sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | T: +49 30 700 144-0 | F: +49 30 700 144-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Anti-A, Anti-B, Anti-AB

Monoklonale Testreagenzien zur Blutgruppenbestimmung

INFORMATION ZUM GEBRAUCH DURCH FACHPERSONAL

CE 0483 IVD

de

Anwendungsgebiete
Die monoklonalen Testreagenzien Anti-A, Anti-B und Anti-AB sind In-vitro-Diagnostika und werden im Rahmen der Blutgruppenbestimmung eingesetzt. Sie dienen dem qualitativen Nachweis der Antigene des AB0-Blutgruppensystems durch Agglutination menschlicher Erythrozyten [ohne oder mit Antikoagulanzien (EDTA, Citrat oder PAGGS-M)] im manuellen Platten- und Röhrchentest durch Fachpersonal.

Testprinzip
Die AB0-Blutgruppen des Menschen werden durch das Vorhandensein oder Fehlen der Antigene A und/oder B auf den Erythrozyten definiert. Eine Besonderheit des AB0-Blutgruppensystems besteht in der Tatsache, dass Personen, deren Erythrozyten das Antigen A und/oder B nicht tragen, in der Regel Antikörper gegen das bzw. die fehlenden Antigene bilden. Die prinzipiellen Antigene und Antikörper des AB0-Systems sind in der nachfolgenden Tabelle dargestellt:

Blutgruppe	Antigene auf den Erythrozyten	Antikörper im Serum
0	weder A noch B	Anti-A und Anti-B
A	A	Anti-B
B	B	Anti-A
AB	A und B	keine

Durch die spezifischen monoklonalen IgM-Antikörper in den Testreagenzien werden Erythrozyten mit dem homologen Antigen bzw. den homologen Antigenen agglutiniert. Keine Agglutination beweist die Abwesenheit des homologen Antigens. Die AB0-Blutgruppenbestimmung ist nur vollständig, wenn sie auch durch die Bestimmung der Isoagglutinine im Serum bestätigt wurde (Richtlinie Hämotherapie, siehe auch „Interpretation der Ergebnisse“). Diskrepanzen zwischen der Bestimmung der Erythrozytenantigene und der Bestimmung der Alloagglutinine müssen unbedingt geklärt werden.

Zusammensetzung
Die Testreagenzien werden aus dem Kulturüberstand von Hybridom-Zelllinien hergestellt. Die Hybridomzelllinien entstanden durch Fusion von Milzzellen immunisierter Mäuse mit Mausmyelomzellen. Die Antikörper gehören zum IgM-Isotyp. Die monoklonalen Testreagenzien enthalten Antikörper der folgenden Hybridomzelllinien: Testreagenz Anti-A: Klon sifin A-11H5, Testreagenz Anti-B: Klon sifin B-6F9, Testreagenz Anti-AB: Klon sifin A-5E10 und Klon sifin B-2D7. Die Testreagenzien Anti-A und Anti-B sind gefärbt, um durch die blaue bzw. gelbe Färbung des Testreagenzes Verwechslungen zu vermeiden und die Kontrolle im Reaktionsansatz zu ermöglichen. Konservierungsmittel: Natriumazid (≤0,99 mg/ml)

Haltbarkeit und Lagerungsbedingungen
Die Testreagenzien sind bei Lagerung bei 2...8 °C bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Datum verwendbar. Nach dem erstmaligen Öffnen sind die Testreagenzien gut verschlossen bei 2...8 °C zu lagern. Während der Testdurchführung kann das Reagenz 2-3 h bei 18...26 °C gelagert werden. Bakterielle Kontamination ist zu vermeiden. Deutlich getrübtes Testreagenz ist vom Gebrauch auszuschließen.

Untersuchungsmaterial
Für den Test kann antikoaguliertes Vollblut oder eine 3-5% ige Erythrozytensuspension[2a,b] aus Erythrozytensediment verwendet werden. Das Blut sollte aseptisch mit oder ohne Antikoagulans (EDTA, Citrat oder PAGGS-M) entnommen werden. Die Probe sollte so schnell wie möglich getestet und bei Verzug bei 2...8 °C gelagert werden. Bakterielle Kontamination der Probe kann falsche Resultate verursachen. Mit EDTA antikoagulierte Blutproben sowie geronnenes Blut kann bis 14 Tage nach Entnahme, Spenderblut bis zum Verwendbarkeitsdatum der Konserve untersucht werden. Allerdings kann die Aufbewahrung schwächere Reaktionen als normalerweise bedingen (siehe unter „Fehlerquellen und Beschränkungen“).

Zusätzlich benötigte Reagenzien und Materialien
Teströhrchen (75 × 12 mm oder 70 × 8 mm), Platten, Pipetten (Tropfenvolumen 40-50 µl), Objektträger, Rührstäbchen, physiologische Natriumchloridlösung (154 mmol/l), Laborzentrifuge, Kurzzeitwecker.

Methodik

1. Plattentest bzw. Objektträgertest

1.1. Auf einer korrekt beschrifteten Platte wird je 1 Tropfen (40-50 µl) Testreagenz Anti-A, Anti-B und Anti-AB vorgelegt. Anstelle der Platte können korrekt beschriftete Objektträger (Lauertechnik) benutzt werden.
1.2. Zu jedem Tropfen Testreagenz wird 1 Tropfen (40-50 µl) einer 5 %igen Erythrozytensuspension[2b] der zu untersuchenden Blutprobe in physiologischer Natriumchloridlösung gegeben und mit einem sauberen Glas- oder Plastikstab sorgfältig gemischt.
1.3. Nach 5, maximal nach 20 min Inkubation bei 18...26 °C wird unter Rotieren oder Kippen der Platte bzw. des Objektträgers auf Agglutination geprüft. Bei Verwendung von antikoaguliertem Vollblut ist die Reaktionszeit auf maximal 5 min zu beschränken, um falsch positive Resultate durch Eintrocknungseffekte zu vermeiden.
1.4. Das Ergebnis wird abgelesen und protokolliert. Die Ablesung muss unmittelbar nach Abschluss des Tests erfolgen, da das Reaktionsprodukt nicht stabil ist.

2. Röhrchentest

2.1. Die Erythrozyten (gewaschen oder ungewaschen) der zu untersuchenden Blutprobe werden 3-5 %ig in physiologischer Natriumchloridlösung suspendiert. [2a,b]
2.2. In 3 korrekt beschrifteten, geeigneten Röhrchen (z. B. 70 × 8 mm) wird je 1 Tropfen (40-50 µl) Testreagenz Anti-A, Anti-B und Anti-AB vorgelegt.
2.3. Zu jedem Röhrchen wird 1 Tropfen (40-50 µl) Erythrozytensuspension zugegeben und durch Schütteln gut gemischt.
2.4. Die Mischung wird sofort bei 180 bis 270 × *g* 1 bis 2 min zentrifugiert.
2.5. Der Überstand wird auf Abwesenheit von Hämolyse kontrolliert. Hämolyse kann durch bakterielle Kontamination verursacht werden.
2.6. Das Sediment wird durch vorsichtiges Schütteln vom Boden des Röhrchens gelöst und auf Agglutination geprüft.
2.7. Das Ergebnis wird abgelesen und protokolliert. Die Ablesung muss unmittelbar nach Abschluss des Tests erfolgen, da das Reaktionsprodukt nicht stabil ist.

Interpretation der Ergebnisse
Die Ergebnisse der Antigenbestimmung auf den Erythrozyten und der Bestimmung der Alloantikörper einer Blutprobe müssen übereinstimmen. Die nachfolgende Tabelle enthält die Reaktionsbilder der häufigsten AB0-Phänotypen und ihre Häufigkeit:

Antigenbestimmung mit			Antikörperbestimmung mit Testerythrozyten				AB0-Blutgruppe	Häufigkeit %
Anti-A	Anti-B	Anti-AB	A_1	A_2	B	0		
+	-	+	-	-	+	-	A	40
-	+	+	+	+	-	-	B	11
-	-	-	+	+	+	-	0	45
+	+	+	-	-	-	-	AB	4

Vorsichtsmaßnahmen und Warnungen
- Durch die biotechnologische Herstellung der Testreagenzien ist das Risiko einer Kontamination durch infektiöse Krankheitserreger nahezu ausgeschlossen. Wegen des Gehalts an Materialien tierischen Ursprungs (fetales Kälberserum, Stabilisator) sollten die Testreagenzien als potentiell infektiös gehandhabt werden.
- Wegen des Gehalts an Natriumazid Kontakt der Haut oder Schleimhäute mit den Blutgruppentestreagenzien vermeiden.
- Materialien von abgearbeiteten Tests müssen entsprechend der jeweiligen nationalen Richtlinien entsorgt werden, z.B. in Deutschland als Abfall der AVV Gruppe 18 01 (AS 18 01 03) gemäß der „Richtlinie über die ordnungsgemäße Entsorgung von Abfällen aus Einrichtungen des Gesundheitswesens“ (LAGA-Richtlinie, aktuelle Version).

Leistungsmerkmale und Grenzen des Verfahrens
Die Leistungsbewertung entsprechend der Durchführungsverordnung (EU) 2022/1107 der Kommission zur Festlegung gemeinsamer Spezifikationen (GS) ergab die folgenden berechneten diagnostischen Werte:

Reagenz	positiv	falsch-negativ	Sensitivität	negativ	falsch-positiv	Spezifität
Anti-A	12.359	0	100 %	13.326	0	100 %
Anti-B	5.535	0	100 %	20.150	0	100 %
Anti-AB	1.215	0	100 %	462	0	100 %

- Die monoklonalen Testreagenzien erfassen schwach ausgeprägte Antigene mit normaler oder abgeschwächter Agglutinationsstärke (A_{3}, B^{weak}) oder abgeschwächter bis negativer Reaktion (A_3). Der Nachweis schwach ausgeprägter Antigene sollte wegen der größeren Empfindlichkeit im Röhrchentest erfolgen, ggf. nach Inkubation für 30 min.
- Monoklonales Testreagenz Anti-B reagiert richtig negativ bei erworbener B-Eigenschaft.
- Monoklonales Testreagenz Anti-A erkennt Tn. Tn-positive Probanden sind vom Blutspenden auszuschließen, da das Auftreten von Tn als Zeichen eines präleukämischen Zustandes angesehen wird und die Erythrozyten poly-agglutinabel sind.
- Titerbestimmungen: Zur Verdünnung der monoklonalen Testreagenzien für Titerbestimmungen sollte physiologische Natriumchloridlösung mit einem Zusatz von ca. 2 % Protein (AB-Serum oder Rinderserumalbumin) benutzt werden, um die Resuspendierung der Reaktionsprodukte von der Platte bzw. dem Röhrchenboden zu erleichtern.

