



Data-Cyte® Plus Reagent Red Blood Cells 3±1%

U.S. Licence No. 1740

*For use in the identification of unexpected antibodies**For in vitro diagnostic use*

IVD

Summary and Principle

Careful and complete identification of an unexpected antibody is important in the diagnosis and treatment of hemolytic disease of the newborn (HDN) and certain blood dyscrasias, as well as in the prevention of transfusion reactions due to infusion of incompatible Red Blood Cells. Most clinically significant antibodies can be identified by agglutination in routine procedures using Reagent Red Blood Cells of known antigenic constitution.^{1,2}

Data-Cyte® Plus Reagent Red Blood Cells is a panel of suspensions of group O Red Blood Cells from 11 individual donors. These donor Red Blood Cells differ in antigenic configuration and are selected to enable identification of most single antibodies, as well as a majority of frequently found combinations of antibodies. The presence or absence of antigens of each of the major blood group systems is indicated for each of the 11 Red Blood Cells on the antigenic constitution matrix accompanying the product. Data-Cyte® Plus may be utilized in the commonly accepted antibody identification techniques.

Antibodies react with Red Blood Cells possessing the corresponding antigenic determinants. These antibodies may agglutinate Red Blood Cells in saline, low ionic strength solution (LISS), high protein media, or antiglobulin testing. Following this principle, an antibody may be identified by its pattern of reactivity with a panel of human Red Blood Cells whose antigenic constitution is known.

Reagent

Data-Cyte® Plus Reagent Red Blood Cells: a panel of 11 individual group O human Red Blood Cells samples, 3±1% suspensions in isotonic medium with added buffers (bicarbonate and phosphate) and preservatives (0.03% neomycin and 0.05% chloramphenicol). The suspending medium contains no ingredients to inhibit complement mediated hemolysis. Frozen/thawed Red Blood Cells may have been used in this product. No U.S. standard of potency. Meets other FDA requirements.

Store at 2–8°C. **Do not freeze.** If stored appropriately at 2–8°C the product is stable after the first opening until the indicated expiration date. Resuspend by gentle inversion immediately prior to use. Reagent Red Blood Cells are ready to use; washing Reagent Red Blood Cells before use is optional. Indication of deterioration: notable hemolysis (which may be caused by microbial contamination or improper handling), darkening of Reagent Red Blood Cells or spontaneous clumping. The reactivity of the product may diminish during the dating period.

Caution: All blood products should be treated as potentially infectious. Source material from which this product was derived was found negative when tested in accordance with current FDA required tests. No known test methods can offer assurance that products derived from human blood will not transmit infectious agents.

The pipette of the vial contains natural rubber latex which may cause allergic reactions.

Specimen Collection and Preparation

No special preparation of the patient is required prior to specimen collection. Serum from freshly clotted blood is preferred. For optimum test results, serum should be stored at 2–8°C no longer than 48 hours prior to testing; however, serum may be frozen at -20 to -80°C and tested at a later time if necessary. Plasma samples may be used, however, use of plasma may result in failure to detect complement dependent antibodies due to its low complement activity.^{1,2}

Procedure

Reagent Provided

Data-Cyte® Plus Reagent Red Blood Cells, 3±1%, panel of 11 Red Blood Cells samples.

Materials Required but Not Provided

1. Disposable test tubes (12 x 75 mm or 10 x 75 mm)
2. Physiologic saline
3. Anti-human globulin
4. Potentiator
5. Enzyme reagent required for Saline/Enzyme Procedure only
6. Coombs control cells
7. Control serum for quality control
8. Optical aid³
9. Centrifuge (calibrated for 1000 rcf* or 150 rcf*)
10. Waterbath or heating block at 37°C
11. Timer
12. Pipettes

Procedure Outline

The Data-Cyte® Plus panel is uniquely designed so that it may be used either independently or in conjunction with reagent antibody screening cells. When combined with the results from screening cells and auto-control, only the first four Red Blood Cells of Data-Cyte® Plus panel need be used to provide preliminary identification of the most common Red Blood Cell antibodies. If the antibody cannot be clearly identified using this "mini-panel," the remaining Red Blood Cells of the panel and selected additional Red Blood Cells (if required) may be used to complete the identification.

Note: If a potentiator is to be used, follow manufacturer's instructions for preparation and testing of samples instead of the procedure suggested below.

1. Place 2 or more drops of the patient or donor serum in a tube for each Reagent Red Blood Cells to be tested.
2. Add 1 drop of each Data-Cyte® Plus Reagent Red Blood Cells suspension to the appropriate tube.
3. Shake all tubes to mix reagents.
4. If immediate spin testing is desired, centrifuge for 15–20 seconds at approximately 1000 rcf* (1 minute at approximately 150 rcf*) or time appropriate to the calibration of the centrifuge.
5. Gently resuspend Red Blood Cells completely and examine immediately for agglutination or hemolysis.³ Grade and record results.

Indirect Antiglobulin Test

6. Incubate at 37°C for 15–60 minutes or according to directions for the potentiator used.
7. Immediately centrifuge, examine and interpret as in Steps 4 and 5. Record results 37°C testing.
8. Fill each tube with physiologic saline added in a forceful stream. Centrifuge to pack Red Blood Cells. Carefully decant supernatant. Shake to resuspend Red Blood Cells.
9. Repeat Step 8 twice for a total of 3 washings.
10. Add anti-human globulin to each tube according to manufacturer's instructions and shake to mix.
11. Centrifuge, examine and interpret as in Step 4 and 5. Grade and record results.
12. Negative reactions obtained with anti-human globulin should be tested by adding 1 drop of IgG-sensitized cells.

Note: The reactions should be interpreted immediately after centrifugation due to the possibility of dissociation of the antigen-antibody complex.

Saline Room Temperature – Low Temperature

6. Incubate at room temperature (20–25°C) for 15–30 minutes.
7. Centrifuge, examine and interpret as in Steps 4 and 5. Grade and record results.
8. If detection of cold agglutinins is desired, incubate tubes at 5°C for 5–15 minutes. Then centrifuge, examine and interpret as in Step 4 and 5. Grade and record results of low temperature testing.

*rcf = 0.00001118 x rotating radius (cm) x rpm²

Quality Control

Depending on national regulations for quality control

1. a known relatively weak IgG reactive antibody should be tested with a different Data-Cyte® Plus suspension each day the Reagent Red Blood Cells are in use to assure continuous reactivity of the Reagent Red Blood Cells. This testing may be conveniently performed using Blood Bank Quality Assurance (BBQAll) Testing Reagents, available from Medion Diagnostics AG or
2. (common practice in Europe) a control reagent containing a blend of weak Rh antibodies should be run in parallel with each series of tests (Sero-Control is available in Europe from Medion Diagnostics AG).

Use of an autocontrol is recommended to help distinguish between autoantibodies and alloantibodies.²

To ensure proper centrifugation, each individual centrifuge should be calibrated for the specific test procedure being performed. Red Blood Cells should be packed firmly, but negative control Red Blood Cells should resuspend easily.⁴

Results

Agglutination and/or hemolysis (positive reaction) in one or more Data-Cyte® Plus tubes at any phase of the test procedure prior to the addition of Coombs control cells indicates the presence of unexpected antibodies. Such antibodies are usually directed against the known antigens present on the panel Red Blood Cells, but may be directed against an antigen not indicated on the antigenic constitution matrix.

The lack of both agglutination and hemolysis (negative reaction) in the test procedure indicates the absence of antibodies to antigens contained on the Reagent Red Blood Cells.

Interpretation

Identification of the antibody(ies) present may be conveniently performed by the "crossing out" method using the antigenic constitution matrix accompanying the lot of Data-Cyte® Plus Reagent Red Blood Cells.

1. Choose the first Red Blood Cells giving a negative reaction at all phases of testing. Cross out all antigenic determinants present on that Red Blood Cells.
2. Repeat Step 1 for all other negative Red Blood Cells.
3. Circle remaining antigens.
 - a. If only one antigen is circled, check to see that all Red Blood Cells which reacted possess the antigen. If so, the antibody is probably directed against that antigen and can be identified as such.
 - b. If several antigens are circled, check to see if any one of those antigens is present on all the reacting Red Blood Cells. If so, additional Red Blood Cells lacking that antigen, but possessing the others circled, should be tested to determine if multiple antibodies are present.
 - c. Antigen typings on patient/donor Red Blood Cells may be useful to rule out antibodies.
 - d. If high incidence antibodies or multiple antibodies are present, all Red Blood Cells may be agglutinated. A reference laboratory should be consulted if rare Red Blood Cells are not available for testing.

If the autocontrol is positive, the serum may contain autoantibody and further testing may be indicated.²

Limitations of Procedure

A 15-minute incubation at 37°C may not be adequate to detect some weak blood group antibodies if no potentiating medium is added to the test system. Red Blood Cells having low frequency antigens, a double dose of antigen may be required to detect very weakly reacting antibodies; therefore, negative reactions with panel Red Blood Cells do not always indicate absence of unexpected antibodies in the serum under test. Because of the high incidence of the Fy^a gene in the black population, it cannot be assumed that the phenotypes Fy (a+b-) and Fy (a-b+) in black donors represent homozygous expressions of the Fy^a or Fy^b genes⁵. If antibodies to high incidence antigens or multiple antibodies are present, all Red Blood Cells may be agglutinated.

As in all serological tests, such factors as contaminated materials, improper incubation time or temperature, improper centrifugation or improper examination for agglutination may give rise to false test results.

False negative results may occur if

1. Red Blood Cells are not properly washed or human globulins are present as contaminants in glassware. These residual globulins will neutralize the globulin-reactive antibodies present in the anti-human globulin.
2. antibody elutes from Red Blood Cells during incubation or washing.
3. Red Blood Cells and/or serum are stored improperly and lose reactivity.
4. anti-human globulin is inadvertently omitted.
5. Red Blood Cells are improperly centrifuged.
6. incubation times and/or temperatures are incorrect for proper Red Blood Cells sensitization.
7. resuspension technique is too vigorous to preserve agglutination of weakly sensitized Red Blood Cells.

False positive results may occur if

1. Red Blood Cells have microbial contamination.
2. Red Blood Cells are improperly centrifuged.
3. antibodies to antibiotics or to other ingredients in the Red Blood Cells suspending medium or in the potentiators used are present in the test serum.
4. incomplete resuspension may counterfeit agglutination.
5. in rare cases, the test serum contains an antibody directed at one of the components of the reagent diluent.

Specific Performance Characteristics

Each lot of Data-Cyte® Plus Reagent Red Blood Cells is carefully prepared to permit detection of antibodies to the selected Red Blood Cells antigens when used as outlined in these procedures.

All antigen typings listed on the antigenic constitution matrix are confirmed using two sources of antiserum except for the following which, due to the rarity of the antibodies, may be tested with only one source if a second source is unavailable: f, V, Lu^a, Js^a, Js^b, Xg^a, Vel, Ge, Yt^a, Di^a, Di^b, and special typings (other antigens).

Unless otherwise indicated, the Red Blood Cells of Data-Cyte® Plus donors have been phenotyped as follows:

Positive: H, I, U, Kp^b, Js^b, Vel, Ge, Yt^a, Di^b

Negative: M^a, Vw, W^a, Di^a

Identified low incidence antigens present are indicated on the antigenic constitution matrix. Direct antiglobulin tests are negative on all Red Blood Cells.

The stability of the product is monitored throughout the dating period.

As with all Red Blood Cells, the reactivity of the product may decrease during the dating period. The rate at which antigen reactivity is lost is partially dependent upon individual donor characteristics that are neither controlled nor predictable by the manufacturer. However, if properly stored when not in use, the reagent can be expected to perform as described throughout its dating.

