



MONOCLONAL REAGENZIEN ZUR BLUTGRUPPENBESTIMMUNG

GEBRAUCHSANWEISUNG

Anti-A, Anti-B and Anti-A,B Monoclonal: Für die Röhren-, Bio-Rad-ID-, Ortho BioVue-, Mikrotiterplatten- und die Objektträger-Methoden.

ZUSAMMENFASSUNG

Im Jahr 1900 entdeckte Landsteiner, dass das Serum einiger Menschen die roten Blutkörperchen anderer Personen agglutinierte. Heute sind vier gängige Phänotypen anerkannt: O, A, B und AB. Seitdem wurden Untergruppen der Gruppen A und B identifiziert.

Antigenbestimmung			Serumgegenprobe				ABO Phänotyp	Weiße % ¹
A	B	A,B	A ₁	A ₂	B	O		
+	0	+	0	0	+	0	A	43
0	+	+	+	+	0	0	B	9
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

VERWENDUNGSZWECK

Die ABO-Reagenzien sind Reagenzien zur Blutgruppenbestimmung, die zur qualitativen Bestimmung des Vorhandenseins oder Nichtvorhandenseins der A- und/oder B-Antigene auf den roten Blutkörperchen von Blutspendern oder auf eine Bluttransfusion angewiesenen Patienten herangezogen werden sollen, wenn sie in Übereinstimmung mit den in dieser Gebrauchsanweisung angegebenen empfohlenen Methoden untersucht werden.

GRUNDSATZ

Die Reagenzien enthalten Antikörper gegen das dazugehörige A- und/oder B-Antigen auf den menschlichen roten Blutkörperchen und bewirken eine direkte Agglutination (Verklumpung) der roten Blutkörperchen, die das entsprechende ABO-Antigen tragen. Erfolgt keine Agglutination, zeigt dies im Allgemeinen das Nichtvorhandensein des dazugehörigen ABO-Antigens auf menschlichen roten Blutkörperchen an (siehe **Einschränkungen**).

REAGENZIEN

Die Reagenzien zur Blutgruppenbestimmung Lorne Monoclonal IgM ABO enthalten monoklonale Maus-Antikörper aufgelöst in einem Phosphatpuffer, der Natriumchlorid, EDTA und Rinderalbumin enthält. Die Reagenzien enthalten weder CMR-Stoffe oder Stoffe mit endokriner Wirkung oder Stoffe, die beim Benutzer zu einer Sensibilisierung oder einer allergischen Reaktion führen könnten, noch bestehen sie aus solchen Stoffen. Jedes Reagens wird mit der optimalen Verdünnung zur Verwendung mit allen unten angegebenen empfohlenen Methoden geliefert, ohne dass es weiter verdünnt werden muss oder ihm etwas hinzugefügt werden muss. Die Los-Referenznummer und das Ablaufdatum befinden sich auf dem **Etikett der Epruvette**.

Produkt	Zelllinie/Klon	Farbe	Verwendeter Farbstoff
Anti-A	9113D10	Blau	Patentblau
Anti-B	9621A8	Gelb	Tartrazin
Anti-A,B	152D12 + 9113D10 + ES15	Farblos	Keiner

LAGERUNG

Epruvetten mit Reagenzien sollten bei Erhalt bei 2 - 8 °C gelagert werden. Eine längere Lagerung bei Temperaturen außerhalb dieses Bereichs kann zu einem beschleunigten Verlust der Reaktionsfähigkeit des Reagens führen. Dieses Reagens wurde Transportstabilitätsstudien bei 37 °C und -25 °C unterzogen, wie sie im Dokument BS EN ISO 23640:2015 beschrieben werden.

PROBENNAHME UND VORBEREITUNG

Blutproben können mit den Antikoagulanzen EDTA, Citrat, CPDA oder als geronnene Blutprobe genommen werden. Die Proben sollten nach der Entnahme so schnell wie möglich untersucht werden. Kommt es bei der Untersuchung zu einer Verzögerung, sind die Proben bei 2-8 °C aufzubewahren. Proben mit einer ausgeprägten Hämolyse oder einer mikrobiellen Kontamination sollten nicht für Untersuchungen eingesetzt werden. Blutproben, die auf eine Lyse hinweisen, können unzuverlässige Ergebnisse liefern. Alle Blutproben sollten vorzugsweise (dies ist jedoch nicht verpflichtend) vor der Untersuchung mit PBS oder isotonomischer Kochsalzlösung gewaschen werden.

