

GEBRAUCHSANWEISUNG

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

REF 690091A

ZWECKBESTIMMUNG

Monoklonal agglutinierendes Anti-H -Testserum wird aus Zellkulturüberständen einer Hybridoma-Zelllinie gewonnen, die Antikörper vom IgM Typus sezerniert. Der Antikörper reagiert spezifisch mit H-Substanz. Das Testserum wird zur Bestimmung 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 das entsprechende Antigen tragen, werden durch den korrespondierenden Antikörper agglutiniert.

TESTSEREN

Das aufgeführte Blutgruppentestserum wird aus folgendem Klon hergestellt:

Anti-H monoklonal, Maus IgM (Klon: 10934C11)

Das Testserum enthält als Konservierungsmittel <0,1% (w/v) Natriumazid. Außer dem aktiven Antikörper-Bestandteil beinhaltet das Testserum Natriumchlorid, hochmolekulare Verbindungen und Rinderalbumin.

WARNUNG: Dieses Testserum wurde 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 diesen Gründen sollte dieses Testserum mit angemessener Sorgfalt gehandhabt werden.

LAGERUNG

Bei +2 bis +8 °C (ungeöffnet / angebrochen) lagern, kurzzeitig zur Anwendung auch bei Raumtemperatur (+15 bis +30 °C). Grundsätzlich nur bis zum angegebenen Verfallsdatum lagern und anwenden!

HINWEISE

- Die Stärke der positiven Reaktion ist vom Alter des verwendeten Blutes abhängig.
- Es sollten bei jeder Austestung positive und negative Kontrollen mitgeführt werden.
- Unsachgemäße Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit des Produktes.
- Zentrifugieren außerhalb des angegebenen Drehzahl-Bereiches kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Das auszutestende Blut sollte möglichst rasch geprüft werden. Nicht sofort getestetes Blut ist bei +2 bis +8 °C zu lagern. Mit EDTA oder Natriumzitrat antikoagulierte Blutproben müssen innerhalb von 14 Tagen getestet werden.
- Das beschriebene Verfahren zur Anwendung gilt ausschließlich für manuelle Methoden. Werden Automaten oder halbautomatische Systeme verwendet, müssen die Laboratorien die Angaben der Gerätehersteller befolgen und Validierungen nach anerkannten Verfahren durchführen.
- Bei der Anwendung des Testserums sind alle gültigen nationalen Gesetze, Verordnungen und Richtlinien zu beachten, in Deutschland insbesondere die „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“ in ihrer gültigen Fassung.

VORBEREITUNG DER TESTSEREN

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

VERFAHRENSWEISE

Nicht im Lieferumfang enthaltene, aber benötigte Materialien:

bei der Röhrchenmethode:

- Teströhrchen, 10 x 75 mm oder 12 x 75 mm
- Mikroliterpipette für 50µL/100 µL
- Zentrifuge
- Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)
- Einweg Pipettenspitzen

Testdurchführung

Röhrchen-Zentrifugationstest

- Nur 2-5%ige Erythrozytensuspension in isotonischer Kochsalzlösung (ein- bis dreimal gewaschen mit isotonischer Kochsalzlösung) verwenden.
- In jedes Teströhrchen 100 µL (alternativ je einen Tropfen, ca. 50 µL) des Testserums geben.
- Geben Sie zu jedem Teströhrchen 100 µL (alternativ je einen Tropfen, ca. 50 µL) der entsprechenden Erythrozytensuspension.
- Die Erythrozyten-/Reagenzienmischungen durch leichtes Schütteln vermischen.
- Teströhrchen 15 Minuten bei Raumtemperatur (+15 bis +30 °C) inkubieren.
- Teströhrchen 1 Minute bei 2.000 U/min (ca. 800 – 1.000 g) zentrifugieren.
- Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig resuspendieren und innerhalb von 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination untersuchen. Ergebnisse 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

- Ungenauigkeiten bei der Einhaltung der Anweisungen in den Abschnitten „Testdurchführung“ und „Interpretation der Testergebnisse“ können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Mitgeführte Kontrollen mit nicht eindeutigen oder falschen Ergebnissen führen automatisch zur nicht Verwertbarkeit aller Ergebnisse.
- Enzymbehandelte Erythrozyten können mit diesen Reagenzien unspezifisch reagieren.
- Auf Grund der unterschiedlichen Ausprägung der Antigene kann es bei bestimmten Phänotypen mit diesen Reagenzien zu einer schwächeren Reaktion kommen als mit Kontrollerythrozyten.
- Bei Erythrozyten, die mit Alloantikörpern oder Autoantikörpern derselben oder einer ähnlichen Spezifität wie das Reagenz sensibilisiert sind (z.B. Erythrozyten positiv im direkten Antiglobulintest), kann es zu schwach ausgeprägten Reaktionen kommen. In äußerst seltenen Fällen kann es zu falsch-negativen Resultaten kommen.