Bibliography

1. Mollison P.L., Blood transfusion in clinical medicine. 10th Edition: Blackwell Scientific Publications; 1997: Chapter 8.
2. Technical Manual of the American Association of Blood Banks. 14th Edition; 2002, Chapter 19 and 20.
3. Ibidem: Chapter 18, p. 383.
4. Ibidem: Method 8.5, p.765.
5. Ibidem: Chapter 15, p. 325.

Warranty

This product is warranted to perform as described in its labeling and in the product literature and Medion Diagnostics AG disclaims any implied warranty of merchantability or fitness for any other purpose, and in no event shall Medion Diagnostics AG be liable for any consequential damages arising out of the aforesaid express warranty.



Manufacturer



Manufactured by:
Medion Diagnostics AG
Bonnstrasse 9, CH-3186 Düringen/Switzerland
Made in Switzerland

© Copyright 2006, Medion Diagnostics AG
All rights reserved.

Distributed in US by:
Olympus America Inc.
3500 Corporate Parkway
Center Valley, PA, 18034-0610
Customer Service 800 223 0125
Technical Service 800 447 5852

Distributed in US by:
Medion Diagnostics International Corporation
8833 NW 68th Street
Miami, FL 33166, USA
Tel (305) 362 8595
Fax (305) 362 1796

0123

F07797/101 (06.2007)



Data-Cyte® Plus Testerythrozyten 3±1%

U.S.Licence No. 1740

*Zur Identifizierung irregulärer Antikörper**In-Vitro-Diagnostikum***IVD**

Zusammenfassung und Wirkungsprinzip

Die sorgfältige und vollständige Identifizierung irregulärer Antikörper ist von Bedeutung bei der Diagnose und Behandlung hämolytischer Erkrankungen bei Neugeborenen (Morbus haemolyticus neonatorum, M.h.n.) bei gewissen Dyskrasien und bei der Transfusionsvorbereitung zur Verhütung von Transfusionsreaktionen durch inkompatible Erythrozyten. Die meisten klinisch relevanten Antikörper können in den Routineverfahren mit bekannten, antigentypisierten Testerythrozyten identifiziert werden.^{1,2}

Data-Cyte® Plus Testerythrozyten sind ein Panel von 11 verschiedenen Spendern der Blutgruppe 0 (Null). Diese Spenderzellen besitzen unterschiedliche Antigenkonfigurationen und wurden so ausgewählt, daß die meisten einzelnen Antikörper sowie die meisten häufig auftretenden Antikörperkombinationen identifiziert werden können. In welcher Verteilung die Antigene der wichtigsten Blutgruppensysteme vorhanden sind, wird in dem beiliegenden Antigenogramm aufgeführt. Data-Cyte® Plus kann in den allgemein anerkannten Verfahren zur Antikörperidentifizierung eingesetzt werden.

Die Antikörper reagieren mit Erythrozyten, die die entsprechenden Antigene besitzen. Diese Antikörper können im NaCl-Test, mit LISS (low ionic strength solution, eine Lösung mit geringer Ionenkonzentration), mit Medien mit hohem Proteingehalt oder im Antiglobulintest nachgewiesen werden. Somit kann ein Antikörper durch sein Reaktionsverhalten mit einem Panel aus humanen Erythrozyten mit bekannter Antigenkonfiguration identifiziert werden.

Reagenz

Data-Cyte Plus® Testerythrozyten: Ein Panel aus Testerythrozyten von 11 verschiedenen Spendern der Blutgruppe 0 als 3±1%ige Suspensionen in isotonischem Medium mit Puffern (Bikarbonat und Phosphat) und Konservierungsstoffen (0,03% Neomycin und 0,05% Chloramphenicol). Das Suspensionsmedium ist frei von Inhaltsstoffen, die eine komplementabhängige Hämolyse hemmen. Zur Herstellung dieses Produktes können gefrorene/aufgetaute Erythrozyten verwendet worden sein.

Bei 2–8°C lagern. **Nicht einfrieren.** Das Produkt ist nach dem ersten Öffnen bei sachgemäßer Lagerung bei 2–8°C bis zum angegebenen Verfalldatum resuspendierbar. Vor Gebrauch durch vorsichtiges Umdrehen der Fläschchen resuspendieren. Die Zellen sind gebrauchsfertig. Es ist normalerweise nicht erforderlich, die Zellen vor Gebrauch zu waschen. Hinweis auf Verfall: Hämolyse (die durch mikrobielle Kontamination oder unsachgemäße Handhabung hervorgerufen worden sein kann), eine dunkle Verfärbung der Erythrozyten oder spontane Gerinnselbildung. Die Reaktivität des Produkts kann im Lauf der Anwendungszeit auch vor dem Verfalldatum abnehmen.

Zur Beachtung: Alle Blutprodukte sollten als potentiell infektiös behandelt werden. Das zur Herstellung dieses Produktes verwendete Material wurde mit von der amerikanischen Gesundheitsbehörde FDA geforderten, aktuellen Methoden getestet und für negativ befunden. Anhand der bisher bekannten Testverfahren kann bei Produkten aus Humanblut die Übertragung von Infektionserregern nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

Die Pipette des Fläschchens enthält Naturkautschuklatex, das allergische Reaktionen hervorrufen kann.

Probenabnahme und -vorbereitung

Es soll bevorzugt Serum aus frisch koaguliertem Blut verwendet werden. Um optimale Testergebnisse zu erzielen, soll das Serum vor dem Test bei 2–8°C und höchstens 48 Stunden aufbewahrt werden. Das Serum kann jedoch, falls die Untersuchung später durchgeführt werden muß, bei -20° bis -80°C eingefroren werden. **Plasmaproben können verwendet werden, es ist jedoch zu beachten, dass komplementabhängige Antikörper**

per aufgrund einer niedrigen Komplementaktivität im Plasma, nicht nachgewiesen werden können.^{1,2}

Verfahren

Geliefertes Reagenz

Data-Cyte® Plus Testerythrozyten, 3±1%, Panel aus 11 Erythrozytensuspensionen.

Notwendige, jedoch nicht mitgelieferte Materialien

1. Teströhrchen (12 x 75 mm oder 10 x 75 mm)
2. Physiologische Kochsalzlösung
3. Antihumanglobulin Serum
4. VerstärkermEDIUM (Albumin oder LISS)
5. Für kombinierten NaCl/Enzymtest: Enzym
6. Kontrollserum für die Qualitätskontrolle
7. Coombs-Kontrollzellen
8. Zentrifuge (kalibriert auf 1000 RCF* oder 150 RCF*)
9. Wasserbad oder Thermoblock (37°C)
10. Kurzzeitwecker
11. Pipetten
12. evtl. optisches Hilfsmittel (z.B. Mikroskop)³

Testdurchführung

Das Data-Cyte® Plus Panel ist so konzipiert, daß es sowohl allein, als auch zusätzlich zu den Antikörpersuchzellen verwendet werden kann. Bei einer Kombination mit den Ergebnissen der Suchzellen und der Eigenkontrolle müssen nur die ersten vier Zellen des Data-Cyte® Plus Panels verwendet werden, um eine schnelle Identifizierung der häufigsten erythrozytären Antikörper zu ermöglichen. Kann der Antikörper mit diesem "Mini-Panel" nicht eindeutig identifiziert werden, so sind die verbleibenden Zellen des Panels und falls erforderlich weitere ausgewählte Zellen zu verwenden, um die Identifizierung durchzuführen.

Hinweis: Bei Verwendung eines VerstärkermEDIUMs sollen an Stelle der unten beschriebenen Verfahrensweise die Herstellerangaben zur Testdurchführung beachtet werden.

1. Die Teströhrchen beschriften.
2. In jedes Röhrchen zwei Tropfen Probanden-Serum pipettieren.
3. Einen Tropfen der entsprechenden Data-Cyte® Plus Zellsuspension zufügen.
4. Durch Schütteln mischen.
5. Falls ein sofortiges Zentrifugieren erwünscht ist, 15–20 Sekunden bei ca. 1000 RCF* (1 Minute bei ca. 150 RCF*) oder entsprechend der eigenen Kalibrierung zentrifugieren.
6. Das Sediment sorgfältig aufschütteln und auf Hämolyse und Agglutination prüfen.³
7. Die Testergebnisse ablesen und dokumentieren.

Indirekter Antihumanglobulintest (Coombs-Test)

8. Die Testansätze entsprechend der Herstellerangaben des VerstärkermEDIUMs 15–60 Minuten bei 37°C inkubieren.
9. Zentrifugieren (siehe Punkt 5), ablesen und protokollieren.
10. Die Testansätze dreimal mit physiologischer Kochsalzlösung waschen.
11. Antihumanglobulin entsprechend der Herstellerangaben zufügen und durch Schütteln mischen.
12. Zentrifugieren, die Ergebnisse ablesen und dokumentieren.
13. Die Testansätze mit negativen Reaktionen im Antihumanglobulintest durch Zugabe von Coombs-Kontrollzellen auf Richtigkeit prüfen.

Hinweis: Die Testansätze sollten sofort nach dem Zentrifugieren abgelesen werden, da sich Antigen-Antikörperkomplexe wieder auflösen können.

NaCl-Test bei Raumtemperatur und 5°C

8. Die Testansätze 15–30 Minuten bei Raumtemperatur (20–25°C) inkubieren.

*RCF = 0,0001118 x Rotationsradius (cm) x rpm²

RCF = relative Zentrifugalkraft; rpm = Umdrehungen/min.

- Zentrifugieren, ablesen und dokumentieren.
- Ist der Nachweis von schwachen kältewirksamen Antikörpern gewünscht, die Testansätze 5–15 Minuten bei 5°C inkubieren, dann zentrifugieren, ablesen und dokumentieren.

Qualitätskontrolle

Je nach den national gültigen Richtlinien zur Qualitätskontrolle sollte

- ein bekannter, relativ schwacher IgG-Antikörper an jedem Tag an dem Data-Cyte-Zellen in Gebrauch sind, mit verschiedenen Zellsuspensionen angesetzt werden, um die Funktionsfähigkeit der Zellen zu überprüfen oder
- (üblich in Europa) ein Kontrollserum mit einer Mischung von schwach reagierenden Rh-Antikörpern parallel zum Testansatz mitgeführt werden (Sero-Control erhältlich von Medion Diagnostics AG).

Die Eigenkontrolle wird zur Erkennung von Auto-Antikörpern eingesetzt.²

Für eine ordnungsgemäße Zentrifugation sollte jede einzelne Zentrifuge für das spezielle Testverfahren kalibriert werden. Nach dem Zentrifugieren sollen die Zellen dicht gepackt sein, jedoch sollen sich bekannt negativ reagierende Zellen leicht resuspendieren lassen.⁴

Ergebnisse

Eine Agglutination und/oder Hämolyse (positive Reaktion) in einer der Testphasen mit einer oder mit mehreren Data-Cyte® Plus Zellen zeigt an, daß irreguläre Antikörper vorhanden sind. Diese Antikörper sind in der Regel gegen bekannte Antigene auf den Panelzellen gerichtet. Es kann jedoch auch vorkommen, daß Antikörper gegen Antigene gerichtet sind, welche nicht im Antigenogramm aufgeführt sind. Treten weder Agglutination noch Hämolyse auf (negative Reaktion), so bedeutet dies, daß keine Antikörper gegen die auf den Testerythrozyten vorhandenen Antigene vorliegen.

Interpretation der Ergebnisse

Eine Identifizierung des/der vorhandenen Antikörper kann mit dem Antigenogramm (das jeder Charge Data-Cyte® Plus Testerythrozyten beiliegt) in der Ausreichtechnik durchgeführt werden.

- Wählen Sie die erste Zelle, die in allen Testphasen ein negatives Ergebnis hatte. Streichen Sie auf dem Antigenogramm alle Merkmale aus, die bei dieser Zelle als positiv markiert sind.
- Wiederholen Sie Punkt 1 bei allen weiteren negativen Zellen.
- Markieren Sie die übriggebliebenen Antigene.
 - Ist nur ein Antigen markiert, so überprüfen Sie, ob alle positiv reagierenden Zellen dieses Antigen besitzen. Ist dies der Fall, so ist der Antikörper gegen dieses Antigen gerichtet und kann identifiziert werden.
 - Würden mehrere Antigene markiert, so überprüfen Sie, ob sich eines dieser Antigene auf allen Zellen mit positivem Ergebnis befindet. Trifft dies zu, so sollen zusätzliche Zellen, denen dieses Antigen fehlt, getestet werden, um festzustellen, ob weitere Antikörper vorhanden sind.
 - Eine Antigenotypisierung von Patienten-/Spendererythrozyten kann für den Ausschluß von Antikörpern nützlich sein.
 - Treten Antikörper gegen Antigene mit hoher Frequenz oder mehrere Antikörper auf, so sind möglicherweise alle Zellen agglutiniert. Falls keine sogenannten seltenen Zellen für die weitere Abklärung zur Verfügung stehen, sollte ein Referenzlabor eingeschaltet werden.

Eine positive Eigenkontrolle kann durch Auto-Antikörper bedingt sein; in diesem Fall können weitere Untersuchungen notwendig sein.²

Grenzen des Verfahrens

Im indirekten Antihumanglobulintest ohne Verstärkermedien ist eine Inkubationszeit von 15 Minuten oft nicht ausreichend, um schwache Blutgruppen-Antikörper der IgG-Klasse nachzuweisen. Bei Erythrozyten mit geringer Antigendichte wird für den Nachweis sehr schwach reagierender Antikörper empfohlen, Zellen mit doppelter Antigenmenge (Homozygotie der Merkmale) zu verwenden. Liegen Antikörper gegen selten vorkommende Antigene vor, sind entsprechend seltene Testzellen zur Identifizierung notwendig. Demzufolge kann bei negativen Reaktionen mit Panelzellen nicht immer davon ausgegangen werden, daß sich im getesteten Serum keine irregulären Antikörper befinden. Durch das gehäufte Auftreten des Fy^a Gens in der schwarzen Bevölkerung kann nicht davon ausgegangen werden, daß die Phänotypen Fy (a+b-) und Fy (a+b+) bei schwarzen Spendern homozygote Ausprägungen der Fy^a oder Fy^b Gene darstellen.³ Falls Antikörper gegen Antigene mit hoher Frequenz oder mehrere Antikörperspezifitäten vorhanden sind, können alle Testzellen agglutiniert werden.

Wie bei allen serologischen Tests können Faktoren wie kontaminiertes Material, falsche Inkubationszeit oder Temperatur, fehlerhafte Zentri-

fugation oder falsches Vorgehen beim Ablesen der Testansätze zu falschen Testergebnissen führen.

Falsch negative Ergebnisse können auftreten,

- wenn die Testansätze für den indirekten Antikörperintest nicht richtig gewaschen werden oder die Teströhrchen mit Humanglobulin kontaminiert sind. Diese Serumreste führen zu einer Neutralisierung des Antihumanglobulin Serums.
- wenn Antikörper während des Waschens eluiert werden.
- wenn das Antihumanglobulin Serum versehentlich nicht zugefügt wird oder wenn nach Zugabe des Antihumanglobulin Serums nicht sofort zentrifugiert wird.
- bei falscher Zentrifugation.
- bei falschen Inkubationszeiten und/oder Temperaturen.
- wenn das Aufschütteln zu heftig ist und schwache Agglutinationen zerschüttelt werden.
- wenn Erythrozyten und/oder Serum unsachgemäß gelagert werden und ihre Reaktivität verloren haben.

Falsch positive Ergebnisse können auftreten,

- wenn die Testzellen mikrobiell kontaminiert sind.
- wenn die Tests unsachgemäß zentrifugiert werden.
- wenn im getesteten Serum sich Antikörper gegen Antibiotika oder andere Inhaltsstoffe des Zellsuspensionsmediums oder des verwendeten Verstärkungsmilieus befinden.
- bei unvollständigem Aufschütteln.
- wenn, in seltenen Fällen, das zu testende Serum Antikörper gegen den verwendeten Puffer zur Suspension der Erythrozyten enthält.

Testcharakteristika

Jede Charge Data-Cyte® Plus Testerythrozyten wird mit größter Sorgfalt hergestellt, so daß bei Verwendung des oben beschriebenen Testverfahrens der Nachweis von Antikörpern gegen Erythrozytenantigene gewährleistet ist.

Alle auf dem Antigenogramm aufgeführten Antigene werden mit zwei verschiedenen Antiseren bestimmt. Folgende Merkmale, die aufgrund der Seltenheit der Antikörper mit nur einem Serum getestet werden (falls kein zweites zur Verfügung steht), sind jedoch ausgenommen: f, V, Lu^a, Js^a, Js^b, Xg^a, Vel, Ge, Yt^a, Di^a, Di^b und spezielle Typisierungen (andere Antigene).

Wenn nicht anders angegeben, sind die Zellen der Data-Cyte® Plus-Spender wie folgt typisiert:

Positiv: H, I, U, Kp^a, Js^b, Vel, Ge, Yt^a, Di^b

Negativ: M^a, Vw, Wr^a, Di^a

Vorhandene bekannte Antigene mit niedriger Frequenz sind auf dem Antigenogramm aufgeführt. Der direkte Antihumanglobulintest ist bei allen Zellen negativ.

Die Haltbarkeit wird während der gesamten Laufzeit überwacht.

Wie bei allen Erythrozyten kann die Reaktivität des Produkts schon vor dem Verfalldatum abnehmen. Die Geschwindigkeit, mit der die Antigenreaktivität abnimmt, hängt zum Teil von spenderspezifischen Eigenschaften ab, die vom Hersteller nicht beeinflusst werden können. Bei sachgemäßer Lagerung des Produkts kann jedoch davon ausgegangen werden, daß die Testzellen bis zum Verfalldatum die oben beschriebene Wirkungsweise behalten.

Literatur

- Mollison P.L., Blood transfusion in clinical medicine. 10th Edition: Blackwell Scientific Publications; 1997: Chapter 8.
- Technical Manual of the American Association of Blood Banks. 14th Edition; 2002, Chapter 19 and 20.
- Ibidem: Chapter 18, p. 383.
- Ibidem: Method 8.5, p.765.
- Ibidem: Chapter 15, p. 325.

Garantie

Es wird garantiert, daß die Wirkungsweise dieses Produkts den Angaben auf der Packung und in dieser Packungsbeilage entspricht. Medion Diagnostics AG haftet nicht für die handelsübliche Qualität oder die Eignung des Produkts, falls dieses für irgendwelche anderen als die angegebenen Zwecke verwendet wird, noch für irgendwelche Folgeschäden, die sich aus den vorstehenden vertraglichen Gewährleistungen ergeben.



Hersteller



Medion Diagnostics AG

Bonnstrasse 9, CH-3186 Düringen/Switzerland

© Copyright 2006, Medion Diagnostics AG
Alle Rechte vorbehalten.

CE 0123

F07797/101 (06.2007)



Data-Cyte® Plus Réactif Globules rouges 3±1%

U.S.Licence No. 1740

*Pour identification des anticorps irréguliers**Diagnostic in vitro*

IVD

Résumé et principe

L'identification exacte et complète des anticorps irréguliers est importante dans le diagnostic et le traitement de la maladie hémolytique du nouveau-né et de certaines dyscrasies sanguines ainsi que dans la prévention des accidents transfusionnels dus à la transfusion de globules rouges incompatibles. La plupart des anticorps importants sur le plan clinique peuvent être identifiés par agglutination dans les tests de routine à l'aide de réactifs globules rouges ayant une mosaïque antigénique connue.^{1,2}

Data-Cyte® Plus est un panel de suspensions d'hématies du groupe O provenant de 11 donneurs différents. Ces hématies de donneur ont une constitution antigénique différente et ont été sélectionnées afin de permettre l'identification de la plupart des anticorps simples ainsi que de la majorité des associations d'anticorps les plus fréquemment rencontrées. La présence ou l'absence d'antigènes de chacun des principaux systèmes de groupes sanguins est indiquée pour chacune des 11 hématies sur la mosaïque antigénique accompagnant le produit. Data-Cyte® Plus peut être utilisé dans les techniques d'identification d'anticorps d'utilisation courante.

Les anticorps réagissent avec les hématies possédant les antigènes correspondants. Ces anticorps peuvent agglutiner les érythrocytes en milieu salin, en milieu à basse force ionique (LIS), en milieu hyperprotéique ou dans le test à l'antiglobuline. En se basant sur ce principe, un anticorps peut être identifié grâce à son type de réactivité avec un panel d'hématies humaines de constitution antigénique connue.

Réactif

Data-Cyte® Plus: panel de 11 échantillons d'hématies humaines différentes, de groupe O, en suspension à 3±1% en milieu isotonique contenant des tampons (bicarbonate et phosphate) et des agents conservateurs (néomyicine 0,03% et chloramphénicol 0,05%). Le milieu de remise en suspension ne contient pas de substances inhibant l'hémolyse due au complément. Des globules rouges congelés/décongelés peuvent être utilisés dans la fabrication de ce produit.

Conservation à 2–8°C. **Ne pas congeler.** Si conservé correctement à 2–8°C, le produit est stable après la première ouverture, jusqu'à la date de péremption indiquée. Remettre en suspension par agitation douce juste avant utilisation. Les cellules sont prêtes à l'emploi; le lavage des cellules avant utilisation n'est pas obligatoire. Signe de détérioration: franche hémolyse (pouvant être due à une contamination bactérienne ou à une mauvaise manipulation), assombrissement des cellules ou apparition spontanée d'amas. La réactivité de ce produit peut diminuer au cours de la période de validité.

Attention: tous les produits sanguins doivent être considérés comme potentiellement infectieux. La matière première à partir de laquelle ce produit a été fabriqué a été testée par des tests approuvés par la FDA et trouvée négative. Aucun test connu n'offre l'assurance complète que les produits dérivés du sang ne transmettront pas d'agents infectieux.

La pipette du flacon contient du latex de caoutchouc naturel pouvant provoquer des réactions allergiques.

Recueil et préparation des échantillons

Aucune préparation spéciale du patient n'est nécessaire avant le prélèvement. Utiliser de préférence du sérum fraîchement prélevé. Pour obtenir de meilleurs résultats, ne pas conserver le sérum à 2–8°C plus de 48 heures avant de le tester; cependant le sérum peut être congelé entre -20 et -80°C et testé ultérieurement si nécessaire. Il est possible d'utiliser des échantillons de plasma. Cependant, du fait de sa faible activité en complément, l'utilisation de plasma peut induire des erreurs de détection d'anticorps complément-dépendants.^{1,2}

Technique

Réactif fourni

Réactif Globules rouges Data-Cyte® Plus, 3±1%, panel de 11 échantillons.

Matériel nécessaire mais non fourni

1. Tubes tests (12 x 75 mm ou 10 x 75 mm)
2. Sérum physiologique
3. Sérum à l'antiglobuline humaine
4. Agent renforçateur
5. Réactif enzymatique nécessaire uniquement pour la technique en milieu salin/enzyme
6. Cellules de contrôle de Coombs
7. Sérum contrôle pour le contrôle de qualité
8. Système de lecture optique³
9. Centrifugeuse (calibrée pour 1000 rcf* ou 150 rcf*)
10. Bain-marie ou bloc chauffant à 37°C
11. Chronomètre
12. Pipettes

Description de la technique

Le panel Data-Cyte® Plus peut être utilisé seul ou associé à des cellules de dépistage d'anticorps. Seules les quatre premières cellules du panel Data-Cyte® Plus doivent être utilisées pour obtenir une identification préliminaire de la plupart des anticorps communs des globules rouges lorsque les résultats sont associés avec les résultats obtenus avec les cellules de dépistage et un auto-contrôle. Si l'anticorps ne peut être clairement identifié à l'aide du "mini-panel", les cellules restantes du panel ainsi que d'autres cellules sélectionnées (si nécessaire) peuvent être utilisées pour compléter l'identification.

Remarque: si un agent renforçateur est utilisé, suivre les instructions du fabricant pour la préparation et le test des échantillons plutôt que la procédure décrite ci-dessous.

1. Distribuer 2 gouttes du sérum du patient ou du donneur dans un tube pour chaque cellule devant être testée.
2. Ajouter 1 goutte de chaque suspension cellulaire de Data-Cyte® Plus dans le tube approprié.
3. Agiter tous les tubes pour mélanger les réactifs.
4. Si une lecture immédiate après agitation est désirée, centrifuger 15–20 secondes à 1000 rcf* environ (1 minute à 150 rcf*) ou pendant le laps de temps approprié suivant la calibration de la centrifugeuse.
5. Remettre doucement mais totalement les cellules en suspension et examiner immédiatement s'il y a agglutination ou hémolyse.³ Observer la réaction et noter le résultat.

Test indirect à l'antiglobuline

6. Incuber 15–60 minutes à 37°C ou selon les recommandations du mode d'emploi de l'agent renforçateur utilisé.
7. Centrifuger immédiatement et interpréter de la même façon qu'aux étapes 4 et 5. Enregistrer les résultats du test à 37°C.
8. Remplir sous une forte pression chaque tube avec du sérum physiologique. Centrifuger pour rassembler les cellules en bouton. Décanter minutieusement le surnageant. Agiter pour remettre les cellules en suspension.
9. Répéter 2 fois l'étape 8 pour un total de 3 lavages.
10. Ajouter du sérum à l'antiglobuline humaine dans chaque tube selon les recommandations du fabricant et agiter pour mélanger.
11. Centrifuger, examiner et interpréter comme dans les étapes 4 et 5. Observer et noter les résultats.
12. Les sérums donnant des réactions négatives avec l'antiglobuline humaine doivent être testés en ajoutant 1 goutte de cellules sensibilisées par des IgG (cellules de contrôle de Coombs).

Remarque: les réactions doivent être interprétées immédiatement après la centrifugation à cause de la possibilité de dissociation du complexe antigène-anticorps.

*rcf = 0,0001118 x rayon de rotation (cm) x rpm²

Test salin à température ambiante – basse température

- Incuber à température ambiante (20–25°C) pendant 15–30 minutes.
- Centrifuger, examiner et interpréter comme aux étapes 4 et 5. Observer et noter les résultats.
- Si une détection d'agglutinines froides est souhaitée, incuber les tubes 5–15 minutes à 5°C. Puis centrifuger, examiner et interpréter comme aux étapes 4 et 5. Observer et noter les résultats du test à basse température.

Contrôle de qualité

Suivant la réglementation du contrôle de qualité de chaque pays

- un anticorps IgG connu pour réagir faiblement doit être testé avec une suspension Data-Cyte® Plus différente chaque jour d'utilisation afin de s'assurer de la réactivité continue des érythrocytes ou
- (pratique usuelle en Europe) un réactif contrôle contenant un mélange d'anticorps anti-Rh faibles doit être testé en parallèle dans chaque série de tests (Sero-Control disponible en Europe chez Medion Diagnostics AG).

Il est recommandé d'utiliser un auto-contrôle pour différencier les auto- et les allo-anticorps.²

Pour réaliser une centrifugation correcte, chaque centrifugeuse doit être calibrée pour la procédure spécifique des tests devant être réalisés. Les cellules doivent être agglutinées fermement mais les cellules contrôle négatif doivent être remises facilement en suspension.⁴

Résultats

Une agglutination et/ou une hémolyse (réaction positive) dans un ou plusieurs tubes Data-Cyte® Plus à n'importe quelle phase de la procédure du test avant l'addition des cellules contrôles de Coombs indique la présence d'anticorps irréguliers. De tels anticorps sont généralement dirigés contre des antigènes connus présents sur les cellules du panel mais peuvent être dirigés contre un antigène non indiqué sur la mosaïque antigénique.

L'absence d'agglutination et d'hémolyse (réaction négative) au cours du test indique l'absence d'anticorps dirigés contre les antigènes présents sur les globules rouges.

Interprétation

L'identification d'anticorps présent(s) peut être aisément réalisée par la méthode du "crossing out" en utilisant la matrice antigénique accompagnant le lot de globules rouges Data-Cyte® Plus.

- Choisir la première cellule donnant une réaction négative à toutes les phases du test. Éliminer tous les antigènes présents sur cette cellule.
- Recommencer l'étape 1 pour toutes les autres cellules négatives.
- Entourer les antigènes restants.
 - Si un seul antigène est entouré, vérifier que toutes les cellules qui réagissent possèdent l'antigène. Si oui, l'anticorps est probablement dirigé contre cet antigène et peut être identifié comme tel.
 - Si plusieurs antigènes sont encerclés, vérifier si l'un de ces antigènes est présent sur toutes les cellules réagissant. Si oui, d'autres cellules ne portant pas cet antigène mais possédant les autres antigènes encerclés, doivent être testées pour déterminer si plusieurs anticorps sont présents.
 - Le typage des antigènes sur les cellules du patient/donneur peut être utilisé pour éliminer les anticorps.
 - Si des anticorps à haute incidence ou plusieurs anticorps sont présents, toutes les cellules peuvent agglutiner. Un laboratoire de référence devra être consulté si aucune cellule rare n'est disponible pour être testée.

Si l'auto-contrôle est positif, le sérum peut contenir un auto-anticorps et il peut être indiqué de réaliser des tests supplémentaires.²

Limites de la technique

Une incubation de 15 minutes à 37°C peut ne pas être appropriée pour la détection de certains anticorps de groupes sanguins faibles si un agent renforçateur n'est pas ajouté dans le milieu réactionnel. Dans le cas de globules rouges portant un antigène de faible incidence, une quantité double d'antigène peut être nécessaire pour détecter des anticorps réagissant très faiblement; de ce fait, des réactions négatives avec des cellules du panel n'indiquent pas toujours l'absence d'anticorps irréguliers dans le sérum testé. A cause de la forte incidence du gène Fy^a, dans la population noire⁵, on ne peut pas supposer que les phénotypes Fy (a+b-) et Fy (a-b+) dans la population noire correspondent à l'expression homozygote des gènes Fy^a ou Fy^b. S'il y a présence d'anticorps dirigés contre un antigène de grande fréquence ou de plusieurs anticorps, toutes les hématies peuvent être agglutinées.

Comme dans tous les tests sérologiques, des facteurs tels qu'une contamination du matériel, un mauvais temps ou une mauvaise température d'in-

cupation, une mauvaise centrifugation ou un mauvais examen de l'agglutination peuvent fausser les résultats.

De faux négatifs peuvent apparaître si:

- les cellules sont incorrectement lavées ou si des globulines humaines contaminent la verrerie. Ces globulines humaines résiduelles neutralisent les anticorps réagissant avec les globulines présentes dans l'antiglobuline humaine.
- des anticorps sont élués des cellules au cours de l'incubation ou du lavage.
- les érythrocytes et/ou le sérum ont été mal conservés et ont perdu leur réactivité.
- l'antiglobuline humaine est oubliée par inadvertance.
- les cellules sont mal centrifugées.
- le temps et/ou la température d'incubation sont incorrects pour une bonne sensibilisation des cellules.
- la technique de remise en suspension est trop vigoureuse pour que des cellules faiblement sensibilisées restent agglutinées.

De faux positifs peuvent apparaître si:

- il y a une contamination microbienne des cellules tests.
- les cellules sont mal centrifugées.
- des anticorps dirigés contre des antibiotiques ou d'autres substances présentes dans le milieu de remise en suspension des cellules ou dans les agents renforçateurs utilisés sont présents dans le sérum testé.
- la remise en suspension est incomplète, phénomène pouvant imiter une agglutination.
- dans de rares cas, le sérum testé contient un anticorps dirigé contre l'un des composants des diluants des réactifs.

Critères de qualité

Chaque lot de globules rouges réactifs Data-Cyte® Plus est préparé avec soin afin de permettre la détection des anticorps dirigés contre les antigènes érythrocytaires sélectionnés lorsque ils sont utilisés selon les procédures décrites.

Tous les typages des antigènes indiqués sur la mosaïque antigénique sont confirmés par des antisérums de deux sources différentes. Les antigènes suivants peuvent avoir été testés seulement avec un antisérum d'une source (une seconde source n'étant pas disponible vu la rareté de l'anticorps): f, V, Lu^a, Js^a, Js^b, Xg^a, Vel, Ge, Yt^a, Di^a, Di^b et typages spéciaux (autres antigènes).

Sauf avis contraire, les cellules des donneurs utilisées pour le Data-Cyte® Plus ont le phénotype suivant:

Positif: H, I, U, Kp^b, Js^b, Vel, Ge, Yt^a, Di^b

Négatif: M^a, Vw, W^a, Di^a

Les antigènes de faible fréquence identifiés sont indiqués sur la mosaïque antigénique. Les tests directs à l'antiglobuline sont négatifs sur toutes les cellules.

La stabilité de ce produit est suivie tout au long de la période de validité.

Comme pour tous les érythrocytes, la réactivité du produit peut diminuer au cours de la période de validité. La vitesse de diminution de la réactivité antigénique dépend partiellement des caractéristiques de chaque donneur qui ne sont pas contrôlables ni prévisibles par le fabricant.

Cependant, correctement conservé hors manipulation, le réactif est performant pendant toute la période de validité.

Bibliographie

- Mollison P.L., Blood transfusion in clinical medicine. 10th Edition: Blackwell Scientific Publications; 1997: Chapter 8.
- Technical Manual of the American Association of Blood Banks. 14th Edition; 2002, Chapter 19 and 20.
- Ibidem: Chapter 18, p. 383.
- Ibidem: Method 8.5, p.765.
- Ibidem: Chapter 15, p. 325.

Garantie

Ce produit est garanti à condition de l'utiliser selon les indications des étiquettes et de la documentation fournie par Medion Diagnostics AG. Medion Diagnostics AG décline toute garantie implicite de qualité marchande, ainsi que toute garantie relative à un usage autre que celui mentionné sur l'étiquette. Medion Diagnostics AG ne pourra en aucun cas être tenu responsable des dommages indirects qui pourraient survenir dans le cadre de cette garantie.



Fabricant



Medion Diagnostics AG

Bonnstrasse 9, CH-3186 Düringen/Switzerland

© Copyright 2006, Medion Diagnostics AG
Tous droits réservés.

CE 0123

F07797/101 (06.2007)



Data-Cyte® Plus Pannello eritrocitario al 3±1%

Licenza U.S.A. n°: 1740

*Per l'identificazione degli anticorpi irregolari**Per uso diagnostico in vitro***IVD**

Sommario e principio

L'identificazione accurata e completa di un anticorpo irregolare è importante nella diagnosi e nel trattamento della malattia emolitica del neonato (MEN) e in alcune discrasie ematiche e nella prevenzione di reazioni trasfusionali dovute all'infusione di eritrociti incompatibili. La maggior parte degli anticorpi clinicamente significativi può essere identificata mediante procedure routinarie di agglutinazione utilizzando come reattivi eritrociti a costituzione antigenica nota.^{1,2}

Data-Cyte® Plus pannello eritrocitario è una serie di sospensioni di eritrociti di gruppo O ottenuti da 11 donatori diversi. Le cellule dei donatori si differenziano per la configurazione antigenica e vengono selezionate in modo tale da consentire l'identificazione della maggior parte degli anticorpi singoli e delle combinazioni di anticorpi più frequentemente riscontrate. La presenza o assenza degli antigeni di ciascuno dei principali sistemi gruppo-ematici viene indicata per ciascuna delle 11 cellule della matrice della costituzione antigenica che accompagna il prodotto. Data-Cyte® Plus può essere utilizzato nelle tecniche di identificazione di anticorpi comunemente riconosciute.

Gli anticorpi reagiscono con gli eritrociti che possiedono i determinanti antigenici corrispondenti. Tali anticorpi possono agglutinare gli eritrociti in mezzo salino, in soluzione a bassa forza ionica (LISS), in mezzi ad elevata concentrazione proteica oppure nel test dell'antiglobulina. Secondo tale principio, un anticorpo può essere identificato in base alle sue modalità di reazione con un pannello di eritrociti umani la cui costituzione antigenica sia nota.

Reattivo

Data-Cyte® Plus pannello eritrocitario: serie di 11 campioni individuali di eritrociti umani di gruppo O, in sospensioni al 3±1% in mezzo isotonic e aggiunta di tamponi (bicarbonato e fosfato) e conservanti (neomicina allo 0,03% e cloramfenicolo allo 0,05%). Il mezzo di sospensione non contiene ingredienti che inibiscono l'emolisi mediata dal complemento. Nella preparazione di questo prodotto possono essere stati usati eritrociti congelati e rigenerati. Non esiste alcuno standard U.S. di potenza. Il prodotto è conforme agli altri requisiti FDA.

Conservare a 2–8°C. **Non congelare.** Se correttamente conservato a 2–8°C, il prodotto è stabile dopo l'apertura fino alla data di scadenza indicata. Risospendere capovolgendo delicatamente subito prima dell'utilizzo. Le cellule sono pronte all'uso, il lavaggio preventivo è facoltativo. Indicazione di deterioramento: emolisi notevole (che può essere causata da contaminazione batterica o manipolazione impropria), scurimento delle cellule o aggregazione spontanea. La reattività del prodotto può diminuire prima della data di scadenza.

Avvertenza: Tutti gli emoderivati umani devono essere trattati come potenzialmente infetti. La materia prima per la preparazione di questo prodotto è stata analizzata conformemente a tutti gli attuali test richiesti dalla FDA ed è risultata negativa a tali test. Nessun metodo analitico conosciuto può garantire che gli emoderivati umani non trasmettano agenti infettivi.

La pipetta del flacone contiene lattice di gomma naturale che può provocare reazioni allergiche.

Raccolta e preparazione dei campioni

Non occorre alcuna preparazione specifica del paziente prima della raccolta dei campioni. Utilizzare preferibilmente siero di sangue coagulato prelevato di recente. Per ottenere risultati d'analisi ottimali, il siero va conservato a 2–8°C per un massimo di 48 ore prima di essere analizzato; se necessario è possibile tuttavia congelare il siero a -20/-80°C e analizzarlo in un secondo momento. Si possono utilizzare campioni di plasma. L'uso di plasma può, tuttavia, provocare una mancata rilevazione di anticorpi complemento-dipendenti a causa della bassa attività del complemento.^{1,2}

Procedura

Reattivo fornito

Data-Cyte® Plus pannello eritrocitario al 3±1%, serie di 11 campioni di cellule.

Materiali richiesti ma non forniti

1. Provette monouso (12 x 75 mm oppure 10 x 75 mm)
2. Soluzione fisiologica
3. Antiglobulina umana
4. Potenzante
5. Reattivo enzimatico occorrente solo per la procedura salina/enzimatica
6. Cellule di controllo per Coombs
7. Siero di controllo per il controllo di qualità
8. Dispositivo ottico di lettura³
9. Centrifuga (calibrata per 1000 rcf* o 150 rcf*)
10. Bagno termostato o blocco riscaldante a 37°C
11. Cronometro
12. Pipette

Descrizione della procedura

Il pannello Data-Cyte® Plus viene preparato in modo tale da poter essere utilizzato sia da solo sia insieme ai pannelli per lo screening degli anticorpi. Se utilizzato in aggiunta ai risultati del pannello di screening e autocontrollo, occorre utilizzare solo le prime quattro cellule del pannello Data-Cyte® Plus per l'identificazione preliminare dei più comuni anticorpi eritrocitari. Se l'anticorpo non può essere chiaramente identificato con tale «mini pannello» è possibile utilizzare le rimanenti cellule del pannello e, se necessario, cellule addizionali selezionate per completare l'identificazione.

Nota: Se è necessario usare un potenziante seguire le istruzioni del fabbricante per la preparazione e l'analisi dei campioni, invece della procedura riportata più oltre.

1. Dispensare 2 o più gocce di siero del paziente o del donatore in una provetta diversa per ogni cellula da analizzare.
2. Aggiungere una goccia di sospensione eritrocitaria Data-Cyte® Plus nella provetta corrispondente.
3. Agitare tutte le provette per miscelare i reattivi.
4. Se si desidera la lettura immediata, centrifugare per 15–20 secondi a circa 1000 rcf* (1 minuto a circa 150 rcf*) oppure per un tempo adeguato alla calibrazione della centrifuga.
5. Risospendere delicatamente e completamente le cellule ed osservare immediatamente l'agglutinazione o emolisi³. Osservare e registrare i risultati.

Test dell'antiglobulina indiretto

6. Incubare a 37°C per 15–60 minuti o secondo le indicazioni del potenziante usato.
7. Centrifugare immediatamente, osservare e interpretare i risultati come nei Punti 4 e 5. Registrare i risultati del test a 37°C.
8. Riempire ogni provetta con soluzione fisiologica aggiunta in un flusso energetico. Centrifugare per sedimentare le cellule. Eliminare il surnatante accuratamente. Agitare per risospendere le cellule.
9. Ripetere per due volte il Punto 8 per un totale di 3 lavaggi.
10. Aggiungere antiglobulina umana ad ogni provetta secondo le istruzioni del fabbricante e agitare per miscelare.
11. Centrifugare, osservare e interpretare i risultati come nei Punti 4 e 5. Osservare e registrare i risultati.
12. Le reazioni negative ottenute con antiglobulina umana devono essere analizzate aggiungendo 1 goccia di eritrociti sensibilizzati con IgG.

Nota: Le reazioni devono essere interpretate immediatamente dopo la centrifugazione a causa della possibilità di dissociazione del complesso antigene-anticorpo.

*rcf = 0.0001118 x raggio di rotazione (cm) x rpm²

Procedura salina a temperatura ambiente - a bassa temperatura

- Incubare a temperatura ambiente (20–25°C) per 15–30 minuti.
- Centrifugare, osservare e interpretare i risultati come nei Punti 4 e 5. Osservare e registrare i risultati.
- Se si desidera rilevare le agglutinine fredde, incubare le provette a 5°C per 5–15 minuti, quindi centrifugare, osservare e interpretare come nei Punti 4 e 5. Osservare e registrare i risultati dell'analisi a bassa temperatura.

Controllo di qualità

Sulla base delle regole vigenti a livello nazionale per il controllo di qualità

- per garantire continuamente la reattività del pannello, si consiglia di analizzare, ad ogni giorno di utilizzo, un anticorpo di classe IgG noto relativamente debolmente reattivo con una sospensione Data-Cyte® Plus diversa. **Quest'analisi può essere condotta efficacemente** utilizzando Blood Bank Quality Assurance (BBQAI) Testing Reagents, disponibili presso Medion Diagnostics AG o
- (pratica comune in Europa) occorre analizzare in parallelo con ogni serie di analisi un reattivo di controllo contenente una miscela di anticorpi anti-Rh deboli (Sero-Control è disponibile in Europa presso Medion Diagnostics AG).

Si raccomanda l'utilizzo di un autocontrollo per contribuire a distinguere tra autoanticorpi e alloanticorpi.²

Per assicurare l'adeguata centrifugazione, ogni singola centrifuga deve essere calibrata per la specifica procedura analitica da eseguire. Le cellule devono sedimentare in modo netto, ma le cellule di controllo negativo devono poter essere risospese agevolmente.⁴

Risultati

L'agglutinazione e/o l'emolisi (reazione positiva) in una o più provette di Data-Cyte® Plus in qualsiasi fase della procedura d'analisi prima dell'aggiunta di cellule di controllo per Coombs indica la presenza di anticorpi irregolari. Tali anticorpi sono solitamente diretti contro gli antigeni noti del pannello, ma possono essere diretti contro un antigene non indicato nella matrice della costituzione antigenica.

La mancanza sia di agglutinazione sia di emolisi (reazione negativa) nella procedura indica l'assenza di anticorpi diretti contro gli antigeni contenuti nel pannello eritrocitario.

Interpretazione

L'identificazione dell'anticorpo/i presente/i può essere convenientemente effettuata mediante il metodo di "esclusione", utilizzando la matrice antigenica acclusa ad ogni lotto di Data-Cyte® Plus pannello eritrocitario.

- Selezionare la prima cellula avente reazione negativa in tutte le fasi dell'analisi. Escludere tutti i determinanti antigenici presenti in tale cellula.
- Ripetere il Punto 1 per tutte le altre cellule negative.
- Cerchiare i rimanenti antigeni.
 - Se viene cerchiato un solo antigene, verificare che tutte le cellule a reazione positiva presentino l'antigene. In tal caso, l'anticorpo è probabilmente diretto contro quell'unico antigene e come tale può essere identificato.
 - Se sono cerchiati più antigeni, verificare se qualcuno di tali antigeni è presente su tutte le cellule a reazione positiva. In tal caso, si devono analizzare altre cellule prive di quell'antigene, ma in possesso degli altri antigeni cerchiati per determinare la presenza di anticorpi multipli.
 - La tipizzazione antigenica delle cellule del paziente/donatore può essere utile per escludere certi anticorpi.
 - Se sono presenti anticorpi ad elevata incidenza o anticorpi multipli, tutte le cellule possono essere agglutinate. Consultare un laboratorio di riferimento se non si ha disponibilità di cellule rare per l'analisi.

Se l'autocontrollo è positivo, il siero può contenere autoanticorpi e potrebbero essere necessarie ulteriori analisi.²

Limiti della procedura

Un'incubazione di 15 minuti a 37°C può essere inadeguata per rilevare alcuni anticorpi deboli se non viene aggiunto un mezzo potenziante. Se gli eritrociti hanno antigeni a bassa frequenza, può essere necessaria una doppia dose di antigene per individuare anticorpi con reazione molto debole; per questo motivo le reazioni negative con pannelli cellulari non sempre indicano l'assenza di anticorpi irregolari nel siero analizzato. A causa dell'elevata incidenza del gene Fy^a nella popolazione nera, non è possibile presupporre che i fenotipi Fy (a+b-) e Fy (a-b+) in donatori neri³ rappresentino espressioni omozigote dei

geni Fy^a e Fy^b. Se sono presenti anticorpi contro antigeni ad elevata incidenza o anticorpi multipli, tutte le cellule del reattivo possono essere agglutinate. Come in tutti i test sierologici, fattori quali materiali contaminati, tempo o temperatura d'incubazione inadeguati, centrifugazione inadeguata o osservazione inadeguata dell'agglutinazione possono generare risultati falsati.

Possono verificarsi risultati falsi negativi nei seguenti casi:

- le cellule non vengono lavate adeguatamente o la vetreria è contaminata da globuline umane. Tali globuline residue neutralizzeranno gli anticorpi antiglobulina presenti nel siero antiglobulina umana.
- gli anticorpi vengono eluiti dalle cellule durante l'incubazione o il lavaggio.
- gli eritrociti e/o il siero sono conservati in modo improprio e perdono reattività.
- inavvertitamente non viene aggiunto il siero antiglobulina umana.
- le cellule non vengono centrifugate correttamente.
- i tempi di incubazione e/o le temperature non sono adeguati per la sensibilizzazione delle cellule.
- le tecniche impiegate per la risospensione sono troppo energiche per mantenere l'agglutinazione di eritrociti debolmente sensibilizzati.

Possono verificarsi risultati falsi positivi nei seguenti casi:

- le cellule analizzate presentano contaminazione batterica.
- le cellule non vengono centrifugate correttamente.
- nel siero analizzato sono presenti anticorpi diretti contro antibiotici o altri ingredienti del mezzo di sospensione o dei potenzianti usati.
- la risospensione incompleta può simulare agglutinazione.
- in casi rari il siero analizzato contiene un anticorpo diretto contro uno dei componenti del diluente del reattivo.

Caratteristiche analitiche

Ciascun lotto di Data-Cyte® Plus pannello eritrocitario viene accuratamente preparato per consentire la rilevazione di anticorpi diretti contro gli antigeni degli eritrociti selezionati se utilizzati secondo le procedure descritte.

Tutte le tipizzazioni antigeniche elencate nella matrice della costituzione antigenica vengono confermate utilizzando due fonti di antisieri ad eccezione dei seguenti che, per la rarità degli anticorpi, possono essere analizzati con una sola fonte dove una seconda non sia disponibile: f, V, Lu^a, Js^a, Js^b, Xg^a, Vel, Ge, Yt^a, Di^a, Di^b, e tipizzazioni speciali (altri antigeni). Salvo diversa indicazione, i fenotipi dei donatori delle cellule contenute in Data-Cyte® Plus sono:

positivo: H, I, U, Kp^a, Js^b, Vel, Ge, Yt^a, Di^b

negativo: M^a, Vw, Wt^a, Di^a

Gli antigeni a bassa incidenza presenti sono indicati sulla matrice della costituzione antigenica. I test dell'antiglobulina diretti sono negativi per tutte le cellule.

La stabilità del prodotto viene monitorata per tutto il periodo di validità.

Come per tutti gli eritrociti, la reattività del prodotto può diminuire durante il periodo di validità. Le modalità con cui la reattività antigenica viene perduta dipendono in parte dalle caratteristiche individuali dei donatori, che non possono essere controllate né previste dal fabbricante.

Tuttavia, se adeguatamente conservato quando non in uso, il reattivo si comporterà secondo quanto descritto per tutto il periodo di validità.

Bibliografia

- Mollison P.L., Blood transfusion in clinical medicine. 10th Edition: Blackwell Scientific Publications; 1997: Chapter 8.
- Technical Manual of the American Association of Blood Banks. 14th Edition; 2002, Chapter 19 and 20.
- Ibidem: Chapter 18, p. 383.
- Ibidem: Method 8.5, p. 765.
- Ibidem: Chapter 15, p. 325.

Garanzia

Medion Diagnostics AG garantisce che questo prodotto è conforme alle caratteristiche riportate sull'etichetta e nel materiale bibliografico relativo al prodotto stesso e declina ogni responsabilità per la commercializzazione o l'utilizzo del prodotto per scopi diversi da quelli dichiarati; Medion Diagnostics AG non potrà in nessun caso essere ritenuta responsabile di alcun danno che possa eventualmente verificarsi al di fuori di questa forma di garanzia.



Fabbricante



Prodotto da:
Medion Diagnostics AG
Bonnstrasse 9, CH-3186 Dürdingen/Switzerland
Made in Switzerland

© Copyright 2006, Medion Diagnostics AG
Tutti i diritti riservati.



0123



Data-Cyte® Plus Hematíes reactivos 3±1%

Licencia de EE.UU. N° 1740

Para uso en la identificación
de anticuerpos no esperados

Para uso diagnóstico in vitro

IVD

Resumen y principio

La identificación cuidadosa y completa de un anticuerpo no esperado es importante en el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN) y de ciertas discrasias sanguíneas, como también en la prevención de reacciones transfusionales debido a la infusión de hematíes incompatibles. La mayoría de los anticuerpos clínicamente significativos pueden identificarse mediante la aglutinación en procedimientos de rutina en los que se utilizan hematíes reactivos de composición antigénica conocida.^{1,2}

Los hematíes reactivos Data-Cyte® Plus constituyen un panel de suspensiones de hematíes de grupo 0 extraídos de 11 donantes diferentes. Estos hematíes de donantes tienen diferentes configuraciones antigénicas y se eligen para permitir identificar la mayoría de los anticuerpos individuales como también la mayoría de las combinaciones de anticuerpos que se encuentran con mayor frecuencia. La presencia o la ausencia de antígenos de cada uno de los principales sistemas de grupos sanguíneos está indicada en cada uno de los 11 hematíes de la matriz de composición antigénica que acompaña al producto. El Data-Cyte® Plus puede utilizarse en las técnicas de identificación de anticuerpos de uso común.

Los anticuerpos reaccionan con los hematíes que poseen los correspondientes determinantes antigénicos. Estos anticuerpos pueden aglutinar los hematíes en solución salina fisiológica, en solución de baja potencia iónica (LISS), en medios con alto contenido de proteínas o en las pruebas de antiglobulina. Siguiendo este principio, se puede identificar un anticuerpo por su patrón de reactividad con un panel de hematíes humanos de composición antigénica conocida.

Reactivo

Hematíes reactivos Data-Cyte® Plus: un panel de 11 muestras individuales de hematíes humanos de grupo 0, en suspensiones al 3±1% en medio isotónico con agregado de tampones (bicarbonato y fosfato) y conservantes (0,03% de neomicina y 0,05% de cloramfenicol). El medio de suspensión no contiene ingredientes que inhiban la hemólisis producida por el complemento. En este producto se pueden haber utilizado hematíes congelados/descongelados. No hay estándares de potencia en Estados Unidos. Cumple con otros requisitos de la FDA.

Conservar a 2–8°C. **No congelar.** Si se conserva adecuadamente a 2–8°C, el producto es estable una vez abierto hasta la fecha de vencimiento indicada. Resuspender mediante una suave inversión inmediatamente antes del uso. Los hematíes vienen listos para el uso; el lavado de los hematíes antes del uso es opcional. Inicio de deterioro: hemólisis notoria (la cual puede ser causada por contaminación microbiana o manipulación incorrecta), oscurecimiento de los hematíes o aglutinamiento espontáneo. La reactividad del producto puede disminuir durante el período de validez del mismo.

Precaución: Todos los productos de origen sanguíneo deben tratarse como potencialmente infecciosos. El material del cual se obtuvo este producto demostró ser negativo cuando se lo analizó de acuerdo con los análisis actualmente requeridos por la FDA. Ningún método de prueba conocido puede ofrecer la garantía de que los productos obtenidos de sangre humana no transmitan agentes infecciosos.

El cuentagotas del frasco contiene látex de caucho natural, que puede provocar reacciones alérgicas.

Recogida y preparación de las muestras

No se requiere una preparación especial del paciente antes de recoger la muestra. Es preferible utilizar suero de sangre recién coagulada. Para obtener resultados óptimos, el suero debe conservarse a 2–8°C durante no más de 48 horas antes de la prueba; sin embargo, el suero puede congelarse a -20°C a -80°C y analizarse con posterioridad, si fuera necesario. **Se pueden usar muestras de plasma;** no obstante, el uso de plasma puede impedir la detección de anticuerpos que dependen del complemento debido a la baja actividad del complemento.^{1,2}

Procedimiento

Reactivo suministrado

Hematíes reactivos Data-Cyte® Plus, 3±1%, panel de 11 muestras de hematíes.

Materiales requeridos pero no suministrados

1. Tubos de ensayo desechables (12 x 75 mm o 10 x 75 mm)
2. Solución salina fisiológica
3. Antiglobulina humana
4. Potenciador
5. Reactivo enzimático, sólo requerido para los procedimientos en medio salino/enzimáticos
6. Hematíes de control para Coombs
7. Suero de control para control de calidad
8. Lupa³
9. Centrífuga (calibrada para 1000 fcr* o 150 fcr*)
10. Baño-maria con bloqueo térmico a 37°C
11. Temporizador
12. Pipetas

Descripción del procedimiento

El panel Data-Cyte® Plus tiene un diseño particular, de modo que puede usarse en forma independiente o bien en conjunción con hematíes para la detección de anticuerpos. Cuando se combina con los resultados de los hematíes de detección y autocontrol, sólo es necesario utilizar los cuatro primeros hematíes del panel del Data-Cyte® Plus para obtener una identificación preliminar de los anticuerpos de los hematíes más comunes. Si no se puede identificar claramente el anticuerpo utilizando este «mini-panel», se pueden utilizar los restantes hematíes del panel y otros hematíes adicionales (si fuera necesario) para completar la identificación.

Nota: Si se debe utilizar un potenciador, seguir las instrucciones del fabricante para la preparación y el análisis de las muestras en lugar del procedimiento que se indica a continuación.

1. Colocar 2 o más gotas de suero del paciente o de un donante en un tubo por cada hematite que se desee analizar.
2. Añadir 1 gota de cada suspensión de hematíes Data-Cyte Plus® al tubo de ensayo correspondiente.
3. Agitar todos tubos para mezclar los reactivos.
4. Si se desea una prueba de rotación inmediata, centrifugar durante 15–20 segundos aproximadamente a 1000 fcr* (un minuto aproximadamente a 150 fcr*) o durante el tiempo correspondiente a la calibración de la centrífuga.
5. Resuspender suavemente los hematíes por completo y examinar de inmediato para determinar la presencia de aglutinación o hemólisis.³ Evaluar y registrar los resultados.

Prueba indirecta de antiglobulina

6. Incubar a 37°C durante 15–60 minutos o según las instrucciones del potenciador empleado.
7. Centrifugar inmediatamente, examinar e interpretar los resultados según lo descrito en los pasos 4 y 5. Registrar los resultados de la prueba a 37°C.
8. Llenar cada tubo con solución salina fisiológica mediante un chorro fuerte. Centrifugar para formar el botón de hematíes. Decantar cuidadosamente el sobrenadante. Agitar para resuspender los hematíes.
9. Repetir el paso 8 dos veces para lograr un total de 3 lavados.
10. Añadir antiglobulina humana a cada tubo siguiendo las instrucciones del fabricante y agitar para mezclar.
11. Centrifugar, examinar e interpretar los resultados como se indica en los pasos 4 y 5. Evaluar y registrar los resultados.
12. Las reacciones negativas que se obtengan con la antiglobulina humana deben analizarse añadiendo 1 gota de hematíes sensibilizados con IgG.

Nota: Las reacciones deben interpretarse inmediatamente después de la centrifugación debido a la posibilidad de disociación del complejo antígeno-anticuerpo.

Técnica en medio salino a temperatura ambiente - baja temperatura

- Incubar a temperatura ambiente (20–25°C) durante 15–30 minutos.
- Centrifugar, examinar e interpretar los resultados como se indica en los pasos 4 y 5. Evaluar y registrar los resultados.
- Si se desea detectar aglutininas frías, incubar los tubos a 5°C durante 5–15 minutos. Centrifugar, examinar e interpretar los resultados como se indica en los pasos 4 y 5. Evaluar y registrar los resultados de la prueba a baja temperatura.

Control de calidad

Dependiendo de las disposiciones nacionales para control de calidad

- los días que se utilicen los hematies se debe analizar un anticuerpo reactivo contra IgG relativamente débil conocido con una suspensión de Data-Cyte® Plus diferente a fin de garantizar la reactividad continua de los hematies reactivos. Esta prueba puede realizarse fácilmente utilizando los Reactivos de prueba para control de calidad en bancos de sangre (Blood Blank Quality Assurance (BBQAI) Testing Reagents) que se pueden adquirir a través de Medion Diagnostics AG, o
- (práctica común en Europa) analizando un reactivo de control que contenga una mezcla de anticuerpos Rh débiles en paralelo con cada serie de pruebas (en Europa se puede obtener Sero-Control a través de Medion Diagnostics AG).

Se recomienda utilizar un autocontrol para ayudar a distinguir los autoanticuerpos de los aloanticuerpos.²

Para asegurar que la centrifugación sea correcta, cada centrifuga debe estar calibrada para la prueba específica que se realizará. Los hematies deben formar un botón firme, pero los hematies de control negativo se deben resuspender fácilmente.⁴

Resultados

La aglutinación y/o la hemólisis (reacción positiva) en uno o más tubos de Data-Cyte® Plus en cualquier fase del procedimiento de prueba antes de que se añadan los hematies de control para Coombs indica la presencia de anticuerpos no esperados. Dichos anticuerpos en general están dirigidos contra los antígenos conocidos presentes en los hematies del panel, pero pueden estar dirigidos contra un antígeno no indicado en la matriz de composición antigénica.

La ausencia tanto de aglutinación como de hemólisis (reacción negativa) en el procedimiento de prueba indica la ausencia de anticuerpos a los antígenos que contienen los hematies reactivos.

Interpretación

La identificación del anticuerpo o de los anticuerpos presentes puede realizarse fácilmente mediante el método de «tachado» utilizando la matriz de composición antigénica que acompaña al lote de hematies reactivos Data-Cyte® Plus.

- Elegir el primer hematie que arroje una reacción negativa en todas las fases de la prueba. Tachar todos los determinantes antigénicos presentes en dicho hematie.
- Repetir el Paso 1 con todos los otros hematies negativos.
- Marcar con un círculo los antígenos restantes.
 - Si sólo hay un antígeno marcado con un círculo, verificar que todos los hematies que hayan reaccionado posean el antígeno. Si es así, el anticuerpo probablemente esté dirigido contra dicho antígeno y pueda ser identificado como tal.
 - Si hay varios antígenos marcados con un círculo, verificar si alguno de dichos antígenos está presente en todos los hematies reactivos. Si es así, se deberán analizar otros hematies que carezcan de dicho antígeno, pero que posean los otros marcados con un círculo, para determinar si hay múltiples anticuerpos presentes.
 - La determinación del tipo de antígeno a partir de hematies del paciente/ de un donante puede ser útil para descartar anticuerpos.
 - Si hay anticuerpos de alta incidencia o múltiples anticuerpos, se podrían aglutinar todos los hematies. Se debería consultar con un laboratorio de referencia en caso de que no se disponga de hematies raros para la prueba.

Si el autocontrol es positivo, el suero puede contener autoanticuerpo y puede ser necesario realizar otras pruebas.²

Limitaciones del procedimiento

Una incubación a 37°C durante 15 minutos puede no ser adecuada para detectar algunos anticuerpos de grupos sanguíneos débiles si no se agrega un medio potenciador al sistema de prueba. Si los hematies tienen antígenos de baja frecuencia, puede ser necesaria una dosis doble de antígeno para detectar los anticuerpos de reacción muy débil; por lo tanto, las reacciones negativas con los hematies del panel no siempre indican la ausencia de anticuerpos no esperados en el suero de prueba. Debido a la alta incidencia del gen Fy^a en la

población de raza negra, no es posible suponer que los fenotipos Fy (a+b-) y Fy (a+b+) en los donantes de raza negra³ representen expresiones homocigóticas de los genes Fy^a o Fy^b. Si hay anticuerpos a los antígenos de alta incidencia o múltiples anticuerpos, se podrían aglutinar todos los hematies reactivos.

Como sucede en todas las pruebas serológicas, factores tales como la contaminación del material, un tiempo de incubación o una temperatura incorrectos, una centrifugación inadecuada o un examen incorrecto para determinar la aglutinación pueden dar origen a resultados falsos.

Se pueden producir resultados falso-negativos si:

- los hematies no están correctamente lavados o hay globulinas humanas que contaminen el material de vidrio. Estas globulinas residuales neutralizan los anticuerpos reactivos ante la globulina presentes en la antiglobulina humana.
- hay elusión de anticuerpo de los hematies durante la incubación o el lavado.
- los hematies y/o el suero se conservan de manera inadecuada y pierden reactividad.
- se omite accidentalmente la antiglobulina humana.
- los hematies no se centrifugan de manera correcta.
- los tiempos y/o las temperaturas de centrifugación no son adecuados para lograr una correcta sensibilización de los hematies.
- la técnica de resuspensión es muy enérgica e impide preservar la aglutinación de los hematies débilmente sensibilizados.

Se pueden producir resultados falso-positivos si:

- los hematies de prueba presentan contaminación microbiana.
- los hematies no se centrifugan de manera correcta.
- en el suero de prueba hay anticuerpos a los antibióticos o a otros componentes del medio para suspensión de hematies o de los potenciadores empleados.
- una resuspensión incompleta puede impedir la aglutinación.
- en casos aislados, el suero de prueba contiene un anticuerpo dirigido a uno de los componentes del diluyente del reactivo.

Características específicas del funcionamiento

Cada lote de hematies reactivos Data-Cyte® Plus está cuidadosamente elaborado para permitir la detección de anticuerpos a los antígenos de los hematies seleccionados si se utiliza de la manera descrita en estos procedimientos.

Todos los tipos de antígenos enumerados en la matriz de composición antigénica se confirman utilizando dos fuentes de antisuero, con excepción de los siguientes que, debido a la rareza de los anticuerpos, pueden analizarse sólo con una fuente si no hay una segunda fuente disponible: f, V, Lu^a, Js^a, Js^b, Xg^a, Vel, Ge, Yt^a, Di^a, Di^b y tipos especiales (otros antígenos).

A menos que se indique lo contrario, se han determinado los siguientes fenotipos de los hematies del Data-Cyte® Plus provenientes de donantes:

Positivos: H, I, U, Kp^a, Js^a, Vel, Ge, Yt^a, Di^a

Negativos: M^a, Vw, Wt^a, Di^b

Los antígenos de baja incidencia identificados se indican en la matriz de composición antigénica. Las pruebas directas de antiglobulina son negativas en todos los hematies.

La estabilidad del producto es controlada durante el periodo de validez.

Como sucede con todos los hematies, la reactividad del producto puede disminuir a lo largo del periodo de validez. El nivel de pérdida de reactividad del antígeno depende en parte de las características de cada donante, las cuales el fabricante no puede controlar ni predecir.

Sin embargo, si se lo conserva de manera adecuada cuando no se usa, puede esperarse que el reactivo realice lo indicado a lo largo de todo el periodo de validez.

Bibliografía

- Mollison P.L., Blood transfusion in clinical medicine. 10th Edition: Blackwell Scientific Publications; 1997: Chapter 8.
- Technical Manual of the American Association of Blood Banks. 14th Edition; 2002, Chapter 19 and 20.
- Ibidem: Chapter 18, p. 383.
- Ibidem: Method 8.5, p.765.
- Ibidem: Chapter 15, p. 325.

Garantía

Este producto está garantizado para realizar lo descrito en el prospecto y en la literatura del producto. Medion Diagnostics AG declina cualquier responsabilidad sobre la aptitud de comercialización o adecuación a otros propósitos. En ningún caso Medion Diagnostics AG aceptará responsabilidad por los daños que surjan por usos distintos de la mencionada garantía expresa.



Fabricante



Fabricado por:
Medion Diagnostics AG
Bonnstrasse 9, CH-3186 Düringen/Switzerland

Fabricado en Suiza

© Copyright 2006, Medion Diagnostics AG
Todos los derechos reservados.

Distribuido en Estados Unidos por:
Olympus America Inc.
3500 Corporate Parkway
Center Valley, PA, 18034-0610
Customer Service 800 223 0125
Technical Service 800 447 5852

Distribuido en Estados Unidos por:

Medion Diagnostics International Corporation
8833 NW 68th Street
Miami, FL 33166, USA
Tel (305) 362 8595
Fax (305) 362 1796

 0123

F07797/101 (06.2007)



Data-Cyte® Plus Reagente røde blodlegemer 3±1%

USA licensnr. 1740

Til brug ved identifikation af uventede blodtypeantistoffer

Til in vitro-diagnostisk anvendelse

IVD

Resumé og princip

Omhyggelig og fuldstændig identifikation af et uventet blodtypeantistof er vigtigt ved diagnose og behandling af erythroblastosis foetalis og visse former for blodsykdomme, samt ved forebyggelse af transfusionsreaktioner forårsaget af infusion af uforligelige erythrocytter. De fleste klinisk signifikante antistoffer kan identificeres ved agglutination i rutinetest ved anvendelse af reagente røde blodlegemer med kendt antigensammensætning.^{1,2}

Data-Cyte® Plus reagente røde blodlegemer er et panel af suspensioner af blodtype O-erythrocytter fra 11 enkeltdonorer. Disse donorceller har forskellig antigensammensætning og er udvalgt, så de muliggør identifikation af de fleste enkeltantistoffer tillige med de fleste ofte forekommende antistofkombinationer. Tilstedeværelsen eller fraværet af antigener for hver af de vigtigste blodtypesystemer er angivet for hver af de 11 celler på det antigensammensætningskema, der følger med produktet. Data-Cyte® Plus kan benyttes i alment benyttede teknikker for antistofidentifikation.

Antistoffer reagerer med røde blodlegemer, der besidder de tilsvarende antigeneterminanter. Disse antistoffer kan agglutinere erythrocytter i lav ionstyrke saltvand (LISS- low ionic strength solution), proteinrige medier eller antiglobulintest. I henhold til dette princip kan et antistof identificeres ved sit reaktionsmønster over for et panel af humane erythrocytter, hvis antigensammensætning er kendt.

Reagens

Data-Cyte® Plus reagente røde blodlegemer: et panel på 11 enkeltstående prøver af humane blodtype O-erythrocytter, 3±1% suspensioner i et isotonisk medie tiltsat buffer (bicarbonat og fosfat) og konserveringsmidler (0,03% neomycin og 0,05% chloramphenicol). Suspensionsmediet indeholder ingen stoffer, der hæmmer komplementmedieret hæmolyse. Frosne/optøede erythrocytter kan være blevet anvendt til dette produkt. Der er ingen USA-standard for styrke. Overholder øvrige FDA-krav.

Opbevares ved 2–8°C. **Må ikke nedfryses.** Hvis produktet opbevares korrekt ved 2–8°C, vil det være stabilt fra det åbnes første gang til den angivne udløbsdato. Genopløs ved forsigtigt at vende beholderen på hovedet flere gange. Blodlegemerne er klar til brug. Vask af blodlegemerne før brug er valgfrit. Indikation på nedbrydning: kendelig hæmolyse (sandsynligvis forårsaget af mikrobiel kontamination eller ukorrekt håndtering), mørke celler eller spontan klumpning. Produktets reaktivitet kan blive nedsat i løbet af holdbarhedsperioden.

Forsigtig: Alle blodprodukter bør behandles som mulige infektionskilder. Det oprindelige materiale, hvoraf dette produkt blev afledt, blev testet negativt ved anvendelse af de aktuelt påkrævede FDA-test. Ingen kendte testmetoder kan dog fuldstændigt garantere, at produkter afledt af humant blod ikke kan overføre smitstof.

Hætteglassets pipette indeholder naturligt gummilatex, der muligvis kan fremkalde allergiske reaktioner.

Prøveindsamling og forberedelse

Ingen særlig forberedelse af patienten er påkrævet før prøveudtagning. Serum fra nykoaguleret blod er at foretrække. For at få optimale testresultater bør serum opbevares ved 2–8°C i højst 48 timer før test. Serum kan dog om nødvendigt nedfryses til -20 til -80°C og testes senere. Plasmaprøver kan benyttes. Dog kan brugen af plasma resultere i manglende påvisning af komplementafhængige antistoffer pga. dets lave komplementaktivitet.^{1,2}

Procedure

Leveret reagens

Data-Cyte® Plus reagente røde blodlegemer, 3±1%, panel på 11 prøver.

Påkrævede men ikke medfølgende materialer

1. Engangsreagensglas (12 x 75 mm eller 10 x 75 mm)
2. Fysiologisk saltvand
3. Anti-humant globulin
4. Forstærker
5. Enzymreagens - dog kun påkrævet til saltvands/enzymprocedure
6. Coombs Control-celler
7. Kontrolserum til kvalitetskontrol
8. Optisk hjælpemiddel³
9. Centrifuge (kalibreret til 1000 rcf* eller 150 rcf*)
10. Vandbad eller varmeplade på 37°C
11. Minutur
12. Pipetter

Oversigt over procedure

Data-Cyte® Plus-panelet er specielt sammensat, så det kan bruges enten alene eller sammen med reagent celler til antistofscreening. Hvis Data-Cyte® Plus-panelet benyttes i kombination med resultater fra screeningsceller og autokontrol, er det kun nødvendigt at benytte de første fire celleprøver i panelet for at få en foreløbig identifikation af de mest almindelige erythrocytantistoffer. Hvis antistoffet ikke kan entydigt identificeres med dette «mini-panel», kan de resterende celleprøver i panelet samt om nødvendigt yderligere udvalgte celler benyttes til at fuldende identifikationen.

Bemærk: Hvis der benyttes en forstærker, bør producentens anvisninger for forberedelse og test af prøverne følges, istedet for den nedenfor beskrevne procedure.

1. Placér 2 eller flere dråber patient- eller donorserum i et reagensglas til hver celle, der skal testes.
2. Tilsæt 1 dråbe af hver Data-Cyte® Plus cellesuspension til det **dertil hørende reagensglas**.
3. Ryst reagensglassene for at blande reagenserne.
4. Hvis der ønskes centrifugeringstest, skal prøverne centrifugeres i 15–20 sekunder ved ca. 1000 rcf* (1 minut ved ca. 150 rcf*) eller i den tid, der passer til centrifugens kalibrering.
5. Genopløs forsigtigt cellerne helt og undersøg straks for agglutination eller hæmolyse.³ Bedøm og registrér resultaterne.

Indirekte antiglobulintest

6. Inkubér ved 37°C i 15–60 minutter eller i henhold til anvisningerne for den benyttede forstærker.
7. Centrifugér straks, og foretag derefter undersøgelse og fortolkning som i trin 4 og 5. Registrér resultaterne for 37°C-testen.
8. Fyld hvert glas med fysiologisk saltvand, der tilsættes i en kraftig stråle. Centrifugér for at pakke cellerne. Hæld forsigtigt supernatantet fra. Ryst for at genopløse cellerne.
9. Gentag trin 8 to gange til for at foretage ialt 3 vask.
10. Tilsæt anti-humant globulin til hvert reagensglas iht. producentens anvisninger, og ryst for at blande.
11. Centrifugér og foretag undersøgelse og fortolkning som i trin 4 og 5. Bedøm og registrér resultaterne.
12. Negative reaktioner fremkommet med anti-humant globulin bør testes ved tilsætning af 1 dråbe IgG-sensibiliserede celler.

Bemærk: Reaktionerne bør fortolkes umiddelbart efter centrifugering, da der ellers er risiko for dissociation af antigen-antistof komplekset.

Saltvand stuetemperatur – lav temperatur

6. Inkubér ved stuetemperatur (20–25°C) i 15–30 minutter.
7. Centrifugér og foretag undersøgelse og fortolkning som i trin 4 og 5. Bedøm og registrér resultaterne.
8. Hvis der ønskes påvisning af kuldeagglutiner, skal reagensglassene inkuberes ved 5°C i 5–15 minutter. Centrifugér derpå, og foretag undersøgelse og fortolkning som i trin 4 og 5. Bedøm og registrér resultaterne af lav temperatur-testen.

*rcf = 0,00001118 x rotationsradius (cm) x rpm²

Kvalitetskontrol

Alt efter de nationale regler for kvalitetskontrol bør følgende foretages:

1. et kendt forholdsvist svagt IgG-reaktivt antistof bør testes med en forskellig Data-Cyte® Plus-suspension hver dag, cellerne er i brug, for at sikre de reagente røde blodlegemers fortsatte reaktivitet. Denne test kan med fordel udføres ved brug af reagenser til kvalitetssikring i blodbanker (BBQAll), der kan fås fra Medion Diagnostics AG eller
2. (almindelig praksis i Europa) et kontrolreagens, der indeholder en blanding af svage Rh-antistoffer, bør køres parallelt med hver testserie (Sero-Control kan i Europa fås fra Medion Diagnostics AG).

Brugen af en autokontrol anbefales som en hjælp til at skelne mellem autoantistoffer og alloantistoffer.²

For at sikre korrekt centrifugering bør hver enkelt centrifuge kalibreres i forhold til den specifikke testprocedure, der skal udføres. Cellerne bør pakkes fast, men negative kontrolceller bør dog let kunne genopløses.⁴

Resultater

Agglutination og/eller hæmolyse (positiv reaktion) i et eller flere af reagensglassene med Data-Cyte® Plus på et hvilket som helst stadie i testproceduren før tilsætning af Coombs Control-celler indikerer tilstedeværelse af uventede blodtypeantistoffer. Sådanne blodtypeantistoffer er sædvanligvis rettet mod de kendte antigener, der findes på panelcellerne, men kan også være rettet mod et antigen, der ikke er angivet i antigensammensætningskemaet.

Fraværet af såvel agglutination som hæmolyse (negativ reaktion) i testproceduren indikerer fravær af blodtypeantistoffer mod de antigener, som de reagente røde blodlegemer besidder.

Fortolkning

Identifikation af det blodtypeantistof/de blodtypeantistoffer, der er til stede, kan med fordel foretages med »overstrengningsmetode« ved brug af det antigensammensætningskema, der følger med hvert lot af Data-Cyte® Plus reagente røde blodlegemer.

1. Vælg den første celle, der giver en negativ reaktion i alle teststadier. Overstreg alle de antigendeterminanter, der findes på den pågældende celle.
2. Gentag trin 1 for alle øvrige negative celler.
3. Sæt en cirkel om de resterende antigener.
 - a. Hvis der kun er cirkel om ét antigen, skal det kontrolleres, om alle celler, der reagerede, besidder det pågældende antigen. I så fald er blodtypeantistoffet sandsynligvis rettet mod dette antigen og kan identificeres som sådan.
 - b. Hvis der er cirkel om flere antigener, skal det kontrolleres, om et hvilket som helst af disse antigener findes på alle reagerende celler. I så fald bør celler, der mangler det pågældende antigen, men besidder de øvrige markerede antigener, testes for at fastslå, om der er multiantistoffer til stede.
 - c. Antigentypebestemmelse af patient/donorceller kan være nyttig ved udelukkelse af blodtypeantistoffer.
 - d. Ved tilstedeværelse af højforekomst-antistoffer eller multiantistoffer kan alle celler blive agglutineret. Der bør rettes henvendelse til et referencelaboratorium, hvis der ikke er sjældne celler til rådighed for testning.

Hvis autokontrollen er positiv, kan serum indeholde autoantistof og yderligere testning kan være påkrævet.²

Procedurebegrænsninger

Inkubation i 15 minutter ved 37°C kan være utilstrækkeligt til påvisning af visse svage blodtypeantistoffer, hvis der ikke tilføjes forstærkere. Til røde blodlegemer med lav frekvens af antigener kan en dobbelt dosis antigen være påkrævet for at påvise meget svagt reagerende blodtypeantistoffer. Derfor indikerer negative reaktioner med panelceller ikke altid fravær af uventede blodtypeantistoffer i det testede serum. Pga. den høje forekomst af Fy^a-genet hos den sorte befolkning kan det ikke antages, at fænotyperne Fy (a+b-) og Fy (a-b+) hos sorte donorer svarer til homozygote ekspressioner af Fy^a- eller Fy^b-generne⁵. Ved tilstedeværelse af blodtypeantistoffer mod højforekomst-antigener eller multiantistoffer kan alle reagente celler blive agglutineret.

Som ved alle serologiske test kan kontamineret materiale, ukorrekt inkubationstid eller -temperatur, ukorrekt centrifugering eller ukorrekt undersøgelse for agglutination give anledning til falske testresultater.

Falske negative resultater kan opstå i følgende tilfælde:

1. Cellerne er ikke vasket korrekt eller der er humant globulin til stede som forureningsstof i glasartiklerne. Dette restglobulin vil neutralisere de globulin-reaktive antistoffer, der findes i det anti-humane globulin.
2. Antistof eluerer fra cellerne under inkubationen eller vaskningen.
3. Erythrocytter og/eller serum er opbevaret ukorrekt og har mistet reaktivitet.
4. Anti-humant globulin er ved en fejl blevet udeladt.
5. Cellerne er ukorrekt centrifugeret.
6. Inkubationstiden og/eller -temperaturen er ikke passende for korrekt cellesensibilisering.
7. Genopløsningen udføres så kraftigt, at agglutinationen af svagt sensibiliserede erythrocytter ikke kan bevares.

Falske positive resultater kan opstå i følgende tilfælde:

1. Testcellerne er mikrobielt kontaminerede.
2. Cellerne er ukorrekt centrifugeret.
3. Testserummet kan indeholde antistoffer mod antitbiotika eller mod de øvrige ingredienser i selvsuspensionsmidlet eller forstærkeren.
4. En ufuldstændig genopløsning kan ligne agglutination.
5. Testserummet kan i sjældne tilfælde indeholde et antistof, der er rettet mod en af komponenterne i reagensfortyndingsmidlet.

Særlige funktionsegenskaber

Hvert lot af Data-Cyte® Plus reagente røde blodlegemer er omhyggeligt formuleret til at muliggøre påvisning af blodtypeantistoffer mod de udvalgte erythrocytantigener, hvis produktet anvendes som beskrevet i disse procedurer.

Alle de antigentyper, der er opført i antigensammensætningskemaet, bekræftes med to antiserumkilder, fraset de følgende typer, som pga. blodtypeantistoffernes sjældenhed kan testes med kun én serumkilde, hvis en anden serumkilde ikke er til rådighed: f, v, Lu^a, Js^a, Js^b, Xg^a, Vel, Ge, Yt^a, Di^a, Di^b samt specialtyper (andre antigener).

Med mindre andet er angivet, har donorerne af Data-Cyte® Plus-cellerne følgende fænotype:

Positiv: H, I, U, Kp^b, Js^b, Vel, Ge, Yt^a, Di^b

Negativ: M^a, Vw, Wt^a, Di^a

De identificerede lavforekomst-antigener, der er til stede, er angivet i antigensammensætningskemaet. Direkte antiglobulintest er negative for alle celler.

Produktets stabilitet overvåges i hele holdbarhedsperioden.

Som med andre røde blodlegemer kan dette produkts reaktivitet blive nedsat i løbet af holdbarhedsperioden. Hastigheden, hvormed antigenreaktiviteten forsvinder, afhænger til dels af den enkelte donors konstitution og denne kan producenten hverken kontrollere eller forudse.

Hvis produktet imidlertid opbevares korrekt, når det ikke er i brug, kan det forventes at fungere som beskrevet i hele holdbarhedsperioden.

Bibliografi

1. Mollison P.L., Blood transfusion in clinical medicine. 10th Edition: Blackwell Scientific Publication; 1997: Chapter 8.
2. Technical Manual of the American Association of Blood Banks. 14th Edition; 2002, Chapter 19 and 20.
3. Ibidem: Chapter 18, p. 383.
4. Ibidem: Method 8.5, p.765.
5. Ibidem: Chapter 15, p. 325.

Garanti

Der ydes garanti for, at dette produkt fungerer som beskrevet på produktetiketten og i produktokumentationen. Medion Diagnostics AG fralægger sig enhver underforstået garanti for salgbarhed eller egnethed til ethvert andet formål. Ligeledes er Medion Diagnostics AG ikke ansvarlig for følgerne af skader i forbindelse med ovennævnte eksplicitte garanti.



Producent



Fremstillet af:
Medion Diagnostics AG
Bonnstrasse 9, CH-3186 Düringen/Switzerland
Made in Switzerland

© Copyright 2006, Medion Diagnostics AG
All rights reserved.

0123

F07797/101 (06.2007)