



GEBRAUCHSANWEISUNG

In-vitro-Diagnostikum
Für den Röhrchen-Test

Anti-H (A2), monoclonal IgM (mouse) OrthoClone

REF 690091A

ZWECKBESTIMMUNG

Monoklonal agglutinierendes Anti-H (A2) Testserum wird aus Zellkulturüberständen einer Hybridoma-Zelllinie gewonnen, die Antikörper vom IgM Typus sezerniert. Der Antikörper reagiert spezifisch mit H-Substanz. Das Testserum wird zum qualitativen In-vitro-Nachweis des Vorhandenseins oder Fehlens von freier H-Substanz auf menschlichen Erythrozyten verwendet und dient somit zur Unterscheidung von A₁- und A₂-Bluten. Bei A₁A₁-Bluten ist die H-Substanz vollständig blockiert. Bei A₁B-, A₁O- und vor allem BO-Typen können noch geringe Reste H-Substanz verbleiben und schwache Reaktionen auftreten. Starke Reaktionen treten mit A₂-Typen oder noch schwächeren A-Typen auf. Definitionsgemäß erfolgt die stärkste Reaktion mit O-Bluten. Die Anwendung dieses Testserums ist nur für qualifiziertes und geschultes Fachpersonal vorgesehen.

PRINZIP DES VERFAHRENS

Der bei Verwendung dieses Testserums angewendete Test beruht auf dem Prinzip der Agglutination. Normale menschliche Erythrozyten, die freie H-Substanz haben, werden durch den korrespondierenden Antikörper agglutiniert.

TESTSEREN

Das aufgeführte Blutgruppentestserum enthält Antikörper des folgenden Klons:

Anti-H monoclonal, mouse IgM clone: 10934C11

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

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

LAGERUNG

Bei +2 bis +8 °C (ungeöffnet / angebrochen) lagern, kurzzeitig zur Anwendung auch bei Raumtemperatur. Grundsätzlich nur bis zum angegebenen Verfallsdatum lagern und anwenden!

HINWEISE

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

PROBENVORBEREITUNG

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

VORBEREITUNG DER TESTSEREN

Eine Vorbereitung des Testserums ist nicht erforderlich. Das Testserum kann direkt aus den Fläschchen entnommen und eingesetzt werden.

VERFAHRENSWEISE

Nicht im Lieferumfang enthaltene, aber benötigte Materialien:

Röhrchenmethode:

1. Teströhrchen, 10 x 75 mm oder 12 x 75 mm
2. Mikroliterpipette für 50µL/100 µL
3. Einwegpipettenspitzen
4. Kurzzeitwecker
5. Zentrifuge
6. Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)

Testdurchführung

Röhrchen-Zentrifugationstest

1. 2-5%ige Erythrozytensuspensionen in isotonischer Kochsalzlösung vorbereiten (Erythrozyten können vorab 1-3 Mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
2. In ein beschriftetes Teströhrchen 100µL (alternativ einen Tropfen, ca. 50 µL) des Testserums geben.
3. Zu dem Teströhrchen 100µL (alternativ einen Tropfen, ca. 50 µL) der entsprechenden Erythrozytensuspension geben.
4. Die Erythrozyten-/ Testserummischung durch leichtes Schütteln vermischen.
5. Teströhrchen 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
6. Teströhrchen 1 Minute bei 2.000 U/min (ca. 800-1.000 x g) zentrifugieren.
7. Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig vom Röhrchenboden lösen und innerhalb 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination prüfen.
8. Ergebnis protokollieren.

INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

„Vorsichtiges Schütteln“ beim Röhrchen-Zentrifugationstest

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 METHODE

1. Ungenauigkeiten bei der Einhaltung der Anweisungen in den Abschnitten "Testdurchführung" und "Interpretation der Testergebnisse" können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
2. Mitgeführte Kontrollen mit nicht eindeutigen oder falschen Ergebnissen führen automatisch zur nicht Verwertbarkeit aller Ergebnisse.
3. Enzymbehandelte Erythrozyten oder die Zugabe von Rinderalbumin und/oder anderer proteinhaltiger Lösungen können mit diesem Testserum zu unspezifischen Reaktionen führen.
4. Hämolytierte, trübe, kontaminierte oder geronnene Blutproben dürfen nicht eingesetzt werden.
5. Aufgrund der unterschiedlichen Ausprägung der freien H-Substanz auf menschlichen Erythrozyten kann es bei bestimmten Phänotypen, mit dem oben aufgeführten Testserum, zu einer schwächeren Reaktion kommen als mit Kontrollerythrozyten.
6. Kein einzelnes Testserum oder eine einzelne Methode können garantieren alle seltenen oder schwachen "Antigene" und alle Varianten der "Antigene" zu detektieren.²
7. 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 die Austestung ungeeignet.