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



INSTRUCTIONS FOR USE

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

REF 690091A

INTENDED USE

Monoclonal agglutinating Anti-H reagent is produced from cell culture supernatants of a hybridoma cell line. The cells secrete an antibody of IgM-type that reacts specifically with H-substance. The test serum is used to differentiate red blood cells into type A1 or A2. There is no free H-substance on A1 A1-bloods. A1B-, A1O- and especially BO-types have residual amounts of H-substance and show weak reactions with Anti-H. Strong reactions occur with A2-types or weaker A-types. 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 procedure used with this reagent is based on the principle of agglutination. Normal human erythrocytes, possessing the corresponding antigen, will agglutinate in the presence of the specific antibody directed towards the antigen.

REAGENT

The listed reagent contains antibodies of the following cell clone:

Anti- H monoclonal, mouse IgM (Clone: 10934C11).

The reagent contains <0.1% (w/v) sodium azide as preservative. Additionally the reagent is comprised of active antibody, sodium chloride, macromolecules and bovine albumin.

CAUTION: Please handle reagent with proper care: This reagent is prepared from supernatants of cell cultures. Handle this biological product as if capable of transmitting infectious agents. The reagent contains sodium azide, which may be toxic and may react with lead or copper to form highly explosive salts. On disposal, flush with large quantities of water.

STORAGE REQUIREMENTS

Store at +2 to +8 °C (unopened / opened), or at room temperature (+15 to +30 °C) while in use. Do not use reagent beyond its labelled expiration date.

REMARKS

1. Strength of positive reactions also depends on the age of blood used.
2. With each testing positive and negative controls should be performed.
3. Inappropriate storage impairs efficacy of the reagent.
4. Overcentrifugation or undercentrifugation may lead to false results.
5. Blood samples should be tested as soon as possible. If a delay in testing occurs, samples should be stored at +2 to +8 °C. Blood drawn into sodium citrate or EDTA should be tested within 14 days.
6. The procedure 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 to demonstrate compatibility of this product on automated systems.
7. For usage of this reagent all effective national laws, directives and guidelines must be followed.
[In Germany especially: „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“.]

REAGENT PREPARATION

There is no specific preparation of the reagent required. Use reagent directly from the vial.

PROCEDURE

Materials required but not provided:

At 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. Centrifuge
4. Isotonic saline (0.85 – 0.9% sodium chloride)
5. Disposable pipette tips

Test procedure

Tube Centrifugation Method

1. Use a 2% to 5% suspension of red blood cells in isotonic saline only (cells washed one time or up to three times with isotonic saline).
2. Add 100 µL (alternative: one drop, approximately 50 µL) of reagent to each tube.
3. Add 100 µL (alternative: one drop, approximately 50 µL) of appropriate cell suspension to each tube.
4. Mix well by shaking slightly.
5. Incubate tube at room temperature (+15 to +30 °C) for 15 min.
6. Centrifugation of tube for 1 minute at 2.000 rpm (approximately 800 – 1.000 g).
7. Resuspend the red cells by gently agitation and within 3 minutes check macroscopically for agglutination. Document the results.

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.

LIMITATIONS 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 may react unspecifically.
4. Due to variability of antigen expression, reactivity of this reagent against certain phenotypes may produce a weaker reaction compared to control cells.
5. Red blood cells coated with alloantibodies or autoantibodies of the same or similar specificity as the reagent (i.e., cells that are positive in the direct antiglobulin-test [DAT]) may give weak reactions. In extreme cases, false-negative results may occur.

