



Medion Diagnostics

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

U.S. License No. 1740

For use in the detection of unexpected antibodies

For in vitro diagnostic use

Summary and Principle

Search-Cyte®, Search-Cyte® Plus and Search-Cyte® TCS are suspensions of group O Reagent Red Blood Cells differing in antigenic configuration for use in antibody screening, and are selected to enable detection of most clinically significant blood group antibodies.

The antigen typings of each donor are provided on the antigenic constitution matrix that accompanies each product. Search-Cyte® Reagent Red Blood Cells may be utilized in any of the commonly accepted antibody detection procedures.^{1,2}

Antibodies react with Red Blood Cells possessing the corresponding antigenic determinants. Antibodies may agglutinate Red Blood Cells in saline, low ionic strength solution (LISS), high protein media or antiglobulin testing.

Reagent

Search-Cyte® Reagent Red Blood Cells I and II are individual suspensions of group O Red Blood Cells from two donors, one rr (cde/cde) and one R₁R₂ (CDe/CDe).

Search-Cyte® Plus Reagent Red Blood Cells I and II are individual suspensions of group O Red Blood Cells from two donors, one R₁R₁ (CDe/CDe) or R₁R^W (CDe/C^WDe) and one R₂R₂ (cDe/cDe).

Search-Cyte® TCS Reagent Red Blood Cells I, II and III are individual suspensions of group O Red Blood Cells from three donors, one R₁R₁ (CDe/CDe) or R₁R^W (CDe/C^WDe), one R₂R₂ (cDe/cDe) and one rr (cde/cde).

All Red Blood Cells are 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.** Resuspend by gently inverting 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.

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

Search-Cyte® Reagent Red Blood Cells I and II, or Search-Cyte® Plus Reagent Red Blood Cells I and II, or Search-Cyte® TCS Reagent Red Blood Cells I, II and III

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. Coombs control cells
6. Optical aid³
7. Centrifuge (calibrated for 1000 rcf* or 150 rcf*)
8. Water bath or heating block at 37°C
9. Timer
10. Pipets

Procedure Outline

If 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 test serum in each properly labeled tube.
2. Add 1 drop of appropriate Reagent Red Blood Cells suspension to each tube. Shake all tubes to mix.
3. 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 each centrifuge.
4. Gently resuspend Red Blood Cells completely and examine immediately for agglutination or hemolysis. Grade and record results.

Procedure A

Indirect Antiglobulin Test

5. Incubate at 37°C for 15–60 minutes.
6. Immediately centrifuge, examine and interpret as in Steps 3 and 4. Record results of 37°C testing.
7. 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.
8. Repeat Step 7 twice for a total of 3 washings.
9. Add anti-human globulin to each tube according to manufacturer's instructions and shake to mix.
10. Centrifuge, examine and interpret as in Steps 3 and 4. Grade and record results.
11. Negative reactions obtained with anti-human globulin should be confirmed by adding 1 drop Coombs control cells (see Coombs Control Cells package insert).

* rcf = 0.0001118 x rotation radius (cm) x rpm²

Procedure B

Saline Room Temperature

- Incubate at room temperature (20–25°C) for 15–30 minutes.
- Centrifuge, examine and interpret as in Steps 3 and 4. Grade and record results.

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

Quality Control

Known relatively weak positive serums should be tested with each Search-Cyte® suspension each day Reagent Red Blood Cells are in use. This testing may be conveniently performed using Blood Bank Quality Assurance (BBQA II) Testing Reagents, available from Medion Diagnostics AG.

Use of an autocontrol may be helpful in distinguishing autoantibodies and alloantibodies. If the autocontrol is positive, the serum may contain auto-antibody and further testing may be indicated.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.³

Results

Agglutination and/or hemolysis in any of the Search-Cyte® 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 screening Red Blood Cells, but may be directed against an antigen not indicated on the antigenic constitution matrix. The lack of both agglutination and hemolysis in the test procedure indicates the absence of antibodies to antigens contained in the reagent. Agglutination or hemolysis in the autocontrol tube indicates further studies are necessary.¹

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.