Fehlerquellen und Beschränkungen
- **Interne Qualitätskontrolle:** Bei jedem Versuch sind positive und negative Kontrollerythrozyten mitzuführen.
- Bei Erythrozytenkonzentrationen unter 3 % können im Platten- und Objektträgertest abgeschwächte Reaktionen auftreten.
- Die Interpretation der Ergebnisse von Neugeborenen kann dadurch kompliziert werden, dass Neugeborenenserum nicht immer Antikörper gegen die nicht vorhandenen Antigene enthält. Bei der Untersuchung von Nabelschnurblut können passiv von der Mutter übertragene Anti-A- und/oder Anti-B-Antikörper die Reaktion beeinflussen. Nabelschnurblute können auch schwächer als normale Blute reagieren, da die ABH-Antigene bei Geburt nicht völlig ausgebildet sind.
- Gealterte Blute können schwächere Reaktionen als frische Blute ergeben.
- Titerbestimmungen: Zur Verdünnung der monoklonalen Testreagenzien für Titerbestimmungen sollte physiologische Natriumchloridlösung mit einem Zusatz von ca. 2 % Protein (z.B. Rinderserumalbumin) benutzt werden, um die Resuspendierung der Reaktionsprodukte von der Platte bzw. dem Röhrchenboden zu erleichtern.
- Blutproben können im Plattentest mit Blut gelegentlich mit Geldrollenbildung reagieren, die einer schwachen Agglutination gleicht und als falsch positiv bewertet werden kann. Das Phänomen hat nicht-immunologische Ursachen. Mit Geldrollenbildung muss bei Heparinbluten, Patienten, die mit Heparin oder Plasmaexpandern (z. B. Dextran oder Hydroxyethylstärke) behandelt wurden, sowie bei Patienten mit Plasmozytomen (hoher Proteingehalt, veränderte Proteinzusammensetzung), onkologischen Erkrankungen (pathologisches Blutbild) und Gerinnungsstörungen gerechnet werden. Bei diesen Patienten sollte unbedingt der Röhrchentest benutzt werden, da bei Anwendung von Suspensionen das Phänomen in der Regel nicht nachweisbar ist.
- Monoklonales Testreagenz Anti-A erkennt Tn. Tn-positive Probanden sind vom Blutspenden auszuschließen, da das Auftreten von Tn als Zeichen eines präleukämischen Zustandes angesehen wird und die Erythrozyten poly-agglutinabel sind.
- Die angegebenen Konzentrationen der Erythrozytensuspensionen, die Reaktionszeiten und -bedingungen sind einzuhalten, um korrekte Resultate zu erhalten.
- Unsachgemäße Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit des jeweiligen Testreagenz.

Vigilanz
Alle im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetretenen schwerwiegenden Vorkommnisse sind der sifin diagnostics gmbh als Hersteller sowie der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und/oder Patient niedergelassen ist, zu melden. Auf Anfrage erhalten Sie den aktuellen Kurzbericht über Sicherheit und Leistung.

Literatur
(1) Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Richtlinie Hämotherapie), aktuelle Version. (2) Technical Manual, 17th ed. Bethesda, American Assoc. of Blood Banks, 2011 (a) method 1.5 b) method 1.6). (3) Messeter L et al: Mouse monoclonal antibodies with Anti-A, Anti-B and Anti-AB specificities, some superior to human polyclonal AB0 reagents. Vox Sang 1984; 46, 185-194

Packungsgröße

Spezifität	Anti-A	Anti-B	Anti-AB
1 x 10 ml	BG1101	BG1111	BG1131
10 x 10 ml	BG1101-01	BG1111-01	BG1131-01

Erklärung der benutzten Symbole

LOT Chargennummer (Chargenbezeichnung)
REF Bestellnummer
IVD In-vitro-Diagnostikum
AB0 Blutgruppenbestimmungsreagenz
ACT Aktivität/Mindesttiter
CLONE Klonbezeichnung
Verwendbar bis JJJJ-MM (MM = Monatsende)
Temperaturbegrenzung
www.sifin.de Gebrauchsanweisung beachten

Weitere Sprachen der Gebrauchsanweisung für Ihr Produkt finden Sie hier: www.sifin.de

Revision 2, Datum der Fassung: 08/07/2024

sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | T: +49 30 700 144-0 | F: +49 30 700 144-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Anti-A, Anti-B, Anti-AB

Monoclonal test reagents for blood-group determination

INFORMATION FOR PROFESSIONAL USE

CE 0483 IVD

en

Fields of application

The monoclonal test reagents Anti-A, Anti-B and Anti-AB are in vitro diagnostics and are used in the scope of blood grouping. They are employed by specialised personnel to qualitatively detect antigens of the ABO blood group system by agglutination of human erythrocytes [with or without anticoagulants (EDTA, citrate or PAGGS-M)] in manual plate and tube tests.

Principle of the test

The human ABO blood group system is defined by presence or absence of the antigens A and/or B on the erythrocytes. The special feature of the ABO blood group system in that persons lacking the A and/or B antigens from the red blood cells regularly have antibodies in the serum directed against the missing antigen or antigens. The following table shows the principal antigens and antibodies of the ABO system:

Blood group	Antigens present on the red blood cells	Antibodies present in the serum
0	neither A nor B	Anti-A and Anti-B
A	A	Anti-B
B	B	Anti-A
AB	A and B	none

The specific monoclonal antibodies of the test reagents agglutinate red blood cells possessing the homologous antigen or antigens. No agglutination indicates the absence of the relevant antigen. The ABO blood grouping is only complete when it is also confirmed by the determination of isoagglutinins in the serum (Haemotherapy Guideline, see also "Interpretation of the results"). The results of the identification of the antigens using the test reagents must be confirmed by testing the serum with red blood cells of a known ABO blood group (see „Interpretation of test results" below). Any difference in the results of the red blood cell antigen and the alloagglutinin test must be clarified.

Composition

The test reagents are manufactured from the cell culture supernatant of hybridoma cell lines. The hybridoma cell lines were obtained by fusion of spleen cells of immunized mice with mouse myeloma cells. The antibodies belong to the IgM isotype. The monoclonal test reagents contain antibodies of the following hybridoma cell lines: Test reagent Anti-A: clone sifin A-11H5, test reagent Anti-B: clone sifin B-6F9, test reagent Anti-AB: clone sifin A-5E10 and clone sifin B-2D7. The test reagents Anti-A and Anti-B are coloured to avoid confusion and to permit checking of the test mixture through the blue and yellow colours, respectively. Preservative: sodium azide (≤0.99 mg/ml).

Shelf life and storage

If stored at 2...8 °C, the test reagents can be used until the date indicated on the label. After opening, they should be stored well closed at 2...8 °C. While performing the test, the reagent can be stored for 2-3 h at 18...26 °C. Avoid bacterial contamination. Avoid bacterial contamination. Do not use if markedly turbid.

Test material

Anticoagulated whole blood or a 3-5% erythrocyte suspension2a,b) of erythrocyte sediment can be used for the test.
Blood should be drawn by an aseptically, with or without an anticoagulant (EDTA, Citrat or PAGGS-M). The specimen should be tested as soon as possible after collection. If testing is delayed, the specimen must be stored at 2...8 °C. Bacterial contamination of the specimen may cause false test results. Blood drawn into heparin should not be stored for longer than two days. Blood drawn into EDTA as well as clotted blood may be tested up to 14 days after collection, and donor blood may be tested up to the expiration date. Note, however, that storage may result in weaker than normal reactions (see „Error sources and limitations" below).

Other reagents and materials required

Test tubes (75 × 12 mm or 70 × 8 mm), plates, pipettes (drop volume 40-50 µl), slides, applicator sticks, physiological sodium chloride solution (154 mmol/l), laboratory centrifuge, timer.

Methods

1. Slide or plate test

1.1. Place 1 drop (40-50 µl) of test reagents Anti-A, Anti-B and Anti-AB, respectively, on a properly labelled plate. Instead of the plate, slides (Lauer technique) may be used.

1.2. To each drop of test reagent, add 1 drop (40-50 µl) of a 5% suspension of the red blood cells[2b)] to be tested (in physiological saline). Mix carefully with a clean glass or plastic applicator stick.

1.3. Read for agglutination after 5, at the most 20 min incubation at 18...26 °C by rotating or rocking the plate or slide slowly. Instead of the 5% suspension, a drop of blood may be used. Caution: If using anticoagulated whole blood, the reaction time should be limited to 5 minutes to avoid false positive results caused by drying.

1.4. Record test results. Test results must be interpreted immediately upon completion of the test as the reaction product is unstable.

2. Tube test

2.1. Prepare a 3-5% suspension of the red blood cells to be tested (washed or unwashed) in physiological sodium chloride solution.[2a,b)]

2.2. Place 1 drop (40-50 µl) of test reagents Anti-A, Anti-B and Anti-AB, respectively, in three small (e. g., 70 × 8 mm), properly labelled test tubes.

2.3. Add 1 drop (40-50 µl) of the red blood cell suspension to each tube and mix thoroughly by shaking.

2.4. Centrifuge immediately for 1 to 2 min at rcf 180 to 270 × *g*.

2.5. Examine the supernatant for the absence of haemolysis. Haemolysis may be the consequence of bacterial contamination.

2.6. Gently shake the tube to loosen the sediment from the bottom of the tube and examine for agglutination.

2.7. Record test results. Test results must be interpreted immediately upon completion of the test as the reaction product is unstable.