VORSICHTSMASSNAHMEN

- Die Reagenzien sind nur zur Verwendung bei der *In-vitro*-Diagnostik vorgesehen.
- Weist eine Epruvette mit einem Reagens Risse auf oder leckt sie, sind die Inhalte unverzüglich zu entsorgen.
- Die Reagenzien nicht nach dem Ablaufdatum verwenden (siehe **Etikett der Epruvette**).
- Die Reagenzien nicht verwenden, wenn ein Niederschlag vorhanden ist.

- Bei der Handhabung der Reagenzien ist Schutzkleidung wie Einmalhandschuhe und ein Laborkittel zu tragen.
- Die Reagenzien wurden zur Reduzierung der Keimbelastung durch eine 0,2 µm-Kapsel gefiltert, werden jedoch nicht steril geliefert. Nach erfolgter Öffnung einer Epruvette sollten die Inhalte bis zum Ablaufdatum brauchbar sein, solange keine ausgeprägte Trübung vorliegt, die auf eine Verschlechterung oder Kontamination des Reagens hinweisen kann.
- Die Reagenzien enthalten < 0,1 % Natriumazid. Natriumazid kann bei Verschlucken giftig sein und kann mit Abflussrohren aus Blei und Kupfer reagieren und explosive Metallazide bilden. Beim Entsorgen mit großen Mengen Wasser wegspülen.
- Von den bekannten Tests kann keiner garantieren, dass die aus menschlichen oder tierischen Quellen abgeleiteten Produkte frei von Infektionserregern sind. Bei der Verwendung und Entsorgung einer jeden Epruvette und ihrer Inhalte ist mit Vorsicht vorzugehen.

ENTSORGUNG DES REAGENS UND UMGANG MIT VERSCHÜTTUNGEN

Für Informationen zur Entsorgung des Reagens und der Dekontaminierung bei Verschüttungen siehe die **Sicherheitsdatenblätter**, die auf Anfrage verfügbar sind.

1. KONTROLLEN UND RAT

- Es wird empfohlen, dass mit jeder Testserie parallel eine positive Kontrolle und eine negative Kontrolle getestet werden. Zeigen die Kontrollen nicht die erwarteten Ergebnisse, sind die Tests als ungültig zu betrachten.
- Da diese Reagenzien keine makromolekularen Verstärker enthalten, ist es sehr unwahrscheinlich, dass mit IgG-beschichteten Zellen falsch positive Reaktionen hervorgerufen werden.
- Blutproben der schwachen Untergruppen von A oder B (z. B. Ax) können falsch negative oder schwache Reaktionen hervorrufen, wenn sie mit Objektträgern, Mikrotiterplatten oder Gelkarten getestet werden. Es ist ratsam, schwache Untergruppen mit der Röhrenmethode erneut zu testen.
- Bei Personen, die älter als sechs Monate sind, sollten die ABO-Blutgruppenbestimmungsergebnisse bestätigt werden, indem ihr Serum oder Plasma anhand von Zellen, die bekannterweise zur Gruppe A₁ und B gehören, getestet werden, ehe ihre ABO-Blutgruppe bestätigt werden kann.
- Das Reagens vor der Verwendung auf Raumtemperatur aufwärmen lassen. Nach Verwendung des Reagens das Reagens wieder bei 2-8 °C lagern.
- In den **empfohlenen Methoden** umfasst ein Volumen ungefähr 50 µl, wenn der mitgelieferte Tropfen der Epruvette verwendet wird.
- Die Verwendung der Reagenzien und die Interpretation der Ergebnisse muss von ordnungsgemäß geschultem und qualifiziertem Personal in Übereinstimmung mit den Anforderungen des Landes, in dem die Reagenzien verwendet werden, durchgeführt werden.
- Der Benutzer muss bestimmen, ob sich die Reagenzien zur Verwendung bei anderen Methoden eignen.