LITERATUR

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

SYMBOL - LEGENDE

 Lagerung von - bis	REF Artikel- Nummer	 Verfallsdatum	 Hersteller nach 98/79/EG
LOT Los	CLON Klon(e)	IVD In-vitro- Diagnostikum	 EG CE-Symbol
UDI Unique Device Identification	 Gebrauchsinformation beachten		

7

730-22-2108 Version 008 / 15.08.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Deutschland

 +49 (0) 6223/ 8661-0  +49 (0) 6223/ 8661-13  gara@antitoxin-gmbh.de



INSTRUCTIONS FOR USE

Anti-H (A₂), monoclonal IgM (mouse) OrthoClone

REF 690091A

INTENDED USE

Monoclonal agglutinating Anti-H (A₂) reagent is produced from cell culture supernatants of hybridoma-cell line. The cells are secreting an antibody of IgM-type. The reagent is used to in-vitro determine qualitative whether red blood cells possess or lack free H-substance on human red blood cells. It is used to differentiate between A₁ and A₂ blood. There is no free H-substance on A₁ A₁-blood, but with A₁B-, A₁O- and especially with BO-types there may still be free rests of H-substance and show weak reactions. Strong reactions are visible with A₂-blood or weaker A-variants. As defined strongest reaction are seen with O-bloods. 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 which have free H-substance will agglutinate in the presence of the specific antibody.

REAGENT

The listed reagent contains antibodies of the following clone:

Anti- H monoclonal, mouse IgM clone: 10934C11

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

CAUTION: The reagent is prepared from supernatants of cell cultures. Regardless, 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 REQUIREMENTS

Store at +2 to +8 °C (unopened / opened) or at room temperature while in use. Do not use reagent beyond its labelled expiration date.

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 the reagent all effective national laws, directives and guidelines in its current version have to be observed, in Germany especially the "Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)"¹.

SAMPLE PREPARATION

1. Blood sample should be collected by approved medical procedure.
2. Blood sample 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, sample should be stored at +2 to +8°C.
Blood drawn into EDTA should be tested within 7 days and sample 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 specific preparation of the reagent required. Take and use reagent directly from the vial.

PROCEDURE

Materials required but not provided:

Tube Centrifugation Method

1. Test tubes, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm
2. Pipettes designed to deliver 50 µL/100 µL
3. Disposable pipette tips
4. Timer
5. Centrifuge
6. Isotonic saline (0.85 – 0.9% sodium chloride)

Test procedure

Tube Centrifugation Method

1. Prepare 2% to 5% suspensions of red blood cells in isotonic saline (red blood cells may be washed 1-3 times with isotonic saline).
2. Add 100 µL (alternative: one drop, approximately 50 µL) of reagent to a marked tube.
3. Add 100 µL (alternative: one drop, approximately 50 µL) of appropriate cell suspension to the tube.
4. Mix well by shaking slightly.
5. Incubate tube at room temperature for 15 min.
6. Centrifugate tube for 1 minute at 2.000 rpm (approximately 800 – 1.000 g).
7. Gently shake the red cells from the bottom of the tube and check macroscopically for agglutination within 3 minutes.
8. Document the result.

INTERPRETATION OF RESULTS

"Slightly shaking" at Tube Centrifugation Method.

Positive result (+): visible agglutination of erythrocytes indicates the presence of the corresponding antigen.

Negative result (-): no visible agglutination of erythrocytes indicates the absence of the corresponding antigen.

LIMITATION OF THE PROCEDURE

1. The "Procedure" and "Interpretation of Results" sections must be followed closely to assure the accuracy of the test results.
2. No valid conclusion concerning the test result can be obtained, if controls with unclear or false results should 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 samples should not be used.
5. Due to variability of free H-substance on human red blood cells, reactivity of the reagent 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 not suitable for this test procedure.

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

SYMBOL - LEGENDE

 Store from - to	REF	Product Code	 Expiration Date	 Manufacturer according to 98/79/EU			
LOT	Lot	CLON	Clone(s)	IVD	In vitro diagnostic medical device	CE	EU CE-symbol
UDI	Unique Device Identification		Consult Instrucion for use				

730-22-2108 Version 008 / 15.8.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Germany

 +49 (0) 6223/ 8661-0  +49 (0) 6223/ 8661-13  gara@antitoxin-gmbh.de



ISTRUZIONI PER L'USO

Anti-H (A2), monoclonal IgM (mouse) OrthoClone

REF 690091A

USO PREVISTO

Il reagente monoclonale agglutinante anti-H (A2) è preparato da supernatanti di colture cellulari di una linea cellulare di ibridoma che secreta anticorpi di tipo IgM che reagisce specificamente con la sostanza H. Il reagente viene impiegato per l'analisi qualitativa in vitro della presenza o assenza di sostanza H libera su eritrociti umani e serve dunque a differenziare i gruppi sanguigni A1 e A2. Nel caso gruppo A1A1 la sostanza H è completamente bloccata, nei tipi A1B, A1O e soprattutto BO possono ancora rimanere minimi residui di sostanza H e verificarsi deboli reazioni. Forti reazioni si verificano con i gruppi sanguigni A2 o varianti A ancora più deboli. Per definizione, la reazione più marcata si ha con i gruppi O.

L'uso di questo antisiero deve essere fatto solamente da personale tecnico qualificato.

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

Il metodo utilizzato con questo reagente sono basate sul principio dell'agglutinazione. Gli eritrociti umani normali con sostanza H libera vengono agglutinati dall'anticorpo corrispondente.

REAGENTI

Il reagente del gruppo sanguigno indicato contiene anticorpi del seguente clone:

Anti-H monoclonale, mouse IgM clone: 10934C11

Il reagente contiene <0.1% (w/v) di azoturo di sodio come conservante. Oltre al componente anticorpale attivo, il siero di prova contiene cloruro di sodio, macromolecole ed albumina bovina, che sono stati testati e certificati dagli ispettori del servizio veterinario statunitense.

AVVERTENZE: Questo reagente è preparato da sovranatanti di colture cellulari. Come tutti i prodotti biologici deve essere trattato come materiale potenzialmente infettivo a causa della impossibilità di escludere totalmente il pericolo di trasmissione di malattie. Il reagente contiene Sodio Azide, possono essere tossici e possono reagire con piombo o rame formando sali ad alto potenziale esplosivo. Durante lo smaltimento, sciacquare abbondantemente con acqua. Per i motivi di cui sopra questo siero debbono essere maneggiati con estrema cura.

CONSERVAZIONE

Conservare (chiuso non ancora usato/chiuso già usato) da +2 ad +8 °C. Tenere a temperatura ambiente mentre è in uso. Conservare ed utilizzare il reagente solamente fino alla data di scadenza segnalata.

NOTE

1. Con ogni test devono essere eseguiti controlli positivi e negativi.
2. Una conservazione inadeguata compromette l'efficacia del reagente.
3. La debole torbidità del reagente non influisce sulla sua reattività. Evitare la contaminazione batterica e chimica del prodotto. Se viene rilevato un cambiamento visibile, interrompere l'uso del reagente. Potrebbe trattarsi di un segno di contaminazione microbiologica.
4. La forza delle reazioni positive dipende anche dall'età del sangue usato.
5. Una centrifugazione molto differente da quella consigliata può causare risultati non adeguati.
6. Il metodo di test per l'uso descritti valgono esclusivamente per metodo manuale. Qualora impieghino sistemi automatici o semiautomatici, i laboratori sono tenuti a seguire le istruzioni del produttore del dispositivo e a eseguire le convalide secondo procedimenti riconosciuti.
7. Per l'utilizzo di questo reagente è necessario rispettare tutte le leggi, direttive e linee guida nazionali vigenti nella versione corrente. In Germania in particolare le "Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten Hämotherapie"¹.

PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

1. I campioni di sangue devono essere raccolti secondo una procedura medica approvata.
2. I campioni di sangue da testare devono essere utilizzati il prima possibile. Dopo il prelievo di sangue, in modo da ridurre il rischio di risultati falsi positivi e falsi negativi a causa della conservazione inadeguata o della contaminazione dei reagenti.
Se si verifica un ritardo nel test, i campioni devono essere conservati a una temperatura compresa tra +2 e +8°C.
I campioni di sangue anticoagulati con EDTA devono essere analizzati entro 7 giorni e quelli trattati con citrato di sodio entro 14 giorni dal prelievo.
Sacca di sangue / Il sangue del donatore può essere testato entro la data di scadenza.

PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Non è richiesta alcuna preparazione del reagente. Il siero vengono prelevati direttamente dalle provette e utilizzati.

PROCEDURA

Materiale necessario ma non fornito

Metodo in Provetta con Centrifugazione

1. Provette, 10 x 75 mm o 12 x 75 mm
2. Micropipetta da 50 µL/100 µL
3. Puntali per micro-pipetta
4. Timer
5. Centrifuga
6. Soluzione fisiologica Isotonica (0,85 - 0,9% Cloruro di Sodio)

Procedura del test

Metodo in Provetta con Centrifugazione

1. Preparare sospensioni di emazie al 2 - 5% in soluzione fisiologica (è possibile lavare preventivamente gli eritrociti 1-3 volte con soluzione salina isotonica).
2. Posizionare 100 µL (in alternativa una goccia, ca. 50 µL) del reagente in una provetta.
3. Posizionare 100 µL (in alternativa una goccia, ca. 50 µL) della appropriata sospensione eritrocitaria alla provetta.
4. Miscelare bene con delicatezza.
5. Incubare la provetta a temperatura ambiente per 15 Minuti.
6. Centrifugare 1 Minuto a 2.000 rpm (ca. 800 - 1.000 g).
7. Staccare completamente le cellule dal fondo della provetta scuotendole delicatamente ed esaminarle macroscopicamente per agglutinazione entro 3 Minuti.
8. Registrare il risultato.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Metodo in Provetta con Centrifugazione "Agitazione delicata":

Risultati positivi (+): L'agglutinazione visibile delle emazie è un risultato positivo ed indica la presenza del corrispondente antigene.

Risultati negativi (-): Una agglutinazione non visibile degli eritrociti è un risultato negativo ed indica l'assenza di antigeni corrispondenti.

LIMITI DELLA PROCEDURA

1. Il mancato rispetto delle istruzioni riportate nella sezione "Procedura" ed "Interpretazione dei risultati" può produrre risultati non corretti.
2. Nessuna conclusione valida concernente i risultati può essere raggiunta, se i risultati dei controlli sono dubbi o non conformi all'atteso.
3. Gli eritrociti trattati con enzimi o l'aggiunta di albumina bovina e/o altre soluzioni proteiche possono dare luogo a reazioni aspecifiche.
4. Campioni di sangue emolizzati, torbidi, contaminati o coagulati non possono essere impiegati nel test.
5. A causa delle diverse caratteristiche assenza di sostanza H libera su eritrociti umani, è possibile che in determinati fenotipi questo siero determini una reazione più debole che con eritrociti di controllo.
6. Non è possibile garantire l'esistenza di un antisiero o di una tecnica specifica per rilevare tutti gli antigeni varianti, deboli o rari.²
7. Gli eritrociti sensibilizzati con allo o auto-anticorpi della stessa o di simile specificità del reagente appropriata (ad es., emazie che sono positive al Test dell'Antiglobulina Diretta (TAD)) non sono idonei per essere testati con questa procedura

LETTERATURA

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.

SIMBOLI

 Conservare da..... a..... °C	REF	Art.- N° Articolo	 Data di scadenza	 Fornitore 98/79/EU		
LOT	Codice lotto	CLON	Clone	IVD	In-Vitro-Diagnostic	 EU CE-symbol
UDI	Unique Device Identification		Osservare le istruzioni per l'uso			

730-22-2108 Versione 008 / 15.08.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Germania

 +49 (0) 6223/ 8661-0  +49 (0) 6223/ 8661-13  gara@antitoxin-gmbh.de