

Für den indirekten Coombs-Test
NUR ZUR IN-VITRO-DIAGNOSTIK

ZWECKBESTIMMUNG

Polyklonales Coombs-reactives Anti-K Testserum wird aus humanen Plasmen hergestellt, die Antikörper vom IgG-Typus enthalten, die spezifisch gegen das korrespondierende Blutgruppenantigen gerichtet sind. Das Testserum wird zum qualitativen In-Vitro Nachweis des Vorhandenseins oder Fehlens des Blutgruppenantigens K auf menschlichen Erythrozyten verwendet.

Die Anwendung dieses Testserums ist nur für qualifiziertes und geschultes Fachpersonal vorgesehen.

PRINZIP DES VERFAHRENS

Die bei Verwendung dieses Testserums angewendete Testmethode beruht auf dem Prinzip der Agglutinationstechnik. Normale menschliche Erythrozyten, die das entsprechende Antigene tragen, werden durch den korrespondierenden Antikörper erkannt, beladen und anschließend durch einen Zweit-Antikörper, der humane IgG-Moleküle erkennt, agglutiniert.

TESTSEREN

Das aufgeführte Blutgruppentestserum wird in folgender Form angeboten:

Anti-K (KEL1) Coombs-reactive, polyclonal, human

Das Testserum enthält als Konservierungsmittel <0,1 % (w/v) Natriumazid. Außer dem aktiven Antikörperbestandteil und menschlichem Serum beinhaltet das Testserum Natriumchlorid, hochmolekulare Verbindungen und Rinderalbumin, das durch die US Veterinary service Inspektoren überprüft und zertifiziert wurde.

WARNUNG

Dieses Testserum wird aus humanen Plasmen hergestellt. Unabhängig davon, dass die Ausgangsmaterialien negativ auf HBsAg sowie HIV 1/2- und HCV-Antikörper geprüft wurden, 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

- Es sollten bei jeder Austestung positive und negative Kontrollen mitgeführt werden.
- Unschonbare Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit des Produktes.
- Die Reaktionsfähigkeit des Testserums wird durch leichte Trübung nicht beeinträchtigt. Bakterielle und chemische Kontamination des Testserums sind zu vermeiden. Wenn eine sichtbare Veränderung des Testserums festgestellt wird, sollte das Testserum nicht mehr eingesetzt werden, es kann auf eine bakterielle 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.
- 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.
- Bei der Anwendung der 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.

PROBENVORBEREITUNG

- Blutproben sollten mit einer der üblichen Entnahmetechnik gewonnen werden.
- 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 der Testseren ist nicht erforderlich. Das Testserum wird direkt aus dem Fläschchen entnommen und eingesetzt.

VERFAHRENSWEISE

Nicht im Lieferumfang enthaltene, aber benötigte Materialien

- Röhrchen - Zentrifugationsmethode
- Teströhrchen (10 x 75 mm oder 12 x 75 mm)
 - Mikroliterpipette
 - Kurzzeitwecker
 - Brutschrank
 - Zentrifuge
 - isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)
 - Anti-Human-Globulin-Serum (Coombs-Serum / AHG-Serum)

Testdurchführung

Röhrchen - Zentrifugationsmethode

- 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 Testserum 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 30 Minuten bei +37 °C im Brutschrank inkubieren.
- Die Erythrozyten dreimal mit (kalter) isotonischer Kochsalzlösung waschen.
- Zu dem Teströhrchen 100 µL Anti-Human-Globulin-Serum (Coombs-Serum / AHG-Serum) geben, durch leichtes Schütteln den Zellknopf vom Röhrchenboden lösen und mit dem Coombs-Serum / AHG-Serum mischen.
- Teströhrchen 1 Minute bei 1.000 U/min (ca. 180-270 x g) zentrifugieren.
- Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig vom Röhrchenboden lösen und Innerhalb 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
- Ergebnis protokollieren.

INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

"Vorsichtiges Schütteln" 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

- 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 anderen proteinhaltigen Lösungen können zu unspezifischen Reaktionen führen.
- Hämolytierte, trübe, kontaminierte oder geronnene Blutproben dürfen nicht im Test eingesetzt werden.
- 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.
- Kein einzelnes Testserum oder eine einzelne Methode kann garantieren alle seltenen oder schwache Antigene und alle Varianten der Antigene zu detektieren.²
- Erythrozyten, die mit Alloantikörpern oder Autoantikörpern derselben oder einer ähnlichen Spezifität wie das für den Test eingesetzte Testserum sensibilisiert sind (z.B. Erythrozyten positiv im direkten Antiglobulintest), sind für diese Austestung ungeeignet.
- Bei Erythrozyten mit positivem direktem Coombs-Test kann es zu falsch positiven Ergebnissen kommen.
- Es ist in der Literatur beschrieben, dass es mit Proben von Patienten, die mit anti-CD38 monoklonalen Antikörpern behandelt werden, zu falsch positiven Ergebnissen im Coombs-Test kommen kann.⁵

LEITUNGSDATEN

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

Produkt	Positive	Negative	Sensitivität	Spezifität
Anti-K (KEL1) Coombs-reactive, polyclonal, human	73	516	100%	100%

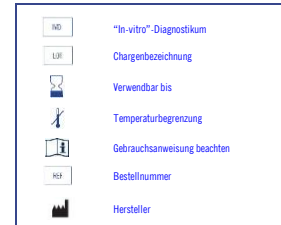
LITERATUR

- Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)
- CLSI, I/LA33-A Validatin of Automaten 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, 4. edition, Montgomery Scientific Publications 1998
- Christian Mueller-Eckhardt, Volker Kiefel Transfusionsmedizin, 3. Auflage, Springer-Verlag 2004.
- Blood Transfusion Management for Patients Treated with Anti-CD38 monoclonal Antibodies. Frontiers in Immunology November 2018 / Artikel 2616

PRÄSENTATION

213178 Anti-K (KEL1) Coombs-reactive, polyclonal, human 5ml

730-13-3612 Version 012 / 01.07.2021



CE 0483

ANTITOXIN GmbH Industriestraße 88 69245 Bannmental Deutschland

qara@antitoxin-gmbh.de

For indirect Coombs-test
FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

INTENDED USE

Polyclonal Coombs-reactive Anti-K (KEL1) reagent is produced from human plasma that contains antibodies of IgG-type which reacts specific with the corresponding blood group antigen. The reagent is used for In-Vitro-Diagnostic, to determine qualitative whether human red blood cells possess or lack the corresponding blood group antigen K.

The reagent is intended to be used by qualified and technical personnel only.

PRINCIPLE OF PROCEDURE

The test method used with this reagent is based on the principle of agglutination. Normal human erythrocytes, possessing the appropriate antigen, will be recognized and coated by the corresponding specific antibody and then the cells will be agglutinated by a secondary antibody that reacts with human IgG-molecules.

REAGENTS

The reagent is available in following formulation:

Anti-K (KEL1) Coombs-reactive, polyclonal, human

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

WARNING

The reagent is prepared from human plasma. The raw materials for this reagent has been tested for HBsAg, HIV 1/2- and HCV-antibodies and found to be negative. Nevertheless 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 outside the specified speed range 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)“¹ in its current version.

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:

Tube Centrifugation Method:

1. tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm)
2. microliter pipette
3. timer
4. incubator
5. centrifuge
6. isotonic saline (0,85 - 0,9% sodium chloride)
7. Anti-Human-Globulin-Reagent (Coombs-Serum / AHG- Serum)

Test procedure

Tube Centrifugation Method

1. 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).
2. 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.
3. Mix Erythrocytes-/Reagent mixture well by slightly shaking.
4. Incubate tube at +37 °C for 30 min.
5. Wash red cells 3 times with (cold) isotonic saline.
6. Add 100 µL Anti-Human-Globulin-Reagent (Coombs-Serum / AHG-Serum) to the tube, release the cells from the bottom of the tube by slightly shaking and mix with the Coombs-Serum / AHG-Serum.
7. Centrifugation of tube for 1 min at 1.000 rpm (approximately 180-270 x g).
8. Gently shake the red cells from the bottom of the tube and check macroscopically for agglutination within 3 minutes.
9. Document the result.

INTERPRETATION OF RESULTS

"Slightly shaking" 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 reagents, mentioned above, against certain phenotypes may give weaker reactivity compared to control cells.
6. No one specific antiserum or technique can be guaranteed to detect all rare, weak or variant antigens.²
7. Red blood cells coated with alloantibodies or autoantibodies of the same or similar specificity as that reagent used for the test (i.e. cells that are positive in the direct antiglobulin-test (DAT)) are unsuitable.
8. Red blood cells with a positive direct Coombs-test may cause false-positive reactions.
9. As described in the literature, samples from patients treated with anti-CD38 monoclonal antibodies can cause false positive results in the Coombs test.⁵

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 reference methods / products.

