

Seraclone™ Anti-A (AB01), -B (AB02), -AB (AB03)

For typing of AB0 blood characteristics

REF	801 320	10 ml	Seraclone™ Anti-A
REF	801 325	10x10 ml	Seraclone™ Anti-A
REF	801 345	10 ml	Seraclone™ Anti-B
REF	801 350	10x10 ml	Seraclone™ Anti-B
REF	801 370	10 ml	Seraclone™ Anti-AB
REF	801 375	10x10 ml	Seraclone™ Anti-AB
PRES	Preservative: < 0.1 % NaN ₃		
ACT	Activity / Min.titer		

IVD Diagnostic reagent for in vitro use only

To be used by trained laboratory personnel only. The **ACT** is printed on the label. Symbols are used according to regulation EN 980. Symbols not contained in regulation EN 980 are described.

Test purpose

AB0 blood type characteristics are determined with the monoclonal reagents Anti-A, Anti-B and Anti-AB. They are verified by serum characteristics determination. Blood typing is considered valid if both red blood cell and serum characteristics were examined.

Test principle

The test principle is a hemagglutination test for the detection of red blood cell antigens. The antibodies in Seraclone™ Anti-A, -B, -AB bind to the corresponding antigen on red blood cells and cause an antigen-antibody-reaction visible as red blood cell agglutination. The four AB0 blood types A, B, AB and 0 are defined by the presence or absence of A and B characteristics on red blood cells. The absence of both A and B characteristics defines blood type 0. The antigens (characteristics) A and B react with the corresponding antibody in Seraclone™ Anti-A, -B, -AB. Seraclone™ Anti-A, -B, -AB can be used for slide, tile or tube testing.

Reagent

Seraclone™ Anti-A, -B, -AB contain as reactive components monoclonal antibodies of the immunoglobulin class IgM. They are derived from hybridoma cell lines which are created by fusing mouse antibody producing B-lymphocytes with mouse myeloma cells and demonstrate consistent specificity and reproducibility characteristic for monoclonal antibodies. Both antibodies derived from a single clone (sister cells of one hybridoma cell) and a mixture of different antibodies derived from several clones are called monoclonal. The bovine albumin used for the production of this reagent is purchased from BSE-free sources.

Seraclone™ Anti-A	Clone A003
Seraclone™ Anti-B	Clone B005
Seraclone™ Anti-AB	Clones BS 63/BS 85

Material required but not supplied

- Slides, Bioplate
- Pipettes (drop volume 40-50µl)
- Isotonic saline or Phosphate Buffered Solution (PBS). (PBS only when tested with Seraclone™ Anti-AB)
- Glass tubes
- Laboratory centrifuge
- Seraclone Control AB0+Rh (REF 805171)
- Control Set QC (REF 816034)

Specimen collection

Blood samples should be taken following general blood sampling guidelines. Fresh, non-hemolytic samples (native, EDTA or citrate blood) should be used. The specimen should be tested as soon as possible after collection. If testing is delayed, specimens should be stored at 2...8°C. If needed prepare a red cell suspension from a centrifugated blood sample (e. g. 2 min. at 1000 x g) in isotonic saline as suspension medium. ◀ Strongly lipemic, icteric or microbiologically contaminated samples may lead to false results.

Test procedure

For the detection of AB0 blood types the red cells to be tested are treated with Seraclone™ Anti-A, Anti-B, Anti-AB. The serum to be tested is treated with reagent red cells, such as Biotestcell™-A₁, -A₂, -B, -0 (reverse typing).

Rapid test

- Place 1 drop reagent to slide (do not pre-heat!).
- Add 1 small drop whole blood and mix well.
- Agglutination will occur within 30 to 60 seconds. In order not to overlook weak A reactions, the agglutination should be read only after 2 minutes of careful rotation.

Incubation test

- Suspend red cells to be tested 5-10% in isotonic saline solution or use whole blood.
- On a slide mix 1 drop reagent and 1 drop red cell suspension or whole blood.
- Incubate 15-30 minutes at room temperature (cover adequately to prevent drying out)
- Gently rock slide and observe for agglutination.

Tube test

- Suspend red cells to be tested in 3-5% isotonic saline or PBS*.
- In a properly marked tube mix 1 drop reagent and 1 drop red blood cell suspension.
- Centrifugate 2 minutes at 150 - 200 x g or 20 seconds at 800 - 1000 x g or incubate 20 minutes at room temperature.
- Gently dislodge cell button and observe for agglutination.

*PBS is only approved for Seraclone™ Anti-AB

Test of serum characteristics (reverse typing)

The serum to be tested should be examined with known A₁-, A₂-, B- and 0-cells or Biotestcell™-A₁, -A₂, -B, -0 with the above described procedures in slide, tile or tube testing. Since serum characteristics may react in different strength, an incubation for 15-30 minutes at room temperature should be performed. Generally, newborns and young babies do not show test reaction due to missing isoagglutinines. Isoagglutinines may also be absent in elderly patients.

Interpretation of results

Reaction patterns red cell characteristics and isoagglutinines

Test sera + Patient red cells			Test red cells + serum/plasma				Blood- group
Anti-A	Anti-B	Anti-AB	A ₁	A ₂	B	0	
+	-	+	-	-	+	-	A
-	+	+	+	+	-	-	B
-	-	-	+	+	+	-	0
+	+	+	-	-	-	-	AB

+ = agglutination - = no agglutination

Reactions of Seraclone™ Anti-A, Anti-B and Anti-AB with AB0 variations

Seraclone™ test reagents do not react with cryptoantigens (T-, Tn-, Tk-activated cells).

Seraclone™ Anti-B reacts correctly negative with acquired B characteristics.

Seraclone™	Anti-A	Anti-B	Anti-AB
A ₂	++++	-	++++
A ₂ B	++++	++++	++++
A ₃	+++(+)	-	+++(+)
A ₃ B	+++(+)	++++	++++
A _x	++(+)	-	++(+)
A _y B	++(+)	++++	++++
B _{weak}	-	++(+)	++(+)
AB _{weak}	++++	++(+)	++++

Evaluation of the reaction strength is carried out according to the Technical Manual (1):

Reaction strength	Agglutination
4+	One single agglutinate
3+	Several large agglutinates
2+	Medium-size agglutinates, clear background
1+	Small agglutinates, turbid background
+/-	Barely visible agglutination, turbid background
-	No agglutination

Quality control

The reactivity of all blood typing reagents should be confirmed on each day of use. To confirm the reactivity or specificity of Bio-Rad monoclonal AB0 reagents (Anti-A, Anti-B and/or Anti-AB) each should be tested with antigen-positive and antigen-negative red blood cells, respectively. Each reagent is satisfactory for use if it reacts only with antigen-positive red blood cells. Confirmation of results in forward grouping must be obtained by performing the reverse grouping test.

Performance characteristics and limitations of the method

In very rare cases, it has been observed that when using Seraclone™ Anti-A minor traces of A-blood group substance were detected on B-erythrocytes. If this B (A) phenomenon does occur, it should be solved like other discrepancies between blood group determination and reverse typing.

Seraclone™ Anti-B reacts correctly negative with acquired B characteristics.

In case of ambiguous results it is recommended to wash red blood cells at least 2 times.

In case of questionable results of unknown origin our Bio-Rad Service will assist you (phone: +49-6103-3130-611).

