

## **DE** GEBRAUCHSINFORMATION

**Anti-A (AB01)**

**CE** 0123

**Anti-B (AB02)**

**Anti-A,B (AB01,2)**

**monoklonal (IgM)**

**Klone: Anti-A: F98 7C6**  
**Anti-B: F84 3D6; F97 2D6**  
**Anti-A,B: F98 7C6; F84 3D6; F97 2D6; F125 7B6**

Anti-A	<b>REF</b> 6790	1 x 10 ml	<b>REF</b> 6791	10 x 10 ml
Anti-B	<b>REF</b> 6793	1 x 10 ml	<b>REF</b> 6794	10 x 10 ml
Anti-A,B	<b>REF</b> 6796	1 x 10 ml	<b>REF</b> 6797	10 x 10 ml

Elektronische Gebrauchsinformation siehe [www.bag-diagnostics.com](http://www.bag-diagnostics.com)

### IN VITRO DIAGNOSTIKA

#### **1. Produktbeschreibung**

Anti-A, Anti-B und Anti-A,B werden aus monoklonalen Maus IgM-Antikörpern hergestellt. Die Klonbezeichnungen sind auf den Etiketten der Testreagenzien angegeben. Die Testreagenzien dienen zum Nachweis der korrespondierenden A- und/oder B-Antigene auf humanen Erythrozyten und sind für den direkten Agglutinationstest im Röhrchen und auf Objektträgern geeignet. Das Verdünnungsmedium für diese Niedrigproteinreagenzien enthält NaCl, BSA, einen pH-Puffer und EDTA. Als Konservierungsmittel ist 0,1% NaN<sub>3</sub> zugesetzt. Anti-A enthält einen blauen Farbstoff, Anti-B einen gelben Farbstoff, und Anti-A,B ist nicht angefärbt.

Jedes Lot dieser Blutgruppen-Testreagenzien wurde entsprechend den Anforderungen der Gemeinsamen Technischen Spezifikationen für Produkte nach Annex II, Liste A der Richtlinie 98/79/EG des Europäischen Parlaments und des Rates über In vitro Diagnostika getestet und erfüllt die Anforderungen. Wenn die Reagenzien in Übereinstimmung mit der Gebrauchsinformation getestet werden, agglutinieren sie humane Erythrozyten, wenn das korrespondierende Antigen vorhanden ist.

Die Reaktivität jedes Lots wird mit einem Erythrozyten-Panel und den empfohlenen Testmethoden überprüft.

Anti-A reagiert nicht mit A<sub>x</sub>-Erythrozyten. Anti-A,B reagiert mit A<sub>x</sub>-Erythrozyten. Die Testung mit 2 A<sub>x</sub>-Erythrozytenproben ist Teil jeder Lottestung.

Bei einigen A- und B-Untergruppen können schwächere Reaktionen auftreten als die, die normalerweise mit A- und B-Erythrozyten der meisten Spender beobachtet werden. Die Reaktion fällt in Abhängigkeit von der Untergruppe im direkten Agglutinationstest schwach oder negativ aus.

Die Spezifität jedes Lots wird im Röhrchen- und Objektträgerstest mit einem Panel von Zellen überprüft, die negativ für das korrespondierende A- bzw. B-Antigen sind.

Anti-A zeigte keine Reaktivität mit Erythrozyten, die als B (A) klassifiziert waren. Anti-B zeigte keine Reaktivität mit Erythrozyten, die ein erworbenes B-Antigen exprimiert hatten.

## **2. Testprinzip**

Die angegebenen Testmethoden beruhen auf dem Prinzip der direkten Haemagglutination. Nach Zugabe von Erythrozyten zu den monoklonalen Testreagenzien findet eine spezifische Antigen-Antikörper-Reaktion statt, wenn das korrespondierende Antigen auf den Erythrozyten vorhanden ist. Diese Reaktion ist optisch durch die Agglutination der Erythrozyten erkennbar. Wenn keine Agglutination stattfindet, zeigt dies ein negatives Ergebnis an und weist unter Berücksichtigung der Einschränkungen der Testmethode auf die Abwesenheit des korrespondierenden Antigens auf den Erythrozyten hin.

## **3. Lagerung und Haltbarkeit**

Die Testreagenzien bei 2...8°C lagern. Nicht einfrieren! Die Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18...25°C) erwärmen lassen und unmittelbar nach dem Gebrauch wieder bei 2...8°C lagern.

Die Testreagenzien sind bei Einhaltung der angegebenen Lagerbedingungen nach dem ersten Öffnen bis zum auf dem Etikett angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar, wenn sie keine Trübungen oder andere Anzeichen für eine Kontamination aufweisen. Die Reagenzien nicht nach Ablauf des auf dem Etikett angegebenen Haltbarkeitsdatums benutzen. Kontaminierte Reagenzien nicht mehr benutzen!

## **4. Probenvorbereitung**

Für die Probennahme ist keine besondere Vorbereitung des Patienten bzw. des Spenders notwendig. Die Blutproben sollten entsprechend den üblichen aseptischen medizinischen Verfahren entnommen werden. Blutproben mit und ohne Antikoagulanzen sind für die Testung geeignet, wenn die Durchführung ohne zeitliche Verzögerung stattfindet. Ist dies nicht möglich, können Erythrozyten aus geronnenem Blut oder EDTA-Blut bis zu 14 Tage nach Blutentnahme getestet werden. ACD-, CPD- und CPDA-1-Blut kann bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum getestet werden. Erythrozytenproben sollten bei 2...8°C aufbewahrt werden. Für eine längere Lagerung der Erythrozyten kann eine Erythrozytenstabilisierungslösung benutzt werden.

Keine hämolytischen und kontaminierten Proben verwenden.

Durch eine zu lange Lagerung der Erythrozyten vor der Testung können sich die Erythrozytenantigene verändern, was abgeschwächte Reaktionen zur Folge haben kann.

## **5. Zusätzlich benötigte Materialien**

Isotonische NaCl-Lösung, pH 6,5 – 7,5  
Glasobjektträger und Stäbchen zum Mischen  
Reagenzgläser (75 x 12 mm, Glas oder Plastik)  
Einweg-Pasteur-Pipetten  
Zentrifuge (900-1000 x g)  
Testerythrozyten mit bekanntem AB0-Phänotyp

## **6. Testdurchführung**

### **Objektträgertest**

1. Von den zu untersuchenden Erythrozyten eine 35 – 45%ige Suspension in isotonischer NaCl-Lösung herstellen.
2. Auf einen gekennzeichneten Objektträger 1 Tropfen Testreagenz geben.
3. 1 bis 2 Tropfen der Erythrozytensuspension hinzufügen und mit einem sauberen Stäbchen mischen. Das Gemisch dabei über eine Fläche von ca. 20 x 40 mm verteilen.
4. Den Objektträger bis zu 2 Minuten leicht hin und her bewegen und makroskopisch auf Agglutination prüfen. Die Agglutination kann innerhalb weniger Sekunden beginnen. Die Ablesung sollte nach 2 Minuten abgeschlossen sein.
5. Wenn nach 2 Minuten keine Agglutination aufgetreten ist, wird der Test als negativ beurteilt. Darauf achten, dass Eintrocknungserscheinungen am Rand oder Fibrinstränge eine positive Reaktion vortäuschen können.

**Anmerkung:** Für das Vermischen mit der Erythrozytensuspension für jedes Reagenz ein separates sauberes Stäbchen nehmen.

Die Objektträger nicht auf erwärmte Oberflächen stellen!

**Achtung:** Der Objektträgertest ist nicht sensitiv genug für einen zuverlässigen Nachweis von schwach exprimierten Antigenen.

### **Röhrchentest**

1. Die zu untersuchenden Erythrozyten mit isotonischer NaCl-Lösung waschen und eine 2 - 4%ige Suspension in isotonischer NaCl-Lösung herstellen.
2. 1 Tropfen Testreagenz und 1 Tropfen der Erythrozytensuspension in einem beschrifteten Röhrchen gut mischen.
3. 15 Sekunden bei 900 – 1000 x g oder bei alternativer Drehzahl mit angepasster Zeit zentrifugieren.
4. Unter vorsichtigem Aufschütteln des Röhrchens makroskopisch auf Agglutination prüfen.

**Anmerkungen:** Den Test nicht mikroskopisch auswerten.

Schwache Reaktionen können durch Inkubation des Reaktionsansatzes für 15 Minuten bei Raumtemperatur (18...25°C) verstärkt werden (anschließend mit Punkt 3 und 4 fortfahren).

**Kontrollen**

Erythrozyten, die in Bezug auf das jeweilige Merkmal positiv sind und Erythrozyten, die in Bezug auf das jeweilige Merkmal negativ sind, sollten zur Kontrolle mitgeführt werden. Die positiven Kontroll-Erythrozyten sollten so ausgewählt werden, dass das spezifische Antigen nur schwach exprimiert ist.

Die Bestimmung der Antigene sollte mit mindestens 2 verschiedenen Testreagenzien erfolgen. Bei Verwendung von zwei monoklonalen Testreagenzien sollten zwei verschiedene Klone eingesetzt werden. Ein Test mit Anti-A,B sollte als Bestätigung für Tests mit Anti-A und Anti-B durchgeführt werden.

Um eine Spontanagglutination ausschließen zu können, wird empfohlen, als Kontrolle mit 6-8%igem BSA oder mit autologem Serum oder Plasma parallel zu testen.

Für die Bestimmung und Bestätigung der AB0-Blutgruppe muss eine Untersuchung des Serums auf Isoagglutinine mit A<sub>1</sub>-, A<sub>2</sub>-, B- und 0-Testerythrozyten entsprechend der gesetzlichen Vorgaben in den jeweiligen Ländern erfolgen.

Die Aktivität und Spezifität der Testreagenzien muss regelmäßig mit bekannten A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B und 0-Erythrozyten kontrolliert werden. Für die Kontrollintervalle sind die gesetzlichen Vorgaben zu beachten.

**7. Interpretation der Ergebnisse**

Eine Agglutination der Erythrozyten mit Anti-A oder Anti-B zeigt unter Berücksichtigung der Einschränkungen der Testmethode das Vorhandensein des korrespondierenden Antigens an. Entsprechend zeigt eine Agglutination der Erythrozyten mit Anti-A,B das Vorhandensein des A- und/oder B-Antigens an.

Findet keine Agglutination der Erythrozyten mit Anti-A oder Anti-B statt, weist dies unter Berücksichtigung der Einschränkungen der Testmethode auf die Abwesenheit des korrespondierenden Antigens hin. Entsprechend zeigt eine fehlende Agglutination der Erythrozyten mit Anti-A,B die Abwesenheit des A- und B-Antigens an.

Tritt mit der bekannt positiven Erythrozytensuspension keine Agglutination auf oder findet mit der bekannt negativen Erythrozytensuspension oder bei den Kontrollen mit 6-8%igem BSA oder mit autologem Serum/Plasma eine Agglutination statt, kann das Testergebnis nicht gewertet werden. Treten bei der Bestimmung des Antigens mit zwei verschiedenen Testreagenzien und/oder bei der Antigenbestimmung und dem Isoagglutinnachweis diskrepante Ergebnisse auf, muss die Blutgruppenbestimmung mit einer anderen Testmethode und/oder einem weiteren Testreagenz wiederholt werden.

Bei der Interpretation der Ergebnisse müssen die Grenzen der Methode (s. 9. Wichtige Hinweise/Grenzen der Methode) beachtet werden.

AB0-Blutgruppenbestimmung mit Testreagenzien			Blutgruppe	Isoagglutininbestimmung mit Testerythrozyten			
Anti-A	Anti-B	Anti-AB		A1	A2	B	0
+	-	+	<b>A</b>	-	-	+	-
-	+	+	<b>B</b>	+	+	-	-
-	-	-	<b>0</b>	+	+	+	-
+	+	+	<b>AB</b>	-	-	-	-

## **8. Stabilität der Reaktionen**

Alle Testergebnisse müssen unmittelbar nach Beendigung der Testdurchführung beurteilt werden.

## **9. Wichtige Hinweise/Grenzen der Methode**

1. Die Testreagenzien sind nur für den in vitro diagnostischen Gebrauch geeignet und dürfen nur von geschultem Fachpersonal eingesetzt werden.
2. Keine hämolytischen Proben verwenden.
3. In seltenen Fällen kann es bei in vivo mit Immunglobulinen beladenen Erythrozyten zu spontanen und nicht spezifischen Agglutinationen kommen. Dieses Phänomen tritt meist mit Reagenzien auf, die einen hohen Proteingehalt und makromolekulare Additive enthalten. Anti-A, Anti-B und Anti-A,B werden mit einem Medium mit niedrigem Proteingehalt hergestellt, das die Spontanagglutination nicht unterstützt. Trotzdem kann es in sehr seltenen Fällen bei einer starken Beladung der Erythrozyten mit Immunglobulinen auch in diesem Medium zu Spontanagglutinationen kommen. Das gleiche Phänomen tritt dann aber meistens auch bei der Bestimmung von anderen Blutgruppenmerkmalen auf. Wenn die Erythrozyten mit Anti-A, Anti-B und Anti-D reagieren, wird empfohlen, als Kontrolle die zu untersuchenden Erythrozyten in 6-8%igem BSA sowie in autologem Serum oder Plasma parallel zu testen. Zeigen die Kontrollteste auch eine positive Reaktion, kann das Ergebnis der Blutgruppenbestimmung nicht interpretiert werden.
4. Suspensionen von ungewaschenen Erythrozyten fördern falsch positive Reaktionen wie solche die mit Geldrollenbildung oder Autoantikörpern assoziiert sind. Der routinemäßige Einsatz von gut gewaschenen, in isotoner NaCl-Lösung resuspendierten Erythrozyten im Röhrchentest kann das Auftreten solch falsch positiver Reaktionen vermindern.
5. Erythrozyten mit schwachen A- und/oder B-Varianten und Erythrozyten von Neugeborenen oder Cord-Zellen, bei denen die A- und/oder B-Antigene noch nicht vollständig exprimiert sind, können nur eine schwache oder keine Reaktion zeigen. Insbesondere der Objektträgertest ist nicht sensitiv genug für einen zuverlässigen Nachweis von schwach exprimierten Antigenen.
6. Anti-A reagiert nicht mit A<sub>x</sub>-Erythrozyten. Anti-A,B reagiert mit A<sub>x</sub>-Erythrozyten.
7. Bei Verdacht auf A- oder B-Varianten und bei diskrepanten oder zweifelhaften Ergebnissen wird eine molekulargenetische Bestimmung empfohlen (z.B. mit **BAGene**, BAG-SSP-Kits zur Bestimmung der AB0-Eigenschaften auf molekulargenetischer Basis). Mit dieser Methode können bei Blutspendern auch schwach exprimierte Antigene festgestellt werden und die Transfusion von solchem Blut an Empfänger der Blutgruppe 0 kann vermieden werden.
8. Einige Erkrankungen können bei der AB0-Blutgruppenbestimmung zu falsch positiven bzw. falsch negativen Ergebnissen führen (z. B. Abschwächung des A-Antigens bei akuter Leukämie, erworbenes B-Antigen bei älteren Patienten mit Blutgruppe A und Dickdarmkarzinom). Anti-A zeigte keine Reaktivität mit Erythrozyten, die als B (A) klassifiziert waren. Anti-B zeigte keine Reaktivität mit Erythrozyten, die ein erworbenes B-Antigen exprimiert hatten.
9. Für die Bestimmung der AB0-Blutgruppe muss immer auch der Isoagglutininnachweis durchgeführt werden. Serologische Anomalien können zu unerwarteten Reaktionen und Diskrepanzen zwischen der Antigenbestimmung und dem Isoagglutininnachweis führen. Vor allem Seren von Neugeborenen oder Cord-Zellen weisen nicht unbedingt das erwartete Anti-A und/oder Anti-B auf. Bei Neugeborenen kann auch passiv von der

Mutter erworbenes Anti-A und/oder Anti-B zu unerwarteten Ergebnissen führen. Bei diskrepanten Ergebnissen muss immer eine weitere Abklärung erfolgen.