Product	Positive	Negative	Sensitivity	Specificity
Anti-K (KEL1) Coombs-reactive, polyclonal, human	73	516	0	0

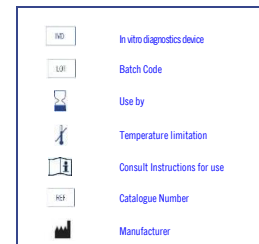
LITERATURE

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.
5. Blood Transfusion Management for Patients Treated with Anti-CD38 monoclonal Antibodies. Frontiers in Immunology November 2018 / Artikel 2616

PRESENTATION

213178 Anti-K (KEL1) Coombs-reactive, polyclonal, human 5ml

730-13-3612 Version 012 / 01.07.2021



CE 0483

ANTITOXIN GmbH Industriestraße 88 69245 Bammental Germany

qara@antitoxin-gmbh.de

Para prueba de Coombs indirecto
PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO

INDICACIONES DE USO

El reactivo Polyclonal Coombs-reactive Anti-K se obtienen de plasma humano que contiene anticuerpos de tipo IgG que reacciona específicamente con el antígeno correspondiente. El reactivo se usa para la detección cualitativa in vitro para determinar si los hematíes poseen o carecen del antígeno de grupo sanguíneo correspondiente K.

La utilización de estos suero de ensayo se ha concebido únicamente para personal cualificado formado e instruido.

FUNDAMENTO

El método usado con este reactivo se basa en el principio de aglutinación. Los eritrocitos humanos normales, con el antígeno correspondiente, aglutinan en presencia de un anticuerpo específico dirigido hacia el antígeno. Posteriormente, las células aglutinan en presencia de un anticuerpo secundario que reacciona con las moléculas humanas de IgG.

COMPOSICIÓN

El reactivo está disponible compuesto por:

Anti-K (KEL1) Coombs-reactive, polyclonal, human

El reactivo contiene <0,1% (p/v) de azida sódica como conservante. Además del anticuerpo activo y del suero humano, 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 plasma humano. La materia prima de este reactivo se ha analizado para detectar anticuerpos de HBSAg, VIH 1/2 y VHC, y el resultado ha sido negativo. Este 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 Blutprodukten (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 método de centrifugación en tubo

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

Procedimiento

En método de centrifugación en tubo

- Preparar una suspensión del 2 - 5 % de hematíes en solución salina (los hematíes se pueden lavar de 1 a 3 veces con solución salina).
- Añadir 100 µL del reactivo correspondiente en un tubo de ensayo etiquetado y luego agregue 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
- La mezcla de eritrocitos / reactivo agitar suavemente para mezclar bien.
- Incubar el tubo a 37°C durante 30 minutos en el incubador.
- Lavar los hematíes 3 veces con solución salina (fría)
- Añadir 100 µL de suero globulina antihumana (suero Coombs) al tubo de ensayo, agitar suavemente para quitar el botón de celda del fondo del tubo y mezclar con el suero de suero Coombs / AHG.
- Centrifugar el tubo durante 1 minuto a 1.000 rpm (aproximadamente 180 - 270 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 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.
- 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
- Los hematíes sensibilizados con aloanticuerpos o autoanticuerpos de la misma o similar especificidad que el reactivo (es decir, células que son positivas en la prueba de antiglobulina directa [DAT]) no son adecuados para esta prueba.
- Los eritrocitos que están muy cargados de anticuerpos (es decir, las células que dan positivo en la prueba de antiglobulina directa (DAT)) pueden dar lugar a resultados falsos positivos. Estas células reaccionan positivamente, incluso sin un suero de prueba.
- En la bibliografía se describe que las muestras de los pacientes tratados con anticuerpos monoclonales anti-CD38 pueden arrojar falsos positivos en la prueba de Coombs.⁵

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. Se utilizó material de muestra diferente (donante, paciente, recién nacido, sangre de panel) y se comparó con otros métodos / productos de referencia.