ERFORDERLICHE REAGENZIEN UND MATERIALIEN

- Vollpipetten.
- Bio-Rad-ID-Karten (NaCl, Enzymtests und Kälteagglutinine).
- Bio-Rad-ID-Zentrifuge.
- Bio-Rad ID-CellStab oder ID-Diluent 2.
- Ortho BioVue-Systemkassetten (Neutral).
- Ortho BioVue-System-Zentrifuge.
- Ortho 0.8% Red Cell Diluent.
- Gläserne Objektträger oder weiße Kärtchen.
- Applikatorstäbchen.
- Glas-Teströhrchen (10 x 75 mm oder 12 x 75 mm).
- Teströhrchen-Zentrifuge.
- Validierte Mikroplatten mit „U“-förmiger Vertiefung.
- Mikroplatten-Zentrifuge.
- Plattenschüttler.
- PBS-Lösung (pH 6,8–7,2) oder isotomische Kochsalzlösung (pH 6,5–7,5).
- Rote Blutkörperchen zur positiven und negativen Kontrolle:
Anti-A: Gruppe A (positive Kontrolle) und Gruppe O (negative Kontrolle).
Anti-B: Gruppe B (positive Kontrolle) und Gruppe O (negative Kontrolle).
Anti-A, B: Gruppe A und Gruppe B (positive Kontrollen) und Gruppe O (negative Kontrolle).

EMPFOHLENE METHODEN

A. Röhrenmethode

1. Eine 2-3 %-ige Suspension roter Blutkörperchen in PBS oder isotonischer Kochsalzlösung erstellen.
2. In ein gekennzeichnetes Teströhrchen geben: 1 Volumen Lorne Anti-ABO-Reagens und 1 Volumen rote Blutkörperchen-Suspension.
3. Gründlich mischen und 1 Minute lang bei Raumtemperatur inkubieren.
4. Alle Röhrchen 10 Sekunden lang bei 1000 rcf oder für einen geeigneten alternativen Zeitraum und mit geeigneter Kraft zentrifugieren.
5. Den Zellknopf aus roten Blutkörperchen sanft resuspendieren und makroskopisch auf die Agglutination hin ablesen
6. Alle Röhrchen, die ein negatives oder fragwürdiges Ergebnis aufweisen, sollten 15 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubiert werden.
7. Nach der Inkubation die Schritte 4 und 5 wiederholen.

B. Bio-Rad-ID-Methode (Karten für NaCl, Enzymtests und Kälteagglutinine)

1. Eine 0,8%-ige Suspension roter Blutkörperchen in ID-CellStab oder ID-Diluent 2 erstellen.
2. Aluminiumfolie von so vielen Mikroröhrchen wie notwendig entfernen.
3. In ein geeignetes Mikroröhrchen geben: 50 µl rote Blutkörperchen-Suspension und 25 µl Lorne Anti-ABO-Reagens.
4. Die ID-Karte(n) in der Bio-Rad-Gelkarten-Zentrifuge zentrifugieren.
5. Makroskopisch auf die Agglutination hin ablesen.

C. Ortho BioVue-Methode (Neutral-Kassetten)

1. Eine 0,8%-Suspension roter Blutkörperchen in 0,8 % Ortho Red Cell Diluent erstellen.
2. Aluminiumfolie von so vielen Reaktionskammern wie notwendig entfernen.
3. In eine geeignete Reaktionskammer geben: 50 µl rote Blutkörperchen-Suspension und 40 µl Lorne Anti-ABO-Reagens.
4. Die Kassette(n) in einer Ortho BioVue-System-Zentrifuge zentrifugieren.
5. Makroskopisch auf die Agglutination hin ablesen.

