

GEBRAUCHSANWEISUNG

Anti-CDE (RH2,1,3), monoclonal IgM + IgG (human) OrthoClone

REF 690141A

ZWECKBESTIMMUNG

Das monoklonale Anti-CDE Testserum wird aus Zellkulturüberständen von Heterohybridoma-Zelllinien gewonnen, die Antikörper vom IgM bzw. IgG-Typus sezernieren, die spezifisch gegen das jeweilige korrespondierende Blutgruppenantigen gerichtet sind. Der Antikörper ist dabei jeweils humanes Protein. Das Testserum wird zum qualitativen In-Vitro Nachweis des Vorhandenseins oder Fehlens der Blutgruppenantigene C, D und E auf menschlichen Erythrozyten verwendet. Die Anwendung dieses Testserums ist nur für qualifiziertes und geschultes Fachpersonal vorgesehen.

PRINZIP DES VERFAHRENS

Die bei Verwendung dieses Produktes angewendeten Testmethoden beruhen auf dem Prinzip der Agglutination. Normale menschliche Erythrozyten, die eines der entsprechenden Antigene tragen, werden durch den korrespondierenden Antikörper agglutiniert.

TESTSERUM

Das aufgeführte Blutgruppentestserum enthält Antikörper der folgenden Klone:

Anti-CDE monoclonal, human IgM+IgG clones: MS-24, MS-201, MS-26, MS-80

Anti-C (Klon: MS-24 (IgM))

Anti-D (Klone: MS-201 (IgM), MS-26 (IgG))

Anti-E (Klon: MS-80 (IgM))

Das Testserum enthält als Konservierungsmittel <0,1% (w/v) Natriumazid.

Außer dem aktiven Antikörper-Bestandteil beinhaltet das Testserum Natriumchlorid, hochmolekulare Verbindungen und Rinderalbumin, das durch die US Veterinay service Inspektoren überprüft und zertifiziert wurde.

WARNUNG: Das Testserum wird aus Zellkulturüberständen hergestellt. Unabhängig davon sollte dieses biologische Produkt wegen nie völlig auszuschließender Gefährdung durch Krankheitserreger als potentiell infektiös angesehen werden. Das Testserum enthält Natriumazid, das toxisch wirken und mit Blei oder Kupfer explosive Salze bilden kann. Bei der Entsorgung mit reichlich Wasser nachspülen. Aus den oben genannten Gründen sollte das Testserum mit angemessener Sorgfalt gehandhabt werden.

LAGERUNG

Bei +2 bis +8 °C (ungeöffnet / angebrochen) lagern, kurzzeitig zur Anwendung auch bei Raumtemperatur. Grundsätzlich nur bis zum angegebenen Verfallsdatum anwenden!

HINWEISE

1. Es sollten bei jeder Austestung positive und negative Kontrollen mitgeführt werden.
2. Unsachgemäße Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit des Produktes.
3. Die Reaktionsfähigkeit des Testserums wird durch leichte Trübung nicht beeinträchtigt. Eine bakterielle und chemische Kontamination des Testserums ist zu vermeiden. Wenn eine sichtbare Veränderung des Testserums festgestellt wird, sollte dies nicht mehr eingesetzt werden, es kann auf eine mikrobielle Kontamination hinweisen.
4. Die Stärke der positiven Reaktion ist vom Alter des verwendeten Blutes abhängig.
5. Zentrifugieren außerhalb des angegebenen Drehzahl-Bereiches kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
6. Die beschriebenen Verfahren zur Anwendung gelten ausschließlich für manuelle Methoden. Werden Automaten oder halbautomatische Systeme verwendet, müssen die Laboratorien die Angaben der Gerätehersteller befolgen und Validierungen nach anerkannten Verfahren durchführen.
7. Bei der Anwendung des Testserums sind alle gültigen nationalen Gesetze, Verordnungen und Richtlinien zu beachten, in Deutschland insbesondere die „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“¹ in ihrer gültigen Fassung.

PROBENVORBEREITUNG

1. Blutproben sollten mit einer der üblichen Entnahmetechnik gewonnen werden.
2. Das auszutestende Blut sollte so bald wie möglich nach der Blutentnahme geprüft werden, um die Gefahr falsch positiver bzw. falsch negativer Reaktionen, durch unsachgemäße Lagerung oder Kontamination der Probe, zu minimieren. Nicht sofort getestetes Blut ist bei +2 bis +8 °C zu lagern. Mit EDTA antikoagulierte Blutproben müssen innerhalb von 7 Tagen und mit Natriumzitrat behandelte Proben innerhalb von 14 Tagen nach der Entnahme getestet werden. Konserven/Spenderblute können bis zum Verfallsdatum ausgetestet werden.

VORBEREITUNG DER TESTSEREN

Eine Vorbereitung des Testserums ist nicht erforderlich. Das Serum wird direkt aus dem Fläschchen entnommen und eingesetzt.

VERFAHRENSWEISE

Nicht im Lieferumfang enthaltene, aber benötigte Materialien:

bei der Objektträgermethode

1. Objektträger
2. Pasteurpipette
3. Rührstäbchen
4. Kurzzeitwecker

bei der Röhrenmethode

1. Teströhrchen, 10 x 75 mm oder 12 x 75 mm
2. Mikroliterpipette für 100µL, 50µL
3. Kurzzeitwecker
4. Brutschrank
5. Zentrifuge
6. Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)
7. Einweg Pipettenspitzen
8. Anti-Human-Globulin-Serum (Coombs-Serum)

Testdurchführung

Objektträgertest

1. Nur Erythrozytensediment verwenden.
2. Auf einen beschrifteten Objektträger je einen Tropfen (ca. 50 µL) des Testserums auftropfen.
3. Geben Sie zu dem Tropfen Testserum auf den Objektträgern mit einer Pasteurpipette einen Tropfen (ca. 50 µL) Erythrozytensediment.
4. Die Erythrozyten-/Testserummischungen mit einem Rührstäbchen gut vermischen und zu einem Kreis von ca. 2 cm Durchmesser ausbreiten.
5. Bei leichtem Schwenken des Objektträgers innerhalb einer Minute auf Agglutination prüfen (Reaktionsbeginn nach Sekunden).
6. Ergebnisse protokollieren.

Röhren-Zentrifugationstest

1. 2-5%ige Erythrozytensuspensionen in isotonischer Kochsalzlösung (ein- bis dreimal gewaschen mit isotonischer Kochsalzlösung) vorbereiten.
2. In ein beschriftetes Teströhrchen 100 µL des Testserum geben und anschließend in das Teströhrchen 100 µL der entsprechenden Erythrozytensuspension zugeben. Alternativ können ein Tropfen = ca. 50 µL Erythrozytensuspension zu einem Tropfen = ca. 50 µL Testserum gegeben werden.
3. Die Erythrozyten- / Testserummischung durch leichtes Schütteln vermischen.
4. Teströhrchen 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
5. Teströhrchen 1 Minute bei 2.000 U/min (ca. 800-1.000 g) zentrifugieren.
6. Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig vom Röhrenboden lösen und innerhalb 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
7. Ergebnisse protokollieren.
8. Alle Teströhrchen mit negativem oder schwach positivem Ergebnis 15 Minuten bei +37 °C inkubieren.
9. Teströhrchen 1 Minute bei 2.000 U/min (ca. 800-1.000 g) zentrifugieren.
10. Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig vom Röhrenboden lösen und innerhalb 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
11. Ergebnisse protokollieren.
12. Bei allen negativen oder schwach positiven Ergebnissen muss ein indirekter Coombs-test durchgeführt werden.

Indirekter Coombs-Test

13. Schritte 1.- 3. neu durchführen und Teströhrchen 15 Minuten bei +37 °C inkubieren oder nach dem Ablesen des Ergebnisses direkt fortfahren.
14. Die Erythrozyten dreimal mit (kalter) isotonischer Kochsalzlösung waschen.
15. Geben Sie zu jedem Teströhrchen 100 µL Anti-Human-Globulin-Serum (Coombs-Serum).
16. Teströhrchen 1 Minute bei 1.000 U/min (ca. 180-270 g) zentrifugieren.
17. Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig vom Röhrchenboden lösen und innerhalb 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
18. Ergebnisse protokollieren.

INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

„Vorsichtiges Schwenken/ Schütteln“ bei der Objektträger- und der Röhrchen-Zentrifugationsmethode

Positives Ergebnis (+): Eine Agglutination der Erythrozyten ist als positives Testergebnis zu werten und zeigt die Anwesenheit zumindest eines der entsprechenden Antigene an.

Negatives Ergebnis (-): Das Fehlen einer Agglutination der Erythrozyten ist als negatives Testergebnis zu bewerten, keines der entsprechenden Antigene ist nachweisbar.

GRENZEN DER METHODE

1. Ungenauigkeiten bei der Einhaltung der Anweisungen in den Abschnitten „Testdurchführung“ und „Interpretation der Testergebnisse“ können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
2. Mitgeführte Kontrollen mit nicht eindeutigen oder falschen Ergebnissen führen automatisch zur nicht Verwertbarkeit aller Ergebnisse.
3. Enzymbehandelte Erythrozyten oder die Zugabe von Rinderalbumin und/oder anderer proteinhaltiger Lösungen können mit diesem Testserum zu unspezifischen Reaktionen führen.
4. Hämolytierte, trübe, kontaminierte oder geronnene Blutproben dürfen nicht eingesetzt werden.
5. Beim Objektträgerstest können unspezifische Reaktionen beim Eintrocknen des Reaktionsansatzes bzw. beim Erwärmen des Objektträgers auftreten.
6. Aufgrund der unterschiedlichen Ausprägung der Antigene kann es bei bestimmten Phänotypen mit diesem Testserum zu einer schwächeren Reaktion kommen als mit Kontrollerythrozyten.
7. Kein einzelnes Testserum oder eine einzelne Methode kann garantieren alle seltenen oder schwachen Antigene und alle Varianten der Antigene zu detektieren. 2
8. Bei Erythrozyten, die mit Alloantikörpern oder Autoantikörpern derselben oder einer ähnlichen Spezifität wie das Testserum sensibilisiert sind (z.B. Erythrozyten positiv im direkten Antiglobulintest (DAT)), sind für die Austestung ungeeignet.
9. Es ist in der Literatur beschrieben, dass es mit Proben von Patienten, die mit anti-CD38 monoklonalen Antikörpern behandelt werden, zu falsch positiven Ergebnissen im Coombs-Test kommen kann.⁵
10. Neugeborenenblut wird von der Austestung ausgeschlossen
11. Das Testserum Anti-CDE reagiert nicht mit rG Zellen.
12. Die IgM Anti-D Komponente reagiert negativ mit D Kategorie VI Zellen, die IgG Anti-D Komponente reagiert mit diesen Zellen positiv im indirekten Coombstest.

LEISTUNGSBEWERTUNG











Eine Leistungsbewertung für das Produkt wurde entsprechend der Common Technical Specifications (CTS Entscheidung der Kommission vom 03. Februar 2009) durchgeführt. Es wurden unterschiedliche Proben (Spender-, Patienten-, Panelblute) eingesetzt und anderen Referenzmethoden / Produkten verglichen. Die ermittelte Sensitivität und Spezifität war wie folgt.

Produkt	Positive Blute	Negative Blute	Falsch Positive	Falsch Negative	Sensitivität	Spezifität
Anti- CDE monoclonal, human IgM+IgG	1208	705	1	1	99,86%	99,92%


LITERATUR




1. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)
2. CLSI, I/LA33-A Validatin of Automated System for Immunhematological Testing Before Implementation; Approved Guidline CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE Dezember 2009
3. Peter D. Issit, David J. Anstee Applied Blood Group Serology, fourth edition, Montgomery Scientific Publications 1998
4. Christian Mueller-Eckhardt, Volker Kiefel Transfusionsmedizin, 3. Auflage, Springer-Verlag 2004.
5. Blood Transfusion Management for Patients Treated with Anti-CD38 monoclonal Antibodies. Frontiers in Immunology November 2018 / Artikel 2616

SYMBOL - LEGENDE

 Lagerung von - bis	 Artikel- Nummer	 Verfallsdatum	 Hersteller nach 98/79/EG
 Los	 Klon(e)	 In-vitro- Diagnostikum	 EG CE-Symbol
 Unique Device Identification	 Gebrauchsinformation beachten		

730-22-6307 Version 007 / 01.07.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Deutschland

 +49 (0) 6223/ 8661-0  +49 (0) 6223/ 8661-13  gara@antitoxin-gmbh.de

INSTRUCTIONS FOR USE

Anti-CDE (RH2,1,3), monoclonal IgM + IgG (human) OrthoClone

REF 690141A

INTENDED USE

Monoclonal Anti-CDE test serum is produced from cell culture supernatants of heterohybridoma celllines. The cells are secreting an antibody of IgM- or IgG-type, which reacts specific with the corresponding blood group antigens. Each antibody is human protein. The test serum is used for In-Vitro-Diagnostic, to determine qualitative whether human red blood cells possess or lack the corresponding blood group antigen C, D and E. The test serum is intended to be used by qualified and technical personnel only.

PRINCIPLE OF PROCEDURE

The test methods used with this test serum are based on the principle of agglutination. Normal human erythrocytes, possessing one of the corresponding antigens, will agglutinate in the presence of the specific antibody directed towards the antigen.

REAGENT

The listed reagent contains antibodies of the following cell clones:

Anti-CDE	monoclonal, human IgM+IgG	clones: MS-24, MS-201, MS-80, MS-26
Anti-C	(clone: MS-24 (IgM))	
Anti-D	(clones: MS-201 (IgM), MS-26 (IgG))	
Anti-E	(clone: MS-80 (IgM))	

The test serum contains <0.1% (w/v) sodium azide as preservative. Additionally the test serum is comprised of active antibody, sodium chloride, macromolecules and bovine albumin, which has been tested and certified by the US Veterinary service inspectors.

CAUTION: This test serum is prepared from supernatants of cell cultures. As biological product it should be looked upon as potentially infectious because of never complete exclusion of danger through excitants of disease. The test serum contains sodium azide that may be toxic and may react with lead or copper to form highly explosive salts. On disposal, flush with large quantities of water. Found from the above reasons test serum should be handled with proper care.

STORAGE REQUIREMENTS

Store at +2 to +8°C (unopened/opened), or at room temperature while in use. Do not use reagent beyond their labeled expiry date.

REMARKS

1. It is recommended that each lot of test serum should be tested with appropriate positive and negative controls.
2. Inappropriate storage impairs efficacy of the test serum.
3. Weak turbidity of the reagent does not affect its reactivity. Bacteria and chemical contamination of the product should be avoided. If a visible change is detected, the reagent should no longer be used, this sign may indicate a microbiological contamination.
4. Strength of positive reactions also depends on age of used blood
5. Centrifugation outside the specified speed range may lead to false results.
6. The procedures identified below are for manual testing only. When using automated or semi-automated instruments, follow the procedures that are contained in the operator's manual provided by the device manufacturer. Laboratories must follow approved validation procedures.
7. For usage of this test serum all effective national laws, directives and guidelines must be followed. [in Germany especially the „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“¹] in its current version.

REAGENT PREPARATION

1. Blood sample should be collected by approved medical procedure.
2. Blood sample to be tested should be used as soon as possible after blood collection to reduce the risk of false-positive and false-negative results due to improper storage or contamination of the sample.
If a delay in testing occurs, sample should be stored at +2 to +8°C.
Blood drawn into EDTA should be tested within 7 days and sample treated with sodium citrate within 14 days after collection.
Blood bag / Donor Blood can be tested until the expiry date.

REAGENT PREPARATION

There is no specific preparation of the test serum required. Use test serum directly from the vial.

PROCEDURE

Material required but not provided:

Slide Method

1. Glass slide
2. Pasteur pipette
3. Mixing stick
4. Timer

Tube Centrifugation Method

1. Test tubes, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm
2. Pipettes designed to deliver 100 µL, 50 µL
3. Timer
4. Centrifuge
5. Inkubator
6. Isotonic saline (0.85 – 0.9% sodium chloride)
7. Disposable pipette tips
8. Anti-Human-Globulin-Serum (Coombs-serum)

Test procedure

Slide Method

1. Use erythrocyte sediment only.
2. Place one drop (approximately 50 µL) of test serum on a marked glass slide.
3. Using a Pasteur pipette add one drop erythrocyte sediment (approximately 50 µL) to the glass slide.
4. Mix the erythrocytes with test serum well with a stick and spread to a circle with a diameter of approximately 2 cm.
5. By slightly rotating the slide, check for agglutination within 1 minute (reaction starts within seconds).
6. Document the result.

Tube Centrifugation Method

1. Prepare 2% to 5% suspensions of red blood cells in isotonic saline only (red blood cells may be washed 1-3 times with isotonic saline).
2. At first put 100 µL of the reagent in a marked tube subsequently add 100 µL of appropriate cell suspension in the tube.
Alternative one drop = approximately 50 µL cell suspension can be added to one drop = approximately 50 µL test serum.
3. Mix well by slightly shaking.
4. Incubate tube at room temperature for 15 min.
5. Centrifugation of tube for 1 minute at 2.000 rpm (approximately 800-1.000 g).
6. Gently resuspend the red cells and check macroscopically for agglutination within 3 minutes.
7. Document the result.
8. Incubate all tube with negative or weak result at +37 °C for 15 minutes.
9. Centrifugation of tube for 1 minute at 2.000 rpm (approximately 800-1.000 g).
10. Gently shake the red cells completely from the bottom of the tube and check macroscopically for agglutination within 3 minutes.
11. Document the result.
12. For all negative or weakly positive results, an indirect Coombs test must be performed.

Indirect Coombs-test

13. Repeat step 1.-3. with fresh material and incubate tube at +37 °C for 15 min or continue after reading of result directly.
14. Wash red cells 3 times with (cold) isotonic saline.
15. Add 100 µL Anti-Human-Globulin-Serum (Coombs-serum) to each tube.
16. Centrifugation of tube for 1 min at 1.000 rpm (approximately 180-270 g).
17. Gently shake the red cells completely from the bottom of the tube and check macroscopically for agglutination within 3 minutes.
18. Document the result.

INTERPRETATION OF RESULTS

"Slightly rotating / shaking" at Slide- and at Tube Centrifugation Method

Positive result (+): visible agglutination of erythrocytes indicates the presence of one or more of the corresponding antigens.

Negative result (-): no visible agglutination of erythrocytes indicates the absence of all of the corresponding antigens.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. The "Procedures" and "Interpretation of Results" sections must be followed closely to assure the accuracy of the test result.
2. No valid conclusion concerning the test result can be reached, if controls with uncertain or false results occur.
3. Enzyme treated erythrocytes or addition of bovine albumin and/or other solutions containing protein may cause unspecific reactions.
4. Hemolyzed, turbid, contaminated or clotted samples should not be used.
5. Due to variability of antigen expression, reactivity of this test serum against certain phenotypes may give weaker reactivity compared to control cells.
6. Unspecific reactions might appear due to drying of the reaction-formation or if the slide is heated.
7. No one specific antiserum or technique can be guaranteed to detect all rare, weak or variant antigens ².
8. Red blood cells coated with alloantibodies or autoantibodies of the same or similar specificity as the test serum (i.e., cells that are positive in the direct antiglobulin-test (DAT)) are not suitable for this test procedure.
9. As described in the literature, samples from patients treated with anti-CD38 monoclonal antibodies can cause false positive results in the Coombs test.⁵
10. Newborn blood is excluded from testing.
11. The reagent anti-CDE does not react with rG cells.
12. The IgM Anti-D component will react negatively with D category VI cells, the IgG Anti-D component reacts positive with these cells by the indirect antiglobulin method.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS











In compliance with Common Technical Specifications (CTS Commission Decision of 03. February 2009) a performance evaluation was conducted for the product. Different samples (donor, patient, panel blood) was used and compared with other products. The determined sensitivity and specificity are as follows

Product	Positive Blood	Negative Blood	False positive	False Negative	Sensitivity	Spezifitcity
Anti- CDE monoclonal, human IgM+IgG	1208	705	1	1	99,86%	99,92%

LITERATURE




1. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)
2. CLSI, I/LA33-A Validatin of Automated System for Immunhematological Testing Before Implementation; Approved Guidline CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE Dezember 2009
3. Peter D. Issit, David J. Anstee Applied Blood Group Serology, fourth edition, Montgomery Scientific Publications 1998
4. Christian Mueller-Eckhardt, Volker Kiefel Transfusionsmedizin, 3. Auflage, Springer-Verlag 2004.
5. Blood Transfusion Management for Patients Treated with Anti-CD38 monoclonal Antibodies. Frontiers in Immunology November 2018 / Artikel 2616

LEGEND OF SYMBOLS

 Store from - to	 REF Product Code	 Expiration Date	 Manufacturer as to 98/79/EU
 LOT Lot	 CLON Clone(s)	 IVD In vitro diagnostic medical device	 CE EU CE-symbol
 UDI Unique Device Identification	 Consult Instrucion for use		

730-22-6307 Version 007 / 01.07.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Germany

 +49 (0) 6223/ 8661-0  +49 (0) 6223/ 8661-13  gara@antitoxin-gmbh.de

ISTRUZIONI PER L'USO

Anti-CDE (RH2, 1, 3) monoclonal IgM+IgG (human) OrthoClone

REF 690141A

USO PREVISTO

L'antisiero agglutinante Anti-CDE è preparato da sovrantanti di colture cellulari di linee cellulari di etero-ibridomi. Le cellule secernono un anticorpo di tipo IgM rispettivamente IgG che reagisce specificamente con il corrispondente antigene. L'anticorpo è una proteina umana. Il reagente viene impiegato per l'analisi qualitativa in vitro della presenza o assenza dell'antigene del gruppo sanguigno C, D e E su eritrociti umani. L'uso dell'antisiero deve essere fatto solamente da personale tecnico qualificato.

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

Le procedure utilizzate con questo reagente sono basate sul principio dell'agglutinazione. Gli eritrociti umani, che possiedono il corrispondente antigene, agglutinano in presenza dello specifico anticorpo diretto contro l'antigene.

REAGENTI

Il reagente del gruppo sanguigno indicato contiene anticorpi del seguente clone:

Anti-CDE monoclonal, human IgM+IgG clones: MS-24, MS-201, MS-80, MS-26

Anti-C (Clone: MS-24 (IgM))

Anti-D (Cloni: MS-201 (IgM), MS-26 (IgG))

Anti-E (Clone: MS-80 (IgM))

Il reagente contiene <0.1% (w/v) di Sodio Azide come conservante. In aggiunta il reagente contiene anticorpo attivo, cloruro di sodio, macromolecole ed albumina bovina, che sono stati testati e certificati dagli ispettori del servizio veterinario statunitense.

AVVERTENZE: Questo reagente è preparato da sovrantanti di colture cellulari. Come tutti i prodotti biologici deve essere trattato come materiale potenzialmente infettivo a causa della impossibilità di escludere totalmente il pericolo di trasmissione di malattie. I reagenti contenenti Sodio Azide, possono essere tossici e possono reagire con piombo o rame formando sali ad alto potenziale esplosivo. Durante lo smaltimento, sciacquare abbondantemente con acqua. Per questi motivi debbono essere maneggiati con estrema cura.

CONSERVAZIONE

Conservare (chiuso non ancora usato/chiuso già usato) da +2 ad +8 °C. Tenere a temperatura ambiente mentre è in uso. Conservare ed utilizzare i reagenti solamente fino alla data di scadenza segnalata.

NOTE

1. Durante ogni sessione di test devono essere eseguiti controlli positivi e negativi.
2. Una conservazione inadeguata diminuisce l'efficacia del reagente.
3. La debole torbidità del reagente non influisce sulla sua reattività. Evitare la contaminazione batterica e chimica del prodotto. Se viene rilevato un cambiamento visibile, interrompere l'uso del reagente. Potrebbe trattarsi di un segno di contaminazione microbiologica.
4. Il grado di reazione positiva dipende anche dal periodo di conservazione del campione utilizzato.
5. Una centrifugazione molto differente da quella consigliata può causare risultati non adeguati.
6. Le procedure sotto descritte si riferiscono all'esecuzione manuale dei test. Utilizzando strumentazioni automatiche, seguire le procedure suggerite nei manuali forniti dal produttore dello strumento. I laboratori devono seguire procedure di validazione approvate per
7. Per l'uso di questi antisieri vanno osservate tutte le leggi nazionali, direttive e linee guida in vigore. Ad esempio in Germania la „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)"¹.

PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

1. I campioni di sangue devono essere raccolti secondo una procedura medica approvata.
2. I campioni di sangue da testare devono essere utilizzati il prima possibile. Dopo il prelievo di sangue, in modo da ridurre il rischio di risultati falsi positivi e falsi negativi a causa della conservazione inadeguata o della contaminazione dei reagenti. Se si verifica un ritardo nel test, i campioni devono essere conservati a una temperatura compresa tra +2 e +8°C. I campioni di sangue anticoagulati con EDTA devono essere analizzati entro 7 giorni e quelli trattati con citrato di sodio entro 14 giorni dal prelievo. Sacca di sangue / Il sangue del donatore può essere testato entro la data di scadenza.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Non è richiesta alcuna preparazione dell'antisiero. Utilizzare direttamente l'antisiero dai flaconi.

PROCEDURA

Materiale necessario ma non fornito

Metodo su Vetrino

1. Vetrino
2. Pipetta Pasteur
3. Bastoncino per miscelare
4. Cronometro

Metodo in Provetta con Centrifugazione

1. Provette, 10 x 75 mm o 12 x 75 mm
2. Micropipetta da 100 µL, 50 µL
3. Centrifuga
4. Cronometro
5. Soluzione fisiologica Isotonica (0.85 – 0.9% Cloruro di Sodio)
6. Puntali per micro-pipetta
7. Siero Anti-Globuline Umane (Siero di Coombs)
8. Puntali per micro-pipetta

Procedura del test

Metodo su Vetrino

1. Utilizzare solo sedimenti di emazie.
2. Porre una goccia (ca. 50 µL) del reagente sul vetrino.
3. Usando una pipetta Pasteur aggiungere una goccia di emazie sedimentate (ca. 50 µL) sul vetrino.
4. Miscelare reagente ed emazie con un bastoncino in maniera circolare di circa 2 cm di diametro.
5. Ruotando dolcemente il vetrino, controllare per agglutinazione entro 1 minuto (la reazione parte in pochi secondi).
6. Registrare il risultato.

Metodo in Provetta con Centrifugazione

1. Preparare sospensione di emazie 2 – 5% in soluzione saline fisiologica (è possibile lavare preventivamente gli eritrociti 1–3 volte con soluzione salina isotonica).
2. Aggiungere 100 µL del reagente in una provetta contrassegnata e quindi aggiungere 100 µL della appropriata sospensione eritrocitaria alla provetta. In alternativa, una goccia = circa 50 µL di sospensione di eritrociti a una goccia = è possibile aggiungere circa 50 µL di siero di prova.
3. Miscelare reagente ed emazie bene con delicatezza.
4. Incubare la provetta a temperatura ambiente per 15 Minuti.
5. Centrifugare 1 Minuto a 2.000 rpm (ca. 800 - 1.000 g).
6. Staccare completamente le cellule dal fondo del tubo agitando attentamente ed esaminandole macroscopicamente per l'agglutinazione entro 3 minuti.
7. Registrare il risultato.
8. Incubare tutte le provette con debole positivo o negativo risultato per 15 minuti a +37 °C
9. Centrifugare 1 Minuto a 2.000 rpm (ca. 800 – 1.000 g).
10. Staccare completamente le cellule dal fondo del tubo agitando attentamente ed esaminandole macroscopicamente per l'agglutinazione entro 3 minuti.
11. Registrare il risultato
12. Per tutti i risultati negativi o debolmente positivi, un test di Coombs indiretto deve essere eseguito.

Test di Coombs indiretto

13. Ripetere le operazioni 1-3 con materiale fresco e incubare le provette a +37°C 15 minuti o procedere subito dopo la lettura del risultato
14. Lavare le emazie 3 volte con una soluzione di fisiologica isotonica (fredda).
15. Aggiungere 100 µL Anti-Human-Globulin-Serum (Coombs-Serum) ad ogni provetta.
16. Centrifugare 1 Minuto a 1.000 rpm (ca. 800 – 1.000 g)
17. Staccare completamente le cellule dal fondo del tubo agitando attentamente ed esaminandole macroscopicamente per l'agglutinazione entro 3 minuti.
18. Registrare il risultato.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Metodo su Vetrino e Metodo in Provetta con Centrifugazione:

Risultati Positivi (+):L'agglutinazione visibile delle emazie è un risultato positivo ed indica la presenza di uno o più degli antigeni

Risultati Negativi (-):Una agglutinazione non visibile degli eritrociti è un risultato negativo ed indica l'assenza di nessuno dei antigeni corrispondenti.

LIMITI DELLA PROCEDURA

1. Il mancato rispetto delle istruzioni riportate nella sezione „Procedure“ ed „Interpretazione dei risultati“ può produrre risultati non corretti.
2. Nessuna conclusione valida concernente i risultati può essere raggiunta, se i controlli forniscono risultati dubbi o non conformi all'atteso.
3. Gli eritrociti trattati con enzimi o l'aggiunta di albumina bovina e/o altre soluzioni proteiche possono dare luogo a reazioni aspecifiche.
4. Campioni di sangue emolizzati, torbidi, contaminati o coagulati non possono essere impiegati nel test
5. Possono riscontrarsi reazioni aspecifiche da artefatti dovuti all'essiccazione o per il riscaldamento del vetrino.
6. A causa della variabilità degli antigeni, la reattività di questi reagenti verso alcuni fenotipi potrebbe fornire reazioni più deboli rispetto a quelle ottenute con le emazie di controllo.
7. Non è possibile garantire l'esistenza di un antisiero o di una tecnica specifica per rilevare tutti gli antigeni varianti, deboli o rari.²
8. Globuli rossi sensibilizzati con auto- o allo-anticorpi di specificità simile od uguale a quella dell'antisiero (cioè eritrociti che forniscono un risultato positivo al test dell'antiglobulina diretto (TCD)), non sono adatti a questo test.
9. In letteratura si descrive che i campioni di pazienti trattati con anticorpi monoclonali anti-CD38 possono causare risultati falsi positivi al test Coombs.5
10. Il sangue neonatale è escluso dai test.
11. Il siero test anti-CDE non reagisce con le cellule rG.
12. La componente IgM anti-D reagisce negativamente con la categoria D VI cellule, la componente IgG anti-D reagisce con queste cellule erano positivi al test di Coombs indiretto.

VALUTAZIONE PERFORMANCE











Una valutazione delle prestazioni del prodotto è stata effettuata in conformità con le Common Technical Specifications (decisione CTS della Commissione, del 3 febbraio 2009). Ci sono stati diversi campioni (del donatore , del paziente , pannelli sangue) sono confrontati e utilizzati con altri prodotti . La sensibilità e la specificità determinata è stata la seguente.

Prodotto	Positivo	Negativo	Falso positivo	Falso Negativo	Sensibilità	Specificità
Anti- CDE monoclonal, human IgM+IgG	1208	705	1	1	99,86%	99,86%

LETTERATURA




1. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)
2. CLSI, I/LA33-A Validatin of Automated System for Immunhematological Testing Before Implementation; Approved Guidline CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE Dezember 2009
3. Peter D. Issit, David J. Anstee Applied Blood Group Serology, 4. edition, Montgomery Scientific Publications 1998
4. Christian Mueller-Eckhardt, Volker Kiefel Transfusionsmedizin, 3. Auflage, Springer-Verlag 2004.
5. Blood Transfusion Management for Patients Treated with Anti-CD38 monoclonal Antibodies. Frontiers in Immunology November 2018 / Artikel 2616

SIMBOLI

 Conservare da..... a..... °C	 REF	Art.- N° Articolo	 Data di scadenza	 Fabbricante 98/79/EU			
 LOT	Codice lotto	 CLON	Clone	 IVD	In-Vitro-Diagnostic	 CE 0483	EU CE-symbol
 UDI	Unique Device Identification		Consultare le istruzioni per l'uso				

730-22-6307 Versión 007 / 01.07.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Alemania

 +49 (0) 6223/ 8661-0  +49 (0) 6223/ 8661-13  gara@antitoxin-gmbh.de

INSTRUKCJA UŻYCIA

Anti-CDE (RH2,1,3), monoclonal IgM + IgG (human) OrthoClone

REF 690141A

PRZEZNACZENIE

Surowice monoklonalne anti-CDE testowe uzyskiwane są z supernatantów hodowli komórkowych linii komórkowych heterohybridoma wydzielających przeciwciała typu IgM i typu IgG skierowane swoiście przeciwko odpowiednim antygenom grup krwi. Przeciwciała w każdym przypadku jest ludzkim białkiem. Surowice testowe są stosowane do jakościowego wykrywania in vitro obecności lub braku antygenów grupy krwi C,D i E na ludzkich erytrocytach.