Anticuerpo	Positivo	Negativo	Sensibilidad	Especificidad
Anti-K (KEL1) Coombs-reactive, polyclonal, human	73	516	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, fourth edición, Montgomery Scientific Publications 1998
- Christian Mueller-Eckhardt, Volker Kiefel Transfusionsmedizin, 3. Auflage, Springer-Verlag 2004.
- Christian Mueller-Eckhardt, Volker Kiefel Transfusionsmanagement for Patients Treated with Anti-CD38 monoclonal Antibodies. Frontiers in Immunology. Noviembre de 2018/ Artikel 2616

PRESENTACIÓN

213178 Anti-K (KEL1) Coombs-reactive, polyclonal, human 5ml

730-13-3612 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
	Fabricante

CE 0483

ANTTITOXIN GmbH Industriestraße 88 69245 Bammmental Alemania

qara@antitoxin-gmbh.de

Para teste de Coombs indirecto
PARA USO EXCLUSIVO EM DIAGNÓSTICO "IN VITRO"

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O reagente policlonal Anti-K reativo ao Coombs é produzido a partir de plasma humano com anticorpo do tipo IgG, que reage especificamente com o antígeno correspondente. O reagente é utilizado para determinar in vitro, qualitativamente, se os eritrócitos possuem ou não o antígeno K do grupo sanguíneo correspondente. A utilização deste de reagentes apenas está prevista para pessoal com a formação e as qualificações adequadas.

PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

O método de teste utilizado com este reagente baseia-se no princípio da aglutinação. Os eritrócitos humanos normais, possuindo o antígeno, serão reconhecidos e revestidos pelo anticorpo específico correspondente e, em seguida, as células serão aglutinadas por um anticorpo secundário que reage com as moléculas de IgG humanas.

REAGENTES

O reagente indicado na lista está disponível com a seguinte formulação:

Anti-K (KEL1) Coombs-reactive, polyclonal, human

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

Para além das partes de anticorpo ativo e soro humano, 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

O reagente é preparado a partir de plasma humano. A matéria-prima deste reagente foi testada para AgHBs, VIH 1/2- e anticorpos anti-VHC, apresentando resultados negativos. No entanto, 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, diretas e diretrizes nacionais em vigor. Na Alemanha, especialmente as "Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blut-produkten Hämotherapie)" 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 método de centrifugação em tubo

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

Procedimento de teste

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. Adicione 100 µL do reagente apropriado em um tubo de teste rotulado e, em seguida, adicione 100 µL da suspensão de eritrócitos correspondente ao tubo. Alternativamente, uma gota = aproximadamente 50 µL de suspensão de eritrócitos pode ser adicionada a uma gota = aproximadamente 50 µL de soro de teste.
3. A mistura de eritrócitos / reagente agite suavemente para misturar bem.
4. Incube o tubo a 37 °C durante 30 minutos numa incubadora.
5. Lave os glóbulos vermelhos 3 vezes com soro fisiológico isotónico (frio).
6. Em seguida, adicione 100 µL de soro de globulina anti-humana (soro de Coombs) a cada tubo, agite suavemente para remover o botão de célula do fundo do tubo e misture com o soro de Combs / AHG.
7. Centrifugue o tubo durante 1 min a 1.000 rpm (aproximadamente 180-270 x g).
8. Resolva completamente as células no fundo do tubo agitando-as suavemente e verifique macroscopicamente se há aglutinação em 3 minutos.
9. Documente os resultados.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

"Aglitação ligeira" 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. Não é possível garantir que um antissoro ou técnica específica detete todos os antígenos raros, fracos ou variantes.²
7. Os eritrócitos revestidos com aloanticorpos ou autoanticorpos com a mesma ou similar especificidade do reagente utilizado para o teste [isto é, células positivas no teste direto de antiglobulina (DAT)] não são adequados para este procedimento de teste.
8. Os eritrócitos que estão fortemente carregados com anticorpos (eritrócitos positiva no teste da antiglobulina directa) podem levar a resultados falso-positivos.
Essas células reagem positivamente mesmo sem um soro de teste!
9. Está descrito na literatura que amostras de pacientes tratados com anticorpos monoclonais anti-CD38 podem causar resultados falso-positivos no teste de Coombs.⁵

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 métodos de referência / produtos.

Producto	Positivo	Negativo	Sensibilidade	Especificidade
Anti-K (KEL1) Coombs-reactive, polyclonal, human	73	516	100%	100%

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.
5. Blood Transfusion Management for Patients Treated with Anti-CD38 monoclonal Antibodies.
Frontiers in Immunology November 2018 / Artikel 2616

APRESENTAÇÃO

213178 Anti-K (KEL1) Coombs-reactive, polyclonal, human 5ml

730-13-3612 Versão 012 / 01.07.2021

NO	Dispositivo médico para diagnóstico "in vitro"
LPI	Nº de Lote
	Data de validade
	Limites de temperatura
	Consultar as Instruções de Utilização
RE	Número de catálogo
	Fabricante

CE 0483

ANTITOXIN GmbH Industriestraße 88 69245 Bammental Alemanha

qara@antitoxin-gmbh.de