Interpretation of the test results

There must be agreement between the results of the antigen detection (cell grouping) and the detection of the alloantibodies (serum grouping) of a blood specimen. The following table shows the reaction patterns of the most common ABO phenotypes and their approximate frequencies:

Cell Grouping			Serum Grouping				ABO Group	Frequency %
Anti-A	Anti-B	Anti-AB	A_1 cells	A_2 cells	B cells	0 cells		
+	-	+	-	-	+	-	A	40
-	+	+	+	+	-	-	B	11
-	-	-	+	+	+	-	0	45
+	+	+	-	-	-	-	AB	4

Warnings and precautions

- The use of biotechnological production means that the risk of contamination of the test reagents with infectious agents is virtually excluded. Since the test reagents contain materials of animal origin (fetal calf serum, stabilizer) they should be treated as a potential health hazard and be handled accordingly.
- The test reagents contain sodium azide; avoid any contact with the skin or mucous membranes.
- Materials from processed tests must be disposed of in accordance with the appropriate national guidelines, e.g. in Germany as AVV group 18 01 (AS 18 01 03) waste (from the Guidelines on the Application of the Waste Catalogue Ordinance) in accordance with the "Guideline on the proper disposal of waste from health-care establishments" (LAGA guideline, current version).

Notes and limits of the procedure

The performance evaluation according to the Commission Implementing Regulation (EU) 2022/1107 laying down common specifications (CS) yielded the following calculated diagnostic values:

reagent	positive	false negative	sensitivity	negative	false positive	specificity
Anti-A	12359	0	100 %	13326	0	100 %
Anti-B	5535	0	100 %	20150	0	100 %
Anti-AB	1215	0	100 %	462	0	100 %

- The monoclonal test reagents agglutinate weakly expressed antigens with normal or weaker agglutination strength (A_x, B^{weak}) or weaker to negative reaction (A_x). To determine weakly expressed antigens the tube test should be used because of its higher sensitivity, if necessary with incubation for 30 minutes.
- Monoclonal test reagent Anti-B does not react with acquired B.
- Monoclonal test reagent Anti-A reacts with Tn. Tn positive persons must be excluded from donating blood as the occurrence of Tn is considered to be a symptom of a preleukaemic state and the red blood cells are polyagglutinable.
- Titre determinations: To prepare dilutions of the monoclonal test reagents, the use of physiological saline containing 2 % protein (AB serum, bovine serum albumin) is recommended to facilitate the resuspension of the reaction products from the plate or the bottom of the tube.

Error sources and limitations

- **Internal quality control:** For each test, positive and negative control red blood cells have to be tested in parallel.
- Concentrations of red blood cells that are lower than 3 % may cause weaker reactions on plates or slides.
- The interpretation of reactions obtained when testing infant bloods may be complicated by the fact that the infant's serum does not necessarily contain antibody for any antigen absent from the cells, and passive anti-A and/or anti-B antibodies from the mother's circulation may yield conflicting results when tests are performed on umbilical cord blood specimens. Umbilical cord blood specimens may also produce weaker than normal reactions in the cell grouping, as the ABH antigens are imperfectly developed at birth.
- Older blood specimens may show weaker reactions than fresh specimens.
- Titer determinations: Physiological sodium chloride solution with the addition of approximately 2% protein (e.g. bovine serum albumin) should be used to dilute the monoclonal test reagents to make it easier to resuspend the reaction products from the plate or the base of the test tube.
- On plates, blood samples may occasionally react by rouleaux formation, which can be mistaken for a weak agglutination and may incorrectly be read as a positive result. This phenomenon has non-immunological causes. Rouleaux formation also occurs in heparin blood, blood from patients treated with plasma expanders (e. g., dextran or hydroxyethyl starch) as well as patients with Heparin or plasmacytoma (high protein content, changes in protein composition), oncological disease (pathological blood count) or coagulation dysfunctions. For these patients, use the tube test, since this phenomenon is usually not detectable in suspensions.
- Monoclonal test reagent anti-A detects Tn. Tn-positive subjects should be excluded from donating blood, as Tn is considered to be a sign of a pre-leukaemic state and the erythrocytes are polyagglutinable.
- The concentrations of red blood cell suspensions and the reaction times and conditions specified above must be observed in order to obtain correct results.
- Unsachgemäße Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit des jeweiligen Testreagenz.

Vigilance

All serious incidents occurring in connection with the product must be reported to sifin diagnostics gmbh as manufacturer and the responsible authority of the member state in which the user and/or the patient is based. Incorrect storage impacts the efficacy of the respective test reagent.

Literature

(1) Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Richtlinie Hämotherapie), current version. (2) Technical Manual, 17th ed. Bethesda, American Assoc. of Blood Banks, 2011 (a) method 1.5 b) method 1.6). (3) Messeter L et al: Mouse monoclonal antibodies with Anti-A, Anti-B and Anti-AB specificities, some superior to human polyclonal ABO reagents. Vox Sang 1984; 46, 185-194

Package size

Specificity	Anti-A	Anti-B	Anti-AB
1 x 10 ml	BG1101	BG1111	BG1131
10 x 10 ml	BG1101-01	BG1111-01	BG1131-01

Explanation of the symbols used

LOT Batch code (Lot)

REF Catalogue number

IVD In Vitro Diagnostic Medical Device

ABO Blood grouping test reagent

ACT Activity/ Minimum titre

CLONE Clone designation

Use by YYYY-MM (MM = end of month)

Temperature limitation

www.sifin.de Consult instructions for use

Additional languages of the instruction for use of your product you will find here: www.sifin.de

Revision 2, Date of revision: 08/07/2024

sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | T: +49 30 700 144-0 | F: +49 30 700 144-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Anti-A, Anti-B, Anti-AB

Réactifs monoclonaux pour la détermination des groupes sanguins

INFORMATIONS À USAGE PROFESSIONNEL

CE 0483 IVD

fr

Domaines d'application

Les réactifs de test monoclonaux Anti-A, Anti-B et Anti-AB sont des produits de diagnostic in vitro utilisés dans le cadre de la détermination du groupe sanguin. Ils permettent d'identifier qualitativement l'antigène du système des groupes sanguins ABO par l'agglutination d'érythrocytes humains [avec ou sans anticoagulant (EDTA, citrate ou PAGGS-M)] lors d'un test manuel de plaques ou d'éprouvettes réalisé par du personnel spécialisé.

Principe du test

Le système de groupe sanguin ABO est défini par la présence ou l'absence des antigènes A et/ou B sur les hématies. La caractéristique spécifique du système de groupe sanguin ABO est que les personnes dont les globules rouges ne possèdent pas les antigènes A et/ou B ont habituellement des anticorps sériques dirigés contre l'antigène ou les antigènes manquant(s). Le tableau suivant montre les principaux antigènes et anticorps du système ABO:

Groupe sanguin	Antigènes présents sur les globules rouges	Anticorps présents dans le sérum
0	ni A ni B	Anti-A und Anti-B
A	A	Anti-B
B	B	Anti-A
AB	A et B	aucun

Les anticorps monoclonaux spécifiques utilisés comme réactifs dans le test agglutinent les globules rouges qui possèdent l'antigène ou les antigènes homologues. L'absence d'agglutination indique l'absence de l'antigène en question. La détermination du groupe ABO n'est complète que lorsqu'elle est confirmée par la détermination de l'isoagglutinine dans le sérum (directive relative à l'hémothérapie, voir également « Interprétation des résultats »). Les résultats de l'identification des antigènes à l'aide des réactifs du test doivent être confirmés en testant le sérum avec des globules rouges de groupe sanguin ABO connu (voir « Interprétation des résultats du test » ci-dessous). Toute différence entre les résultats du test de l'antigène des globules rouges et du test d'alloagglutinine doit être clarifiée.

Composition

Les réactifs du test sont fabriqués à partir de surnageant de cultures cellulaires de lignées d'hybridomes. Les lignées cellulaires d'hybridomes ont été obtenues par fusion de cellules de rate de souris immunisées et de cellules de myélome murin. Les anticorps sont d'isotype IgM. Les réactifs monoclonaux utilisés dans le test contiennent des anticorps des lignées cellulaires d'hybridomes suivantes: Réactif Anti-A: clone sifin A-11H5, réactif Anti-B: clone sifin B-6F9, réactif Anti-AB: clone sifin A-5E10 et clone sifin B-2D7. Les réactifs Anti-A et Anti-B sont colorés pour éviter toute confusion et permettre de vérifier le mélange du test par sa couleur bleue ou jaune, respectivement.
Conservateur: azoture de sodium (≤ 0,99 mg/ml)

Durée de conservation et stockage

S'ils sont conservés à 2...8 °C, les réactifs du test peuvent être utilisés jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette. Après ouverture, ils doivent être conservés bien fermés à 2...8 °C. Lors de la réalisation du test, le réactif peut être conservé à 18...26 °C pendant 2 à 3 heures. Éviter toute contamination bactérienne. Ne pas utiliser si la solution est nettement trouble.

Matériel pour le test

Pour le test, il est possible d'utiliser du sang total anticoagulé ou une suspension d'érythrocytes2a,b) à 3-5 % issue de sédiment d'érythrocytes. Le sang doit être prélevé de manière aseptique, avec ou sans anticoagulant (EDTA, Citrat ou PAGGS-M). L'échantillon doit être testé dès que possible après le prélèvement. Si le test est retardé, l'échantillon doit être conservé à 2...8 °C. Une contamination bactérienne de l'échantillon peut donner de faux résultats lors du test. Le sang prélevé dans un tube contenant de l'héparine ne doit pas être conservé plus de deux jours. Le sang prélevé dans un tube contenant de l'EDTA ainsi que le sang coagulé peuvent être testés jusqu'à 14 jours après le prélèvement, et le sang de donneur peut être testé jusqu'à la date d'expiration. Il est à noter cependant que la conservation peut donner des réactions plus faibles que la normale (voir « Sources d'erreur et restrictions » ci-dessous).

Réactifs et matériels supplémentaires nécessaires

Tubes à essai (75 × 12 mm ou 70 × 8 mm), plaques, pipettes (volume de goutte 40-50 µl), lames, bâtonnets applicateurs, solution physiologique de chlorure de sodium (154 mmol/l), centrifuge de laboratoire, minuterie.