Shelf life

Storage temperature of the Bio-Rad monoclonal AB0 reagents is 2...8°C. After opening the reagent, the product can be stored until its expiry date under proper storage conditions (2...8°C). Recurrent alternating storage of the

reagent Seraclone™ Anti-AB from 2...8°C to ≥ room temperature may result in protein precipitation, which does not affect the efficacy of the reagent. The expiry date is printed on the label.

Warning and precautions

- Do not use damaged vials.
- Turbidity or other visible changes may indicate a bacterial contamination. Do not use if turbid.
- Manual techniques are to be performed according to the manufacturer's instructions. Each deviation from these instructions is the sole responsibility of the user.
- Seraclone™ Anti-A, -B, -AB is suited for use in automated systems. The use in automated systems is to be validated by the user. The use of Seraclone™ Anti-A, -B, -AB in automated systems may require dilution of the reagent. The user's responsibility extends to all changes in the reagent, e.g. freezing on microtiterplates.
- Used tests must be discarded as hazardous material. Waste management information can be found in the safety data sheet.
- Because of biotechnological manufacturing of non-human monoclonal antibodies, an infection with hepatitis, HIV 1/2 or other infectious diseases can be considered impossible. Nevertheless, all test reagents of biological origin must be regarded as potential transmitters of hepatitis, HIV or other infectious agents. Appropriate safety precautions are recommended.
- The packaging of this product contains natural rubber latex which may cause allergic reactions.
- Seraclone™ Anti-B contains tartrazine which may cause allergic reaction.
- The products contain sodium azide (NaN₃), which may react with lead or copper plumbing to form explosive azides. If discarded in the sink, flush with large amounts of water to prevent the build-up of explosive metal azides.

References

(1) Technical Manual, 17th edition, Section 1, American Association of Blood Banks

Key: Underline = Addition or significant change ◀ = Deletion of text

DE

Seraclone™ Anti-A (AB01), -B (AB02), -AB (AB03)

Zur Bestimmung der AB0-Blutgruppenmerkmale

<u>REF</u>	801 320	10 ml	Seraclone™ Anti-A
<u>REF</u>	801 325	10x10 ml	Seraclone™ Anti-A
<u>REF</u>	801 345	10 ml	Seraclone™ Anti-B
<u>REF</u>	801 350	10x10 ml	Seraclone™ Anti-B
<u>REF</u>	801 370	10 ml	Seraclone™ Anti-AB
<u>REF</u>	801 375	10x10 ml	Seraclone™ Anti-AB
<u>PRES</u>	Konserviert mit : < 0,1 % NaN ₃		
<u>ACT</u>	Aktivität / Mindestiter		

IVD Reagenz zur In-vitro-Diagnostik

Der Test darf nur von geschultem Fachpersonal durchgeführt werden. Der ACT ist dem Etikett zu entnehmen. Symbole werden entsprechend der Norm EN 980 verwendet. In EN 980 nicht enthaltene Symbole sind im weiteren Text erklärt.

Verwendungszweck

Die AB0-Blutgruppenmerkmale werden mit den monoklonalen Reagenzien Anti-A, Anti-B und Anti-AB bestimmt und durch den Nachweis der Serumeigenschaften abgesichert. Die Blutgruppenbestimmung gilt als gesichert, wenn sowohl Erythrozytenmerkmale als auch Serumeigenschaften untersucht wurden.

Testprinzip

Das Testprinzip ist der Hämagglutinationstest zum Nachweis der entsprechenden Erythrozyten-Antigene. Die Antikörper in Seraclone™ Anti-A, -B, -AB lagern sich an das korrespondierende Antigen auf den Erythrozyten und bewirken eine Antigen-Antikörper-Reaktion in Form einer sichtbaren Agglutination der Erythrozyten. Die vier Blutgruppen A, B, AB und 0 werden durch das Vorhandensein oder das Fehlen von A- und B-Merkmalen auf den Erythrozyten definiert. Das Fehlen von A und B ergibt die Blutgruppe 0. Die Antigene (Merkmale) A und B reagieren mit dem korrespondierenden Antikörper in Seraclone™ Anti-A, -B und -AB. Seraclone™ Anti-A, -B und -AB kann im Objektträger-, Tüpfelplatten- und Röhrchentest eingesetzt werden.

Reagenz

Seraclone™ Anti-A, -B, -AB enthalten als reaktiven Bestandteil monoklonale Antikörper der Immunglobulin-Klasse IgM. Sie werden aus dem Zellkultur-Überstand von Hybridomzelllinien gewonnen, die durch Fusion von antikörperproduzierenden B-Lymphozyten der Maus mit Maus-Myelomzellen entstanden sind. Sie weisen die für monoklonale Antikörper geltende konstante Spezifität und Reproduzierbarkeit auf. Sowohl Produkte eines Klons (Tochterzellen einer Hybridomzelle) als auch Mischungen von mehreren Produkten einzelner Klone werden als monoklonal bezeichnet.

Das zugesetzte Rinderalbumin wird nur aus BSE-freien Beständen bezogen.

Seraclone™ Anti-A	Klon A003
Seraclone™ Anti-B	Klon B005
Seraclone™ Anti-AB	Klone BS 63/BS 85

Zusätzlich benötigte Reagenzien und Materialien

- Glasobjektträger, Tüpfelplatte, Bioplate
- Pipetten (Tropfenvolumen 40-50µl)
- Isotone Kochsalzlösung oder Phosphat gepufferte Kochsalzlösung (PBS). (PBS darf nur für die Testung mit Seraclone™ Anti-AB verwendet werden)
- Glasröhrchen
- Laborzentrifuge
- Seraclone Control AB0+Rh (REF 805171)
- Control Set QC (REF 816034)

Probenmaterial

Blutproben werden nach allgemeingültigen Entnahmeverfahren gewonnen. Es sollten frische, nicht hämolytische Proben (Nativ-, EDTA- oder Citratblut) verwendet werden analog zu den genannten Testmethoden. Die Blutproben sollten schnellstmöglich nach der Entnahme getestet werden. Verzögert sich die Testdurchführung sollten die Proben bei 2...8°C gelagert werden. Wird für die Durchführung der Methode eine Erythrozytensuspension benötigt, wird diese aus den Erythrozyten der abzentrifugierten Blutprobe (z. B. 2 min. 1000 x g) mit isotoner Kochsalzlösung als Suspensionsmedium erstellt. Stark lipämische, ikterische oder mikrobiell kontaminierte Proben können zu unzuverlässigen Testergebnissen führen.

Testdurchführung

Zum Nachweis der AB0-Blutgruppen werden die Probandenerthrozyten mit Seraclone™ Anti-A, Anti-B, Anti-AB untersucht. Das Probandenserum wird mit bekannten Testerythrozyten, z.B. Biotestcell™ A₁, -A₂, -B, -0 Serumgegenprobe) untersucht.

Schnelltest

1. Auf einen nicht erwärmten Objektträger je 1 Tropfen Reagenz geben.
2. 1 kleinen Tropfen Vollblut hinzufügen und gut mischen.
3. Die Agglutination erfolgt nach 30-60 Sekunden. Damit eine schwache A-Eigenschaft nicht übersehen wird, sollte die Prüfung auf Agglutination frühestens nach 2 Minuten unter leichtem Rotieren erfolgen.