SYMBOL - LEGENDE

	Store from - to	REF	Product Code		Expiration Date		Manufacturer as to 98/79/EU
LOT	Lot	CLON	Clone(s)	IVD	In vitro diagnostic medical device		EU CE-symbol

**SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO**

Per test in Provetta

ISTRUZIONI PER L'USO

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

REF 690091A

USO PREVISTO

L'antisiero agglutinante Anti-H è preparato da sovranatanti di colture cellulari di linee cellulari di etero-ibridomi. Le cellule secernono un anticorpo di tipo IgM, che reagisce specificamente con la sostanza H. L'antisiero è utilizzato per determinare se gli eritrociti siano di tipo A1 o A2. Non c'è sostanza H libera su A1 A1 e A1B oppure A1O; gli eritrociti di gruppo BO hanno quantità residue di sostanza H e mostrano debole reattività con l'Anti-H. Reazioni forti si hanno invece con tipi A2 o gruppi deboli A. Le reazioni più forti si hanno con sangue di gruppo O. L'uso di questo antisiero deve essere fatto solamente da personale tecnico qualificato.

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

Le Procedure utilizzate con questo reagente sono basate sul principio dell'agglutinazione. Gli eritrociti umani, che possiedono il corrispondente antigene, agglutinano in presenza dello specifico anticorpo diretto contro l'antigene.

REAGENTI

Il reagente è prodotto da anticorpi del seguente clone cellulare:

Anti-H monoclonale, topo IgM (Clone: 10934C11)

Il reagente contiene <0.1% (w/v) di Sodio Azide come conservante. In aggiunta il reagente contiene anticorpo attivo, cloruro di sodio, macromolecole ed albumina bovina.

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 questi motivi debbono essere maneggiati con estrema cura.

CONSERVAZIONE

Conservare (chiuso non ancora usato/chiuso già usato) da +2 ad +8 °C. Tenere a temperatura di laboratorio (da +15 a +30 °C) mentre è in uso. Conservare ed utilizzare il reagente solamente fino alla data di scadenza segnalata.

NOTE

1. Il grado di reazione positiva dipende anche dal periodo di conservazione del campione utilizzato.
2. In ogni seduta di test devono essere eseguiti controlli positivi e negativi.
3. Una conservazione inadeguata diminuisce l'efficacia del reagente.
4. Una centrifugazione molto differente da quella consigliata può causare risultati non adeguati.
5. I campioni di sangue da testare devono essere testati prima possibile. Se sono testati in tempi successivi, devono essere conservati tra +2 ed +8 °C. Il sangue prelevato in eparina od ossalato deve essere testato entro due giorni dal prelievo. Il sangue prelevato in Sodio Citrato o in EDTA deve essere testato entro 14 giorni dal prelievo.
6. Le procedure sotto descritte si riferiscono all'esecuzione manuale dei test. Utilizzando strumentazioni automatiche, seguire le procedure indicate nei manuali forniti dal produttore dello strumento. I laboratori devono seguire procedure di validazione approvate per dimostrare la compatibilità di questo prodotto con i sistemi automatici.
7. Per l'uso di questo antisiero va osservate tutte le leggi nazionali, direttive e linee guida in vigore. Ad esempio in Germania la „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“.

PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Non è richiesta alcuna preparazione del reagente. Utilizzare direttamente il reagente dai flaconi.

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. Centrifuga
4. Soluzione fisiologica Isotonica (0,85 - 0,9% Cloruro di Sodio)
5. Puntali per micro-pipetta

Procedura del test

Metodo in Provetta con Centrifugazione

1. Usare solamente una sospensione di emazie al 2 - 5% in soluzione fisiologica (emazie lavate da una a tre volte con soluzione fisiologica).
2. Porre 100 µL (in alternativa una goccia, ca. 50 µL) del reagente in ogni provetta.
3. Aggiungere 100 µL (in alternativa una goccia, ca. 50 µL) della appropriata sospensione eritrocitaria in ogni provetta.
4. Miscelare bene con delicatezza.
5. Incubare la provetta a temperatura ambiente (da +15 a +30 °C) per 15 Minuti.
6. Centrifugare 1 Minuto a 2.000 rpm (ca. 800 - 1.000 g).
7. Risospendere delicatamente le emazie e verificare macroscopicamente per agglutinazione entro 3 Minuti. 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 „Procedure“ 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 enzima possono reagire aspecificamente.
4. A causa della variabilità degli antigeni, la reattività di questo reagente verso alcuni fenotipi potrebbe dare reazioni più deboli rispetto a quelle ottenute con le emazie di controllo.
5. Le emazie rivestite con allo o auto-anticorpi della stessa o di specificità simile a quella del reagente (ad esempio emazie positive al test di Coombs diretto (TCD)) possono dare reazioni deboli. In casi estremi, si possono riscontrare risultati falsamente negativi.

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