Low frequency antigens may not always be present on Search-Cyte® Reagent Red Blood Cells, and a double dose of antigen may be required to detect very weakly reacting antibodies; therefore, negative reactions with the screening Red Blood Cells do not always indicate the absence of unexpected antibodies. 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* genes. Use of an autocontrol may be helpful in distinguishing between autoantibodies and alloantibodies.²

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

- 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 serum.
- antibody elutes from Red Blood Cells during incubation or washing.
- Red Blood Cells and/or serum are stored improperly and lose reactivity.
- anti-human globulin is inadvertently omitted.
- Red Blood Cells are improperly centrifuged.
- incubation times and/or temperatures are incorrect for proper Red Blood Cells sensitization.
- resuspension technique is too vigorous to preserve agglutination of weakly sensitized Red Blood Cells.

False positive results may occur if

- Red Blood Cells have microbial contamination.
- Red Blood Cells are improperly centrifuged.
- 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.
- incomplete resuspension may counterfeit agglutination.
- 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 Search-Cyte® 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 those indicated on the antigenic constitution matrix enclosed with each lot.

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

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

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

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.



Search-Cyte® Search-Cyte® Plus Search-Cyte® TCS Hematíes reactivos 3±1%

U.S. License No. 1740

Para utilizar en la detección de anticuerpos irregulares

Para uso diagnóstico in vitro

Resumen y principio

Search-Cyte®, Search-Cyte® Plus y Search-Cyte® TCS son suspensiones celulares del grupo 0 con distinta configuración antigénica para ser utilizadas en el screening de anticuerpos, y son seleccionadas para facilitar la detección de la mayoría de los anticuerpos de grupos sanguíneos clínicamente significativos.

Los antígenos tipificados de cada donante están provistos de la matriz de constitución antigénica que acompaña a cada producto. Las células de Search-Cyte® pueden utilizarse en cualquiera de los procedimientos comúnmente aceptados para detección de anticuerpos.^{1,2}

Los anticuerpos reaccionan con los glóbulos rojos que poseen los determinantes antigénicos correspondientes. Los anticuerpos pueden aglutinar los eritrocitos en solución salina, en medios de baja fuerza iónica (LISS), medios altos en proteínas, o test de antiglobulina.

Reactivo

Search-Cyte®, Hematíes reactivo I y II son suspensiones individuales de eritrocitos de dos donantes, del grupo 0, uno rr (cde/cde) y otro R₁R₂ (CDe/CDe).

Search-Cyte® Plus, Hematíes reactivo I y II son suspensiones individuales de eritrocitos de dos donantes del grupo 0, uno R₁R₁ (CDe/CDe) o R₁R^w (CDe/C^wDe) y otro R₂R₂ (cDe/cDe).

Search-Cyte® TCS, Hematíes reactivo I, II y III son suspensiones individuales de eritrocitos de tres donantes del grupo 0, uno R₁R₁ (CDe/CDe) o R₁R^w (CDe/C^wDe), otro R₂R₂ (cDe/cDe) y otro rr (cde/cde).

Todas las células son suspensiones al 3±1% en medio isotónico con taponnes añadidos (bicarbonato y fosfato) y conservantes (0,03% de neomicina y 0,05 de cloranfenicol). El medio de suspensión no contiene ingredientes que inhiban la hemólisis producida por el complemento. En este producto se pueden utilizar hematíes congelados y descongelados.

Conservar entre 2–8°C. **No congelar.** Resuspender cuidadosamente invirtiendo el frasco antes de usarlo. Las células están listas para ser utilizadas. El lavado de las células antes de su uso es opcional. Indicaciones de deterioro: observación de hemólisis, la cual puede ser causada por contaminación microbiana o por un mal manejo.

Precaución: Todos los productos sanguíneos han de ser tratados como potencialmente infecciosos. El origen del material del cual derivan estos productos, fue encontrado negativo cuando se analizó de acuerdo con los test actuales requeridos por la F.D.A. No se conoce ningún test que pueda ofrecer la seguridad de que los productos derivados de sangre humana no transmitan agentes infecciosos.

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

Recolección y preparación de la muestra

Es preferible el uso de suero procedente de sangre recientemente coagulada. Para obtener resultados óptimos el suero ha de ser conservado entre 2–8°C, y analizarse antes de las 48 h. de la extracción. De cualquier modo, las muestras de suero pueden ser congeladas entre -20°C/-80°C y ser analizadas más tarde, si es 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}

Método

Reactivos suministrados

Hematíes reactivo Search-Cyte® I y II o
Hematíes reactivo Search-Cyte® Plus I y II o
Hematíes reactivo Search-Cyte® TCS I, II y III

Material requerido y no suministrado

1. Tubos disponibles (12 x 75 mm or 10 x 75 mm)
2. Salina fisiológica
3. Antiglobulina humana
4. Potenciador
5. Hematíes control de Coombs
6. Ayuda óptica³
7. Centrífuga (calibrada para 1000 rcf* o 150 rcf*)
8. Baño de agua o bloque caliente a 37°C
9. Cronómetro
10. Pipetas

Descripción del método

Si usa potenciador, siga las instrucciones del fabricante para su preparación y análisis de las muestras, en lugar del método sugerido posteriormente.

1. Colocar 2 gotas o más de suero a estudiar en cada tubo marcado apropiadamente.
2. Añadir 1 gota de la suspensión adecuada en cada tubo. Agitar todos los tubos para mezclar.
3. Si se desea con centrifugación inmediata, centrifugar entre 15–20 seg. aproximadamente a 1000 rcf* (o 1 min. aprox. a 150 rcf*) o el tiempo apropiado para la calibración de cada centrífuga.
4. Resuspender suavemente el botón celular y examinar inmediatamente si hay aglutinación o hemólisis. Anotar el grado de respuesta.

Método A

Test de antiglobulina indirecta

5. Incubar a 37°C de 15 a 60 minutos.
6. Centrifugar inmediatamente, observar e interpretar como en los pasos 3 y 4. Anotar los resultados del test a 37°C.
7. Llenar cada tubo con salina fisiológica añadiéndola fuertemente. Centrifugar para formar el botón celular. Decantar cuidadosamente el sobrenadante. Agitar para resuspender las células.

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

8. Repetir el paso nº7 dos veces más, hasta un total de 3 lavados.
9. Añadir la antiglobulina humana a cada tubo, de acuerdo con las instrucciones del fabricante y agitar para mezclar.
10. Centrifugar, observar e interpretar como en los pasos 3 y 4. Anotar el grado de aglutinación o hemólisis.
11. Reacciones negativas obtenidas con la antiglobulina humana, deben ser confirmadas añadiendo una gota de las células de control de Coombs (ver folleto de los hematíes reactivos Control de Coombs.)

Método B

Técnica en medio salino a temperatura ambiente

5. Incubar a temperatura ambiente (20–25°C) entre 15–30 minutos.
6. Centrifugar, examinar e interpretar según los pasos 3 y 4. Anotar el grado de aglutinación o hemólisis.

Nota: Las reacciones deben ser interpretadas inmediatamente después de la centrifugación para evitar la posibilidad de que se disocie el complejo antígeno-anticuerpo.

Control de Calidad

Se tienen que analizar conjuntamente cada día que se utilicen las suspensiones celulares de Search-Cyte®, sueros conocidos con reacción relativamente positiva. Estos análisis pueden ser realizados convenientemente, utilizando los reactivos de Blood Bank Quality Assurance (BBQA II) en U.S.A. y el Sero-Control en Europa disponibles en Medion Diagnostics AG.

El uso de un autocontrol puede ser útil en la distinción de autoanticuerpos y aloanticuerpos. Si el autocontrol es positivo, el suero puede contener autoanticuerpo y puede ser necesario realizar otras pruebas.²

Para asegurar la centrifugación apropiada, cada centrífuga individual ha de ser calibrada para cada test específico que se esté analizando. Las células han de formar un botón firme, sin embargo, las células del control negativo se deberían resuspender fácilmente.³

Resultados

Aglutinación y/o hemólisis en alguno de los tubos de Search-Cyte® en alguna fase del procedimiento previa a la adición de las células de control de Coombs, indica la presencia de anticuerpos irregulares. Tales anticuerpos están normalmente dirigidos contra antígenos conocidos presentes en las células de screening, pero pueden estar dirigidos contra algún antígeno no indicado en la constitución antigénica de la matriz. La falta de aglutinación y/o hemólisis en el procedimiento del test, indica la ausencia de anticuerpos para los antígenos contenidos en el reactivo. La presencia de aglutinación o hemólisis en el tubo de autocontrol indica que son necesarios estudios adicionales.¹

Limitaciones del método

Incubando durante 15 minutos a 37°C puede que no se detecten algunos anticuerpos débiles si no se añade un medio potenciador en la prueba.

A veces los Search-Cyte® no presentan antígenos de baja frecuencia, y se puede necesitar una doble dosis de antígeno para detectar reacciones de anticuerpos muy débiles; por eso, reacciones negativas con las células de screening no siempre indican la ausencia de anticuerpos irregulares. Debido a la alta incidencia del gen *Fy^a* en la población negra, no se puede asumir que los fenotipos *Fy* (a+b-) y *Fy* (a-b+) en los donantes negros, representen expresiones homocigóticas de los genes *Fy^a* o *Fy^b*. El uso de un autocontrol ayuda a distinguir entre autoanticuerpos y aloanticuerpos.²

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.

Podemos encontrar los falsos negativos si

1. Las células no han sido debidamente lavadas o las globulinas humanas se han contaminado en el frasco. Estas globulinas residuales neutralizarán los anticuerpos globulinreactivos presentes en el suero de la antiglobulina humana.
2. Elución de los anticuerpos durante la incubación o el lavado.
3. Los eritrocitos y/o el suero han estado mal conservados y tienen baja reactividad.
4. Olvido de la adición de la antiglobulina humana.
5. Las células han sido mal centrifugadas.
6. Los tiempos de incubación y/o las temperaturas han sido incorrectos para la apropiada sensibilidad de las células.
7. Resuspensiones demasiado fuertes pueden deshacer aglutinaciones de eritrocitos sensibilizados débilmente.

Podemos encontrar falsos positivos si

1. Las células analizadas tienen contaminación microbiana.
2. Las células no se han centrifugado correctamente.
3. El suero analizado puede representar anticuerpos para los antibióticos u otras sustancias que se puedan encontrar en el medio de las suspensión o en el potenciador usado.
4. Una resuspensión incompleta puede simular una aglutinación.

Características específicas

Cada lote de hematíes reactivos de Search-Cyte® está cuidadosamente preparado para permitir la detección de anticuerpos contra los antígenos eritrocitarios seleccionados cuando se utiliza tal como se ha descrito anteriormente.

Todos los tipos de antígenos listados en la matriz de constitución antigénica están confirmados utilizando dos formas de antisuero, excepto para aquellos indicados en dicha matriz, adjunta en cada lote.

Los antígenos identificados de baja incidencia presentes se indican en la matriz de constitución antigénica. Los tests de antiglobulina directa resultan negativos en todas las células.

Igual que todos los reactivos de Glóbulos Rojos, la reactividad del producto puede decrecer durante el período de caducidad. El grado de reactividad de los antígenos va disminuyendo, dependiendo parcialmente de las características individuales de cada donante, lo cual no puede ser controlado ni predecible por el fabricante. De todos modos, si se conserva apropiadamente cuando no se usa, el reactivo puede utilizarse tal como se ha descrito, dentro del tiempo de caducidad.

Bibliografía

1. Mollison P.L., Blood transfusion in clinical medicine. 10th ed. Blackwell Scientific Publications; 1997; Chapter 8.
2. Technical manual of the American Association of Blood Banks. 14th ed. 2002, Chapter 18 and 20.
3. Ibidem: Method 8.5, p.765.

Garantía

Este producto está garantizado para la actuación descrita en su embalaje y en su prospecto, y Medion Diagnostics AG declina cualquier garantía implicada de su comercio o estado físico para cualquier otra finalidad, y en ningún caso Medion Diagnostics AG será responsable de los daños causados no incluidos en esta garantía expresa.