Inkubationstest

1. Die zu untersuchenden Erythrozyten 5 bis 10 %ig in isotoner Kochsalzlösung suspendieren oder Vollblut verwenden.
2. Auf einem Objektträger oder einer Tüpfelplatte je 1 Tropfen Reagenz und 1 Tropfen Erythrozytensuspension bzw. einen kleinen Tropfen Vollblut mischen.
3. 15-30 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren (zum Schutz vor Eintrocknung in geeigneter Weise abdecken).
4. Unter leichtem Rotieren auf Agglutination prüfen.

Röhrchentest

1. Die zu untersuchenden Erythrozyten werden 3 bis 5%ig in isotoner Kochsalzlösung oder PBS* suspendiert.
2. In einem entsprechend beschrifteten Röhrchen 1 Tropfen Reagenz und 1 Tropfen der Erythrozytensuspension mischen.
3. 2 Minuten bei 150 - 200 x g oder 20 Sekunden bei 800 - 1000 x g zentrifugieren oder 20 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
4. Unter leichtem Aufschütteln auf Agglutination prüfen.

*PBS ist nur für Seraclone™ Anti-AB zugelassen.

Untersuchung der Serumeigenschaften (Serumgegenprobe)

Das Probandenserum ist mit bekannten A₁, A₂, -B und 0 - Zellen oder Biotestcell™ A₁, -A₂, -B, -0 entsprechend der oben angeführten Technik im Tüpfelplatten-, Objektträger- oder Röhrchentest zu untersuchen. Da die Serumeigenschaften in unterschiedlicher Stärke reagieren, sollte eine Inkubation 15 - 30 Minuten bei Raumtemperatur erfolgen. Im Allgemeinen sind bei Neugeborenen und Säuglingen aufgrund fehlender Isoagglutinine keine endgültigen Ergebnisse möglich. Isoagglutinine können ebenso bei älteren Menschen fehlen.

Interpretation der Ergebnisse

Reaktionsmuster Erythrozytenmerkmale und Isoagglutinine

Reagenz + Patientenerthrozyten			Testerythrozyten + Serum/Plasma			Blutgruppe
Anti-A	Anti-B	Anti-AB	A ₁	A ₂	B 0	
+	-	+	-	-	+	A
-	+	+	+	+	-	B
-	-	+	+	+	-	0
+	+	+	-	-	-	AB

+ = Agglutination

- = keine Agglutination

Reaktionen von Seraclone™ Anti-A, Anti-B & Anti-AB mit AB0-Varianten

Seraclone™ Testreagenzien reagieren nicht mit Kryptantigenen (T-, Tn-, Tk-aktivierten Zellen).

Seraclone™ Anti-B reagiert richtig negativ bei erworbenen B-Merkmalen.

Seraclone™	Anti-A	Anti-B	Anti-AB
A ₂	++++	-	++++
A ₂ B	++++	++++	++++
A ₃	+++(+)	-	++(+)
A ₃ B	+++(+)	++++	++++
A _x	++(+)	-	+(+)
A _x B	++(+)	++++	++++
B _{weak}	-	++(+)	++(+)
AB _{weak}	++++	++(+)	++++

Die Bewertung der Reaktionsstärken erfolgt analog den Vorgaben des Technical Manual (1):

Reaktionsstärke	Agglutinationsbild
4+	Ein einziges Agglutinat
3+	Mehrere große Agglutinate
2+	Mittelgroße Agglutinate, klarer Hintergrund
1+	Kleine Agglutinate, trüber Hintergrund
+/-	Gerade noch sichtbare Agglutinate, trüber Hintergrund
-	Keine Agglutinate

Qualitätskontrolle

Um die Reaktivität oder Spezifität der monoklonalen Bio-Rad-Reagenzien (Anti-A, Anti-B and/or Anti-AB) zu bestätigen, sollte jedes Reagenz mit den entsprechenden Antigen positiven und Antigen negativen Erythrozyten getestet werden. Die Reagenzien dürfen verwendet werden, wenn nur die Antigen positiven Erythrozyten reagieren. Die Ergebnisse der Antigenbestimmung müssen mit der Bestimmung der Serumeigenschaften übereinstimmen.

Leistungsmerkmale und Grenzen der Methode

In sehr seltenen Fällen ist beobachtet worden, dass bei Verwendung von Seraclone™ Anti-A geringe Spuren von A-Blutgruppensubstanz auf B-Erythrozyten nachgewiesen wurde. Dieses B (A)-Phänomen sollte, wenn es auftritt, wie andere Diskrepanzen zwischen Blutgruppenbestimmung und Serumgegenprobe gelöst werden.

Seraclone Anti-B reagiert eindeutig negativ mit der Antigeneigenschaft acquired B.

Bei unklaren Ergebnissen wird empfohlen die Erythrozyten 2mal zu waschen. Bei zweifelhaften Ergebnissen unklarer Ursache steht der Bio-Rad-Service (Tel. 06103-3130-611) für Rückfragen zur Verfügung.

Haltbarkeit

Die Lagerungstemperatur von Bio-Rad monoklonalen AB0 Reagenzien ist 2...8°C. Nach Öffnung des Reagenzes ist das Produkt bei sachgemäßer Lagerung bis zum Ende der angegebenen Laufzeit haltbar. Wiederholte Wechsellagerungen des Reagenzes Seraclone™ Anti-AB von 2...8°C auf ≥ Raumtemperatur kann zu Proteinausfällungen führen, die die Wirksamkeit des Reagenzes nicht beeinflussen. Die Laufzeit ist dem Reagenzienetikett zu entnehmen.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Bei beschädigtem Fläschchen darf das Produkt nicht mehr verwendet werden.
- Eine Trübung des Produktes kann ein Hinweis auf bakterielle Verunreinigung sein. In diesem Fall darf das Produkt nicht eingesetzt werden.
- Manuelle Techniken sind nach den Vorgaben des Herstellers anzuwenden. Jede Abweichung von den Vorgaben des Herstellers liegt in der Verantwortung des Anwenders.
- Seraclone™ Anti-A, -B, -AB sind für den Einsatz im Automaten geeignet. Die Anwendung im Automaten ist vom Anwender und in Verantwortung des Anwenders zu validieren. Für den Einsatz des Reagenzes in Automaten kann eine Verdünnung des Reagenzes erforderlich sein. Die Verantwortung des Anwenders gilt auch für jede sonstige Veränderung des Fertigreagenzes, wie z.B. Einfrieren auf Mikrotiterplatten.
- Gebrauchtes Testmaterial muss als Gefahrgut betrachtet werden. Hinweise zur Entsorgung sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.
- Durch die biotechnologische Herstellung der nicht humanen monoklonalen Antikörper ist das Risiko einer Infektion mit Hepatitis, HIV 1/2 oder anderen Erregern nahezu ausgeschlossen. Dennoch sollten alle Testreagenzien als potentielle Überträger von Hepatitis, HIV oder anderen infektiösen Krankheitserregern behandelt werden. Angemessene Sicherheitsvorkehrungen werden empfohlen.
- Die Verpackung dieses Produktes enthält natürliches Latex welches allergische Reaktionen auslösen kann.
- Seraclone™ Anti-B enthält Tartrazin, der allergische Reaktionen verursachen kann.
- Das Produkt enthält Natriumazid (NaN₃), welches mit Blei- oder Kupferrohren zu explosiven Aziden reagieren kann. Bei einer Entsorgung im Abfluss mit viel Wasser nachspülen, um die explosive Verbindung von Metallaziden zu verhindern.