D. Mikroplatten-Methode mit „U“-förmigen Vertiefungen

1. Eine 2-3 %-ige Suspension roter Blutkörperchen in PBS oder isotonischer Kochsalzlösung erstellen.
2. In die geeignete Vertiefung geben: 1 Volumen Lorne Anti-ABO-Reagens und 1 Volumen rote Blutkörperchen-Suspension.
3. Gründlich mischen, vorzugsweise mit einem Mikroplatten-Schüttler, und darauf achten, vertiefungsübergreifende Kontaminationen zu vermeiden.
4. Bei Raumtemperatur 15 Minuten lang inkubieren (Zeit ist vom Benutzer abhängig).
5. Die Mikroplatte 1 Minute lang bei 140 rcf oder für einen geeigneten alternativen Zeitraum und mit geeigneter Kraft zentrifugieren.
6. Die Zellknöpfe anhand von sorgfältig kontrollierter Bewegung auf einem Mikroplatten-Schüttler resuspendieren
7. Makroskopisch oder mit einem validierten automatischen Lesegerät ablesen.
8. Alle schwachen Reaktionen sollten mit der Röhrchenmethode wiederholt werden.

E. Objektträgermethode

1. Eine 35-45 %-ige Suspension roter Blutkörperchen in Serum, Plasma, PBS oder isotonischer Kochsalzlösung erstellen oder antikoaguliertes Vollblut (in seinem eigenen Plasma) verwenden.
2. Auf einen gekennzeichneten gläsernen Objektträger oder ein Kärtchen geben: 1 Volumen Lorne Anti-ABO-Reagens und 1 Volumen rote Blutkörperchen-Suspension.
3. Mit einem sauberen Applikatorstäbchen das Reagens und die Zellen über einen Bereich von etwa 20 x 40 mm hinweg mischen.
4. Den Objektträger 30 Sekunden lang langsam nach vorne und hinten kippen und in dem Zeitraum von 1 Minute gelegentlich weiter mischen, wobei der Objektträger auf Raumtemperatur bleiben soll.
5. Nach 1 Minute makroskopisch bei diffusem Licht ablesen und Fibrinstränge nicht fälschlicherweise für Agglutination halten.
6. Alle schwachen Reaktionen sollten mit der Röhrchenmethode wiederholt werden.

INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

1. **Positiv:** Eine Agglutination der roten Blutkörperchen stellt ein positives Testergebnis dar und zeigt innerhalb zulässiger Einschränkungen des Testverfahrens das Vorhandensein des geeigneten ABO-Antigens auf den roten Blutkörperchen an.
2. **Negativ:** Eine nicht vorhandene Agglutination der roten Blutkörperchen stellt ein negatives Testergebnis dar und zeigt innerhalb der zulässigen Einschränkungen des Testverfahrens das Nichtvorhandensein des geeigneten ABO-Antigens auf den roten Blutkörperchen an.
3. **Diskrepanzen:** Korrelieren die Ergebnisse der Serumgegenprobe nicht mit denen der Antigenbestimmung, sind weitere Untersuchungen erforderlich.

STABILITÄT DER REAKTIONEN

1. Alle Röhrchen- und Mikroplatten-Tests sofort nach der Zentrifugierung ablesen.
2. Objektträgertests sollten nach höchstens einer Minute interpretiert werden, um die Spezifität zu gewährleisten und zu verhindern, dass ein negatives Ergebnis möglicherweise aufgrund des Trocknens des Reagens fälschlicherweise als positiv ausgelegt wird.
3. Bei der Interpretation von Ergebnissen von Untersuchungen, die bei anderen Temperaturen als den empfohlenen durchgeführt wurden, ist Vorsicht angebracht.