Méthodes

1. Test sur lame ou sur plaque

1.1. Placer 1 goutte (40-50 µl) de réactif Anti-A, Anti-B et Anti-AB, respectivement, sur une plaque étiquetée de manière appropriée. Il est possible d'utiliser des lames au lieu de plaques (technique Lauer).
1.2. À chaque goutte de réactif, ajouter 1 goutte (40-50 µl) de suspension à 5 % de globules rouges[2b)] à tester (dans du sérum physiologique). Mélanger avec soin avec un bâtonnet applicateur propre en verre ou en plastique.
1.3. Lire le degré d'agglutination au bout de 5 minutes - 20 minutes au plus - d'incubation à 18...26 °C en faisant tourner ou basculer la plaque ou la lame lentement. Il est possible d'utiliser une goutte de sang au lieu de la suspension à 5 %. Mise en garde: En cas d'utilisation de sang total anticoagulé, il convient de limiter le temps de réaction à 5 min max. pour éviter les résultats faux positifs engendrés par des effets d'assèchement.
1.4. Enregistrer les résultats du test. Les résultats du test doivent être interprétés immédiatement après sa réalisation car le produit de la réaction est instable.

2.Test dans un tube

2.1. Préparer une suspension à 3-5 % de globules rouges à tester (lavés ou non) dans une solution physiologique de chlorure de sodium. [2a,b)]
2.2. Placer 1 goutte (40-50 µl) de réactif Anti-A, Anti-B et Anti-AB, respectivement, dans trois petits tubes à essai (par ex. 70 x 8 mm) étiquetés de manière appropriée.
2.3. À chaque tube, ajouter 1 goutte (40-50 µl) de la suspension de globules rouges et agiter pour bien mélanger.
2.4. Centrifuger immédiatement pendant 1 à 2 minutes à une FCR de 180 à 270 × *g*.
2.5. Examiner le surnageant pour vérifier l'absence d'hémolyse. L'hémolyse peut résulter d'une contamination bactérienne.
2.6. Agiter doucement le tube pour dégager le sédiment du fond du tube et examiner le degré d'agglutination.
2.7. Enregistrer les résultats du test. Les résultats du test doivent être interprétés immédiatement après sa réalisation car le produit de la réaction est instable.

Interprétation des résultats du test

Les résultats de détection d'antigène (groupage selon l'épreuve cellulaire) doivent correspondre aux résultats de détection d'alloanticorps (groupage selon l'épreuve sérique) de l'échantillon sanguin. Le tableau suivant montre les profils de réaction des phénotypes ABO les plus courants et leur fréquence approximative :

Groupage selon l'épreuve cellulaire			Groupage selon l'épreuve sérique				Groupe ABO	Fréquence %
Anti-A	Anti-B	Anti-AB	A_1	A_2	B	0		
+	-	+	-	-	+	-	A	40
-	+	+	+	+	-	-	B	11
-	-	-	+	+	+	-	0	45
+	+	+	-	-	-	-	AB	4

Mesures de précautions et mises en garde

- La production biotechnologique signifie que le risque de contamination des réactifs du test par des agents infectieux est pratiquement exclu. Puisque les réactifs contiennent des substances d'origine animale (sérum de veau foetal, stabilisateur), ils doivent être traités comme étant potentiellement dangereux pour la santé et donc manipulés en conséquence.
- Les réactifs utilisés pour le test contiennent de l'azoture de sodium; éviter tout contact avec la peau ou les muqueuses.
- Les matériaux issus des tests réalisés doivent être éliminés conformément aux directives nationales applicables, par ex. en Allemagne comme déchet du groupe AVV 18 01 (AS 18 01 03) selon la « directive relative à l'évacuation conforme des déchets provenant des établissements de soins de santé » (version en cours de validité de la directive LAGA).

Caractéristiques et limites du procédé

L'évaluation de la performance selon le règlement d'exécution (UE) 2022/1107 de la Commission établissant des spécifications communes (SC) a permis de calculer les valeurs diagnostiques suivantes :

reagent	positif	faux négatif	sensibilité	négatif	faux positif	spécificité
Anti-A	12.359	0	100 %	13.326	0	100 %
Anti-B	5.535	0	100 %	20.150	0	100 %
Anti-AB	1.215	0	100 %	462	0	100 %

- Les réactifs monoclonaux agglutinent les antigènes faiblement exprimés avec un degré d'agglutination normal ou plus faible (A_{x}, B^{faible}) ou une réaction plus faible, voire négative (A_x). Afin d'identifier les antigènes faiblement exprimés, le test en tube doit être utilisé en raison de sa plus grande sensibilité, avec une incubation de 30 minutes si nécessaire.
- Le réactif monoclonal Anti-B ne réagit pas avec un antigène B acquis.
- Le réactif monoclonal Anti-A réagit avec Tn. Les personnes positives pour Tn ne doivent pas donner de sang car la présence de Tn est considérée comme un symptôme d'état préleucémique et les globules rouges sont polyagglutinables.
- Détermination du titre: Pour préparer les dilutions de réactifs monoclonaux pour le test, l'utilisation de sérum physiologique contenant 2 % de protéines (sérum AB, albumine sérique bovine) est recommandée afin de faciliter la remise en suspension des produits de la réaction de la plaque ou du fond du tube.

Sources d'erreur et restrictions

- **Contrôle qualité interne :** Des globules rouges témoins positifs et négatifs doivent être testés en parallèle pour chaque test.
- Les concentrations de globules rouges inférieures à 3 % peuvent donner des réactions plus faibles sur plaques ou sur lames.
- L'interprétation des réactions obtenues lors des tests de sang de nouveau-nés peut être compliquée du fait que le sérum de nouveau-né ne contient pas nécessairement d'anticorps dirigés contre un antigène absent des cellules, et que des anticorps passifs anti-A et/ou anti-B provenant de la circulation maternelle peuvent donner des résultats contradictoires lorsque les tests sont réalisés sur des échantillons de sang du cordon ombilical. Les échantillons de sang du cordon ombilical peuvent aussi donner des réactions plus faibles que la normale pour le groupage selon l'épreuve cellulaire car les antigènes ABH sont imparfaitement développés à la naissance.
- Les échantillons sanguins plus anciens peuvent donner des réactions plus faibles que les échantillons frais.
- Titrations : Il convient d'utiliser une solution physiologique de chlorure de sodium à laquelle 2 % env. de protéines sont ajoutés (par ex. albumine de sérum bovin) pour diluer les réactifs de test monoclonaux pour la titration afin de faciliter la remise en suspension des produits de la réaction dans la plaque ou l'éprouvette.
- Sur plaques, les échantillons sanguins peuvent occasionnellement réagir par la formation de rouleaux, qui peuvent être confondus avec un faible degré d'agglutination et donc interprétés de manière erronée comme un résultat positif. Ce phénomène est d'origine non immunologique. La formation de rouleaux se produit également avec du sang hépariné, le sang de patients traités avec des extenseurs du volume d'héparine ou plasmatique (par ex. le dextran ou l'hydroxyéthylamidon) ainsi que le sang de patients présentant un plasmacytome (taux élevé de protéines, modification de la composition protéique), des mala dies oncologiques (numération sanguine pathologique) ou des troubles de la coagulation. Pour ces patients, il convient d'utiliser le test en tube car ce phénomène n'est habituellement pas détectable en suspension.
- Le réactif de test monoclonal anti-A reconnaît l'antigène Tn. Les personnes testées positives au Tn doivent être exclues des dons de sang, étant donné que l'apparition de l'antigène Tn est considéré comme un signe pré-leucémique et que les érythrocytes sont poly-aglutinables.
- Les concentrations de suspensions de globules rouges, les temps de réaction et les conditions spécifiées ci-dessus doivent être respectés afin d'obtenir des résultats exacts.
- Un entreposage non adapté compromet l'efficacité du réactif de test concerné.

Vigilance

Tous les cas graves survenant en lien avec le produit doivent être signalés à sifin diagnostics gmbh – en tant que fabricant – ainsi qu'aux autorités compétentes de l'État membre où l'utilisateur et/ou le patient est établi. Le rapport succinct relatif à la sécurité et à la performance est disponible sur demande.

Bibliographie

(1) Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Richtlinie Hämotherapie), Version actuelle. (2) Technical Manual, 17th ed. Bethesda, American Assoc. of Blood Banks, 2011 (a) method 1.5 b) method 1.6). (3) Messeter L et al: Mouse monoclonal antibodies with Anti-A, Anti-B and Anti-AB specificities, some superior to human polyclonal ABO reagents. Vox Sang 1984; 46, 185-194

Taille de conditionnement

Spécificité	Anti-A	Anti-B	Anti-AB
1 x 10 ml	BG1101	BG1111	BG1131
10 x 10 ml	BG1101-01	BG1111-01	BG1131-01

Explication des symboles utilisés

LOT Code lot (Lot)
REF Référence de catalogue
IVD Dispositif médical de diagnostic in vitro
AB0 Réactif pour test de groupage sanguin
ACT Activité/ Titre minimum
CLONE Désignation de clone
Utiliser jusque AAAA-MM (MM = fin du mois)
Limites de température
www.sifin.de Consulter les instructions d'utilisation

Révision 2, DDate de la présente version: 08/07/2024

sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | T: +49 30 700 144-0 | F: +49 30 700 144-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Anti-A, Anti-B, Anti-AB

Reactivi monoclonali pentru testare, pentru determinarea grupei sanguine

INFORMAȚII PENTRU UZ PROFESIONAL

CE 0483 IVD

RO

Domenii de aplicare

Reactivii monoclonali de testare Anti-A, Anti-B și Anti-AB sunt destinați utilizării diagnostice in vitro și sunt utilizați pentru identificarea grupei sanguine. Aceștia sunt utilizați pentru identificarea calitativă a antigenilor sistemului de grupe sanguine AB0 prin aglutinarea eritrocitelor umane [fără sau cu anticoagulanți (EDTA, citrat sau PAGGS-M)] în teste manuale pe placă și în eprubete efectuate de personal specializat.

Principiul testării

Sistemul uman de grupe sanguine AB0 este definit prin prezența sau absența antigenelor A și/sau B la suprafața eritrocitelor. Caracteristica specială a sistemului de grupe sanguine AB0 constă în faptul că persoanele care nu posedă antigenul A și/sau antigenul B la suprafața eritrocitelor prezintă de obicei anticorpi serici împotriva antigenului(lor) lipsă. Tabelul de mai jos prezintă principalele antigene și principalii anticorpi ai sistemului AB0:

Grupă sanguină	Antigene prezente la suprafața eritrocitelor	Anticorpi prezenți în ser
0	Nici A, nici B	Anti-A și Anti-B
A	A	Anti-B
B	B	Anti-A
AB	A și B	niciunul

Anticorpii monoclonali specifici ai reactivilor de testare aglutinează eritrocitele care posedă antigenul sau antigenele omoloage. Lipsa aglutinării indică absența antigenului relevant. Identificarea grupei sanguine AB0 este completă doar dacă a fost confirmată și prin identificarea izoaglutininelor din ser (Directiva privind hemoterapia, a se vedea și „Interpretarea rezultatelor").
Rezultatul identificării antigenelor prin utilizarea reactivilor de testare trebuie confirmat prin testarea serului cu eritrocite aparținând unei grupe sanguine AB0 cunoscute (a se vedea mai jos „Interpretarea rezultatelor testului"). Dacă există diferențe între rezultatele testului privind antigenul eritrocitar și aloaglutinină, acestea trebuie clarificate.

Compoziție

Reactivii de testare sunt obținuți din supernatantul culturii celulare al liniilor celulare hibride. Liniile celulare hibride au fost obținute prin fuzionarea celulelor splenice ale șoarecilor imunizați cu celule mielomatoase de șoarece. Anticorpii aparțin izotipului IgM.
Reactivii monoclonali de testare conțin anticorpi ai următoarelor linii celulare hibride: Reactiv de testare Anti-A: clonă sifin A-11H5, reactiv de testare Anti-B: clonă sifin B-6F9, reactiv de testare Anti-AB: clonă sifin A-5E10 și clonă sifin B-2D7. Reactivii de testare Anti-A și Anti-B sunt colorați pentru a evita confundarea lor și pentru a permite verificarea amestecului de testare în culorile albastru și, respectiv, galben. Conservant: azidă de sodiu (≤ 0,99 mg/ml).

Termen de valabilitate și condiții de depozitare

În cazul în care sunt păstrați la temperaturi cuprinse între 2 °C și 8 °C reactivii de testare pot fi utilizați până la data indicată pe ambalaj. După deschidere, aceștia trebuie păstrați în ambalajul închis bine la temperaturi cuprinse între 2 °C și 8 °C. În timpul efectuării testului reactivul poate fi păstrat pentru 2-3 ore la temperaturi cuprinse între 18 °C și 26 °C. A se evita contaminarea bacteriană. Nu utilizați reactivii dacă au aspect evident tulbure.

Materialul de testare

Pentru efectuarea testului se poate utiliza sânge integral anticoagulat sau o suspensie eritrocitară[2a,b] de 3-5 % din sedimentul de eritrocite. Sângele trebuie recoltat în condiții de asepsie, cu sau fără anticoagulant (EDTA, citrat sau PAGGS-M). Proba trebuie testată cât mai curând posibil după recoltare. Dacă testarea este efectuată mai târziu, proba trebuie păstrată la temperaturi cuprinse între 2 °C și 8 °C. Contaminarea bacteriană a probei poate conduce la obținerea unor rezultate false ale testării. Sângele recoltat în heparină nu trebuie păstrat mai mult de două zile. Probele de sânge recoltat în EDTA, precum și cele de sânge coagulat, pot fi examinate într-un interval de până la 14 zile de la recoltare, iar sângele donat poate fi testat până la data de expirare (a se vedea mai jos, la secțiunea „Surse de eroare și limitări").

Reactivi și materiale suplimentare necesare

Eprubete pentru testare (75 × 12 mm sau 70 × 8 mm), plăci, pipete (volumul picăturii 40-50 µl), lamele, baghete aplicatoare, soluție fiziologică de clorură de sodiu (154 mmol/l), centrifugă de laborator, cronometru.

Metode

1. Testul pe placă sau lamelă

1.1. Aplicați o picătură (40-50 µl) din reactivii pentru testare Anti-A, Anti-B și Anti-AB pe câte o placă etichetată corespunzător. Pot fi folosite și lamele (tehnica Lauer) în locul plăcilor.
1.2. La fiecare picătură de reactiv pentru testare adăugați o picătură (40-50 µl) dintr-o suspensie 5 % de eritrocite[2b] care trebuie testate (în ser fiziologic) și amestecați cu atenție cu o baghetă aplicatoare curată de sticlă sau de plastic.
1.3. Examinați pentru a observa prezența aglutinării, după 5, maxim 20 de minute de incubare la 18...26 °C, prin rotirea sau balansarea lentă a plăcii sau a lamelei. În locul suspensiei 5 % se poate utiliza o picătură de sânge. Atenție: Dacă este utilizat sânge integral anticoagulat, timpul de reacție trebuie limitat la maxim 5 minute pentru a evita rezultatele fals pozitive cauzate de efectele de uscare.
1.4. Notați rezultatele testului. Rezultatele testului trebuie interpretate imediat după terminarea testului, deoarece produsul de reacție este instabil.

2. Testul în eprubetă

2.1. Preparați o suspensie din eritrocitele care urmează să fie testate (spălate sau nespălate) cu o concentrație de 3-5 % în soluție salină fiziologică. [2a,b]
2.2. Aplicați o picătură (40-50 µl) din reactivii pentru testare Anti-A, Anti-B și Anti-AB în trei eprubete mici (de ex. 70 × 8 mm) etichetate corespunzător.
2.3. Adăugați o picătură (40-50 µl) din suspensia de eritrocite în fiecare eprubetă și amestecați bine prin scuturare.
2.4. Centrifugați imediat timp de 1-2 minute la o forță relativă de centrifugare (rcf) de 180 până la 270 × *g*.
2.5. Examinați supernatantul pentru a observa absența hemolizei. Hemoliza poate fi consecința contaminării bacteriene.
2.6. Scuturați ușor eprubeta pentru a desprinde sedimentul de pe fundul acesteia și examinați conținutul pentru a observa prezența aglutinării.
2.7. Notați rezultatele testului. Rezultatele testului trebuie interpretate imediat după terminarea testului, deoarece produsul de reacție este instabil.

Interpretarea rezultatelor testului

Trebuie să existe concordanță între rezultatele detectării antigenului (gruparea celulară) și rezultatele detectării aloanticorpilor (gruparea serologică) ale unei probe de sânge. Tabelul de mai jos prezintă modelele de reacție ale celor mai frecvente fenotipuri AB0 și frecvențele lor aproximative:

Grupare celulară			Grupare serologică				Grup AB0	Frecvență %
Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Celule A_1	Celule A_2	Celule B	Celule 0		
+	-	+	-	-	+	-	A	40
-	+	+	+	+	-	-	B	11
-	-	-	+	+	+	-	0	45
+	+	+	-	-	-	-	AB	4

Măsuri de precauție și avertismente

- Utilizarea procedeelor biotehnologice de producție înseamnă că riscul de contaminare a reactivilor de testare cu agenți infecțioși este practic inexistent. Deoarece reactivii pentru testare conțin materiale de origine animală (ser de făt bovin, stabilizatori), aceștia ar trebui tratați ca având potențial infecțios și trebuie manipulați corespunzător.
- Reactivii pentru testare conțin azidă de sodiu; evitați contactul cu tegumentul sau cu membranele mucoase.
- Materialele rămase de la testele uzate trebuie eliminate ca deșeu în conformitate cu directivele naționale aferente, de exemplu, în Germania, ca deșeu din grupa AVV 18 01 (AS 18 01 03) în conformitate cu „Directiva privind eliminarea corectă a deșeurilor din unitățile sanitare" (Directiva LAGA, versiunea actuală).

Caracteristici de performanță și limitele metodei

Evaluarea performanței conform Regulamentului de punere în aplicare (UE) 2022/1107 al Comisiei de stabilire a unor specificații comune (SC) a evidențiat următoarele valori de diagnostic calculate:

reagentul	pozitiv	fals-negativ	sensibilitate	negativ	fals-pozitiv	specificitate
Anti-A	12359	0	100 %	13326	0	100 %
Anti-B	5535	0	100 %	20150	0	100 %
Anti-AB	1215	0	100 %	462	0	100 %

- Reactivii monoclonali de testare aglutinează antigenele cu expresie slabă cu o intensitate a aglutinării normală sau slabă (A_3, B^{slab}) sau reacție slabă până la negativă (A_x). Pentru a determina antigenele exprimate slab ar trebui utilizat testul în eprubetă datorită sensibilității sale mai ridicare, cu o incubație de 30 de minute, dacă este necesar.
- Reactivul monoclonal de testare Anti-B nu reacționează cu B dobândit.
- Reactivul monoclonal de testare Anti-A reacționează cu Tn. Persoanele cu Tn pozitiv trebuie excluse din rândurile donatorilor de sânge deoarece existența Tn este considerată a fi un simptom al unei stări preleucemice, iar eritrocitele sunt poliaglutinabile.
- Determinări ale titrului: Pentru a prepara diluții ale reactivilor monoclonali de testare se recomandă utilizarea de ser fiziologic care conține 2 % proteine (ser AB, albumină serică bovină) pentru a facilita resuspensia produșilor de reacție de pe placă sau de pe fundul eprubetei.