Literatur

(1) Technical Manual, 17th edition, Section 1, American Association of Blood Banks

Schlüssel: Unterstrichen = Zusatz oder wichtige Änderung ◀ = Entfernter Text

Seraclone™ Anti-A (AB01), -B (AB02), -AB (AB03)

Pour l'identification des caractéristiques du groupe sanguin AB0

[REF]	801 320	10 ml	Seraclone™ Anti-A
[REF]	801 325	10x10 ml	Seraclone™ Anti-A
[REF]	801 345	10 ml	Seraclone™ Anti-B
[REF]	801 350	10x10 ml	Seraclone™ Anti-B
[REF]	801 370	10 ml	Seraclone™ Anti-AB
[REF]	801 375	10x10 ml	Seraclone™ Anti-AB
[PRES]	Conservé avec: 0,1 % de NaN ₃		
[ACT]	Activité / Titre minimum		

[IVD] Réactif pour usage diagnostique in vitro

Ne doit être utilisé que par le personnel de laboratoire formé à cet effet. Le [ACT] figure sur l'étiquette. Les symboles utilisés sont conformes à la norme EN 980. Les symboles non visés dans la norme EN 980 sont expliqués dans le texte.

Application

Les caractéristiques des groupes sanguins AB0 sont déterminées à l'aide des réactifs monoclonaux Anti-A, Anti-B et Anti-AB et confirmés par détermination des propriétés sériques. Le groupage sanguin est considéré comme confirmé si non seulement les caractéristiques érythrocytaires, mais aussi les propriétés sériques ont fait l'objet d'une analyse.

Principe du test

Le principe du test est basé sur l'hémagglutination en éprouvette qui décèle les antigènes des érythrocytes correspondants. Les anticorps contenus dans Seraclone™ Anti-A, Anti-B et Anti-AB se fixent sur l'érythrocyte avec l'antigène correspondant et provoquent une réaction antigène/anticorps sous forme d'agglutination visible des érythrocytes. Les quatre groupes sanguins A, B, AB et O sont définis par la présence ou l'absence de caractéristiques A et B sur les érythrocytes. L'absence de A et B donne le groupe sanguin O. Les antigènes (caractéristiques) A et B réagissent avec l'anticorps correspondant contenu dans Seraclone™ Anti-A, -B et -AB. Seraclone™ Anti-A, -B et -AB peut être utilisé pour le test sur lame porte-objets, sur plaque ou en éprouvette.

Réactif

Seraclone™ Anti-A, -B et -AB contiennent comme éléments réactifs des anticorps monoclonaux de la classe des immunoglobulines IgM. Ils proviennent d'excédents de culture de lignées d'hybridation cellulaire obtenus par fusion de lymphocytes B de souris, producteurs d'anticorps, avec des cellules de myélomes de souris. Ils présentent la spécificité et la reproductibilité constante caractéristique des anticorps monoclonaux. Les produits d'un clone (cellules filles d'une cellule d'hybridation) ainsi que les mélanges de plusieurs produits de clones individuels sont appelés monoclonaux.

L'albumine bovine ajouté provient uniquement des stocks libres de BSE aphteuse.

Seraclone™ Anti-A	Clone A003
Seraclone™ Anti-B	Clone B005
Seraclone™ Anti-AB	Clones BS 63/BS 85

Réactifs supplémentaires et matériel nécessaire

- Lames porte-objets, plaque, bioplate
- Pipettes (volume par goutte: 40-50µl)
- Solution saline isotonique ou tampon phosphate salin (PBS). (PBS seulement lorsque testé avec Seraclone™ Anti-AB)
- Éprouvettes de verre
- Centrifugeuse de laboratoire
- Seraclone Control AB0+Rh ([REF] 805171)
- Control Set QC ([REF] 816034)

Echantillons

Les échantillons sanguins sont prélevés selon des procédés généralement reconnus. Utiliser, par analogie aux méthodes de test citées, des échantillons frais, non hémolytiques (sang natif, EDTA ou citraté). Les échantillons de sang doivent être testés le plus rapidement possible après le prélèvement. Si la réalisation de l'essai est retardée, les échantillons doivent être conservés entre 2...8°C. Dans la mesure où la conduite du mode opératoire nécessite une suspension d'érythrocytes, celle-ci est confectionnée à partir des érythrocytes de l'échantillon de sang centrifugé (par ex. 2 min. à 1000 x g) avec une solution saline isotonique comme milieu de suspension cellulaire. Les échantillons fortement lipémiques, ictériques ou présentant une contamination microbienne peuvent conduire à des résultats de tests non fiables.

Mode opératoire

Pour déterminer les groupes sanguins AB0, les érythrocytes des patients sont analysés avec Seraclone™ Anti-A, -B et -AB. Le sérum des patients est analysé avec des érythrocytes de test connus, comme par ex. Biotestcell™ -A₁, -A₂, -B, -O (contre-épreuve sérique).

Test rapide

1. Déposer sur une lame porte-objets non chauffée une goutte de réactif.
2. Ajouter une goutte de sang total et bien mélanger.
3. L'agglutination apparaît après 30 à 60 sec. Pour éviter de ne pas remarquer une propriété A faiblement exprimée, attendre 2 minutes avant d'évaluer l'agglutination tout en imprimant une légère rotation.

Test par incubation

1. Mettre en suspension de 5 à 10% les érythrocytes à analyser dans une solution saline isotonique ou bien utiliser du sang total.
2. Mélanger sur une lame porte-objets ou sur une plaque respectivement une goutte de réactif et une goutte de suspension d'érythrocytes ou une goutte de sang total.
3. Laisser incuber pendant 15 à 30 minutes à température ambiante (recouvrir adéquatement pour éviter l'assèchement).
4. Évaluer l'agglutination en imprimant une légère rotation.

Test en éprouvette

1. Mettre en suspension de 3 à 5% les érythrocytes à examiner dans une solution saline isotonique ou PBS*.
2. Mélanger respectivement dans une éprouvette adéquatement marquée 1 goutte de réactif et 1 goutte de suspension d'érythrocytes.
3. Centrifuger pendant 2 minutes à 150 - 200 x g ou 20 sec à 800 - 1000 x g ou bien faire incuber pendant 20 minutes à température ambiante.
4. Observer l'agglutination en secouant doucement.

*Le PBS n'est validé qu'avec Seraclone™ Anti-AB.

Analyse des propriétés sériques (contre-épreuve sérique)

Le sérum des patients doit être soumis à une analyse sur plaque, sur lame porte-objets ou en éprouvette, conformément aux méthodes décrites ci-dessus, eu utilisant les cellules connues A₁, A₂, B, O ou Biotestcell™-A₁, -A₂, -B, -O. Etant donné que les propriétés sériques réagissent selon des forces différentes, il convient d'effectuer une incubation de 15 à 30 minutes à température ambiante. En général, dans le cas de nouveau-nés et de nourissons le test n'aboutit pas à un résultat définitif en raison de l'absence d'isoagglutinines. Les isoagglutinines peuvent également faire défaut chez les personnes âgées.