EINSCHRÄNKUNGEN

1. ABO-Antigene sind bei der Geburt nicht voll entwickelt, weshalb es bei Nabelschnur- oder neonatalen Proben zu schwächeren Reaktionen kommen kann.
2. Wenn monoklonales Anti-A, B verwendet wird, können Blutproben der schwachen Untergruppen von A oder B (z. B. Ax) falsch negative oder schwache Reaktionen hervorrufen, wenn sie mit Objektträgern, Mikroiterplatten oder Gelkarten getestet werden. Es ist ratsam, schwache Untergruppen mit der Röhrchenmethode erneut zu testen.
3. Monoklonales Anti-A und monoklonales Anti-B von Lorne sind nicht validiert, um Ax- und A3- beziehungsweise Bx- und B3-Antigene zu erkennen, weshalb nicht in Anspruch genommen wird, dass es bei dem monoklonalen Anti-A- oder Anti-B-Reagens eine Reaktivität gegenüber diesen schwachen A- und B- Untergruppen gibt.
4. Gelagertes Blut kann schwächere Reaktionen erzeugen als frisches Blut.
5. Falsch positive oder falsch negative Ergebnisse können auch auftreten aufgrund von:
 - Kontamination von Testmaterialien
 - Ungeeigneter Lagerung, Zellkonzentration, Inkubationszeit oder Temperatur
 - Unsachgemäßer oder übermäßiger Zentrifugierung
 - Abweichung von den empfohlenen Methoden
 - Mit Wharton-Sulze kontaminierten Nabelschnurproben

BESTIMMTE LEISTUNGSMERKMALE

1. Vor der Freigabe wurden alle Lose der monoklonalen ABO-Reagenzien von Lorne anhand der in dieser Gebrauchsanweisung aufgeführten empfohlenen Testverfahren getestet. Die Tests erfüllten die Testanforderungen, wie sie in der aktuellen Version/Ausgabe der „Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom“³ und der gemeinsamen technischen Spezifikationen angegeben werden.
2. Die Spezifität von monoklonalen Antikörpern der Quelle wird mit einem Panel von Antigen-negativen Zellen nachgewiesen.
3. Die Wirksamkeit der Reagenzien wurde anhand der folgenden Referenzstandards für die minimale Wirksamkeit getestet, die vom National Institute of Biological Standards and Controls (NIBSC) eingeholt wurden:
 - Anti-A-Referenzstandard 03/188 und / oder
 - Anti-B-Referenzstandard 03/164
4. Lorne Anti-B reagiert nicht mit roten Blutkörperchen des Typs „erworbenes B“.
5. Die Reagenzien Lorne Monoclonal ABO erkennen keine Kryptantigene wie T, Tn oder Cad.
6. Die Qualitätskontrolle der Reagenzien erfolgte anhand von roten Blutkörperchen mit Phänotypen, die von einem Bluttransfusionszentrum im Vereinigten Königreich verifiziert wurden und vor der Verwendung mit PBS oder isotonischer Kochsalzlösung gewaschen worden waren.

HAFTUNGSAUSSCHLUSS

1. Für das Leistungsverhalten der Reagenzien nach einem anderen Verfahren als den in den **empfohlenen Methoden** erwähnten ist der Benutzer verantwortlich.
2. Alle Abweichungen von den **empfohlenen Methoden** sollten vor der Verwendung validiert werden⁵.

BIBLIOGRAPHIE

1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Seite 181.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3. Ausgabe. Montgomery Scientific, Miami 1985; Kapitel 6.
3. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6. Ausgabe 2002. The Stationary Office.
4. AABB Technical Manual, 16. Ausgabe, AABB 2008.
5. British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. Transfusion Medicine, 1995, 5, 145-150.

VERFÜGBARE GRÖSSEN DER REAGENZIEN

	Größe der Epruvette	Katalognummer	Tests je Epruvette
Anti-A Monoclonal	10 ml	600010	200
	1000 ml	600000*	20.000
	5000 ml	600000X5*	100.000
Anti-B Monoclonal	10 ml	610010	200
	1000 ml	610000*	20.000
	5000 ml	610000X5*	100.000
Anti-A,B Monoclonal	10 ml	620010	200
	1000 ml	620000*	20.000
	5000 ml	620000X5*	100.000

*Diese Größe ist nur zur weiteren Verwendung in der Herstellung (FFMU) vorgesehen und trägt daher keine CE-Kennzeichnung.



Lorne Laboratories Limited
Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate
Danehill
Lower Earley
Berkshire, RG6 4UT
Vereinigtes Königreich
Tel: +44 (0) 118 921 2264
Fax: +44 (0) 118 986 4518
E-Mail: info@lornelabs.com



Advena Ltd. Tower Business Centre, 2nd Flr.,
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta