e a contaminação química do produto devem ser evitadas. Se for detetada uma alteração visível, o reagente não deve ser utilizado. Este sinal pode indicar uma contaminação microbiológica.
4. A força das reações positivas depende também da idade do sangue utilizado.
5. Centrifugação muito diferente da força centrífuga designada pode conduzir a falsos resultados.
6. O método de teste identificado abaixo destina-se apenas a testes manuais. Se utilizar instrumentos automatizados ou semiautomatizados, siga os procedimentos descritos no manual do operador fornecido pelo fabricante do dispositivo. Os laboratórios devem seguir os procedimentos de validação.
7. Para a utilização deste reagente, devem ser observadas todas as leis, diretivas e diretrizes nacionais em vigor. Na Alemanha, especialmente as "Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blut-produkten Hämotherapie"¹ na versão atual.

PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

1. As amostras de sangue devem ser colhidas através de um procedimento médico aprovado.
2. As amostras de sangue para teste devem ser utilizadas o mais rapidamente possível após a colheita de sangue, para reduzir o risco de resultados falso positivos e falso-negativos devido a armazenamento indevido ou contaminação dos reagentes. Se ocorrer um atraso no teste, as amostras devem ser armazenadas a uma temperatura de 2 a 8 °C.

O sangue colhido em EDTA deve ser testado dentro de 7 dias, e as amostras tratadas com citrato de sódio, dentro de 14 dias após a colheita. Sangue de dador/ saco de sangue pode ser testado até à data de validade.

PREPARAÇÃO DO REAGENTE

Não é necessária preparação do reagente. Retire e utilize o reagente diretamente dos frascos.

PROCEDIMENTO

Material necessário é não fornecido.

Para o Método em lâmina

1. Lâminas
2. Pipeta Pasteur
3. Vareta para misturar
4. Cronometro

Para método de centrifugação em tubo

1. Tubos de teste, 10 x 75 mm ou 12 x 75 mm
2. Micropipetas
3. Cronometro
4. Centrífuga
5. Soro fisiológico isotónico (cloreto de sódio 0,85 - 0,9%)

Procedimento de teste

Método em lâmina

1. Utilize apenas sedimento de eritrócitos
2. Coloque uma gota (aproximadamente 50 µL) de reagente apropriado numa lâmina.
3. Com uma pipeta de Pasteur adicione uma gota de sedimento de eritrócitos (aproximadamente 50 µL) na lâmina.
4. Misture bem a mistura de eritrócitos / reagente de teste com um bastão de agitação e espalhe em um círculo de aproximadamente 2 cm de diâmetro.
5. Agitando a lâmina ligeiramente, observe a aglutinação dentro de 1 minuto (a reação começa dentro de segundos).

Para método de centrifugação em tubo

1. Prepare suspensões a 2-5 % de eritrócitos em Soro fisiológico isotónico. (células lavadas uma a três vezes com soro fisiológico isotónico).
2. Primeiro adicione 100 µl do reagente correspondente a todos os tubos de ensaio marcados e, em seguida, adicione 100 µl da suspensão de glóbulos vermelhos aos tubos de ensaio. Alternativamente, uma gota = aproximadamente 50 µl de suspensão de eritrócitos pode ser adicionada a uma gota correspondente = aproximadamente 50 µl de reagente em cada tubo marcado.
3. A mistura eritrócito / reagente agite suavemente para misturar bem.
4. Incube o tubo à temperatura ambiente durante 15 min.
5. Centrifugue o tubo durante 1 min a 2.000 rpm (aproximadamente 800-1.000g).
6. Resolva completamente as células no fundo do tubo agitando-as suavemente e verifique macroscopicamente se há aglutinação em 3 minutos.
7. Documente os resultados.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

"Agitação ligeira" no Método em lâmina e no Método de Centrifugação em Tubo

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

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

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

1. A imprecisão no cumprimento das instruções incluídas nas secções "Procedimentos" e "Interpretação dos resultados" pode conduzir a resultados incorretos.
2. Não é possível obter uma conclusão válida sobre o resultado do teste se ocorrerem controlos com resultados incertos ou falsos.
3. Os eritrócitos tratados com enzimas ou a adição de albumina bovina e/ou outras soluções contendo proteínas podem causar reações inespecíficas.
4. Não devem ser utilizadas amostras de sangue hemolisadas, turvas, contaminadas ou coaguladas neste teste.
5. Devido à variabilidade da expressão do antígeno nos eritrócitos humanos, a reatividade do reagente referida acima contra determinados fenótipos pode dar uma reatividade mais fraca comparativamente às células de controlo.
6. Durante o teste de lâmina, reações inespecíficas podem ocorrer quando a mistura de reação seca ou quando a lâmina é aquecida.
7. Não é possível garantir que um antissoro ou técnica específica detete todos os antígenos raros, fracos ou variantes.²

LITERATURA

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

APRESENTAÇÃO

213071 Anti-P₁ monoclonal, mouse clone: 650 5 mL

730-13-2706 Versão 006 / 15. Janeiro 2021



Antitoxin GmbH - Industriestrasse 88 - 69245 Bammental