Interprétation des résultats

Tableau de réactivité des caractéristiques des érythrocytes et des isoagglutinines:

Réactif + Erythrocytes des patients			Erythrocytes de test+ Sérum/Plasma				Groupe sanguin
Anti-A	Anti-B	Anti-AB	A ₁	A ₂	B	O	
+	-	+	-	-	+	-	A
-	+	+	+	+	-	-	B
-	-	-	+	+	+	-	O
+	+	+	-	-	-	-	AB

+ = Agglutination - = Aucune agglutination

Réactions de Seraclone™ Anti-A, Anti-B & Anti-AB avec les variantes d'ABO:

Les réactifs de test Seraclone™ ne réagissent pas avec des cryptantigènes (cellules activées avec T, Tn, Tk). Seraclone™ Anti-B réagit de façon nettement négative dans le cas de caractéristiques B acquises.

Seraclone™	Anti-A	Anti-B	Anti-AB
A ₂	++++	-	++++
A ₂ B	++++	++++	++++
A ₃	+++(+)	-	++(+)
A ₃ B	+++(+)	++++	++++
A _x	++(+)	-	++(+)
A _x B	++(+)	++++	++++
B ^{weak}	-	++(+)	++(+)
AB ^{weak}	++++	++(+)	++++

L'évaluation des forces de réaction s'opère conformément aux dispositions du Technical Manual (1):

Force de réaction	Agglutination
4+	Une seule agglutination
3+	Quelques agglutinations grandes
2+	Agglutination moyenne, fond lucide
1+	Petite agglutination, fond turbide
+/-	Moins visible agglutination, fond turbide
-	Aucune agglutination

Contrôle de qualité

Pour confirmer la réactivité ou la spécificité des réactifs monoclonaux Bio-Rad (anti-A, anti-B et/ou anti-AB), chaque réactif doit être testé avec les érythrocytes positifs et négatifs pour l'antigène correspondants. Les réactifs ne peuvent être utilisés que s'ils réagissent uniquement aux érythrocytes positifs pour l'antigène. Les résultats de la détermination de l'antigène doivent correspondre à ceux de la détermination des caractéristiques sériques.

Performances et limites de méthodes

Dans de très rares cas, lors de l'utilisation de Seraclone™ Anti-A, on a pu prouver l'existence de faibles traces de la substance du groupe sanguin A sur les érythrocytes B. Lorsque ce phénomène B (A) apparaît, il doit être résolu, tout comme les autres disparités existant entre la détermination des groupes sanguins et les contre-épreuves de sérum.

Seraclone™ Anti-B réagit négativement avec les hématies de phénotype B acquis.

Si un résultat est ambigu, il est recommandé de laver les hématies au moins deux fois.

En cas de résultats douteux dont la cause ne serait pas évidente, veuillez consulter le Bio-Rad-Service (Tel. +49-6103-3130-611) qui se tient à votre disposition.

Stabilité

Bio-Rad monoclonaux AB0 réactif doit être conservé entre 2...8°C. Une fois le flacon ouvert, le réactif peut être conservé dans des conditions adéquates jusqu'à la date de péremption indiquée. Répète alternance du réactif Seraclone™ Anti-AB par 2...8°C sur ≥ température ambiante peut provoquer des précipitatives protéine qui n'influencent pas l'efficacité du réactif. La durée de stabilité figure sur l'étiquette du réactif.

Avertissements et précautions

- Si le flacon est endommagé, ne pas utiliser le produit.
- Tout aspect turbide du produit peut indiquer une contamination bactérienne. Dans ce cas, ne pas utiliser le produit.
- Toutes les techniques manuelles doivent être appliquées conformément aux instructions du fabricant. Toute dérogation aux instructions du fabricant relève de la responsabilité de l'utilisateur.
- Seraclone™ Anti-A, -B et -AB sont aptes à être utilisés dans un système automatique. L'application de ce test dans un système automatique est sujette à une validation par l'utilisateur lui-même et sous son entière responsabilité. Pour l'utilisation en système automatique, il peut être nécessaire de diluer le réactif. La responsabilité de l'utilisateur s'étend aussi à toute modification du réactif prêt à l'emploi, comme par ex. la congélation sur des plaques à microtitrage.
- Tous les réactifs des essais doivent être considérés comme étant potentiellement infectieux. Les informations sur le traitement des réactifs utilisés peuvent être consultées sur la fiche technique de sécurité.
- Grâce à la production des anticorps monoclonaux non humains par des procédés biotechnologiques, le risque de contagion par le virus de l'hépatite, HIV 1/2 ou par d'autres germes pathogènes infectieux, est pratiquement exclu. Cependant, tous les réactifs utilisés pour les tests doivent être considérés comme étant potentiellement porteurs des virus de l'hépatite, du HIV ou bien d'autres germes pathogènes. Il est conseillé de prendre les mesures de sécurité adéquates.
- L'emballage du produit contient du Latex naturel, qui peut causer des réactions allergiques.
- Seraclone™ Anti-B contient du tartrazine qui peut causer des réactions allergiques.
- Le produit contient de l'azotate de sodium (NaN₃) qui peut réagir avec la tuyauterie en plomb ou en cuivre pour former des azotures explosifs. En cas de rejet dans les conduits d'évacuation, rincer à grande eau pour éviter la formation d'azotures métalliques explosifs.

Bibliographie

- (1) Technical Manual, 17th ed., Sect. 1, American Assoc. of Blood Banks

Clé : Souligner = Addition ou modification significative ◀ = Effacement du texte

Seraclone™ Anti-A (AB01), -B(AB02), -AB (AB03)

Para la determinación de las características sanguíneas ABO

[REF]	801 320	10 ml	Seraclone™ Anti-A
[REF]	801 325	10x10 ml	Seraclone™ Anti-A
[REF]	801 345	10 ml	Seraclone™ Anti-B
[REF]	801 350	10x10 ml	Seraclone™ Anti-B
[REF]	801 370	10 ml	Seraclone™ Anti-AB
[REF]	801 375	10x10 ml	Seraclone™ Anti-AB
[PRES]	Conservación: < 0,1 % de NaN ₃		
[ACT]	Actividad / título mínimo		

[IVD] Reactivo para uso diagnóstico in vitro

Las pruebas se realizarán exclusivamente por personal cualificado de laboratorio. El **[ACT]** viene indicado en la etiqueta. Los símbolos se emplean de acuerdo con la norma EN 980. Los símbolos no contenidos en la norma EN 980 son explicados en el presente texto.

Finalidad prevista

Las características del grupo sanguíneo ABO son determinadas con los reactivos monoclonales Anti-A, Anti-B y Anti-AB y verificadas mediante la determinación de las características del suero. La determinación del grupo sanguíneo es considerada válida una vez que se hayan analizado las características tanto de los eritrocitos, como del suero.

Principio del test

El test se basa en el test de hemaglutinación para detectar los antígenos eritrocitarios correspondientes. Los anticuerpos contenidos en Seraclone™ Anti-A, -B, -AB se unen al antígeno correspondiente sobre los eritrocitos, provocando una reacción antígeno-anticuerpo que se traduce en una aglutinación visible de los eritrocitos. Los cuatro grupos sanguíneos A, B, AB y 0 son definidos por la presencia o ausencia de propiedades A y B en los eritrocitos. La ausencia de A y B define el grupo sanguíneo 0. Los antígenos (propiedades) A y B reaccionan con el correspondiente anti-cuerpo presente en Seraclone™ Anti-A, -B y -AB. Seraclone™ Anti-A, -B y -AB puede utilizarse para tests en tubo de ensayo, en portaobjetos y en placa de pocillos.

Reactivo

Seraclone™ Anti-A, -B, -AB contienen como elemento reactivo anticuerpos monoclonales de la clase de inmunoglobulina IgM. Estos anticuerpos se obtienen del sobrenadante del cultivo celular derivado de líneas celulares híbridas que resultan de la fusión de linfocitos B de ratón productores de anticuerpos con células de mieloma de ratón. Presentan la especificidad y reproducibilidad constantes que son propiedades bien conocidas de los anticuerpos monoclonales. Tanto los anticuerpos derivados de un solo clon (células hijas de un hibridoma), como la mezcla obtenida de diferentes productos de clones individuales se denominan monoclonales. La albúmina de origen bovino añadidas al producto se adquieren exclusivamente de proveedores certificados libres de EEB aftosa.

Seraclone™ Anti-A	clon A003
Seraclone™ Anti-B	clon B005
Seraclone™ Anti-AB	clones BS 63/BS 85

Reactivos y materiales necesarios que no se suministran

- Portaobjetos de vidrio, placa de pocillos, Bioplate
- Pipetas (volumen de dispensación: 40-50µl)
- Solución salina isotónica o Solución Buffer de Fosfatos (PBS). (PBS solo cuando se utiliza el Seraclone™ Anti-AB)
- Tubos de ensayo de vidrio
- Centrifugadora de laboratorio
- Seraclone Control AB0+Rh (REF 805171)
- Control Set QC (REF 816034)

Muestras

Las muestras de sangre se obtendrán según los métodos generalmente válidos. Se deben utilizar muestras frescas que no presenten hemólisis (sangre nativa, con EDTA o con citrato) de forma análoga a los métodos analíticos mencionados. Las muestras de sangre deben ensayar tan pronto como posible después de la obtención. Si se prevé un retraso del ensayo, las muestras se han de almacenar a una temperatura de 2...8°C. Si para el procedimiento es necesaria una suspensión de eritrocitos, ésta se preparará de los eritrocitos de la muestra de sangre centrifugada (p. ej. 2 min. a 1000 x g) con solución salina isotónica como medio de suspensión. Las muestras extremadamente lipémicas, ictericas o contaminadas microbiológicamente pueden dar lugar a resultados poco fiables.

Procedimiento

Para la determinación de los grupos sanguíneos AB0 los eritrocitos del donante se analizarán con Seraclone™ Anti-A, Anti-B, Anti-AB. El suero del donante se analizará con eritrocitos de ensayo, como por ej. Biotestcell™-A₁, -A₂, -B, -0 (grupaje inverso).

Test rápido

1. Dispensar una gota de reactivo sobre el portaobjetos de vidrio (¡no recalentar!).
2. Añadir 1 gota pequeña de sangre entera y mezclar bien.
3. La aglutinación tiene lugar al cabo de 30-60 segundos. Para que también se pueda ver una propiedad A débil, hacer la lectura después de al menos 2 minutos, girando suavemente

Test de incubación

1. Suspender al 5-10% los eritrocitos a analizar en solución salina isotónica o emplear sangre entera.
2. Sobre un portaobjetos o una placa de pocillos mezclar 1 gota de reactivo y 1 gota de suspensión de eritrocitos o bien 1 pequeña gota de sangre entera.
3. Incubar 15-30 minutos a temperatura ambiente (cubrir adecuadamente para evitar el resecamiento).
4. Verificar la aglutinación, girando suavemente.

Test en tubo

1. Suspender al 3-5% los eritrocitos que se desean analizar en solución salina isotónica o PBS*.
2. En un tubo adecuadamente rotulado verter 1 gota de reactivo y 1 gota de suspensión eritrocitaria y mezclar.
3. Centrifugar 2 minutos a 150 - 200 x g ó 20 segundos a 800 - 1000 x g o incubar 20 minutos a temperatura ambiente.
4. Verificar la aglutinación agitando suavemente.

*El PBS solo está aprobado para el Seraclone™ Anti-AB.

Análisis de las propiedades del suero (grupaje inverso)

Analizar el suero del donante con células A₁, A₂, B y 0 conocidas o con Biotestcell™-A₁, -A₂, -B, -0 en una placa de pocillo, portaobjetos o tubo de ensayo, siguiendo las técnicas indicadas arriba. Dado que las propiedades del

suero tienen una fuerza de reacción diferente, se debe efectuar una incubación de 15-30 minutos a temperatura ambiente. Por regla general, no es posible obtener resultados definitivos para recién nacidos y lactantes, a causa de la ausencia de isoaglutinina. La aglutinina también puede estar ausente en personas de edad avanzada.

Interpretación de los resultados

Esquema de reacciones: propiedades eritrocitarias y de la isoaglutinina

Reactivo + Eritrocitos del donante			Eritrocitos de ensayo + Suero/Plasma				Grupo sanguíneo
Anti-A	Anti-B	Anti-AB	A ₁	A ₂	B	0	
+	-	+	-	-	+	-	A
-	+	+	+	+	-	-	B
-	-	-	+	+	+	-	0
+	+	+	-	-	-	-	AB

+ = aglutinación - = ausencia de aglutinación

Reacciones de Seraclone™ Anti-A, Anti-B, Anti-AB con variantes de AB0

Los reactivos de ensayo Seraclone™ no reaccionan con antígenos crípticos (células T-, Tn-, Tk-activadas). Seraclone™ Anti-B tiene una reacción negativa correcta con propiedades B adquiridas.

Seraclone™	Anti-A	Anti-B	Anti-AB
A ₂	++++	-	++++
A ₂ B	++++	++++	++++
A ₃	+++(+)	-	++(+)
A ₃ B	+++(+)	++++	++++
A _x	++(+)	-	+(+)
A _y B	++(+)	++++	++++
B _{weak}	-	++(+)	++(+)
AB _{weak}	++++	++(+)	++++

La intensidad de reacción se evaluará de acuerdo a lo dispuesto en el Technical Manual (1):

Intensidad de reacción	Agglutinación
4+	Un solo aglutinado
3+	Varias grandes aglutinados
2+	Agglutinados medianos, fondo claro
1+	Agglutinados pequeños, fondo turbido
+/-	Agglutinados apenas visible, fondo turbido
-	Ningunos aglutinados

Control de calidad

Para confirmar la reactividad o especificidad de los reactivos monoclonales de Bio-Rad (Anti-A, Anti-B y/o Anti-AB) cada uno debe ser probado con células eritrocitarias antígeno positivas y negativas, respectivamente. Cada reactivo es satisfactorio para su uso si reacciona solo con las células eritrocitarias antígeno positivas. La confirmación de resultados del grupo directo debe ser obtenido realizando la prueba inversa.

Características de funcionamiento y limitaciones del método

En casos rarísimos se ha observado que usando Seraclone™ Anti-A se han podido detectar restos mínimos de substancia específica de grupo A en glóbulos rojos B. Si se presenta este fenómeno de B (A) habría que proceder como se hace en cualquier caso de discrepancia entre determinación del grupo sanguíneo y contraprueba en el suero.

El Seraclone™ Anti-B reacciona negativo con el grupo B adquirido. En caso de un resultado ambiguo se recomienda lavar las células eritrocitarias al menos 2 veces.

En caso de resultados dudosos de causa desconocida póngase en contacto con nuestro servicio Bio-Rad de atención al cliente (Tel. +49-6103-3130-611).

Estabilidad

La temperatura adecuada de almacenamiento de Bio-Rad reactivos monoclonales AB0 es de 2...8°C. Una vez abierto el reactivo, el producto puede ser conservado en condiciones adecuadas hasta la fecha de caducidad que se indica.

Repetidos cambios en el almacenaje del reactivo Seraclone™ Anti-AB de 2...8°C a ≥ temperatura ambiente pueden causar desprendimientos de proteína que no alteran la efectividad del reactivo.

La fecha de caducidad viene indicada en la etiqueta del reactivo.

Advertencias y precauciones

- No utilizar el producto si el vial está deteriorado.
- El eventual enturbiamiento del producto puede ser indicio de contaminación bacteriana. En este caso no se deberá emplear el producto.
- Las técnicas manuales se han de realizar de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El usuario es responsable de cualquier divergencia con respecto a tales instrucciones.
- Seraclone™ Anti-A, -B, -AB está indicado para ser empleado con sistemas automatizados. La utilización en sistemas automatizados debe ser validado por el usuario bajo su entera responsabilidad. Para emplear el reactivo en sistemas automatizados puede ser necesario diluir el reactivo. El usuario también es responsable de cualquier modificación del reactivo listo para el uso, p.ej. la congelación en microplacas.
- Todos los reactivos destinados al ensayo se deberán manejar como si fueran potencialmente infecciosos. Se puede encontrar la información del manejo de desechos en la ficha de datos de seguridad.
- Gracias a la producción biotecnológica de los anti-cuerpos monoclonales no humanos, el riesgo de infección de hepatitis, HIV 1/2 u otros agentes

patógenos queda prácticamente descartado. No obstante, todos los reactivos del test deberán ser considerados como potenciales portadores de hepatitis, HIV u otros agentes patógenos infecciosos.

- El envase de este producto contiene Latex natural, que puede causar reacciones alérgicas.
- Seraclone™ Anti-B contiene tartrazina, que puede causar reacciones alérgicas.
- El producto contiene azida de sodio (NaN₃) que puede formar azidas explosivas con metales como cobre y plomo. En caso de desechar el producto por el desagüe, dejar correr mucho agua para evitar la combinación explosiva de azidas metálicas.

Referencias

(1) Technical Manual, 17th ed., Sect. 1, American Association of Blood Banks

Clave: Subrayado = Adición o cambio significativo ◀= Texto borrado

Seraclone™ Anti-A (AB01), -B(AB02), -AB (AB03)

Para la determinación de las características sanguíneas AB0

REF	801 320	10 ml	Seraclone™ Anti-A
REF	801 325	10x10 ml	Seraclone™ Anti-A
REF	801 345	10 ml	Seraclone™ Anti-B
REF	801 350	10x10 ml	Seraclone™ Anti-B
REF	801 370	10 ml	Seraclone™ Anti-AB
REF	801 375	10x10 ml	Seraclone™ Anti-AB
PRÉS	Conservato con : < 0,1 % de NaN ₃		
ACT	Attività / titolo minimo		

IVD Reagente per uso diagnostico in vitro

Il test deve essere eseguito unicamente da personale di laboratorio esperto ed addestrato. Il **ACT** è riportato sull'etichetta. I simboli vengono utilizzati secondo la normativa EN 980. I simboli non riportati nella normativa EN 980 sono descritti nel testo.

Finalità d'uso

Le caratteristiche del gruppo sanguigno AB0 vengono determinate con i reagenti monoclonali Anti-A, Anti-B e Anti-AB e confermate attraverso la determinazione delle caratteristiche del siero. La determinazione del gruppo sanguigno viene considerata valida quando sia le caratteristiche eritrocitarie che le caratteristiche del siero sono state esaminate.

Principio del test

Il test si basa sul principio di emoaagglutinazione per individuare gli antigeni eritrocitari. Gli anticorpi contenuti in Seraclone™ Anti-A, -B, -AB si legano all'antigene corrispondente sugli eritrociti e provocano una reazione antigene-anticorpo sotto forma di un'agglutinazione visibile degli eritrociti.

I quattro gruppi sanguigni A, B, AB e 0 vengono definiti attraverso la presenza o l'assenza degli antigeni A e B sugli eritrociti. L'assenza di A e B definisce il gruppo sanguigno 0.

Gli antigeni A e B reagiscono con l'anticorpo corrispondente presente in Seraclone™ Anti-A, -B e -AB. Seraclone™ Anti-A, -B e -AB può essere utilizzato per test in provetta, su vetrino o piastra.

Reagente

Seraclone™ Anti-A, -B, -AB contengono come componente reattivo anticorpi monoclonali della classe immunoglobulinica IgM. Si ottengono da surnatante di colture cellulari derivato da un ibridoma ottenuto dalla fusione di linfociti B produttori di anticorpi di topo e cellule di mieloma di topo. Presentano la specificità e la riproducibilità costanti ben note per gli anticorpi monoclonali. Sia i prodotti derivati da un clone (cellule figlie di un ibridoma) che la miscela ottenuta da più prodotti di singoli cloni vengono definiti monoclonali. L'albmina bovina addizionate vanno acquistate unicamente presso fornitori certificati contro la BSE.

Seraclone™ Anti-A	clone A003
Seraclone™ Anti-B	clone B005
Seraclone™ Anti-AB	cloni BS 63/BS 85

Reagenti supplementari e materiali necessari

- Vetrini, piastra, Bioplate
- Pipette (volume di dispensazione: 40-50 µl)
- Soluzione salina isotonica o soluzione tampone fosfato (PBS). (PBS solo quando si esegue il test con Seraclone™ Anti-AB) Provette in vetro
- Centrifuga da laboratorio
- Seraclone Control AB0+Rh (**REF** 805171)
- Control Set QC (**REF** 816034)

Materiale in esame

I campioni di sangue vanno prelevati secondo le procedure generalmente valide. Vanno impiegati campioni freschi, che non presentino emolisi (sangue intero, con EDTA o citrato), analogamente ai metodi analitici descritti.

I campioni devono essere testati appena possibile dopo la raccolta. Se l'esecuzione del test viene ritardata, i campioni devono essere conservati a 2...8 °C. Se per il procedimento è necessaria una sospensione eritrocitaria, questa viene preparata dagli eritrociti del campione di sangue centrifugato (ad es. 2 minuti a 1000 x g) con soluzione salina isotona quale mezzo di sospensione. Campioni fortemente lipemici, itterici o con contaminazione microbica possono dare risultati falsati.

Esecuzione del test

Per la determinazione del gruppo sanguigno AB0, gli eritrociti da analizzare vengono esaminati con Seraclone™ Anti-A, Anti-B, Anti-AB. Il siero da analizzare viene esaminato con eritrociti test noti, come ad es. Biotestcell™-A₁, -A₂, -B, -0 (prova indiretta del siero).

Test rapido

1. Dispensare 1 goccia di reagente su di un vetrino non riscaldato.
2. Aggiungere 1 piccola goccia di sangue intero e miscelare accuratamente.
3. L'agglutinazione avviene dopo 30-60 secondi. Affinché non passi inosservato un campione A debole, la verifica dell'agglutinazione deve avvenire dopo almeno 2 minuti di leggera rotazione.