Surse de eroare și limitări

- **Controlul intern al calității:** pentru fiecare test trebuie testate în paralel eritrocite de control pozitive și negative.
- O concentrație a eritrocitelor mai mică decât 3% poate cauza reacții de intensitate mai redusă pe placă sau lamelă.
- Interpretarea reacțiilor obținute la testarea sângelui de sugar poate fi complicată de faptul că serul sugarilor nu conține în mod necesar anticorpi pentru fiecare antigen absent din celule, iar anticorpii pasivi anti-A și/sau anti-B din sângele mamei pot cauza rezultate contradictorii atunci când pentru teste se utilizează probe din sângele din cordonul ombilical. Probele din sângele din cordonul ombilical pot, de asemenea, conduce la reacții mai slabe decât cele normale în cazul testelor de grupare celulară, deoarece antigenele ABH nu sunt complet dezvoltate la naștere.
- În cazul probelor mai vechi de sânge se pot obține rezultate de intensitate mai slabă decât în cazul probelor proaspete.
- Determinarea titlurilor: Pentru diluarea reactivilor monoclonali de testare pentru determinarea titrului trebuie utilizată o soluție fiziologică de clorură de sodiu cu un adaos de aproximativ 2 % proteine (de exemplu, albumină serică bovină), pentru a facilita resuspensia produselor de reacție de pe placă sau de pe fundul eprubetei.
- Pe plăci probele de sânge pot uneori reacționa prin formare de rulouri, situație care poate fi confundată cu o aglutinare slabă și poate fi interpretată în mod eronat ca un rezultat pozitiv. Acest fenomen are cauze non-imunologice. Formarea de rulouri survine de asemenea în cazul sângelui heparinic, al sângelui provenind de la pacienți tratați cu substanțe care heparină sau expandează plasma (de ex. dextran sau hidroxietil amidon), precum și la pacienții cu plasmoci tom (conținut ridicat de proteine, modificări ale compoziție proteinelor), afecțiuni oncologice (tablou sanguin patologic) sau tulburări de coagulare. În cazul acestor pacienți utilizați testul în eprubetă, deoarece acest fenomen nu poate fi detectat de obicei în suspensie.
- Reactivul monoclonal de testare Anti-A identifică Tn. Subiecții Tn-pozitivi trebuie excluși de la donarea de sânge, deoarece prezența Tn este considerată a fi un semn al unei stări preleucemice, iar eritrocitele sunt poliaglutinabile.
- Pentru a obține rezultate corecte trebuie respectate concentrațiile suspensiilor de eritrocite și timpii de reacție menționați mai sus.
- Depozitarea necorespunzătoare afectează eficacitatea reactivului de testare respectiv.

Vigilență

Toate incidentele grave apărute în legătură cu produsul trebuie raportate către sifin diagnostics gmbh, în calitate de producător, precum și către autoritatea competentă a statului membru în care utilizatorul și/sau pacientul își are sediul sau reședința. Raportul sumar actual privind siguranța și performanța este disponibil la cerere.

Referințe

(1) Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Richtlinie Hämotherapie), Versiune curentă. (2) Technical Manual, 17th ed. Bethesda, American Assoc. of Blood Banks, 2011 (a) method 1.5 b) method 1.6). (3) Messeter L et al: Mouse monoclonal antibodies with Anti-A, Anti-B and Anti-AB specificities, some superior to human polyclonal AB0 reagents. Vox Sang 1984; 46, 185-194

Dimensiunea ambalajului

Specificitate	Anti-A	Anti-B	Anti-AB
1 x 10 ml	BG1101	BG1111	BG1131
10 x 10 ml	BG1101-01	BG1111-01	BG1131-01

Explicarea simbolurilor utilizate

LOT Numărul lotului
REF Numărul de catalog
IVD Aparatură medicală de diagnostic in vitro
AB0 Reactiv de testare pentru determinarea grupei sanguine
ACT Activitate/ titru minim
CLONE Descrierea clonei
A se utiliza până la AAAA-LL (LL=sfârșitul lunii)
Limitare a temperaturii
www.sifin.de Consultați instrucțiunile de utilizare

Revizuirea 2, Data revizuirii textului: 08/07/2024

sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | T: +49 30 700 144-0 | F: +49 30 700 144-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Anti-A, Anti-B, Anti-AB

Моноклонални тестови реагенти за определяне на кръвни групи

ИНФОРМАЦИЯ ЗА ПРОФЕСИОНАЛНА УПОТРЕБА

CE 0483 IVD

bg

Препоръчително приложение: Моноклоналните тестови реагенти Anti-A, Anti-B и Anti-Ab са за in vitro диагностика и се използват като част от определянето на кръвната група. Те служат за качественото откриване на антигените от системата на кръвната група AB0 чрез аглутинация на човешки еритроцити [без или със антикоагуланти (EDTA, цитрат или PAGGS-M)] ръчно с плочка и тест епруветка от специализиран персонал.

Принцип на теста: Човешката кръвногрупова система AB0 се определя от наличието или отсъствието на еритроцитните антигени A и/или B. Важната особеност на кръвногруповата система AB0 се изразява във факта, че хората, които не притежават антиген A и/или B на еритроцитите си по правило имат антитела в кръвния си серум, насочени срещу липсващия антиген или антигени. В таблицата по-долу са показани основните антигени и антитела по системата AB0:

Кръвна група	Присъстващи антигени на червените кръвни клетки	Антитела в кръвния серум
0	нито A, нито B	анти-A и анти-B
A	A	анти-B
B	B	анти-A
AB	A и B	няма

Специфичните моноклонални антитела от тестовите реагенти аглутинират червени кръвни клетки, притежаващи съответстващ(и) антиген(и). Липсата на аглутинация означава липса на съответния антиген. Определянето на кръвната група AB0 е пълно само ако е потвърдено и чрез определяне на изоаглутинин в серума (Директива за хемотерапия, вижте също „Тълкуване на резултатите“). Резултатите от оценката на антигените чрез използване на тестовите реагенти трябва да се потвърдят с тестване на серума с червени кръвни клетки от известна кръвна група по системата AB0 (вж. „Интерпретация на резултатите от теста” по-долу). Всяка разлика между резултатите от определянето на антигени в червените кръвни клетки и тези от алоаглутининовия тест следва да се уточни.

Състав: Тестовите реагенти са произведени от повърхностния слой (супернатанта) от клетъчна култура от хибридомни клетъчни линии. Последните са получени чрез фузия (сливане) на клетки от слезка от имунизирани мишки с миши миеломни клетки. Антителата са от подтип IgM. Моноклоналните тестови реагенти съдържат антитела от следните хибридомни клетъчни линии: тестов реагент Анти-A: от клона sifin A-11H5; тестов реагент Анти-B: от клона sifin B-6F9; тестов реагент Анти-AB: от клон sifin A-5E10 и клон sifin B-2D7. Тестовите реагенти Анти-A и Анти-B са оцветени, за да се избегне евентуално объркване и за да позволят по този начин да се контролира тестът, чрез използване съответно на синия и жълтия цвят. Консервант: натриев азид (макс. 0.99 mg/ml).

Срок на годност и съхранение: При съхранение при температура 2...8 °C тестовите реагенти се запазват годни за употреба до датата, отбелязана на етикетите им. След отваряне те трябва да се съхраняват плътно затворени при 2...8 °C. По време на използването им е допустимо те да престоят за кратко на температура 18...26 °C. Не допускайте замърсяване с бактерии. Не използвайте реагентите, ако са видимо мътни.

Тестов материал: За теста може да се използват антикоагулирана цяла кръв или 3-5% еритроцитна суспензия2a,б) от еритроцитен седимент. Взема се кръв чрез използване на асептична техника, с или без използване на антикоагулант (ЕДТА, цитрат или PAGGS-M). Пробата трябва да се подложи на тестване възможно най-скоро след вземането ѝ. В случай че не е възможно тестът да се извърши веднага, пробата трябва да се съхранява при температура 2...8 °C. Ако пробата е замърсена с бактерии, това може да доведе до получаване на фалшиви резултати от теста. Хепаринизирана кръв не трябва да се съхранява повече от 2 дни. Кръвни проби, антикоагулирани с ЕДТА, както и сърена кръв, могат да се изследват до 14 дни след вземане на пробата, а донорска кръв – до изтичане на срока на годност на консервата - (вижте при „Източници на грешки и ограничения“).

Други необходими реагенти и материали: Тест-епруветки (75 × 12 mm или 70 × 8 mm), плочки, пипети (обем на капане 40-50 ml), предметни стъкла, апликаторни пръчици, физиологичен разтвор (154 mmol/l), центрофуга, таймер.

Методи

1. Метод на провеждане на теста с предметни стъкла и плочки

1.1. Сложете по 1 капка (40-50 ml) от тестовите реагенти Анти-A, Анти-B и Анти-AB на плочка с гнезда, означени по подходящ начин. Вместо плочка, могат също така да се използват и предметни стъкла (стъклени или пластмасови – техника на Lauer).

1.2. Към всяка капка тестов реагент добавете по 1 капка (40-50 ml) от 5 % суспензия на червените кръвни клетки[2b)], които ще бъдат тествани, във физиологичен разтвор. Разбъркайте внимателно с чиста стъклена или пластмасова пръчица.

1.3. Отчетете аглутинацията след 5 минути или най-много след 20-минутна инкубация при 18 – 26 °C, като завъртите плочката или бавно разклатите предметното стъкло. Вместо 5-процентната суспензия, може да се използва капка кръв. Внимание: Когато използвате антикоагулирана цяла кръв, времето за реакция трябва да бъде ограничено до максимум 5 минути, за да се избегнат фалшиво-положителни резултати чрез ефекта на изсушаване.

1.4. Отчетете резултатите от теста. Тестовите резултати трябва да се разтълкуват веднага след завършването на теста, тъй като реакционният продукт е нестабилен.

2. Метод на провеждане на теста с тестови епруветки

2.1. Пригответе приблизително 3-5-процентна суспензия от червените кръвни клетки, които ще бъдат тествани, (измити или не) във физиологичен разтвор.[2a,b)]

2.2. Сложете по 1 капка от тестовите реагенти Анти-A, Анти-B и Анти-AB в три малки (например 70 × 8 mm) тест-епруветки, подходящо означени.

2.3. Добавете по една капка (40-50 ml) от суспензия от червените кръвни клетки към всяка епруветка и разбъркайте добре, като разклатите.

2.4. Веднага центрофугирайте в продължение на 1 или 2 минути при 180 – 270 *g* (приблизително 1000 оборота в минута).

2.5. Проверете повърхностния слой (супернатанта) за липса на хемолиза. Последната може да се получи в резултат от замърсяване с бактерии.

2.6. Суспендирайте отново червените кръвни клетки, като разклатите епруветката внимателно и след това проверете аглутинацията.

2.7. Отчетете резултата от теста. Резултатите от теста трябва да се разтълкуват веднага след завършването му, тъй като продуктът на реакцията е нестабилен.

Интерпретация на резултатите от теста: Необходимо е да има съответствие между резултатите от антигенното определяне (клетъчното групиране) и тези от определянето на алоантителата (серумното групиране) за изследваната кръвна проба. В таблицата по-долу са показани видовете реакционни резултати от най-честите AB0-фенотипове и съответните им честоти:

Клетъчно групиране			Серумно групиране				AB0 група	Честота, %
Анти-A	Анти-B	Анти-AB	A_1	A_2	B	0		
+	-	+	-	-	+	-	A	40
-	+	+	+	+	-	-	B	11
-	-	-	+	+	+	-	0	45
+	+	+	-	-	-	-	AB	4

Предпазни мерки и предупреждения

- Използването на биотехнологични продукти означава, че рискът от замърсяване на тестовите реагенти с причинители на инфекции практически се изключва. Тъй като тестовите реагенти съдържат материали с животински произход (фетален говежди серум, стабилизатор) същите трябва да се третират като потенциално опасни, като с тях се борави по съответния начин.
- Тъй като тестовите реагенти съдържат натриев азид, трябва да се избягва контакт с кожата и лигавиците.
- Материалите от отработените тестове трябва да се изхвърлят в съответствие с националните указания, напр. в Германия за отпадни материали като AVV Groupe 18 01 (AS 18 01 03) в съответствие с „Директива за правилното изхвърляне на отпадъците от здравните заведения“ (Директива LAGA, последна версия).

Характеристики и ограничения на процедурата: Оценката на характеристиките съгласно Регламент за изпълнение (ЕС) 2022/1107 на Комисията относно определянето на общи спецификации (ОС) даде следните изчислени диагностични стойности:

reagenți	положителна	фалшив оотрица телна	чувствителн ост	отрицател ена	фалши вополо жителна	специфичност
Анти-A	12359	0	100 %	13326	0	100 %
Анти-B	5535	0	100 %	20150	0	100 %
Анти-AB	1215	0	100 %	462	0	100 %

- моноклоналните тестови реагенти аглутинират слабо изразените (с по-слаба експресия) антигени с нормална или отслабена сила на аглутинация (A_3, B^{weak}) или дават отслабена до отрицателна реакция (A_x). За определяне на слабо изразени антигени трябва да се използва метода с тест-епруветки, заради по-високата му чувствителност При необходимост, трябва да се извърши и 30-минутна инкубация;
- моноклоналният тестов реагент Анти-B не реагира с придобит B;
- моноклоналният тестов реагент Анти-A реагира с Tn. Tn-положителните лица не трябва да даряват кръв, тъй като присъствието на Tn се счита за симптом на прелевкемично състояние и червените кръвни клетки са полиаглутинируеми;
- титруване: при приготвянето на разреждания на моноклоналните тестови реагенти се препоръчва използване на физиологичен разтвор с 2 % белтъчно съдържание (AB серум, волски серумен албумин), за да се улесни ресуспендирането на реакционните продукти от плочката или от дъното на тестовата епруветка;

Източници на грешки и ограничения

- **Вътрешна контрола за качество:** за всеки тест е необходимо да се тестват паралелно положителни и отрицателни червени кръвни клетки;
- концентрации на червените кръвни клетки различни от 3 % могат да станат причина за по-слаби реакции, получени на плочките или предметните стъкла;
- Тълкуването на реакционни резултати, получени от тестване на кръв на новородено, може да се усложни от факта, че серумът на новороденото не съдържа непременно съответстващото антитяло за дадения липсващ клетъчен антиген, и освен това пасивно предадените от кръвообращението на майката анти-A и/или анти-B антитела могат да доведат до противоречиви резултати, когато тестовете се извършват с кръв от пъпната връв. Кръвните проби от пъпната връв също така могат да дадат по-слаба от нормалната реакция в клетъчното групиране, тъй като ABH-антигените все още не са достигнали крайното си развитие при раждането.
- старите кръвни проби могат да дадат по-слаби реакции от пресните клетки;
- Определяне на титъра: За да се разредят моноклоналните тестови реагенти при определяне на титри, физиологичен разтвор на натриев хлорид с добавяне на приблизително 2% протеин (например говежди серумен албумин) може да се използва за повторно суспендиране на реагентите от плочката или на дъното на епруветката.
- върху плочките кръвните проби понякога могат да реагират с образуване на „монети стълбове“, които могат да се сбъркат със слаба аглутинация и неправилно да се отчетат като положителен резултат. Този феномен се предизвиква от неимунологични причини. „Монетните стълбове“ се образуват също и в хепаринизирана кръв, в кръв от пациенти, лекувани с хепарин или плазмозаместители (например декстран или хидроксиетил-скорбяла), както и в кръв от пациенти с плазмоцитом, при високо белтъчно съдържание и промени в белтъчния състав на кръвта, при онкологични заболявания (свързани с промени в броя на кръвните клетки) и при коагулопатии. При тестване на пациенти с някое от изброените състояния, използвайте метода с тест-епруветки, при който обикновено не се наблюдава феномена на „монетните стълбове“;
- Моноклоналният тестов реагент Anti-A реагира с Tn. TN-положителните лица не трябва да даряват кръв, тъй като появата на TN се счита за знак за прелевкемично състояние, а еритроцитите са полиаглутинабилни.
- за да се получат надеждни резултати, концентрациите на еритроцитните суспензии и времетраенето на реакциите и етапите, както и реакционните условия, посочени по-горе, трябва да се спазват стриктно;
- Неправилното съхранение влияе върху ефективността на съответния тестов реагент.

Бъдете бдителни: Всички сериозни инциденти, възникнали във връзка с продуктите, трябва да бъдат докладвани на sifin diagnostics gmbh като производител и на компетентния орган на държавата-членка, в която е установен потребителят и/или пациентът. При поискване ще получите текущия кратък отчет за безопасността и ефективността.

Литература: (1) Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Richtlinie Hämotherapie), актуална версия. (2) Technical Manual, 17th ed. Bethesda, American Assoc. of Blood Banks, 2011 (a) method 1.5 b) method 1.6). (3) Messeter L et al: Mouse monoclonal antibodies with Anti-A, Anti-B and Anti-AB specificities, some superior to human polyclonal AB0 reagents. Vox Sang 1984; 46, 185-194

Опаковка за разпространение

Спецификация	анти-A	анти-B	анти-AB
1 x 10 мл.	BG1101	BG1111	BG1131
10 x 10 мл.	BG1101-01	BG1111-01	BG1131-01

Легенда на използваните означения

LOT	Партиден номер	AB0	Тестови реагенти за определяне на кръвна група		Срок на годност: ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца)
REF	Каталожен номер	ACT	Активност/ минимум време		Температурни граници
IVD	Медицинско средство за in vitro диагностика	CLONE	Обозначаване на клона	www.sifin.de	Вижте инструкциите за употреба

Преработено издание 2, Дата на редакцията: 08/07/2024

sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | T: +49 30 700 144-0 | F: +49 30 700 144-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Anti-A, Anti-B, Anti-AB

Monoklonális tesztreagensek vércsoport meghatározáshoz

INFORMÁCIÓ PROFESSZIONÁLIS HASZNÁLATHOZ

CE 0483 IVD

hu

Alkalmazási terület

Felhasználási terület Az anti-A, anti-B és anti-AB monoklonális tesztreagensek vércsoportmeghatározásra szolgáló in vitro diagnosztikai eszközök. Az AB0 vércsoportrendszer antigénjeinek képzett szakemberk általi minőségi kimutatására szolgálnak emberi eritrociták agglutinációjával [antikoagulánssal (EDTA-val, citráttal vagy PAGGS-M-el) vagy azok nélkül] manuális lemezes és csöves tesztek során.

A teszt elve

Az emberi ABO vércsoportot a vörösvértest felszínén lévő A és/vagy B antigének jelenlétével vagy hiányával határozzuk meg. Az ABO vércsoportrendszer sajátossága, hogy akinél hiányzik az A és/vagy a B antigén a vörösvértestek felszínéről annál a szérumban antitestek vannak a hiányzó antigének ellen. A következő táblázat mutatja az ABO rendszer fő antigénjeit és antitestjeit.

Vércsoport	A vörösvértesten jelen lévő antigének	A szérumban jelen lévő antitestek
0	sem A, sem B	Anti-A és Anti-B
A	A	Anti-B
B	B	Anti-A
AB	A és B	nincsen

A tesztreagensek specifikus monoklonális antitestjei agglutinálják a homológ antigénnel/antigénekkel rendelkező vörösvértesteket. Az agglutináció hiánya a megfelelő antigén hiányát jelzi. Az AB0 vércsoport meghatározása csak akkor teljes értékű, ha azt a szérumban lévő izoagglutininek meghatározásával is alátámasztották (hemoterápiás irányelv, lásd még „Az eredmények értelmezése"). A teszt reagens használatával meghatározott antigének eredményeinek megerősítéséhez a szérumot ismert ABO tulajdonságú vörösvértesttel is tesztelni kell (Lásd lentebb „A tesztek kiértékelése"). Bármilyen különbséget az agglutininek és a vörösvértest meghatározás eredmények között tisztázni kell.

Összetétel

A tesztreagensek hybridoma-sejtkultúra felülúszójából készültek. A hybridomasejtek immunizált egerek lépsejtjeiből és egér myelomasejtekből származnak. Az antitestek IgM izotípushoz tartoznak. A monoklonális tesztreagensek a következő hybridoma-sejtvonalak antitestjeit tartalmazzák: Anti-A teszt-reagens: Klón sifin Anti-A-11H5, Anti-B tesztreagens: Klón sifin Anti-B-6F9, Anti-AB tesztreagens: Klón sifin Anti-A-5E10 és sifin Anti-B-207. A félreértések elkerülése végett és a teszt keverék ellenőrzésére az Anti-A és Anti-B reagensek kék, illetve sárga színűek. Konzerváló-anyag: nátrium-azid (≤0,99 g/l)

Eltarthatóság és tárolási feltételek

A tesztszérum +2° és +8°C között tárolva a címkén megadott időpontig felhasználható. A kinyitást követően újra vissza kell zárni jól és +2° és +8°C között tárolni. Az alkalmazás alatt 2-3 órát tárolható 18° és 26°C között. Kerülje el a bakteriális kontaminációt. Ne használja, ha látványosan zavaros.

Vizsgálati anyag

A vizsgálathoz antikoagulált teljes vér vagy 3–5%-os, eritrocita üledékből származó eritrocita szuszpenzió2a,b) használható. A vért aszeptikus technikával kell venni antikoagulánssal vagy anélkül (EDTA, citrát vagy PAGGS-M). A mintát a gyűjtés után a lehető leggyorsabban kell vizsgálni. Amennyiben a vizsgálatnál késés jelentkezik, a mintát 2° és 8° C között kell tárolni. A minta bakteriális kontaminációja fals eredményeket okozhat. A heparinos vér legfeljebb 2 napig tartható el. Az EDTA-val alvadásgátolt vérmintákat, illetve az alvadt vért a gyűjtés után maximum 14 napig, míg a donor vért a konzerv lejárati idejéig lehet vizsgálni. Megjegyzés: a tárolás normálisnál gyengébb reakciókat eredményezhet. (Lásd lentebb „Hibaforrások és korlátozások")

További szükséges reagensek és anyagok

Teszt csövek (75 × 12 mm vagy 70 × 8 mm), plate-k, pipetták (csepp térfogat 40-50 µl), applikátor pálcák, fiziológiás sóoldat (154 mmol/l), laboratóriumi centrifuga, óra.

Módszerek

1. Tárgylemezteszt

1.1. Tegyen 1 csepp (40-50 µl) Anti-A, Anti-B és Anti-AB tesztreagenst megfelelően felcímkézett lemezre.

1.2. Minden tesztreagenshez adjon 1 csepp (40-50 µl) 5%-os vörösvértest-szuszpenziót[2b)] (fiziológiás sóban) és keverje meg óvatosan egy tiszta üveg vagy műanyag applikátor pálcával.

1.3. Vizsgálja az agglutinációt 5 perc, de legfeljebb 20 perc 18° és 26°C közti inkubációt követően a lemez rázása vagy mozgatása mellett. 5%-os szuszpenzió helyett egy csepp vér is használható. Figyeltetés: Antikoagulált teljes vér használata esetén a reakcióidő legfeljebb 5 perc legyen, a beszáradás miatti álpozitív eredmények elkerülése érdekében.

1.4. Jegyezze fel a teszteredményeket. A reakció termékek instabilak ezért a tesztet annak befejezése után azonnal le kell olvasni.

2. Csöves teszt

2.1. Készítsen 3-5%-os sejtszuszpenziót (mosott vagy nem mosott) fiziológiás sóoldatban.[2a,b)]

2.2. Tegyen 1 csepp (40-50 µl) Anti-A, Anti-B és Anti-AB tesztreagenst 3 kicsi (pl. 70 × 8 mm), megfelelően felcímkézett tesztcsőbe.

2.3. Minden csőhöz adjon 1 csepp (40-50 µl) vörösvértest-szuszpenziót és keverje meg alaposan rázással.

2.4. Centrifugáljon azonnal 1 vagy 2 percig rcf 180-270 × *g*-n.

2.5. Vizsgálja a hemolízist a felülúszóban.

2.6. Óvatosan rázza a csövet, hogy a szedimentum elváljon a cső aljáról és vizsgálja az agglutinációt.

2.7. Jegyezze fel a teszteredményeket. A reakció termékek instabilak ezért a tesztet annak befejezése után azonnal le kell olvasni.

A teszteredmények értékelése

A vörösvértestek antigén-meghatározásának eredménye egy vérminta alloantitestjének meghatározásának egyeznie kell. A következő táblázat a leggyakrabb ABO fenotípusok reakcióképeit és gyakoriságait tartalmazza.

Antigén meghatározás			Szérum meghatározás tesztvörösvértestekkel				ABO vércsoport	Gyakoriság %
Anti-A	Anti-B	Anti-AB	A_1	A_2	B	0		
+	-	+	-	-	+	-	A	40
-	+	+	+	+	-	-	B	11
-	-	-	+	+	+	-	0	45
+	+	+	-	-	-	-	AB	4

Óvintézkedések és figyelmeztetések

- A biotechnológiai gyártás azt jelenti, hogy a a tesztreagensek fertőző ágensekkel való kontaminációs rizikójavirtálisan kizárt. Mivel a tesztreagensek állati eredetű termékeket tartalmaznak (fötális borjúszérum, stabilizátor) a tesztszérumot potenciálisan fertőzőként kell tartani és megfelelően kezelni.
- A tesztszérum nátrium azidot tartalmaz, kerüljön minden kontaktust a bőrrel vagy nyálkahártyával.
- Az elvégzett vizsgálatokból származó minden anyagot a vonatkozó nemzeti irányelveknek megfelelően kell ártalmatlanítani, pl. Németországban a 18 01 AVV csoportba tartozó hulladékként (AS 18 01 03), az „Egészségügyi intézményekből származó hulladékok megfelelő ártalmatlanításáról szóló irányelv" (LAGA irányelv, hatályos változat) szerint.

Teljesítményjellemzők és az eljárás korlátai

Az egységes előírások megállapításáról szóló (EU) 2022/1107 bizottsági végrehajtási rendelet (EE) alapján történő értékelés az alábbi diagnosztikai értékeket eredményezte:

reagenssel	pozitív	fals-negatív	Szenzitivitás	negatív	fals-pozitív	Specificitás
Anti-A	12359	0	100 %	13326	0	100 %
Anti-B	5535	0	100 %	20150	0	100 %
Anti-AB	1215	0	100 %	462	0	100 %

- A monoklonális tesztreagensek agglutinálják a gyengén exprimált antigéneket normál vagy gyengébb agglutináci ós erősséggel (A_3, Bweak) avagy gyengébbtől negatív reakcióig (A_X). A gyengén expresszált antigének meghatározásához a csöves tesztet kell használni, mivel annak szenzitivitása nagyobb, ha szükséges, 30 perces inkubációval.
- A monoklonális tesztreagens Anti-B nem reagál szerzett B-vel.
- A monoklonális tesztreagens Anti-A reagál Tn-nel. A Tn pozitív személyeket ki kell zárni a véradásból, mivel a Tn megjelenése preleukémiás állapot jelzője lehet és a vörösvértestek poliagglutinábilisak.
- Titermeghatározások: monoklonális tesztreagensek dilúciójának elkészítéséhez 2% proteint tartalmazó fiziológiás sóoldat ajánlott (AB szérum, bovin szérum albumin), hogy felgyorsítsa a reakciótermékek reszuszpendálását a lemezből és a cső aljáról.

Hibaforrások és korlátozások

- Belső minőség-ellenőrzés: minden tesztnél pozitív és negatív kontroll vörösvértesteket kell használni.
- 3% alatti vörösvértest-koncentráció lemezeken és tárgylemezeken gyengébb reakcióhoz vezethet.
- Az eredmények értékelése újszülöttek esetén bonyolult lehet, mivel az újszülött szérum nem tartalmaz mindig antitestet a nem meglévő antigének ellen. Köldökvér vizsgálata esetén az anyától passzívan átkerülő Anti-A és/vagy Anti-B antitestek a reakciót befolyásolják. A köldökzsinór vérből történő meghatározások gyengébb reakciót adhatnak a normál reakcióknál, mert az ABH antigének a születés pillanatában nem fejlődtek ki tökéletesen.
- Idősebb vérminták gyengébb reakciókat adhatnak, mint friss sejtek.
- Titermeghatározások: A monoklonális tesztreagensek hígításánál a titer meghatározásához fiziológiás nátrium-klorid oldatot kell használni kb. 2% fehérje (pl. szarvasmarha szérumalbumin) hozzáadásával, hogy könnyebb legyen a reakciótermékek reszuszpendálása a lemezről vagy a cső aljáról.
- Lemezeken a vérminták esetenként pénztekercs formációval reagálhatnak, amely egy gyenge agglutinációnál problémát okozhat, és fals pozitívként értékelődhet. A jelenségnek nincs immunológiai oka. Pénztekercs-képződés jelentkezik heparinos vér és Heparin oder plazma-expanderekkel (pl. dextrán vagy hydroxyetil-keményítő) kezelt betegek esetén valamint plasmocytomás betegek (magas proteintartalom, változások a protein-összetételben) vérénél, on kológiai betegségnél (abnormális versejtszám) vagy koagulációs diszfunkciónál. Ezen betegek teszteléséhez használjon csöves tesztet, amely mindig elkerüli ezt a jelenséget.
- Az Anti-A monoklonális tesztreagens felismeri a Tn-t. A Tn-pozitív személyeket ki kell zárni a véradásból, mivel a Tn jelenléte leukémia-megelőző állapot jele, és az eritrociták poliagglutinálhatóak.
- A vörösvértest-szuszpenzió koncentrációit és a reakcióidőket és fent specifikált kondíciókat figyelembe kell venni a helyes eredmény nyerése tekintetében.
- A nem megfelelő tárolás rontja az adott tesztreagens hatékonyságát.

Figyelem

A termékkel kapcsolatban előforduló minden súlyos eseményt jelenteni kell a sifin diagnostics gmbh-nak mint gyártónak és a felhasználó és/vagy a beteg lakóhelye szerinti tagállam illetékes hatóságának. Kérésre elküldjük Önnek a biztonságról és a teljesítményről szóló legfrissebb összefoglaló jelentést.

Literature Irodalom

(1) Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Richtlinie Hämotherapie), aktuális verzió. (2) Technical Manual, 17th ed. Bethesda, American Assoc. of Blood Banks, 2011 (a) method 1.5 b) method 1.6). (3) Messeter L et al: Mouse monoclonal antibodies with Anti-A, Anti-B and Anti-AB specificities, some superior to human polyclonal AB0 reagents. Vox Sang 1984; 46, 185-194

Kiszerelési méret

Specificitás	Anti-A	Anti-B	Anti-AB
1 x 10 ml	BG1101	BG1111	BG1131
10 x 10 ml	BG1101-01	BG1111-01	BG1131-01

Az alkalmazott szimbólumok jelentése

LOT	Sarzsszám (Lot)	AB0	Vércsoport tesztreagens		ÉÉÉÉ-HH lejárati idő (HH = hónap vége)
REF	Katalógusszám	ACT	Aktivitás/ minimum titer		Hőmérsékleti határ
IVD	In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz	CLONE	Klón meghatározás	www.sifin.de	Lásd a használati u tasítást

Felülvizsgálat 2, A szerkesztés dátuma: 08/07/2024