

LISS/Coombs

ID-Card

B004014 02.13

Indirect and direct antiglobulin test

Product-Identification: 50531

DEUTSCH.....SEITE 3

ENGLISH PAGE 13

FRANÇAIS..... PAGE 23

ITALIANO..... PAGINA 33

ESPAÑOL PÁGINA 43

PORTUGUÊS..... PÁGINA 53

BIO-RAD



Indirekter und direkter Antiglobulintest**Produkt-Identifikation: 50531****EINLEITUNG**

Polyspezifische Antihumanglobulin-Reagenzien (AHG) werden für den Routinenachweis von Alloantikörpern, Verträglichkeitstests und den direkten Antiglobulintest (DAT) verwendet.

Die wichtigste Funktion der AHG-Reagenzien besteht im Nachweis von IgG. Die Bedeutung des Antikomplement im AHG-Reagenz ist fraglich, da nur durch ihre Komplementbindungsfähigkeit nachweisbare Antikörper ziemlich selten vorkommen. Jedoch ist die Anti-C3d-Aktivität wichtig für den DAT bei der Untersuchung von autoimmun hämolytischen Anämien (AIHA) [4]. Ein positiver DAT deutet generell darauf hin, dass die Erythrozyten in vivo mit Immunglobulin und/oder Komplement beladen sind.

Die Mikroröhrchen der ID-Karte "LISS/Coombs" enthalten polyspezifisches AHG, das für Antikörper-Suchtest, Antikörperidentifizierung, Verträglichkeitstest und für den DAT verwendet wird. Beim indirekten Antiglobulintest (IAT) entfallen umständliche Waschverfahren, da zuerst die Erythrozytensuspension in das Mikroröhrchen gegeben wird und über der Gelsuspension eine Barriere bildet, wodurch eine Neutralisierung des AHG durch Serum-IgG-Proteine vermieden wird.

Das in der ID-Karte "LISS/Coombs" enthaltene Anti-IgG ist nicht spezifisch für schwere Ketten (H-Ketten) und kann folglich auch in der Lage sein, mit den beiden Typen der L-Ketten – Kappa (k) und Lambda (l) – der IgA- und IgM-Moleküle zu reagieren.

Die ID-Karte "LISS/Coombs" eignet sich für den DAT, den Verträglichkeitstest, den Antikörper-Nachweis und Identifikation mit "ID-DiaCell" und "ID-DiaPanel".

REAGENZIEN

IVD

ID-Karte "LISS/Coombs" mit 6 Mikroröhrchen enthält polyspezifisches AHG (Kaninchen-Anti-IgG und monoklonales Anti-C3d, Zelllinie C139-9) in der Gelmatrix.

Konservierungsmittel: < 0,1% NaN₃.



Nicht in der Nähe von Hitzequellen, Klimaanlage oder Lüftungsausgängen lagern.

Stabilität: siehe Verfallsdatum auf dem Etikett.

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE REAGENZIEN

- ID-Diluent 2: Modifiziertes LISS zur Herstellung der Erythrozytensuspensionen.
- ID-DiaCell, ID-DiaPanel: Testerythrozyten.

(siehe diesbezügliche Packungsbeilage)

WEITERE ERFORDERLICHE MATERIALIEN

- ID-Dispenser
- ID-Pipetor
- ID-Tips (Pipettenspitzen)
- Suspensionsröhrchen
- ID-Arbeitsplatz
- ID-Inkubator 37 °C
- ID-Zentrifuge 6, 12 oder 24

PROBENMATERIAL

Für verlässliche Resultate sollte die Bestimmung mit frisch abgenommenen Proben durchgeführt werden oder in Übereinstimmung mit lokalen Laborvorschriften für die Akzeptanz von Probenmaterial erfolgen. Vorzugsweise sollte die Probengewinnung in den Antikoagulantien Citrat, EDTA oder CPD-A erfolgen. Native Proben (kein Antikoagulant) können auch verwendet werden.

Wird Serum anstelle von Plasma verwendet, sollte dieses vor Testansatz 10 Minuten bei 1500 g zentrifugiert werden, damit keine störenden Fibrinreste in dem Testansatz gelangen.

VORBEREITUNG DER BLUTPROBE

a) Erythrozytensuspension für DAT oder Eigenkontrolle

Eine 0,8%ige Erythrozytensuspension in ID-Diluent 2 wie folgt herstellen:
Diluent vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen.

1. 1,0 ml ID-Diluent 2 in ein sauberes Röhrchen pipettieren.
2. 10 µl Erythrozytenkonzentrat hinzugeben; leicht mischen.

Die Erythrozytensuspension kann sofort verwendet werden.

b) Erythrozytensuspension für Kreuzproben

Eine 0,8%ige Erythrozytensuspension in ID-Diluent 2 wie oben beschrieben vorbereiten. Wenn Vollblut direkt von einem Segment eines Blutbeutels verwendet wird, werden 20 µl Blut in 1,0 ml ID-Diluent 2 hinzugefügt.

c) Plasma oder Serum für den indirekten Antiglobulintest (IAT)

Wird das Plasma oder Serum nicht unmittelbar nach dem Zentrifugieren verwendet, sollte es max. 48 Stunden bei 2–8 °C, anschliessend bei -20 °C aufbewahrt werden oder in Übereinstimmung mit den lokalen/nationalen Richtlinien.

TESTDURCHFÜHRUNGEN

Keine ID-Karten benutzen mit Anzeichen von Austrocknung, Luftblasen, beschädigter Versiegelung oder Tropfen des Gels bzw. des Überstandes im oberen Teil der Mikrokammer oder auf der Unterseite der Versiegelung.

I. Direkter Antiglobulintest (DAT)

1. Die entsprechenden Mikroröhrchen der ID-Karte "LISS/Coombs" mit Patienten- oder Spendernamen oder -nummer beschriften.
2. Aluminiumfolie von den benötigten Mikroröhrchen in aufrechter Kartenposition entfernen.

3. 50 µl der Erythrozytensuspension in das entsprechende Mikroröhrchen pipettieren.
4. ID-Karte 10 Minuten in der ID-Zentrifuge zentrifugieren.
5. Reaktionen ablesen und aufzeichnen.

II. Antikörper-Suchtest (IAT)

Die gebrauchsfertigen Testerythrozyten "ID-DiaCell" verwenden.

Testerythrozyten und Proben vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen.

1. Die entsprechenden Mikroröhrchen der ID-Karte "LISS/Coombs" mit Patienten- oder Spendernamen oder -nummer beschriften.
2. Aluminiumfolie von den benötigten Mikroröhrchen in aufrechter Kartenposition entfernen.
3. 50 µl der Testerythrozyten in das entsprechende Mikroröhrchen pipettieren (mit der entsprechenden Testerythrozytennummer markiert).
4. Falls eine Eigenkontrolle erforderlich ist, 50 µl der Erythrozytensuspension der Probe in das entsprechende Mikroröhrchen dazugeben.
5. 25 µl Plasma oder Serum des Patienten oder Spender in jedes Mikroröhrchen dazugeben.
6. ID-Karte im ID-Inkubator während 15 Minuten bei 37 °C inkubieren.
7. ID-Karte 10 Minuten in der ID-Zentrifuge zentrifugieren.
8. Reaktionen ablesen und aufzeichnen.

III. Antikörper-Identifizierung (IAT)

Das gebrauchsfertige "ID-DiaPanel" verwenden.

Testerythrozyten und Proben vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen.

1. Zwei ID-Karten "LISS/Coombs" mit Patienten- oder Spendernamen oder -nummer beschriften.
2. Aluminiumfolie von den benötigten Mikroröhrchen in aufrechter Kartenposition entfernen.
3. 50 µl der "ID-DiaPanel"-Testerythrozyten in das entsprechende Mikroröhrchen (mit 1 bis 11 markiert) pipettieren.
4. 50 µl der Erythrozytensuspension der Probe in das 12. Mikroröhrchen (Eigenkontrolle) pipettieren.

5. 25 µl Plasma oder Serum des Patienten oder Spender in alle 12 Mikroröhrchen der ID-Karten dazugeben.
6. ID-Karte im ID-Inkubator während 15 Minuten bei 37 °C inkubieren.
7. ID-Karte 10 Minuten in der ID-Zentrifuge zentrifugieren.
8. Reaktionen ablesen und aufzeichnen.

IV. Verträglichkeitstest

1. Die entsprechenden Mikroröhrchen der ID-Karte "LISS/Coombs" mit Empfänger- und Spendernamen oder -nummer beschriften.
2. Aluminiumfolie von den benötigten Mikroröhrchen in aufrechter Kartenposition entfernen.
3. 50 µl der Erythrozytensuspension des Spenders in das entsprechende Mikroröhrchen pipettieren.
4. Für die Eigenkontrolle, 50 µl der Erythrozytensuspension des Patienten in das entsprechende Mikroröhrchen geben.
5. 25 µl Plasma oder Serum des Patienten in alle Mikroröhrchen dazugeben.
6. ID-Karte im ID-Inkubator während 15 Minuten bei 37 °C inkubieren.
7. ID-Karte 10 Minuten in der ID-Zentrifuge zentrifugieren.
8. Reaktionen ablesen und aufzeichnen.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

A) Prinzip

Positiv: Agglutinierte Erythrozyten bilden eine rote Linie auf dem Gel oder sind im Gel verteilt.

Negativ: Kompaktes Erythrozytensediment am Boden des Mikroröhrchens.

B) Reaktionen für:

1. Direkter Antiglobulintest (DAT)

- Eine negative Reaktion deutet darauf hin, dass auf den Erythrozyten keine nachweisbaren IgG-Antikörper oder C3d Komponenten vorhanden sind.

- Eine positive Reaktion ($\pm$ bis +++) deutet darauf hin, dass die Erythrozyten des Patienten sensibilisiert sind (Erythrozyten mit IgG Antikörpern und/oder C3d beladen).

II. Reaktionen des Antikörper-Suchtests

- Eine negative Reaktion deutet darauf hin, dass im Serum oder Plasma des Patienten oder Spenders keine nachweisbaren irregulären Antikörper vorhanden sind.
- Eine positive Reaktion weist auf irreguläre Antikörper hin. Die Reaktionen in die Antigentabelle eintragen. Überprüfen, ob die Chargennummer der Testerythrozyten "ID-DiaCell I-II" oder "ID-DiaCell I-II-III" der in der Antigentabelle angegebenen Chargennummer entspricht.
- Anhand des Reaktionsmusters und der Antigenkonfiguration kann auf den Typ des vorhandenen Antikörpers geschlossen werden. Die üblichen weiteren Tests zur Identifizierung des Antikörpers ausführen.
- Eine positive Reaktion mit einigen Testerythrozyten und eine negative Eigenkontrolle weisen auf einen spezifischen Antikörper hin (siehe Anmerkungen).
- Eine positive Reaktion mit allen Testerythrozyten und eine positive Eigenkontrolle sind wahrscheinlich auf nichtspezifische Reaktionen zurückzuführen.
- Wenn bei allen Testerythrozyten und der Eigenkontrolle eine positive Reaktion auftritt, jedoch eine oder mehrere Testerythrozyten eine stärkere positive Reaktion zeigen als die Eigenkontrolle, so ist davon auszugehen, dass neben der nichtspezifischen Reaktion eventuell ein spezifischer Antikörper vorhanden ist. Die Probe sollte weiteren Tests unterzogen werden.

III. Antikörper-Identifizierung

- Eine positive Reaktion weist auf die Anwesenheit irregulärer Antikörper hin. Die Reaktionen in die Antigentabelle eintragen. Überprüfen, ob die Chargennummer der "ID-DiaPanel"-Testerythrozyten der in der Antigentabelle angegebenen Chargennummer entspricht.

- Anhand des Reaktionsmusters und der Antigenkonfiguration kann in den meisten Fällen der Typ des vorhandenen Antikörpers identifiziert werden. (Eigenkontrolle muss negativ sein).
- Eine positive Reaktion mit allen "ID-DiaPanel"-Testerythrozyten und eine negative Eigenkontrolle sind mit einiger Wahrscheinlichkeit auf nicht-spezifische Reaktionen zurückzuführen oder können auf einen gegen ein häufiges Antigen gerichteten Alloantikörper hinweisen.
- Eine positive Reaktion bei allen "ID-DiaPanel"-Testerythrozyten und eine positive Eigenkontrolle sind wahrscheinlich auf nicht spezifische Reaktionen zurückzuführen.
- Wenn bei allen "ID-DiaPanel"-Testerythrozyten und der Eigenkontrolle eine positive Reaktion auftritt, jedoch eine oder mehrere Testerythrozyten eine stärkere positive Reaktion zeigen als die Eigenkontrolle, kann davon ausgegangen werden, dass trotz der unspezifischen Reaktion ein spezifischer Antikörper vorhanden sein kann. Die Probe sollte weiteren Tests unterzogen werden.

IV. Verträglichkeitstest

- Eine negative Reaktion zeigt Verträglichkeit des Spenderblutes mit dem des Empfängers an.
- Eine positive Reaktion zeigt Unverträglichkeit des Spenderblutes mit dem des Empfängers aufgrund vorhandener Antikörper, die gegen das Antigen des Spenderblutes gerichtet sind an, und weitere Untersuchungen, um die Spezifität des Antikörpers zu bestimmen, sind vorzunehmen.

ANMERKUNGEN

Wie bei allen Methoden, abgesichert durch GLP, sollte die Sensitivität der erwähnten Verfahren durch Antikörper mit bekannter Konzentration bestätigt werden. Bio-Rad Anti-D Referenz-Reagenz steht zur regelmäßigen Kontrolle aller Antikörper Nachweisverfahren zur Verfügung (siehe diesbezügliche Packungsbeilage).

EINSCHRÄNKUNGEN

- a) ID-Karten mit Luftblasen oder Geltropfen im oberen Bereich der Mikrokammern und/oder Versiegelung müssen vor Gebrauch zentrifugiert werden.
- b) Es ist bekannt, dass bestimmte Medikamente positive Reaktionen im AHG-Test hervorrufen können.
- c) Einige Krankheitsbilder können positive AHG-Reaktionen hervorrufen.
- d) Polyagglutinable Erythrozyten, z.b. infolge T-Aktivierung, können mit allen humanen Testseren reagieren. Weitere Untersuchungen sind angezeigt.
- e) Bakterielle oder andere Kontaminationen des verwendeten Materials können falsch positive oder falsch negative Ergebnisse verursachen.
- f) Fibrinreste in der Erythrozytensuspension können nicht-agglutinierte Erythrozyten verkleben, die sich als feine rosa Linie auf der Geloberfläche darstellen, während die meisten Erythrozyten nach Zentrifugation am Boden der Mikroröhrchen ein kompaktes Sediment bilden.
- g) Striktes Befolgen der Anleitungen und Verwendung des erforderlichen Arbeitsmaterials sind unerlässlich. Das Arbeitsmaterial sollte regelmässig entsprechend der GLP - Richtlinien überprüft werden.
- h) Der Gebrauch anderer Lösungen als ID-Diluent 2 für die Erythrozytensuspensionen kann die Reaktionen beeinflussen.
- i) Die Verwendung anderer Testerythrozyten als "ID-DiaCell", oder "ID-DiaPanel" kann zu abweichenden Reaktionen führen.
- j) Zu starke oder zu schwache Erythrozytensuspensionen können abnormale Reaktionen hervorrufen.

LEISTUNGSEIGENSCHAFTEN**Spezifizität/Sensibilität**

Mit "LISS/Coombs"-ID-Karten sind Untersuchungen zur Leistungsbeurteilung durchgeführt worden. Die dabei erzielten Ergebnisse zeigten, dass die typischen Leistungseigenschaften jeder Kartenanwendung dem Anwendungsgebiet entsprachen und mit anderen zugelassenen Produkten vergleichbar waren.

Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit innerhalb des Assays (Wiederholbarkeit) und die Reproduzierbarkeit zwischen den ID-Karten "LISS/Coombs" wurden intern untersucht. Es wurden weder falsch positive noch falsch negative Ergebnisse beobachtet. Die Unterschiede zwischen den Reaktionen der positiven Proben lagen unterhalb einer Reaktionsstärke.

LITERATUR

1. Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. and Race, R.R.: Lancet 1945; 2: 15.
2. Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. and Race, R.R.: Brit. J. Exp. Path 1945; 26: 255.
3. Lapierre, Y., Rigal, D., Adam, J. et al.: The gel test; A new way to detect red cell antigen-antibody reactions. Transfusion 1990; 30: 109-113.
4. Technical Manual; Roback, J.D. (ed.); 17th ed. 2012; American Association of Blood Banks.

PRODUKTE

ID-Karte "LISS/Coombs"	4 x 12.	REF 004014
	24 x 12.	REF 004017
	60 x 12.	REF 004016
	112 x 12.	REF 004015

Für diese Produkte wird nur Garantie übernommen, wenn sie gemäss den Angaben auf dem Etikett und der Anwendungsvorschrift verwendet werden. Jegliche Verantwortung wird ausdrücklich abgelehnt, wenn das Präparat für andere Zwecke gebraucht oder verkauft wird.



DiaMed GmbH
Pra Rond 23
1785 Cressier FR
Schweiz



0123

Änderungen zu der Version 05.10 sind
grau gekennzeichnet.

Indirect and direct antiglobulin test

Product-Identification: 50531

INTRODUCTION

Polyspecific anti-human globulin (AHG) reagents are used for routine alloantibody detection and identification, compatibility tests and the direct antiglobulin test (DAT).

The most important function of the polyspecific AHG reagent is to detect the presence of IgG. The importance of anticomplement in the AHG reagent is debatable since antibodies detectable only by their ability to bind complement are rather rare. However, anti-C3d activity is important for the DAT in the investigation of autoimmune hemolytic anemia (AIHA) [4]. A positive DAT generally indicates that the red cells are coated *in vivo* with immunoglobulin and/or complement.

The microtubes of the ID-Card "LISS/Coombs" contain polyspecific AHG, to be used for antibody screening, antibody identification, crossmatch and the DAT. For the indirect antiglobulin test (IAT), labour intensive washing procedures are eliminated, due to the fact that the red cell suspension is added to the microtube before the plasma/serum, creating a barrier over the gel suspension, thus avoiding neutralization of the AHG by serum IgG proteins.

The anti-human globulin IgG used in the ID-Card "LISS/Coombs" is not heavy chain specific and thus may also be capable of reacting with the Kappa (k) and Lambda (l) light chains of IgA and IgM molecules.

The ID-Card "LISS/Coombs" is suitable for the DAT, for the compatibility test, for antibody screening and identification with "ID-DiaCell" and "ID-DiaPanel".

REAGENTS**IVD**

ID-Card "LISS/Coombs" with 6 microtubes containing polyspecific AHG (rabbit anti-IgG and monoclonal anti-C3d, cell line C139-9) within the gel matrix.

Preservative: < 0.1% NaN₃.



Do not store near any heat, air conditioning sources or ventilation outlets.

Stability: see expiry date on label.

ADDITIONAL REAGENTS REQUIRED

- ID-Diluent 2: modified LISS for red cell suspension.
- ID-DiaCell, ID-DiaPanel: Test cell reagents.

(see related package insert)

FURTHER MATERIALS REQUIRED

- ID-Dispenser
- ID-Pipetor
- ID-Tips (pipetor tips)
- Suspension Tubes
- ID-Working table
- ID-Incubator 37 °C
- ID-Centrifuge 6, 12 or 24

SAMPLE MATERIAL

For optimal results, the determination should be performed using a freshly drawn sample, or in accordance with local laboratory procedures for sample acceptance criteria. Preferably, blood samples should be drawn into citrate, EDTA or CPD-A anticoagulant. Samples drawn into plain tubes (no anticoagulant) may also be used.

When the use of serum instead of plasma is required, the serum must be well cleared, by centrifugation at 1500 g for 10 minutes, before use avoid fibrin residues, which may interfere with the reaction pattern.

PREPARATION OF BLOOD SAMPLE

a) Red cell suspension for DAT or autocontrol

Prepare a 0.8% red cell suspension in ID-Diluent 2 as follows:

Allow the diluent to reach room temperature before use.

1. Dispense 1.0 ml of ID-Diluent 2 into a clean tube.
2. Add 10 µl of packed red cells, mix gently.

The cell suspension may be used immediately.

b) Red cell suspension for crossmatch procedures

Prepare a 0.8% red cell suspension in ID-Diluent 2 as above. Where whole blood directly from a segment of the blood bag is used, add 20 µl of blood to the 1.0 ml of ID-Diluent 2.

c) Plasma or serum for indirect antiglobulin test (IAT) procedures

Where samples are not for immediate testing they should be stored at 2–8 °C after separation (see also under "Sample material") for a maximum of 48 hours, thereafter at -20 °C or in accordance with local/national policies/guidelines.

TEST PROCEDURES

Do not use ID-Cards which show signs of drying, have bubbles, damaged seals, drops of gel or supernatant in the upper part of the microtubes or on the underside of the aluminium foil.

1. Direct antiglobulin test (DAT)

1. Identify the appropriate microtubes of the ID-Card "LISS/Coombs" with the patient's or donor's name or number.
2. Remove the aluminium foil from as many microtubes as required by holding the ID-Card in the upright position.

3. Pipette 50 µl of the red cell suspension to the appropriate microtube.
4. Centrifuge the ID-Card for 10 minutes in the ID-Centrifuge.
5. Read and record the results.

II. Antibody screening (IAT)

Use ready-to-use test cell reagents "ID-DiaCell".

Allow the test cell reagents and samples to reach room temperature before use.

1. Identify the appropriate microtubes of the ID-Card "LISS/Coombs" with the patient's or donor's name or number.
2. Remove the aluminium foil from as many microtubes as required by holding the ID-Card in the upright position.
3. Pipette 50 µl of each test cell reagent to the appropriate microtubes (marked with the corresponding test cell).
4. When an autocontrol is to be included, pipette 50 µl of the sample's own red cell suspension to the appropriate microtube.
5. Add 25 µl of the patient's or donor's plasma or serum to each microtube.
6. Incubate the ID-Card for 15 minutes at 37 °C in the ID-Incubator.
7. Centrifuge the ID-Card for 10 minutes in the ID-Centrifuge.
8. Read and record the results.

III. Antibody Identification (IAT)

Use the ready-to-use test cell reagent "ID-DiaPanel".

Allow the test cell reagents and samples to reach room temperature before use.

1. Identify two ID-Cards "LISS/Coombs" with the patient's or donor's name or number.
 2. Remove the aluminium foil from as many microtubes as required by holding the ID-Card in the upright position.
 3. Pipette 50 µl of each "ID-DiaPanel" test cell to the appropriate microtube (marked 1 to 11).
 4. Pipette 50 µl of the sample's own red cell suspension to the 12th microtube (autocontrol).
-

5. Add 25 µl of the patient's or donor's plasma or serum to all 12 microtubes.
6. Incubate the ID-Card for 15 minutes at 37 °C in the ID-Incubator.
7. Centrifuge the ID-Card for 10 minutes in the ID-Centrifuge.
8. Read and record the results.

IV. Compatibility test

1. Identify the appropriate microtubes of the ID-Card "LISS/Coombs" with recipient's and donor's name or number.
2. Remove the aluminium foil from as many microtubes as required by holding the ID-Card in the upright position.
3. Pipette 50 µl of the donor red cell suspensions to the appropriate microtubes.
4. For the autocontrol, pipette 50 µl of the patient's own red cell suspension to the appropriate microtube.
5. Add 25 µl of the patient's plasma or serum to each microtube.
6. Incubate the ID-Card for 15 minutes at 37 °C in the ID-Incubator.
7. Centrifuge the ID-Card for 10 minutes in the ID-Centrifuge.
8. Read and record the results.

INTERPRETATION OF THE RESULTS

A) Principle

Positive: Agglutinated cells forming a red line on the surface of the gel or agglutinates dispersed in the gel.

Negative: Compact button of cells on the bottom of the microtube.

B) Reactions for:

1. Direct antiglobulin test (DAT)

- A negative reaction indicates absence of detectable IgG antibodies or C3d complement component on the red cells.
- A positive reaction (± to +++) indicates that the patient's red cells are sensitized (red cells coated with IgG antibodies and/or C3d).

II. Antibody screening

- A negative reaction indicates the absence of detectable irregular antibodies in the patient's or donor's serum or plasma.
- A positive reaction indicates the presence of irregular antibodies. Enter the reactions obtained on the antigen table. Verify that the lot number of the test cell reagents "ID-DiaCell I-II" or "ID-DiaCell I-II-III" corresponds to the lot number indicated on the antigen table.
- Following the reaction pattern and the antigen configuration, the type of antibody present may be indicated. Perform the usual further tests to identify the antibody.
- A positive reaction with one or more test cells and a negative autocontrol suggest the presence of a specific antibody (see Remarks).
- A positive reaction with all test cells and a positive autocontrol may be due to non-specific reactions.
- A positive reaction with all test cells and a positive autocontrol but with one or more test cells showing a stronger positive reaction than the autocontrol, the patient sample should be submitted for further testing, to investigate the possibility of an underlying allo-antibody.

III. Antibody Identification

- A positive reaction indicates the presence of irregular antibodies. Enter the reactions obtained on the antigen table. Verify that the lot number of the test cell reagents "ID-DiaPanel" corresponds to the lot number indicated on the antigen table.
 - Following the reaction pattern and the antigen configuration, the type of antibody present can, in most cases, be identified (autocontrol must be negative).
 - A positive reaction with all "ID-DiaPanel" test cells and a negative autocontrol may be due to non-specific reactions or may indicate the presence of an alloantibody directed against a high frequency antigen.
 - A positive reaction with all "ID-DiaPanel" test cells and a positive autocontrol may be due to non-specific reactions.
-

- A positive reaction with all "ID-DiaPanel" test cells and the autocontrol but with one or more test cells showing stronger reactions than the autocontrol, may indicate an underlying allo-antibody and further investigation should be undertaken.

IV. Compatibility test

- A negative reaction indicates compatibility of the donor blood with the recipient.
- A positive reaction indicates incompatibility of the donor blood with the recipient, due to presence of antibodies directed against antigens on the donor red cells. Further investigation to identify the antibody specificity should be performed.

REMARKS

As for all procedures covered by GLP rules, the sensitivity of the above procedures should be validated using antibodies of known potency. The Bio-Rad Anti-D reference reagent provides the means to regularly perform controls for all antibody detection procedures (see related package insert).

LIMITATIONS

- a) ID-Cards which show air bubbles or gel drops in the upper part of the microtubes and/or the seal, must be centrifuged before use.
- b) Certain drugs are known to cause positive reactions in anti-human globulin procedures.
- c) Some pathological conditions are also reported as causing positive reactions in anti-human globulin procedures.
- d) Cells that have become polyagglutinable, due to cryptantigen exposure e.g. T antigen, either *in vivo* or *in vitro* may react with all human sera. Further investigation of such reactions is required.
- e) Bacterial or other contamination of materials used can cause false positive or false negative results.

- f) Fibrin residues in the red cell suspension may trap non-agglutinated cells presenting a fine pink line on top of the gel while most of the cells are on the bottom of the microtube after centrifugation.
- g) Strict adherence to the procedures and recommended equipment is essential. The equipment should be checked regularly according to GLP procedures.
- h) Use of suspension solutions other than ID-Diluent 2 may modify the reactions.
- i) The use of other test cell reagents than "ID-DiaCell" or "ID-DiaPanel" may modify the reaction patterns.
- j) Too heavy or too weak red cell suspensions can cause aberrant results.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Specificity/sensitivity

Performance evaluation studies have been realized with ID-Cards "LISS/Coombs". Results obtained showed that performance characteristics of each application of the card are in conformity with the application field and comparable to other approved products.

Reproducibility

Intra-assay reproducibility (repeatability) and inter-assay reproducibility of the ID-Cards "LISS/Coombs" have been evaluated internally. Neither false positive nor false negative results were observed. Differences between reactions in positive samples were less than one reaction strength.

BIBLIOGRAPHY

1. Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. and Race, R.R.: Lancet 1945; 2: 15.
 2. Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. and Race, R.R.: Brit. J. Exp. Path 1945; 26: 255.
 3. Lapierre, Y., Rigal, D., Adam, J. et al.: The gel test; A new way to detect red cell antigen-antibody reactions. Transfusion 1990; 30: 109-113.
 4. Technical Manual; Roback, J.D. (ed.); 17th ed. 2012; American Association of Blood Banks.
-

PRODUCTS

ID-Card "LISS/Coombs"	4 x 12.	REF 004014
	24 x 12.	REF 004017
	60 x 12.	REF 004016
	112 x 12.	REF 004015

These products are guaranteed to perform as described on the label and in the instruction sheet. The manufacturer declines all responsibility arising out of the use or sale of these products in any way or for any purpose other than those described therein.



DiaMed GmbH
Pra Rond 23
1785 Cressier FR
Schweiz



0123

Changes to the version 05.10 are
shaded gray.

Test direct et indirect à l'antiglobuline**Identification de produit : 50531****INTRODUCTION**

L'antiglobuline humaine (AGH) polyspécifique est utilisée de façon courante pour le dépistage des alloanticorps, les tests de compatibilité et le test direct à l'antiglobuline (TDA).

La fonction la plus importante de l'AGH polyspécifique, est de détecter la présence d'immunoglobulines IgG. La fraction anti-complément (C3d) permet de mettre en évidence les rares anticorps détectables seulement par leur capacité à fixer le complément. L'activité anti-C3d est importante pour le TDA dans la recherche des anémies hémolytiques auto-immunes (A.H.A.I.) [4]. Un TDA positif indique généralement, que les hématies sont sensibilisées, *in vivo*, par des immunoglobulines et/ou le complément.

Les microtubes de la carte-ID "LISS/Coombs" contiennent de l'AGH polyspécifique pour le dépistage et l'identification des anticorps, le test de compatibilité et le TDA. Pour le test indirect à l'antiglobuline (TIA), la fastidieuse étape des lavages a été supprimée. En effet, le fait d'ajouter la suspension d'hématies en premier au microtube, crée une barrière au-dessus de la suspension de gel, évitant ainsi la neutralisation de l'AGH par les protéines sériques IgG.

L'antiglobuline humaine anti-IgG utilisée dans la carte-ID "LISS/Coombs" n'est pas spécifique uniquement pour des chaînes lourdes et peut donc ainsi réagir avec les chaînes légères kappa (k) et lambda (l) des molécules IgA ou IgM. La carte-ID "LISS/Coombs" se prête au TDA, au test de compatibilité, à la recherche et l'identification d'anticorps avec "ID-DiaCell" et "ID-DiaPanel".

RÉACTIFS

IVD

Carte-ID "LISS/Coombs" : avec 6 microtubes contenant de l'antiglobuline humaine polyspécifique (anti-IgG de lapin et anti-C3d monoclonal, lignée cellulaire C139-9) inclus dans le gel.

Conservateur : < 0,1% NaN₃.



*Ne pas stocker à proximité d'une source de chaleur, d'une climatisation ou d'une sortie de ventilation.
Stabilité : voir date de péremption sur l'étiquette.*

RÉACTIFS SUPPLÉMENTAIRES NÉCESSAIRES

- ID-Diluent 2 : LISS modifié pour suspensions d'hématies.
- ID-DiaCell, ID-DiaPanel : hématies-tests.

(voir mode d'emploi correspondant)

MATÉRIAUX SUPPLÉMENTAIRES NÉCESSAIRES

- ID-Dispenser
- ID-Pipetor
- ID-Tips (cônes pour pipette)
- Tubes pour suspensions
- ID-Table de travail
- ID-Incubateur 37 °C
- ID-Centrifuge 6, 12, ou 24

ÉCHANTILLONS

Afin d'obtenir des résultats fiables, la détermination devrait se faire sur du matériel fraîchement prélevé ou conforme aux exigences du laboratoire auquel la demande d'analyses est adressée. L'échantillon devrait être prélevé de préférence sur anticoagulant citrate, EDTA ou CPD-A. Du sang prélevé sans anticoagulant (natif) peut également être utilisé.

Lorsque l'utilisation de sérum est préférable à celle de plasma, le sérum

doit être obtenu par centrifugation à 1500 g pendant 10 minutes pour éviter des résidus de fibrine qui pourraient interférer avec la réaction.

PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON DE SANG

a) Hématies pour le test direct à l'antiglobuline (TDA) et l'autocontrôle
Préparer une suspension d'hématies à 0,8%, en ID-Diluent 2, comme suit :
Ramener le diluant à température ambiante avant utilisation.

1. Distribuer 1,0 ml d'ID-Diluent 2 dans un tube propre.
 2. Ajouter 10 µl de culot d'hématies, mélanger doucement.
- La suspension d'hématies peut être utilisée immédiatement.*

b) Suspension d'hématies pour épreuve de compatibilité

Préparer une suspension d'hématies à 0,8% comme indiqué ci-dessus. Lors de l'utilisation de sang provenant d'un segment de la poche de sang, ajouter 20 µl de sang à 1 ml de ID-Diluent 2.

c) Plasma ou sérum pour le test indirect à l'antiglobuline (TIA)

Si les échantillons ne sont pas testés immédiatement, ils devront être conservés après décantation à 2–8 °C (voir Échantillons). Pour une conservation supérieure à 48 heures, il est conseillé de les congeler à -20 °C ou en accord avec les réglementations locales/nationales/et les BPL.

MÉTHODE

Ne pas utiliser les cartes-ID présentant des signes de dessèchement, des bulles d'air dans le gel, un système de fermeture endommagé, des goutelettes de gel ou de surnageant sur les parois supérieures des microtubes ou sur la face interne de la languette d'aluminium.

1. Test direct à l'antiglobuline (TDA)

1. Identifier les microtubes appropriés de la carte-ID "LISS/Coombs" par le nom ou le numéro du patient ou du donneur.
2. Décoller la languette d'aluminium des microtubes nécessaires en tenant la carte-ID en position verticale.

3. Distribuer 50 µl de la suspension d'hématies au microtube approprié.
4. Centrifuger la carte-ID 10 minutes dans l'ID-Centrifuge.
5. Lire et noter les réactions.

II. Recherche d'anticorps (TIA)

Utiliser les hématies-tests prêtes à l'emploi "ID-DiaCell".

Ramener les hématies-tests et les échantillons à température ambiante avant utilisation.

1. Identifier les microtubes appropriés de la carte-ID "LISS/Coombs" par le nom ou le numéro du patient ou du donneur.
2. Décoller la languette d'aluminium des microtubes nécessaires en tenant la carte-ID en position verticale.
3. Distribuer 50 µl de chacune des hématies-tests aux microtubes appropriés (marqué avec l'hématies-test correspondante).
4. Dans le cas où un autocontrôle est inclus, distribuer 50 µl de la suspension d'hématies de l'échantillon, au microtube approprié.
5. Ajouter 25 µl du plasma ou sérum du patient à chaque microtube.
6. Incuber la carte-ID 15 minutes à 37 °C dans l'ID-Incubateur.
7. Centrifuger la carte-ID 10 minutes dans l'ID-Centrifuge.
8. Lire et noter les réactions.

III. Identification des anticorps (TIA)

Utiliser l'"ID-DiaPanel" prêt à l'emploi.

Ramener les hématies-tests et les échantillons à température ambiante avant utilisation.

1. Identifier deux cartes-ID "LISS/Coombs" par le nom ou le numéro du patient ou du donneur.
 2. Décoller la languette d'aluminium des microtubes nécessaires en tenant la carte-ID en position verticale.
 3. Distribuer 50 µl de chacune des hématies-tests "ID-DiaPanel" aux microtubes appropriés (marqué 1 à 11).
 4. Distribuer 50 µl de la suspension d'hématies de l'échantillon au 12ème microtube (autocontrôle).
-

5. Ajouter 25 µl du plasma ou sérum du patient aux 12 microtubes.
6. Incuber la carte-ID 15 minutes à 37 °C dans l'ID-Incubateur.
7. Centrifuger la carte-ID 10 minutes dans l'ID-Centrifuge.
8. Lire et noter les réactions.

IV. Test de compatibilité

1. Identifier les microtubes appropriés de la carte-ID "LISS/Coombs", par le nom ou le numéro du receveur et du donneur.
2. Décoller la languette d'aluminium des microtubes nécessaires en tenant la carte-ID en position verticale.
3. Distribuer 50 µl de la suspension d'hématies du/des donneur(s) aux microtubes appropriés.
4. Pour l'autocontrôle, distribuer 50 µl de la suspension d'hématies du patient au microtube approprié.
5. Ajouter 25 µl du plasma ou sérum du patient à chaque microtube.
6. Incuber la carte-ID 15 minutes à 37 °C dans l'ID-Incubateur.
7. Centrifuger la carte-ID 10 minutes dans l'ID-Centrifuge.
8. Lire et noter les réactions.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

A) Principe

Positif : Hématies agglutinées formant une ligne rouge à la surface du gel ou des agglutinats dispersés dans le gel.

Négatif : Hématies en culot compact au fond du microtube.

B) Réactions pour :

1. Test direct à l'antiglobuline (TDA)

- Une réaction négative indique l'absence d'anticorps IgG ou le composant C3d du complément détectables sur les hématies.
- Une réaction positive (de ± à ++++) indique que les hématies du patient sont sensibilisées (avec des anticorps IgG et/ou C3d).

II. Recherche d'anticorps

- Une réaction négative indique l'absence d'anticorps irrégulier détectable dans le sérum ou le plasma du patient ou donneur.
- Une réaction positive indique la présence d'anticorps irréguliers. Inscrire les résultats obtenus sur la table d'antigènes jointe. Vérifier que le numéro de lot des hématies-tests "ID-DiaCell I-II" ou "ID-DiaCell I-II-III" corresponde au numéro de lot indiqué sur la table d'antigènes.
- Selon le type de réaction et la configuration antigénique, la spécificité de l'anticorps présent peut, dans la plupart des cas, être suspectée. Procéder aux tests complémentaires pour l'identification de l'anticorps.
- Une réaction positive avec certaines des hématies-tests et un autocontrôle négatif indiquent la présence d'anticorps spécifique (voir Remarques).
- Une réaction positive avec toutes les hématies-tests et un autocontrôle positif sont probablement dus à des réactions non-spécifiques.
- Dans le cas d'une réaction positive avec toutes les hématies-tests et un autocontrôle positif, mais avec une ou plusieurs hématies-tests montrant une réaction positive plus forte que l'autocontrôle, un anticorps spécifique peut être présent et l'échantillon du patient devra être soumis à d'autres tests, afin d'établir la spécificité de l'anticorps.

III. Identification d'anticorps

- Une réaction positive indique la présence d'anticorps irréguliers. Inscrire les résultats obtenus sur la table d'antigènes jointe. Vérifier que le numéro de lot des hématies-tests "ID-DiaPanel", correspond au numéro de lot indiqué sur la table d'antigènes.
 - Selon le type de réaction et la configuration antigénique, la spécificité de l'anticorps présent peut, dans la plupart des cas, être identifiée (l'autocontrôle doit être négatif).
 - Une réaction positive avec toutes les hématies-tests "ID-DiaPanel" et un autocontrôle négatif, peuvent indiquer la présence d'un alloanticorps dirigé contre un antigène de haute fréquence.
-

- Une réaction positive avec toutes les hématies-tests "ID-DiaPanel" et un autocontrôle positif sont probablement dus à des réactions non-spécifiques.
- Dans le cas d'une réaction positive avec toutes les hématies-tests "ID-DiaPanel" y compris l'autocontrôle, mais où une ou plusieurs hématies-tests montrent une réaction plus intense que l'autocontrôle, un anticorps peut être présent. Procéder alors à des tests complémentaires.

IV. Test de compatibilité

- Une réaction négative indique la compatibilité entre le donneur et le receveur.
- Une réaction positive indique l'incompatibilité entre le donneur et le receveur, due à la présence d'anticorps irréguliers dans le sérum ou le plasma du receveur, dirigés contre les antigènes érythrocytaires du donneur. Des tests supplémentaires seront nécessaires.

REMARQUES

Comme toutes les procédures suivant les règles des GLP, la sensibilité des techniques ci-dessus devra être validée par l'utilisation de témoins connus. Le réactif de référence Bio-Rad anti-D permet d'effectuer des contrôles réguliers de toutes les techniques de recherche d'anticorps (voir mode d'emploi correspondant).

LIMITES

- a) Les cartes-ID présentant des bulles d'air dans le gel ou des gouttelettes dans la partie supérieure des microtubes ou sur la languette métallique doivent être centrifugées avant utilisation.
- b) Certains médicaments sont connus pour entraîner des tests à l'antiglobuline humaine positifs.
- c) Quelques états pathologiques ont été décrits lors de résultats positifs avec le test à l'antiglobuline humaine.

- d) Des hématies agglutinées *in vivo* ou *in vitro*, dû à une exposition avec un cryptoantigène, tel que l'antigène T, peuvent réagir avec tous les antisérums humains. Dans ce cas, des investigations supplémentaires sont nécessaires.
- e) Des contaminations, bactériennes ou autres, du matériel utilisé peuvent provoquer des résultats faussement positifs ou faussement négatifs.
- f) Des résidus de fibrine dans la suspension d'hématies peuvent emprisonner quelques cellules non agglutinées, formant ainsi une fine ligne rose à la surface du gel, alors que la plupart des hématies sont dans le fond du microtube après centrifugation.
- g) L'observation stricte des méthodes et l'emploi de l'équipement recommandé sont essentiels. L'équipement doit être régulièrement contrôlé selon les procédures des BPL.
- h) L'utilisation de diluants autres que l'ID-Diluent 2 peut modifier les résultats.
- i) L'utilisation d'autres hématies-tests que "ID-DiaCell" et "ID-DiaPanel" peut modifier les réactions.
- j) Des suspensions d'hématies trop concentrées ou trop diluées peuvent provoquer des résultats aberrants.

CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES

Spécificité/sensibilité

Des études d'évaluation des performances ont été réalisées avec des cartes-ID "LISS/Coombs". Les résultats obtenus ont montré que les caractéristiques de performances de chaque application de la carte sont conformes au domaine d'application et comparables à celles d'autres produits approuvés.

Reproductibilité

La reproductibilité intra-essais (répétabilité) et inter-essais des cartes-ID "LISS/Coombs" a été évaluée en interne. Aucun résultat faux positif ou faux négatif n'a été observé. Les différences de réactions entre les échantillons positifs étaient inférieures à un degré de réaction.

BIBLIOGRAPHIE

1. Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. and Race, R.R.: Lancet 1945; 2: 15.
2. Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. and Race, R.R.: Brit. J. Exp. Path 1945; 26: 255.
3. Lapierre, Y., Rigal, D., Adam, J. et al.: The gel test; A new way to detect red cell antigen-antibody reactions. Transfusion 1990; 30: 109-113.
4. Technical Manual; Roback, J.D. (ed.); 17th ed. 2012; American Association of Blood Banks.

PRODUITS

Carte-ID "LISS/Coombs"	4 x 12.	REF 004014
	24 x 12.	REF 004017
	60 x 12.	REF 004016
	112 x 12.	REF 004015

Ces produits sont garantis quant à leurs propriétés et qualités stipulées sur l'étiquette et dans le mode opératoire. Le fabricant décline toute responsabilité pour les cas où ces produits seraient employés ou vendus à d'autres usages.



DiaMed GmbH
Pra Rond 23
1785 Cressier FR
Schweiz



0123

Les modifications apportées à la version
05.10 sont colorées en gris.

Test indiretto e diretto all'antiglobulina**Identificazione prodotto: 50531****INTRODUZIONE**

I reagenti polispecifici anti-globulina umana (AHG) sono utilizzati di routine per l'individuazione e l'identificazione di alloanticorpi, per test di compatibilità e per il test diretto all'antiglobulina umana (DAT).

La funzione più importante del reagente AHG polispecifico è la rilevazione della presenza di immunoglobuline IgG. L'importanza della frazione dell'anticomplemento nel reagente AHG è opinabile, dal momento che sono piuttosto rari gli anticorpi individuabili solo per la capacità di legarsi al complemento. L'attività anti-C3d è invece importante per il DAT nella ricerca dell'anemia emolitica autoimmune (AIHA) [4]. Un DAT positivo indica in generale che gli eritrociti sono sensibilizzati in vivo da immunoglobuline e/o complemento.

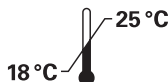
Le microprovette della scheda-ID "LISS/Coombs" contengono AHG polispecifico da utilizzare per lo screening degli anticorpi, l'identificazione degli anticorpi, crossmatch e DAT. Per il test indiretto dell'antiglobulina (IAT) si eliminano complicate procedure di lavaggio, grazie al fatto che la sospensione di eritrociti viene immessa nella microprovetta prima del plasma/siero, creando così una barriera sopra la sospensione in gel ed evitando quindi la neutralizzazione dell'AHG da parte delle proteine delle IgG del siero.

L'antiglobulina umana IgG utilizzata nella scheda-ID "LISS/Coombs" non è specifica per le catene pesanti ed è pertanto in grado di reagire anche con le catene leggere Kappa (k) e Lambda (l) delle molecole IgA e IgM. La scheda-ID "LISS/Coombs" è idonea per il DAT, per il test di compatibilità, lo screening degli anticorpi e l'identificazione con "ID-DiaCell" e "ID-DiaPanel".

REAGENTI**IVD**

Scheda-ID "LISS/Coombs" con 6 microprovette contenenti AHG poli-specifico (anti-IgG di coniglio e anti-C3d monoclonale, linea cellulare C139-9) nella matrice del gel.

Conservante: < 0,1% NaN₃.



Non conservare vicino a fonti di calore, impianti di condizionamento o griglie di ventilazione.

Stabilità: vedere la data di scadenza sull'etichetta.

ALTRI REAGENTI OCCORENTI

- ID-Diluent 2: LISS modificato per la preparazione di sospensioni di eritrociti.
- ID-DiaCell, ID-DiaPanel: Emazie testo.

(consultare la relativa scheda tecnica)

ALTRI MATERIALI OCCORENTI

- Dispensatore-ID
- Pipettatore-ID
- Puntali-ID (puntali per pipettatore)
- Provette per sospensione
- Stazione di lavoro-ID
- Incubatore-ID 37 °C
- Centrifuga-ID 6, 12 o 24

CAMPIONI

Per ottenere risultati ottimali, si consiglia di eseguire la determinazione su un campione appena prelevato o conforme alle procedure locali del laboratorio per i criteri di accettazione dei campioni. I campioni devono essere prelevati preferibilmente in citrato, EDTA o CPD-A. Si possono comunque usare anche campioni prelevati in provette normali (senza anticoagulante).

Se si richiede l'uso di siero invece che di plasma, il siero deve essere ben chiarificato mediante centrifugazione a 1500 g per 10 minuti prima dell'uso per evitare ogni residuo di fibrina che possa interferire con il pattern di reazione.

PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

a) Sospensione di eritrociti per DAT o autocontrollo

Preparare una sospensione di eritrociti allo 0,8% in ID-Diluent 2 nel modo seguente:

Portare il diluente a temperatura ambiente prima dell'uso.

1. Pipettare 1,0 ml di ID-Diluent 2 in una provetta pulita.
 2. Aggiungere 10 µl di emazie concentrate, mescolare delicamente.
- La sospensione di eritrociti può essere usata immediatamente.

b) Sospensione di emazie per prove crociate di compatibilità

Preparare una sospensione di emazie allo 0,8% in ID-Diluent 2 come sopra. Se si utilizza sangue intero direttamente dal segmento della sacca, aggiungere 20 µL di sangue ad 1 ml di ID-Diluent 2.

c) Plasma o siero per procedure per test indiretto dell'antiglobulina (IAT)

I campioni che non devono essere analizzati immediatamente devono essere conservati a 2–8 °C dopo la separazione (vedere anche la voce "Campioni") per un massimo di 48 ore, successivamente si consiglia di congelarli a -20 °C o in accordo con le linee guida/normative vigenti.

PROCEDURE

Non utilizzare ID-Cards che mostrano segni di disidratazione, bolle, pellicole danneggiate, gocce di gel o surnatante nella parte superiore delle microprovette o sotto la copertura di alluminio.

I. Test diretta all'antiglobulina (DAT)

1. Trascrivere in corrispondenza delle microprovette utilizzate della scheda-ID "LISS/Coombs" il nome o il numero del paziente o del donatore.

2. Rimuovere la copertura di alluminio dalle microprovette da utilizzare, tenendo la ID-Card in posizione verticale.
3. Pipettare 50 µl di sospensione di eritrociti nella microprovetta appropriata.
4. Centrifugare la scheda-ID per 10 minuti nella centrifuga-ID.
5. Leggere e annotare le reazioni.

II. Screening anticorpi (IAT)

Usare le emazie testo pronte all'uso "ID-DiaCell".

Prima dell'uso portare le emazie testo e i campioni a temperatura ambiente.

1. Trascrivere in corrispondenza delle microprovette utilizzate della scheda-ID "LISS/Coombs" il nome o il numero del paziente o del donatore.
2. Rimuovere la copertura di alluminio dalle microprovette da utilizzare, tenendo la ID-Card in posizione verticale.
3. Pipettare 50 µl di ciascun emazia testo nella microprovetta appropriata (contrassegnata con il numero dell'emazia testo).
4. Se si deve includere un autocontrollo, pipettare nella microprovetta utilizzata 50 µl della sospensione di eritrociti ottenuta dal campione.
5. Aggiungere ad ogni microprovetta 25 µl del plasma o siero del paziente o del donatore.
6. Incubare la scheda-ID per 15 minuti a 37 °C nell'incubatore-ID.
7. Centrifugare la scheda-ID per 10 minuti nella centrifuga-ID.
8. Leggere e annotare le reazioni.

III. Identificazione anticorpi (IAT)

Usare le emazie testo pronte all'uso "ID-DiaPanel".

Prima dell'uso portare le emazie testo e i campioni a temperatura ambiente.

1. Trascrivere su due ID-Cards "LISS/Coombs" il nome o il numero del paziente o del donatore.
2. Rimuovere la copertura di alluminio dalle microprovette da utilizzare, tenendo la ID-Card in posizione verticale.
3. Pipettare 50 µl di ciascun emazia testo "ID-DiaPanel" nella microprovetta appropriata (contrassegnata con un numero da 1 a 11).

4. Pipettare 50 µl della sospensione di eritrociti ottenuta dal campione nella 12° microprovetta (autocontrollo).
5. Aggiungere a ciascuna delle 12 microprovette 25 µl del plasma o siero del paziente o del donatore.
6. Incubare la scheda-ID per 15 minuti a 37 °C nell'incubatore-ID.
7. Centrifugare la schedina ID per 10 minuti nella centrifuga-ID.
8. Leggere e annotare le reazioni.

IV. Test di compatibilità

1. Trascrivere in corrispondenza delle microprovette utilizzate della scheda-ID "LISS/Coombs" il nome o il numero del paziente o del donatore.
2. Rimuovere la copertura di alluminio dalle microprovette da utilizzare, tenendo la ID-Card in posizione verticale.
3. Pipettare 50 µL di sospensione di eritrociti del donatore nella microprovetta appropriata.
4. Per l'autocontrollo, pipettare 50 µL della sospensione di eritrociti del paziente stesso nella microprovetta appropriata.
5. Aggiungere ad ogni microprovetta 25 µL del plasma o siero del paziente.
6. Incubare la scheda-ID per 15 minuti a 37 °C nell'incubatore-ID.
7. Centrifugare la scheda-ID per 10 minuti nella centrifuga-ID.
8. Leggere e annotare le reazioni.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

A) Principio

Positivo: Gli eritrociti agglutinati formano una linea rossa sulla superficie del gel o sono distribuiti nel gel.

Negativo: Bottone compatto di eritrociti sul fondo della microprovetta.

B) Reazioni per:

I. Test diretto all'antiglobulina (DAT)

- Una reazione negativa indica l'assenza di anticorpi IgG individuabili o della frazione del complemento C3d sugli eritrociti.

- Una reazione positiva (da $\pm$ a ++++) indica che gli eritrociti del paziente sono sensibilizzati (eritrociti ricoperti da anticorpi IgG e/o C3d).

II. Screening anticorpi

- Una reazione negativa indica l'assenza di anticorpi irregolari rilevabili nel siero o plasma del paziente o del donatore.
- Una reazione positiva indica la presenza di anticorpi irregolari. Riportare nella tabella degli antigeni le reazioni ottenute. Verificare che il numero di lotto delle emazie testo utilizzate "ID-DiaCell I-II" o "ID-DiaCell I-II-III" corrisponda al numero di lotto indicato nella tabella degli antigeni.
- Dal pattern di reazione e dalla configurazione degli antigeni si può risalire al tipo degli anticorpi presenti. Eseguire gli altri test consueti per identificare l'anticorpo.
- Una reazione positiva per uno o più delle emazie testo e un autocontrollo negativo possono far pensare alla presenza di un anticorpo specifico (vedere Note).
- Una reazione positiva a tutte le emazie testo e un autocontrollo positivo possono essere dovuti a reazioni aspecifiche.
- Se tutti le emazie testo e l'autocontrollo presentano una reazione positiva, ma almeno una delle emazie testo presenta una reazione più nettamente positiva rispetto all'autocontrollo potrebbe essere presente un allo-anticorpo e il campione del paziente dovrà essere sottoposto a ulteriori indagini.

III. Identificazione anticorpi

- Una reazione positiva indica la presenza di anticorpi irregolari. Riportare nella tabella degli antigeni le reazioni ottenute. Verificare che il numero di lotto delle emazie testo "ID-DiaPanel" utilizzate corrisponda al numero di lotto indicato dalla tabella degli antigeni.
- Dal pattern di reazione e dalla configurazione degli antigeni, nella maggior parte dei casi si può risalire al tipo di anticorpo presente (l'autocontrollo deve essere negativo).

- Una reazione positiva per tutte le emazie testo "ID-DiaPanel" e un autocontrollo negativo possono essere dovuti a reazioni aspecifiche o indicare la presenza di un allo-anticorpo diretto contro un antigene ad alta frequenza.
- Una reazione positiva a tutte le emazie testo "ID-DiaPanel" e un autocontrollo positivo possono essere dovuti a reazioni aspecifiche.
- Se tutte le emazie testo "ID-DiaPanel" e l'autocontrollo presentano una reazione positiva, ma almeno una delle emazie testo presenta una reazione più nettamente positiva rispetto all'autocontrollo, potrebbe essere presente un allo-anticorpo e si dovranno effettuare ulteriori indagini.

IV. Test di compatibilità

- Una reazione negativa indica la compatibilità fra il sangue del donatore e quello del ricevente.
- Una reazione positiva indica l'incompatibilità fra il sangue del donatore e quello del ricevente a causa della presenza di anticorpi diretti contro gli antigeni sugli eritrociti del donatore. Si dovranno effettuare ulteriori indagini per identificare l'anticorpo specifico.

NOTI

Come per ogni procedura regolamentata dalle norme GLP, per convalidare la sensibilità delle procedure sopra descritte si dovranno usare anticorpi di concentrazione nota.

Il reagente di riferimento Bio-Rad Anti-D fornisce il mezzo per effettuare regolarmente controlli di tutte le procedure di identificazione degli anticorpi (vedere il foglio di istruzioni allegato).

LIMITAZIONI

- a) Le ID-Cards che mostrano bolle d'aria o gocce di gel nella parte superiore del micropozzetto e/o sul foglio di alluminio, devono essere centrifugate prima dell'uso.
- b) E'risaputo che certi medicinali possono causare reazioni positive nei test anti-globuline umane.

- c) Anche alcune condizioni patologiche possono causare reazioni positive nelle procedure anti-globuline umane.
- d) Gli eritrociti che sono divenuti poliagglutinabili a causa di esposizione a un criptoantigene, per es. l'antigene T, sia *in vivo* che *in vitro* possono reagire con tutti i sieri umani. Si consigliano ulteriori analisi.
- e) Contaminazioni batteriche o di altro tipo del materiale utilizzato possono essere causa di risultati falsamente negativi o positivi.
- f) Eventuali residui di fibrina nella sospensione di eritrociti possono aderire alle emazie non agglutinate, e farle apparire come una sottile linea rosa sulla superficie del gel, mentre la maggior parte degli eritrociti dopo la centrifugazione forma un bottone compatto sul fondo della provetta.
- g) E' indispensabile seguire scrupolosamente le istruzioni e utilizzare esclusivamente materiali di lavoro indicati e verificare le procedure operative secondo gli standard GLP.
- h) L'impiego di soluzioni diverse dal ID-Diluent 2 per le sospensioni di eritrociti può influire sulle reazioni.
- i) L'impiego di emazie testo diversi da "ID-DiaCell" or "ID-DiaPanel" può influire sui pattern di reazione.
- j) Una sospensione di eritrociti troppo concentrata o troppo diluita può causare reazioni anomale.

PRESTAZIONI

Specificità/sensibilità

Sono stati condotti studi di valutazione delle prestazioni con le scheda-ID "LISS/Coombs". I risultati ottenuti hanno mostrato che le caratteristiche delle prestazioni di ogni applicazione delle scheda sono conformi con il campo di applicazione e confrontabili a quelle di altri prodotti approvati.

Riproducibilità

La riproducibilità intra-dosaggio (ripetibilità) e la riproducibilità inter-dosaggio delle scheda-ID "LISS/Coombs" sono state valutate internamente. Non sono stati osservati risultati né falsi positivi né falsi negativi. Le differenze di positività fra campioni sono risultate inferiori ad uno score di reazione.

BIBLIOGRAFIA

1. Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. and Race, R.R.: Lancet 1945; 2: 15.
2. Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. and Race, R.R.: Brit. J. Exp. Path 1945; 26: 255.
3. Lapierre, Y., Rigal, D., Adam, J. et al.: The gel test; A new way to detect red cell antigen-antibody reactions. Transfusion 1990; 30: 109-113.
4. Technical Manual; Roback, J.D. (ed.); 17th ed. 2012; American Association of Blood Banks.

PRODOTTI

Scheda-ID "LISS/Coombs"	4 x 12.	REF 004014
	24 x 12.	REF 004017
	60 x 12.	REF 004016
	112 x 12.	REF 004015

Si garantiscono per questi prodotti le prestazioni descritte sull'etichetta e nel foglio di istruzioni. Il produttore declina ogni responsabilità derivante dall'uso o dalla vendita di questi prodotti in modo o per scopi diversi da quelli qui descritti.



DiaMed GmbH
Pra Rond 23
1785 Cressier FR
Schweiz



Le modifiche alla versione 05.10 sono
evidenziate in grigio.

Prueba indirecta y directa de antiglobulina**Identificación del producto: 50531****INTRODUCCIÓN**

Los reactivos de antiglobulina humana (AHG) poliespecíficos se utilizan de modo habitual para la detección e identificación de aloanticuerpos, pruebas de compatibilidad y prueba directa de antiglobulina (DAT).

La función más importante del reactivo AGH poliespecífico es detectar la presencia de IgG. La importancia del anticomplemento en el reactivo AGH es discutible, puesto que son bastante poco frecuentes los anticuerpos que sólo son detectables por su capacidad de fijación del complemento. Sin embargo, la actividad anti-C3d es importante para la prueba de antiglobulina directa (PAD) en la investigación de la anemia hemolítica autoinmune (AHA) [4]. Un resultado positivo de la PAD indica generalmente que los eritrocitos están recubiertos in vivo con inmunoglobulina, complemento, o ambos.

Los microtubos de la tarjeta ID-Card "LISS/Coombs" contienen AGH poliespecífica para su uso en detección de identificación de anticuerpos, pruebas cruzadas y prueba PAD. Para la prueba de antiglobulina indirecta (PAI) se hacen innecesarios procedimientos laboriosos de lavado, ya que la suspensión de eritrocitos se añade al microtubo antes del plasma/suero, con lo que crea una barrera sobre la suspensión de gel e impide la neutralización del AHG por las proteínas IgG del suero.

La antiglobulina humana anti-IgG incluida en la tarjeta ID-Card "LISS/Coombs" no es específica únicamente para las cadenas pesadas, por lo cual puede también reaccionar con las cadenas ligeras kappa (k) y lambda (l) de las moléculas IgA e IgM.

La tarjeta ID-Card "LISS/Coombs" es apta para la prueba PAD, prueba de compatibilidad y detección e identificación de anticuerpos con "ID-DiaCell" y "ID-DiaPanel".

REACTIVOS

IVD

Tarjeta ID-Card "LISS/Coombs" con 6 microtubos que contienen AGH poliespecífica (anti-IgG de conejo y anti-C3d monoclonal, línea celular C139-9) en la matriz de gel.

Conservante: < 0,1% NaN₃.

 **25 °C** No almacenar en las proximidades de fuentes de calor, aire acondicionado o ventilación.
18 °C Estabilidad: véase fecha de caducidad en la etiqueta.

REACTIVOS ADICIONALES NECESARIOS

- ID-Diluent 2: Solución LISS modificada para suspensiones de eritrocitos.
 - ID-DiaCell, ID-DiaPanel: Eritrocitos de prueba.
- (véase lo prospecto correspondiente)

OTROS MATERIALES NECESARIOS

- ID-Dispenser
- ID-Pipetor
- ID-Tips (puntas para pipeta)
- Tubos de suspensión
- ID-Working table (superficie de trabajo)
- ID-Incubator 37 °C
- ID-Centrifuge (centrífuga) 6, 12 o 24

MUESTRAS

Para un resultado óptimo, la determinación debe realizarse con una muestra recién extraída, o cumpliendo la normativa local del laboratorio en cuanto a criterios de aceptabilidad de las muestras. Preferiblemente, las muestras de sangre deben recogerse utilizando citrato, EDTA o CPD-A como anticoagulante. También es posible utilizar muestras recogidas en tubos sin anticoagulante.

Cuando sea necesario emplear suero en vez de plasma, el suero debe someterse a una centrifugación a 1500 g durante 10 minutos antes de su uso, para evitar la presencia de residuos de fibrina que podrían interferir con el patrón de reacción.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA DE SANGRE

a) Suspensión de eritrocitos para PAD o autocontrol

Prepare una suspensión de eritrocitos al 0,8% en ID-Diluent 2 del modo siguiente:

Deje que el diluyente alcance la temperatura ambiente antes de utilizarlo.

1. Pipetee 1,0 ml de ID-Diluent 2 en un tubo limpio.
 2. Añada 10 µl de sedimento de hematies y agite suavemente.
- La suspensión de eritrocitos puede utilizarse inmediatamente.

b) Suspensión de hematies para la determinación de la prueba cruzada

Preparar una suspensión de hematies al 0,8% con ID-Diluent 2 según el procedimiento siguiente. Use directamente la sangre total de un segmento de la tubuladura de la bolsa de sangre, añada 20 µl de sangre a 1,0 ml de ID-Diluent 2.

c) Plasma o suero para prueba de antiglobulina indirecta (PAI)

Cuando las muestras no vayan a analizarse inmediatamente deben conservarse a 2–8 °C después de la separación (véase también "Material de las muestras") durante un máximo de 48 horas, y después a -20 °C según los criterios/directrices locales/nacionales.

PROCEDIMIENTOS DE LA PRUEBA

No usar las tarjetas ID-Card que muestren signos de desecación, burbujas en el gel, sellado defectuoso, gotas de gel o de sobrenadante en la parte superior de los microtubos o en la superficie interior del aluminio de sellado.

I. Prueba de antiglobulina directa (DAT)

1. Marque los microtubos correspondientes de la tarjeta ID-Card "LISS/Coombs" con el nombre o número del paciente o el donante.
2. Retirar la lámina de sellado sólo de los microtubo que se vayan a utilizar manteniendo la tarjeta ID-Card en posición vertical.
3. Pipetee 50 µl de la suspensión de eritrocitos en el microtubo correspondiente.
4. Centrifugue la tarjeta ID-Card durante 10 minutos en la ID-Centrífuga.
5. Lea y registre los resultados.

II. Detección de anticuerpos (PAI)

Emplee eritrocitos de prueba listos para usar "ID-DiaCell".

Deje que los eritrocitos de prueba y las muestras alcancen la temperatura ambiente antes de usarlos.

1. Marque los microtubos correspondientes de la tarjeta ID-Card "LISS/Coombs" con el nombre o número del paciente o el donante.
 2. Retirar la lámina de sellado sólo de los microtubo que se vayan a utilizar manteniendo la tarjeta ID-Card en posición vertical.
 3. Pipetee 50 µl de cada reactivo de eritrocitos en el microtubo correspondiente (marcado con el correspondiente número de eritrocitos).
 4. Si va a incluirse un autocontrol, pipetee 50 µl de la propia suspensión de eritrocitos de la muestra en el correspondiente microtubo.
 5. Añada 25 µl del plasma o suero del paciente o donante a cada microtubo.
 6. Incube la tarjeta ID-Card durante 15 minutos a 37 °C en el ID-Incubador.
 7. Centrifugue la tarjeta ID-Card durante 10 minutos en la ID-Centrífuga.
 8. Lea y registre los resultados.
-

III. Identificación de anticuerpos (PAI)

Emplee los eritrocitos reactivo listos para usar "ID-DiaPanel".

Deje que los eritrocitos y las muestras alcancen la temperatura ambiente antes de usarlos.

1. Marque dos tarjetas ID-Card "LISS/Coombs" con el nombre o número del paciente o el donante.
2. Retirar la lámina de sellado sólo de los microtubo que se vayan a utilizar manteniendo la tarjeta ID-Card en posición vertical.
3. Pipetee 50 µl de cada tipo de eritrocitos "ID-DiaPanel" en los microtubos correspondientes (marcados del 1 al 11).
4. Pipetee 50 µl de la propia suspensión de eritrocitos de la muestra en el microtubo número 12 (autocontrol).
5. Añada 25 µl del plasma o suero del paciente o donante a cada uno de los 12 microtubos.
6. Incube la tarjeta ID-Card durante 15 minutos a 37 °C en el ID-Incubator.
7. Centrifugue la tarjeta ID-Card durante 10 minutos en la ID-Centrífuga.
8. Lea y registre los resultados.

IV. Prueba de compatibilidad (PAI)

1. Marque los microtubos correspondientes de la tarjeta ID-Card "LISS/Coombs" con el nombre o número del receptor y del donante.
2. Retirar la lámina de sellado sólo de los microtubo que se vayan a utilizar manteniendo la tarjeta ID-Card en posición vertical.
3. Pipetee 50 µl de la suspensión de eritrocitos del donante en el microtubo correspondiente.
4. Para el autocontrol, pipetee 50 µl de la propia suspensión de eritrocitos del paciente en el microtubo correspondiente.
5. Añada 25 µl del plasma o suero del paciente a cada microtubo.
6. Incube la tarjeta ID-Card durante 15 minutos a 37 °C en el ID-Incubator.
7. Centrifugue la tarjeta ID-Card durante 10 minutos en la ID-Centrífuga.
8. Lea y registre los resultados.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

A) Principio

Positivo: Los eritrocitos aglutinados forman una línea roja sobre la superficie del gel o aparecen dispersos en el gel.

Negativo: Sedimento compacto de eritrocitos en el fondo del microtubo.

B) Reacciones para:

I. Prueba directa de antiglobulina (PAD)

- Una reacción negativa indica la ausencia de anticuerpos IgG o componente de complemento C3d detectables en los eritrocitos.
- Una reacción positiva ($\pm$ a ++++) indica que los eritrocitos del paciente están sensibilizados (eritrocitos recubiertos con anticuerpos IgG, C3d, o ambos).

II. Detección de anticuerpos

- Una reacción negativa indica la ausencia de anticuerpos irregulares detectables en el suero o plasma del paciente o donante.
- Una reacción positiva indica la presencia de anticuerpos irregulares. Introduzca las reacciones obtenidas en la tabla de antígenos. Compruebe que el número de lote de los hematies reactivo "ID-DiaCell I-II" o "ID-DiaCell I-II-III" corresponde con el número de lote indicado en la tabla de antígenos.
- Según el patrón de las reacciones y la configuración de antígenos, puede indicarse el tipo de anticuerpo presente. Realice las habituales pruebas adicionales para identificar el anticuerpo.
- Una reacción positiva a uno o más tipos de eritrocitos y un autocontrol negativo sugieren la presencia de un anticuerpo específico (véanse las Observaciones).
- Una reacción positiva a todos los eritrocitos y un autocontrol positivo pueden deberse a reacciones no específicas.
- Si existe una reacción positiva a todos los eritrocitos del panel y un autocontrol positivo pero uno o más tipos de eritrocitos muestran una reacción positiva más intensa que el autocontrol, deben realizarse

pruebas adicionales en la muestra del paciente para estudiar la posibilidad de un aloanticuerpo subyacente.

III. Identificación de anticuerpos

- Una reacción positiva indica la presencia de anticuerpos irregulares. Introduzca las reacciones obtenidas en la tabla de antígenos. Verifique que el número de lote de los eritrocitos "ID-DiaPanel" corresponde al número de lote indicado en la tabla de antígenos.
- Según el patrón de las reacciones y la configuración de antígenos, el tipo de anticuerpo presente puede identificarse en la mayoría de los casos (el autocontrol debe dar resultado negativo).
- Una reacción positiva con todos los eritrocitos "ID-DiaPanel" y autocontrol negativo puede deberse a reacciones no específicas o bien indicar la presencia de un aloanticuerpo dirigido contra un antígeno de alta frecuencia.
- Una reacción positiva a todos los eritrocitos "ID-DiaPanel" y un autocontrol positivo pueden deberse a reacciones no específicas.
- El que exista reacción positiva a todos los eritrocitos "ID-DiaPanel" y el autocontrol pero uno o más tipos de eritrocitos muestren reacciones más intensas que el autocontrol puede indicar la existencia de un aloanticuerpo subyacente, por lo que deberán realizarse estudios ulteriores.

IV. Prueba de compatibilidad

- Una reacción negativa indica compatibilidad de la sangre del donante con el receptor.
- Una reacción positiva indica incompatibilidad de la sangre del donante con el receptor, debido a la presencia de anticuerpos dirigidos contra antígenos existentes en los eritrocitos del donante. Deben realizarse estudios adicionales para identificar la especificidad de los anticuerpos.

OBSERVACIONES

Como en todos los procedimientos según las normas de buenas prácticas del laboratorio, la sensibilidad de los procedimientos anteriores debe validarse utilizando anticuerpos de potencia conocida.

El reactivo de referencia Bio-Rad Anti-D permite realizar controles periódicos para todos los procedimientos de detección de anticuerpos (véase el correspondiente prospecto).

LIMITACIONES

- a) Las tarjetas ID-Card que muestren burbujas de aire o gotas de gel en la parte superior de los microtubos y/o de la lámina de sellado, deben ser centrifugadas antes de usarlas.
 - b) Se sabe que algunos fármacos dan lugar a reacciones positivas en pruebas con antiglobulina humana.
 - c) También se ha referido que algunos estados patológicos pueden provocar reacciones positivas en este tipo de pruebas.
 - d) Los eritrocitos que hayan pasado a ser poliaglutinables debido a una exposición de un criptoantígeno, por ejemplo antígeno T, tanto *in vivo* como *in vitro*, pueden reaccionar con todos los sueros humanos. Estas reacciones deben investigarse adicionalmente.
 - e) La contaminación bacteriana o de otro tipo de los materiales empleados, puede provocar reacciones falsamente positivas o falsamente negativas.
 - f) Los restos de fibrina en la suspensión de eritrocitos pueden atrapar los hematíes no aglutinados, de modo que aparezca una fina línea rosada en la parte superior del gel mientras que la mayoría de los eritrocitos se encuentran en el fondo del microtubo tras el centrifugado.
 - g) Es esencial atenerse estrictamente a los procedimientos y equipos recomendados. El equipo debe comprobarse periódicamente según la normativa de prácticas correctas del laboratorio (GLP).
 - h) El empleo de soluciones de suspensión distintas al ID-Diluent 2 puede modificar las reacciones.
-

- i) El uso de reactivos de eritrocitos distintos a "ID-DiaCell" o "ID-DiaPanel" puede modificar los patrones de reacción.
- j) Las suspensiones de eritrocitos demasiado concentradas o demasiado diluidas pueden dar lugar a resultados aberrantes.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Especificidad/sensibilidad

Se han realizado estudios de evaluación del rendimiento con las tarjetas tarjeta ID-Card "LISS/Coombs". Los resultados obtenidos han demostrado que las características de rendimiento de cada aplicación de la tarjeta son de conformidad con el campo de aplicación y comparables a las de otros productos aprobados.

Reproductibilidad

La reproductibilidad intraanalítica (repetibilidad) e interanalítica de las tarjeta ID-Card "LISS/Coombs" se ha evaluado internamente. No se observaron resultados falsos positivos ni resultados falsos negativos. Las diferencias entre las reacciones en las muestras positivas fueron inferiores a una dilución de reacción.

BIBLIOGRAFÍA

1. Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. and Race, R.R.: Lancet 1945; 2: 15.
2. Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. and Race, R.R.: Brit. J. Exp. Path 1945; 26: 255.
3. Lapierre, Y., Rigal, D., Adam, J. et al.: The gel test; A new way to detect red cell antigen-antibody reactions. Transfusion 1990; 30: 109-113.
4. Technical Manual; Roback, J.D. (ed.); 17th ed. 2012; American Association of Blood Banks.

PRODUCTOS

Tarjeta ID-Card "LISS/Coombs"	4 x 12.	REF 004014
	24 x 12.	REF 004017
	60 x 12.	REF 004016
	112 x 12.	REF 004015

Se garantiza que estos productos se comportarán según lo descrito en la etiqueta y en la hoja de instrucciones. El fabricante declina toda responsabilidad en caso de que los productos se utilicen o vendan para cualquier otro uso diferente de los allí descritos.



DiaMed GmbH
Pra Rond 23
1785 Cressier FR
Schweiz



Cambios en la versión 05.10 están
sombreadas en gris.

Teste de antiglobulina indirecto e directo**Identificação do Produto: 50531****INTRODUÇÃO**

Os reagentes de antiglobulina humana (AGH) poli-específica são utilizados de forma habitual para pesquisa de aloanticorpos, bem como em testes de identificação e compatibilidade e teste de antiglobulina directo (TAD).

A função mais importante do reagente de AGH poli-específica consiste em detectar a presença de IgG. A importância do anticomplemento no reagente AGH é discutível, visto que os anticorpos que apenas são detectáveis pela sua capacidade de se unirem ao complemento são bastante raros. No entanto a actividade de anti-C3d é importante para o TAD na investigação de anemias hemolíticas autoimunes (AIHA) [4]. De modo geral um TAD positivo indica que os eritrócitos estão revestidos in vivo com imunoglobulina e/ou complemento.

Os microtubos do Card-ID "LISS/Coombs" contêm AGH poli-específica para pesquisa de anticorpos, identificação de anticorpos, teste de compatibilidade e TAD. No que se refere ao teste de antiglobulina indirecto (TAI), foram eliminados os procedimentos de lavagem que necessitavam de mais mão de obra, pois a adição da suspensão de eritrócitos ao microtubo antes do plasma/soro cria uma barreira por cima da suspensão do gel, evitando assim a neutralização da AGH pelas proteínas do soro IgG.

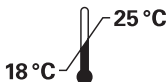
A antiglobulina humana anti-IgG utilizada no Card-ID "LISS/Coombs" não é específica para as cadeias pesadas, podendo pois ser também capaz de reagir com as cadeias leves kappa (k) e lambda (l) das moléculas IgA e IgM.

O Card-ID "LISS/Coombs" é adequado para o TAD, para o teste de compatibilidade, para pesquisa e identificação de anticorpos com "ID-DiaCell" e "ID-DiaPanel".

REAGENTES

IVD

Card-ID "LISS/Coombs" com 6 microtubos contendo AGH poli-específica (anti-IgG de coelho e anti-C3d monoclonal, clone C139-9) incluída no gel. Conservante: < 0,1% NaN₃.



Não conservar perto de qualquer fonte de calor ou de ar condicionado nem de saídas de ventilação. Estabilidade: ver prazo de validade no rótulo.

REAGENTES ADICIONAIS NECESSÁRIOS

- ID-Diluent 2: LISS modificado para suspensão de eritrócitos.
- ID-DiaCell, ID-DiaPanel: Eritrócitos-Teste.

(ver folheto informativo incluso correspondente)

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS

- ID-Dispenser
- ID-Pipetor
- ID-Tips (pontas para pipetador)
- Tubos de Suspensão
- ID-Working table
- ID-Incubator 37 °C
- ID-Centrifuge 6, 12 ou 24

AMOSTRAS

Para obtenção dos resultados ideais, a determinação deve ser realizada numa amostra recentemente colhida, ou em conformidade com os critérios de aceitação do procedimento laboratorial local.

As amostras de sangue devem, de preferência, ser colhidas em anticoagulante citrato, EDTA ou CPD-A. Também é possível utilizar amostras colhidas em tubos limpos (sem anticoagulante).

Sempre que for preferível utilizar soro em vez de plasma, o soro deve ser bem limpo por centrifugação a 1500 g durante 10 minutos antes de ser utilizado, a fim de evitar resíduos de fibrinas que poderiam interferir com o padrão da reacção.

PREPARAÇÃO DA AMOSTRA SANGUÍNEA

a) Suspensão de eritrócitos para TAD ou autocontrolo

Prepare uma suspensão de eritrócitos a 0,8% em ID-Diluent 2 do seguinte modo:

Antes de utilizar, deixe o diluente atingir a temperatura ambiente.

1. Dispense 1,0 ml de ID-Diluent 2 num tubo limpo.

2. Adicione 10 µl de concentrato de eritrócitos, misture suavemente.

A suspensão de eritrócitos pode ser utilizada de imediato.

b) Suspensão de eritrócitos para procedimentos de compatibilidade

Preparar uma suspensão de eritrócitos a 0,8% em ID-Diluent 2 como acima. Quando é usado sangue total directamente de um segmento do saco de sangue, adicionar 20 µl de sangue ao 1,0 ml de ID-Diluent 2.

c) Plasma ou soro para procedimentos de teste de antiglobulina indirecto (TAI)

No caso das amostras não serem testadas imediatamente, deverão ser conservadas a 2–8 °C após separação (ver também em “Amostras”) no máximo durante 48 horas, por mais tempo a -20 °C ou em conformidade com as políticas/directrizes locais/nacionais.

PROCEDIMENTOS DO TESTE

Não usar Cards-ID que tenham sinais de secagem, bolhas, selos danificados, gotas de gel ou sobrenadante na parte superior dos microtubos ou na parte de baixo da película de alumínio.

I. Teste de antiglobulina directo (TAD)

1. Identifique os microtubos apropriados do Card-ID "LISS/Coombs" com o nome ou número do doente ou do dador.
2. Retirar a película de alumínio de todos os microtubos necessários segurando o Card-ID na posição vertical.
3. Pipete 50 µl de suspensão de eritrócitos para o microtubo apropriado.
4. Centrifugue o Card-ID durante 10 minutos no ID-Centrifuge.
5. Leia e anote os resultados.

II. Pesquisa de Anticorpos (TAI)

Utilize eritrócitos-teste prontos a usar "ID-DiaCell".

Antes de utilizar, deixe os eritrócitos-teste e as amostras atingirem a temperatura ambiente.

1. Identifique os microtubos apropriados do Card-ID "LISS/Coombs" com o nome ou número do doente ou do dador.
2. Retirar a película de alumínio de todos os microtubos necessários segurando o Card-ID na posição vertical.
3. Pipete 50 µl de cada eritrócito-teste para os microtubos apropriados (marcados com o eritrócito teste correspondente).
4. No caso de ser incluído um autocontrolo, pipete 50 µl de suspensão de eritrócitos da amostra para o microtubo apropriado.
5. Adicione 25 µl de plasma ou soro do doente ou do dador a cada microtubo.
6. Incube o Card-ID durante 15 minutos a 37 °C no ID-Incubator.
7. Centrifugue o Card-ID durante 10 minutos no ID-Centrifuge.
8. Leia e anote os resultados.

III. Identificação de Anticorpos (TAI)

Utilize eritrócitos prontos a usar "ID-DiaPanel".

Antes de utilizar, deixe os eritrócitos-teste e as amostras atingirem a temperatura ambiente.

1. Identifique dois Card-ID "LISS/Coombs" com o nome ou número do doente ou do dador.
-

2. Retirar a película de alumínio de todos os microtubos necessários segurando o Card-ID na posição vertical.
3. Pipete 50 µl de cada eritrócito-teste "ID-DiaPanel" para o microtubo apropriado (marcados de 1 a 11).
4. Pipete 50 µl de suspensão de eritrócitos da amostra para o 12º microtubo (autocontrolo).
5. Adicione 25 µl de plasma ou soro do doente ou dador a todos os 12 microtubos.
6. Incube o Card-ID durante 15 minutos no ID-Incubator.
7. Centrifugue o Card-ID durante 10 minutos no ID-Centrifuge.
8. Leia e anote os resultados.

IV. Teste de compatibilidade

1. Identifique os microtubos apropriados do Card-ID "LISS/Coombs" com o nome ou número do receptor e do dador.
2. Retirar a película de alumínio de todos os microtubos necessários segurando o Card-ID na posição vertical.
3. Pipete 50 µl de suspensão de eritrócitos do dador para os microtubos apropriados.
4. Para o autocontrolo, pipete 50 µl de suspensão de eritrócitos do doente para o microtubo apropriado.
5. Adicione 25 µl de plasma ou soro do doente a cada microtubo.
6. Incube o Card-ID durante 15 minutos a 37 °C no ID-Incubator.
7. Centrifugue o Card-ID durante 10 minutos no ID-Centrifuge.
8. Leia e anote os resultados.

INTERPREAÇÃO DOS RESULTADOS

A) Princípio

Positivo: Eritrócitos aglutinados formando uma linha vermelha à superfície do gel ou aglutinados dispersos no gel.

Negativo: Botão compacto de células no fundo do microtubo.

B) Reacções para:**I. Teste de aglutinação directa (DAT)**

- A reacção negativa indica ausência de anticorpos IgG e de C3d complemento detectáveis nos eritrócitos.
- Uma reacção positiva ($\pm$ a ++++) indica que os eritrócitos do doente estão sensibilizados (eritrócitos revestidos com anticorpos IgG e/ou C3d).

II. Pesquisa de Anticorpos

- Uma reacção negativa indica a ausência de anticorpos irregulares detectáveis no soro ou plasma do doente ou dador.
- Uma reacção positiva indica a presença de anticorpos irregulares. Introduza as reacções obtidas no quadro de antígenos. Verifique que o número de lote dos eritrócitos-testes 1D-DiaCell I-II ou 1D-DiaCell I-II-III corresponde ao número de lote indicado no quadro de antígenos.
- Consoante o tipo de reacção e de configuração antigénica, é possível indicar o tipo de anticorpo presente. Realize os testes complementares para identificar os anticorpos.
- Uma reacção positiva com um ou mais eritrócitos-teste e um autocontrolo negativo sugerem a presença de um anticorpo específico (ver Observações).
- Uma reacção positiva com todos os eritrócitos-teste e um autocontrolo positivo pode dever-se a reacções não específicas.
- Em caso de reacção positiva mas com um ou mais eritrócitos-teste com reacção positiva mais pronunciada do que o autocontrolo, a amostra do doente deve ser sujeita a testes complementares para investigar a possibilidade de aloanticorpo subjacente.

III. Identificação de Anticorpos

- Uma reacção positiva indica a presença de anticorpos irregulares. Introduza as reacções obtidas no quadro de antígenos. Verifique que o número de lote dos eritrócitos-teste 1D-DiaPanel corresponde ao número de lote indicado no quadro de antígenos.

- Consoante o tipo de reacção e de configuração antigénica, o tipo de anticorpo presente pode, na maior parte dos casos, ser identificado (o autocontrolo tem de ser negativo).
- Uma reacção positiva com todos os eritrócitos-teste "ID-DiaPanel" e um autocontrolo negativo podem dever-se a razões não específicas ou indicar a presença de um aloanticorpo dirigido contra um antígeno de elevada frequência.
- Uma reacção positiva com todos os eritrócitos-teste "ID-DiaPanel" e um autocontrolo positivo podem dever-se a reacções não específicas.
- Uma reacção positiva com todos os eritrócitos-teste "ID-DiaPanel" e com o autocontrolo, mas com um ou mais eritrócitos-teste apresentando reacções mais intensas do que o autocontrolo pode indicar um aloanticorpo subjacente, sendo necessários testes suplementares.

IV. Teste de compatibilidade

- Uma reacção negativa indica compatibilidade entre o dador de sangue e o receptor.
- Uma reacção positiva indica incompatibilidade entre o dador de sangue e o receptor, devido à presença de anticorpos dirigidos contra antígenos eritrocitários do dador. São necessários testes suplementares para identificar a especificidade do anticorpo.

OBSERVAÇÕES

Tal como com todos os procedimentos abrangidos pelas regras de BPL (Boa Prática de Laboratório), a sensibilidade dos procedimentos acima deve ser validada através da utilização de anticorpos de concentração conhecida. O reagente de referência Bio-Rad Anti-D permite a realização de controlos regulares de todos os procedimentos de detecção de anticorpos (ver folheto informativo correspondente).

LIMITAÇÕES

- a) Os Cards-ID que tenham bolhas de ar ou gotas de gel na parte superior dos microtubos e/ou no segmento de alumínio devem ser centrifugados antes de usar.

- b) É sabido que certos fármacos desencadeiam reacções positivas em testes de antiglobulina humana.
- c) Também foram descritos alguns estados patológicos como origem de reacções positivas em testes de antiglobulina humana.
- d) Os eritrócitos que tenham ficado poli-aglutináveis devido à exposição a um criptoantigénio, por exemplo ao antigénio T, quer *in vivo* quer *in vitro* podem reagir com todos os soros humanos. São necessárias investigações suplementares de tais reacções.
- e) A contaminação, bacteriana ou outra, dos materiais utilizados pode originar resultados falsamente positivos ou falsamente negativos.
- f) Resíduos de fibrinas na suspensão de eritrócitos podem reter eritrócitos não aglutinados, formando assim uma linha cor de rosa fina à superfície do gel, ao passo que a maior parte dos eritrócitos migra para o fundo do microtubo após centrifugação.
- g) O cumprimento estrito dos procedimentos e a utilização do equipamento recomendado são essenciais. O equipamento deve ser regularmente verificado em conformidade com os procedimentos de BPL.
- h) A utilização de soluções de suspensão diferentes de ID-Diluent 2 pode alterar as reacções.
- i) A utilização de eritrócitos-teste diferentes de "ID-DiaCell" ou de "ID-DiaPanel" pode alterar as reacções.
- j) Suspensões de eritrócitos demasiado concentradas ou demasiado diluídas podem provocar resultados errados.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Especificidade/sensibilidade

Foram realizados estudos de avaliação do desempenho com Card-ID "LISS/Coombs". Os resultados obtidos demonstraram que as características do desempenho de cada aplicação do cartão estão em conformidade com o campo de aplicação e que são comparáveis a outros produtos aprovados.

Reprodutibilidade

Internamente, foram avaliadas a reprodutibilidade intra-ensaio (repetibilidade) e a reprodutibilidade inter-ensaio dos Cards-ID "LISS/Coombs". Não foram observados resultados falsamente positivos nem falsamente negativos. As diferenças entre as reações em amostras positivas foram menos do que uma intensificação da reação.

BIBLIOGRAFIA

1. Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. and Race, R.R.: Lancet 1945; 2: 15.
2. Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. and Race, R.R.: Brit. J. Exp. Path 1945; 26: 255.
3. Lapierre, Y., Rigal, D., Adam, J. et al.: The gel test; A new way to detect red cell antigen-antibody reactions. Transfusion 1990; 30: 109-113.
4. Technical Manual; Roback, J.D. (ed.); 17th ed. 2012; American Association of Blood Banks.

PRODUTOS

Card-ID "LISS/Coombs"	4 x 12.	REF 004014
	24 x 12.	REF 004017
	60 x 12.	REF 004016
	112 x 12.	REF 004015

Estes produtos são garantidos quanto ao seu comportamento funcional, tal como descrito no rótulo e no folheto informativo. O fabricante declina toda a responsabilidade decorrente da utilização ou venda destes produtos para fins diferentes dos aí descritos.



DiaMed GmbH
Pra Rond 23
1785 Cressier FR
Schweiz



Alterações para a versão 05.10 são
sombreados cinza.