10. Anti-A, Anti-B und Anti-A,B dürfen nicht für die Testung von enzymbehandelten Erythrozyten eingesetzt werden.
11. Eine zu späte Ablesung des Röhrchentests, ein zu starkes Aufschütteln des Erythrozytensediments und andere Abweichungen von der angegebenen Testdurchführung können zu schwächeren oder falsch negativen Ergebnissen führen.
12. Bei einer zu späten Ablesung des Objektträgertests können Eintrocknungserscheinungen und Fibrinstränge falsch positive Ergebnisse vortäuschen.
13. Falsch negative oder unerwartet schwache Reaktionen können auch durch zu lange Lagerung und/oder ungeeignete Lagerbedingungen der Erythrozyten und/oder durch eine zu niedrige Zellkonzentration verursacht werden.
14. Ungeeignete Techniken, falsche Zentrifugation oder Inkubation, unsaubere Röhrchen oder Objektträger, falscher pH-Wert der isotonischen NaCl-Lösung und/oder kontaminierte Materialien und Proben können zu falsch negativen oder falsch positiven Ergebnissen führen.
15. Das Auftreten von Hämolyse bei der Antigenbestimmung sollte nicht unbedingt als ein positives Ergebnis interpretiert werden. Hämolyse kann auch durch bakterielle Kontaminationen verursacht werden. Die Validität der Testergebnisse und deren richtige Interpretation ist abhängig von den Ergebnissen der Kontrolltests mit den positiven und negativen Kontrollzellen. Wenn eine Patientenkontrolle mitgeführt wird und Agglutination zeigt, sind keine validen Schlussfolgerungen in Bezug auf die Testergebnisse möglich.
16. Eine Trübung der Testreagenzien kann auf eine mikrobielle Kontamination hinweisen. Eine mikrobielle Kontamination der Testreagenzien unbedingt vermeiden, weil dies die Haltbarkeit des Produkts verkürzen und zu falschen Ergebnissen führen kann. Kontaminierte Reagenzien nicht benutzen.
17. Bei der Interpretation der Ergebnisse sollte immer berücksichtigt werden, ob Transfusionen oder Transplantationen stattgefunden haben. Die Transfusions- und/oder Transplantationsanamnese, aber auch die Medikamentenanamnese, sollte zur Interpretation herangezogen werden.
18. Die für die Zentrifugationen angegebene g-Zahl ist immer das Minimum, das benötigt wird, um einen klaren Überstand und ein abgegrenztes Erythrozytensediment, das sich leicht resuspendieren lässt, zu erhalten. Es ist nicht möglich, für alle verfügbaren Zentrifugentypen eine allgemein verbindliche Zentrifugationsgeschwindigkeit oder -zeit anzugeben. Zentrifugen müssen individuell kalibriert werden, um die optimale Zeit und Geschwindigkeit für die gewünschten Ergebnisse zu ermitteln.
19. Anti-A, Anti-B und Anti-A,B nur wie in dieser Gebrauchsinformation angegeben einsetzen. Abweichungen von der vorliegenden Gebrauchsinformation können zu einer nicht optimalen Produktleistung führen. Modifikationen jeglicher Art (z. B. Verdünnungen, andere Testmethoden) müssen vom Anwender validiert werden.

## **10. Warn- und Entsorgungshinweise**

Sämtliche für den Test verwendete Materialien biologischen Ursprungs sollten als potentiell infektiös betrachtet werden. Die Abwesenheit von murinen Viren wurde nicht untersucht. Für die Herstellung dieser Produkte verwendetes Material bovinen Ursprungs stammt von Tieren, die von Veterinärinspektoren kontrolliert und als krankheitsfrei deklariert wurden. Das TSE (Transmissible Spongiform Encephalopathy)-Risiko dieses von Rindern stammenden Produkts wird als gering betrachtet.

Beim Umgang mit biologischen Materialien werden angemessene Sicherheitsvorkehrungen empfohlen (nicht mit dem Mund pipettieren; Schutzhandschuhe bei der Testdurchführung tragen; Händedesinfektion nach der Testdurchführung). Biologische Materialien müssen vor der Entsorgung inaktiviert werden (z.B. durch Autoklavieren). Einwegmaterialien sind nach Gebrauch zu autoklavieren oder zu verbrennen. Verschüttetes potentiell infektiöses Material sollte unverzüglich mit einem saugfähigen Papiertuch entfernt werden und der kontaminierte Bereich mit einem geeigneten Desinfektionsmittel oder 70%igem Ethanol desinfiziert werden. Material, das für die Entfernung von Verschüttetem benutzt wurde, muss vor der Entsorgung inaktiviert werden (z.B. durch Autoklavieren).

Die Tropfsaughütchen der Fläschchen enthalten Latex. Latex kann allergische Reaktionen hervorrufen.

Das Testreagenz enthält 0,1%  $\text{NaN}_3$  als Konservierungsmittel. Natriumazid ist toxisch. Nicht schlucken und Kontakt mit der Haut und Schleimhäuten vermeiden. Kupfer und Blei, die in einigen Rohrsystemen eingesetzt werden, können mit Azid explosive Salze bilden, deshalb sollte bei der Beseitigung von Azid-haltigem Material mit reichlich Wasser nachgespült werden.

Die Entsorgung aller Proben, ungebrauchter Reagenzien und Abfälle sollte entsprechend der Gesetzgebung des jeweiligen Landes und der regionalen Behörden erfolgen.

Ein Sicherheitsdatenblatt (SDS) kann unter [www.bag-diagnostics.com](http://www.bag-diagnostics.com) heruntergeladen werden.

## **11. Literatur**

Landsteiner K. Zur Kenntnis der antifermentativen, lytischen und agglutinierenden Wirkungen des Blutserums und der Lymphe. Zbl Bakt. 27; 357-362, 1900

von Castello A, Sturli A. Über die Isoagglutinine im Serum gesunder und kranker Menschen. München Med. Wochenschr. 1090-1095, 1902

Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man. 6<sup>th</sup> Edition, Blackwell Scientific, Oxford, 1975

Pittiglio DH, Baldwin AJ, Sohmer PR. Modern Blood Banking and Transfusion Practices. Davis, Philadelphia. 1987.c.1983

Technical manual of the American Association of Blood Banks, 17<sup>th</sup> ed., 2011

Köhler, Milstein C. Continuous Cultures of Fused Cells Secreting Antibody of Predefined Specificity, Nature, 256:295, 1975

Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine. 6<sup>th</sup> Edition, Blackwell Science, Oxford, 1979














Moore BPL. Serological and Immunological Methods of the Canadian Red Cross Blood Transfusion Service, 8<sup>th</sup> Edition. Hunter Rose. Toronto, 1980

Westhoff CM, Sipherd BD, Toalson ID. Red cell antigen stability in  $\text{K}_3\text{EDTA}$ . Immunohematol 1993; 9:109-111

Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie); Aufgestellt vom wissenschaftlichen Beirat der Bundesärztekammer und vom Paul-Ehrlich-Institut, Fassung 2017

Immunhämatologie und Transfusionsmedizin, Reinhold Eckstein / Robert Zimmermann , 6. Auflage, Urban & Fischer bei Elsevier, 2010

Blutgruppen und Transfusion, M. Metaxas-Bühler, Verlag Hans Huber, 1994

Erklärung der Symbole auf den Etiketten	
	In-vitro-Diagnostikum
	Hersteller
	Lagertemperatur / Temperaturbegrenzung
	Lot-Nr.
	Verwendbar bis
	Bestell-Nr.
	Gebrauchsinformation beachten
	Monoklonal IgM
	Klon
	Ursprung: Maus
	Enthält Natriumazid
	Titer
	<p>Achtung</p> <p>H302           Gesundheitsschädlich beim Verschlucken  P301 + P312   BEI VERSCHLUCKEN:                      Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen</p> <p>P264           Nach Gebrauch Hände gründlich waschen  P270           Bei Gebrauch nicht essen, trinken oder rauchen  P281           Vorgeschriebene persönliche Schutzausrüstung verwenden</p>

Gebrauchsinformation

Version: 5/2019 / Stand: 2019-06