Test con incubazione

1. Risospesare gli eritrociti da analizzare al 5-10% in soluzione salina isotonica oppure utilizzare sangue intero.
2. Dispensare su di un vetrino o una piastra 1 goccia di reagente e miscelare con 1 goccia di sospensione eritrocitaria o una piccola goccia di sangue intero.
3. Incubare per 15-30 minuti a temperatura ambiente (coprire in modo appropriato per evitare l'essiccazione).
4. Verificare l'agglutinazione ruotando leggermente.

Test in provetta

1. Gli eritrociti da analizzare vanno risospesi al 3-5% in soluzione salina isotona o PBS*.
2. Miscelare in una provetta opportunamente contrassegnata 1 goccia di reagente e 1 goccia di sospensione eritrocitaria.
3. Centrifugare per 2 minuti a 150 - 200 x g o per 20 secondi a 800 - 1000 x g o incubare per 20 minuti a temperatura ambiente.
4. Verificare l'agglutinazione scuotendo leggermente.

*PBS è approvato solo per Seraclone™ Anti-AB.

Esame delle caratteristiche del siero (prova indiretta del siero)

Il siero da analizzare deve essere esaminato con emazie A₁, A₂, B e 0 note o con Biotestcell™-A₁, -A₂, -B, -0 secondo la tecnica del test in provetta, su piastra o vetrino descritta in precedenza. Poiché le caratteristiche del siero hanno una forza di reazione differente, deve essere eseguita un'incubazione di 15-30 minuti a temperatura ambiente.

In genere, non è possibile ottenere risultati validi per i neonati e i lattanti a causa dell'assenza di isoagglutinine. Le isoagglutinine possono essere assenti anche in pazienti anziani.

Interpretazione dei risultati

Schema di reazione delle caratteristiche eritrocitarie e delle isoagglutinine

Reagente + eritrociti paziente			Eritrociti test + siero/plasma				Gruppo sanguigno
Anti-A	Anti-B	Anti-AB	A ₁	A ₂	B	0	
+	-	+	-	-	+	-	A
-	+	+	+	+	-	-	B
-	-	-	+	+	+	-	0
+	+	+	-	-	-	-	AB

+ = agglutinazione

- = nessuna agglutinazione

Reazioni di Seraclone™ Anti-A, Anti-B e Anti-AB con varianti AB0

I reagenti del test Seraclone™ non reagiscono con criptoantigeni (cellule T-, Tn-, Tk-attivate). Seraclone™ Anti-B ha una reazione negativa corretta con caratteristiche B acquisite.

Seraclone™	Anti-A	Anti-B	Anti-AB
A ₂	++++	-	++++
A ₂ B	++++	++++	++++
A ₃	+++(+)	-	+++(+)
A ₃ B	+++(+)	++++	++++
A _x	++(+)	-	++(+)
A _x B	++(+)	++++	++++
B _{weak}	-	++(+)	++(+)
AB _{weak}	++++	++(+)	++++

La valutazione della forza di reazione viene eseguita secondo le istruzioni riportate nel Technical Manual (1):

Forza di reazione	Agglutinazione
4+	Un unico agglutinato
3+	Vari agglutinati grandi
2+	Agglutinati di medie dimensioni, in uno sfondo chiaro
1+	Piccoli agglutinati, in uno sfondo torbido
+/-	Agglutinazione appena visibile, in uno sfondo torbido
-	Nessuna agglutinazione

Controllo di qualità

Per confermare la reattività o la specificità dei reagenti monoclonali AB0 Bio-Rad (Anti-A, Anti-B e/o Anti-AB) ognuno dovrebbe essere testato sia con emazie positive che negative per i rispettivi antigeni. Ogni reagente è conforme all'uso se reagisce solo con emazie positive per gli antigeni. La conferma dei risultati della prova diretta del gruppo deve essere ottenuta eseguendo la prova indiretta del gruppo.

Caratteristiche delle prestazioni e limiti del metodo

In casi estremamente rari è stato osservato che l'impiego di Seralclone™ Anti-A ha determinato la presenza di piccole tracce di sostanza del gruppo sanguigno A negli eritrociti B. Qualora tale fenomeno B (A) dovesse presentarsi, esso va affrontato allo stesso modo di altre discrepanze esistenti tra la determinazione dei gruppi sanguigni e il contro-campione di siero.

Seralclone™ Anti-B reagisce correttamente in modo negativo in presenza di caratteristiche B acquisite.

In caso di risultati ambigui si raccomanda di lavare le emazie almeno due volte. In caso di risultati dubbi con causa ignota è possibile contattare l'assistenza Bio-Rad (tel. +49-6103-3130-611) per chiarimenti.

Stabilità

La temperatura di conservazione dei reagenti monoclonali AB0 Bio-Rad è 2...8°C.

Una volta aperto il flacone, il reagente può essere conservato in condizioni appropriate fino alla data di scadenza indicata.

La data di scadenza è riportata sull'etichetta del reagente. Ripetutamente alternandosi conservazione del reagente Seralclone™ Anti-AB da 2...8°C su ≥ temperatura ambiente può portare alla formazione di precipitati proteici che non influiscono sull'efficacia del reagente.

Avvertenze e precauzioni

- Se i flaconi dovessero risultare danneggiati, il prodotto non va più utilizzato.
- L'eventuale presenza di torbidità nel prodotto può essere indice di contaminazione batterica. In tal caso il prodotto non va utilizzato.
- Le tecniche manuali vanno impiegate secondo le istruzioni del produttore. L'utente è responsabile di qualsiasi deviazione da tali istruzioni.
- Seralclone™ Anti-A, -B, -AB sono indicati per l'utilizzo con sistemi automatizzati. L'utilizzo con sistemi automatizzati va validato dall'utente sotto la sua completa responsabilità. Per l'impiego del reagente con sistemi automatizzati può essere necessaria la diluizione. L'utente è responsabile anche per qualsiasi modifica del reagente pronto all'uso, come ad esempio il congelamento su micropiastre.
- Tutti i reagenti devono essere considerati come potenzialmente infettivi. Per questo motivo, si dovrebbero prendere le misure di sicurezza necessarie. Informazioni sulla gestione dei rifiuti si possono trovare nelle schede di sicurezza.
- Grazie alla produzione biotecnologica degli anticorpi monoclonali non umani, il rischio di infezione da epatite, HIV 1/2 o altri agenti patogeni può essere quasi escluso. Tuttavia, tutti i reagenti del test devono essere considerati come potenziali portatori di epatite, HIV o altri agenti patogeni infettivi. Si consigliano adeguate misure precauzionali.
- La confezione di questo prodotto contiene lattice naturale, che potrebbe causare reazioni allergiche.
- Seralclone™ Anti-B contiene tartrazina che potrebbe causare reazioni allergiche.
- Il prodotto contiene sodio azide (NaN₃), che può reagire con tubature di piombo o rame per formare azoturi esplosivi. Per smaltirlo, sciacquare lo scarico con acqua abbondante per evitare il rischio di formazione di azoturi metallici.

Bibliografia

(1) Technical Manual, 17th ed., Sect. 1, American Association of Blood Banks

Chiave: Sottolineatura = Aggiunta o cambiamento significativo ◀= Cancellazione di testo