Użycie tych surowic testowych jest przeznaczone wyłącznie dla wykwalifikowanych i przeszkolonych specjalistów.

ZASADA POSTĘPOWANIA

Metody testowe stosowane w przypadku tych produktów oparte są na zasadzie aglutynacji. Normalne ludzkie erytrocyty noszące odpowiedni antygen są aglutynowane przez odpowiednie przeciwciała.

SUROWICE TESTOWE

Wymienione surowice do badania grup krwi są produkowane z następujących klonów komórkowych:

Anti-CDE monoclonal, human IgM+IgG clones: MS-24, MS-201, MS-26, MS-80

Anti-C (clon: MS-24 (IgM))

Anti-D (clone: MS-201 (IgM), MS-26 (IgG))

Anti-E (clon: MS-80 (IgM))

Wszystkie surowice testowe zawierają <0,1% (w/v) azydku sodu jako środka konserwującego.

Oprócz aktywnego składnika przeciwciała, surowice testowe zawierają chlorek sodu, dużą masę cząsteczkową Związki i albumina wołowa, która została skontrolowana i certyfikowana przez inspektorów amerykańskich służb weterynaryjnych.

OSTRZEŻENIE: Te surowice testowe są produkowane z supernatantów hodowli komórkowych. Niezależnie od tego te produkty biologiczne należy traktować jako potencjalnie zakaźne ze względu na ryzyko wystąpienia patogenów, którego nigdy nie można całkowicie wykluczyć. Surowice testowe zawierają azydek sodu, który może być toksyczny i tworzyć wybuchowe sole z ołowiem lub miedzią. Przy usuwaniu splukać dużą ilością wody. Z powyższych powodów, surowice testowe powinny być traktowane z odpowiednią ostrożnością.

PRZECHOWYWANIE

Przechowywać w temperaturze +2 do +8 °C (nieotwarte / otwarte), przez krótki czas do użycia również w temperaturze pokojowej. Przechowywać i używać tylko do podanej daty ważności!

NOTATKI

1. Pozytywne i negatywne kontrole powinny być przeprowadzone z każdym testem.
2. Niewłaściwe przechowywanie obniża skuteczność działania produktów.
3. Lekkie zmętnienie nie ma wpływu na reaktywność jednej z wyżej wymienionych surowic testowych. Należy unikać skażenia bakteryjnego i chemicznego. W przypadku wykrycia widocznych zmian w surowicy testowej nie należy jej używać, ponieważ może to wskazywać na zanieczyszczenie mikrobiologiczne.
4. Siła reakcji dodatniej zależy od wieku użytej krwi.
5. Wirowanie poza podanym zakresem prędkości może prowadzić do błędnych wyników.
6. Opisanie sposoby postępowania obowiązują tylko dla wymienionych metod ręcznych i maszyn automatycznych. Jeżeli stosowane są inne zautomatyzowane lub półautomatyczne systemy, laboratoria muszą postępować zgodnie z instrukcjami producentów sprzętu i przeprowadzać walidacje zgodnie z uznanymi procedurami.
7. Podczas stosowania surowic testowych należy przestrzegać wszystkich obowiązujących krajowych ustaw, rozporządzeń i wytycznych, w Niemczech w szczególności „Wytycznych dotyczących pobierania krwi i składników krwi oraz stosowania produktów krwiopochodnych (hemoterapia)¹ z późniejszymi zmianami.

PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

1. Próbki krwi powinny być pobierane przy użyciu jednej z powszechnie stosowanych technik pobierania.
2. Krew do badania powinna być badana możliwie jak najszybciej po jej pobraniu, aby zminimalizować ryzyko fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych reakcji z powodu niewłaściwego przechowywania lub zanieczyszczenia próbki. Krew, która nie jest natychmiast badana, powinna być przechowywana w temperaturze od +2 do +8 °C. Próbki krwi poddane antykoagulacji z użyciem EDTA muszą być zbadane w ciągu 7 dni, a próbki poddane działaniu cytrynianu sodu w ciągu 14 dni od pobrania. Krew w puszkach/darowiznach może być badana do upływu terminu ważności.

PRZYGOTOWANIE SUROWIC TESTOWYCH

Przygotowanie surowica testowego nie jest konieczne. Surowice są pobierane bezpośrednio z fiolek i wprowadzane.

PROCEDURA

Materiały nie wchodzące w zakres dostawy, ale niezbędne do wykonania:

Metoda szkiełka mikroskopowego

1. Szkiełko mikroskopowe
2. Pipeta Pasteura
3. Pręt do mieszania
4. Budzik krótkoterminowy

Metoda próbówkowa

1. Probówka, 10 x 75 mm lub 12 x 75 mm
2. Pipeta mikrolitrowa do 50 µL/100 µL
3. Budzik krótkoterminowy
4. Inkubator
5. Wirówka
6. Izotoniczny roztwór soli (0,85-0,9% chlorku sodu)
7. Jednorazowe końcówki
8. Anty-Human Globulin ludzka (Coombs Serum)

Procedura testowa

Test preparatów

1. Stosować wyłącznie osad erytrocytów.
2. Upuścić kroplę (około 50 µL) odpowiedniej surowicy testowej na oznaczone szkiełko mikroskopowe.
3. Dodać jedną kroplę (ok. 50 µL) osadu erytrocytów do kropli surowicy testowej na szkiełko podstawowym, używając pipety Pasteura.
4. Dobrze wymieszać mieszaninę krwinek czerwonych i surowicy testowej za pomocą mieszadła i rozprowadzić ją tak, aby utworzyła okrąg o średnicy około 2 cm.
5. Sprawdzić aglutynację w ciągu jednej minuty, delikatnie wirując szkiełkiem (reakcja rozpoczyna się po kilku sekundach).
6. Zaprokolewać wyniki.

Test odwirowania próbówki

1. Przygotować 2-5% zawiesinę krwinek czerwonych w izotonicznym roztworze soli fizjologicznej (krwinki czerwone można uprzednio przepłukać 1-3 razy izotonicznym roztworem solifizjologicznej).
2. Umieścić w oznakowanej próbówce jako pierwszą 100 µl surowicy badanej, a następnie dodać 100 µl odpowiedniej zawiesiny erytrocytów do próbówki. Alternatywnie, jedna kroplę = około 50 µl zawiesiny erytrocytów może być dodana do jednej kropli = około 50 µl surowicy testowej.
3. Wymieszać mieszaninę czerwonych krwinek i surowic testowych, delikatnie wstrząsając.
4. Inkubować próbówkę przez 15 minut w temperaturze pokojowej.
5. Odwirowywać próbówkę przez 1 minutę przy 2,000 rpm (ok. 800 - 1,000 g).
6. Całkowicie oddzielić komórki od dna próbówki przez ostrożne wstrząsanie i zbadać makroskopowo pod kątem aglutynacji w ciągu 3 minut.
7. Zaprokolewać wyniki.
8. Wszystkie próbówki z wynikiem ujemnym lub słabo dodatnim inkubować próbówkę przez 15 minut w +37 °C.
9. Odwirowywać próbówkę przez 1 minutę przy 2,000 rpm (ok. 800 - 1,000 g).
10. Całkowicie oddzielić komórki od dna próbówki przez ostrożne wstrząsanie i zbadać makroskopowo pod kątem aglutynacji w ciągu 3 minut.
11. Zaprokolewać wyniki.
12. Dla wszystkich wyników negatywnych lub słabo dodatnich należy wykonać pośredni test Coombsa.

Pośredni test Coombsa

13. Wykonać kroki 1.-3. ponownie i inkubować próbówkę przez 15 minut w temperaturze +37 °C lub kontynuować bezpośrednio po odczytaniu wyników.
14. Trzykrotnie przemyc erytrocyty (zimną) z Izotoniczny roztwór soli
15. Do każdej próbówki dodać 100 µl surowicy globulinowej przeciw ludzkiej (surowica Coombs).
16. Odwirowywać próbówkę przez 1 minutę przy 1,000 rpm (ok. 180 - 270 g).
17. Całkowicie oddzielić komórki od dna próbówki przez ostrożne wstrząsanie i zbadać makroskopowo pod kątem aglutynacji w ciągu 3 minut.
18. Zaprokolewać wyniki.

INTERPRETACJA WYNIKÓW TESTU

„Ostrożne wirowanie/wstrząsanie” metodą szkiełek mikroskopowych szkiełka i próbówki:

Wynik pozytywny (+):

Wynik ujemny (-):

Aglutynacja erytrocytów jest uważana za pozytywny wynik testu i wskazuje na obecność odpowiedniego antygeny.

Brak aglutynacji erytrocytów należy uznać za negatywny wynik testu, odpowiadający im antygen nie jest wykrywalny.

GRENZEN DER METHODE

1. Nieścisłości w stosowaniu się do instrukcji zawartych w rozdziałach "Wykonanie testu" i "Interpretacja wyników testu" mogą prowadzić do błędnych wyników.
2. Kontrole przeprowadzone z niejednoznaczными lub fałszywymi wynikami automatycznie prowadzą do braku możliwości wykorzystania wszystkich wyników.
3. Krwinki czerwone poddane działaniu enzymów lub dodanie albuminy wołowej i/lub innych roztworów zawierających białko mogą powodować niespecyficzne reakcje z tymi surowicami testowymi.
4. Nie wolno używać próbek krwi hemolizowanej, mętnej, skażonej lub zakrzepłej.
5. W przypadku metody szkiełek mikroskopowych reakcje niespecyficzne mogą wystąpić, gdy mieszanina reakcyjna wyschnie lub gdy szkiełko zostanie podgrzane.
6. Ze względu na różną ekspresję antygenów, niektóre fenotypy mogą wykazywać słabszą reakcję z tymi odczynnikami niż erytrocyty kontrolne.
7. Żadna pojedyncza surowica testowa ani metoda nie może zagwarantować wykrycia wszystkich rzadkich lub słabych antygenów oraz wszystkich wariantów antygenów ².
8. Krwinki czerwone uczulone alloprzeciwciałami lub autoprzeciwciałami o takiej samej lub podobnej swoistości jak surowica badana (np. krwinki czerwone dodatnie w bezpośrednim teście antyglobulinowym) nie nadają się do tych testów.
9. W literaturze opisano, że próbki od pacjentów leczonych przeciwciałami monoklonalnymi anti-CD38 mogą dawać fałszywie dodatnie wyniki w teście Coombsa.⁵
10. Krew noworodków jest wykluczona z testy.
11. Surowica testowa Anti-CDE nie reaguje komórkami rG.
12. Składnik IgM anti-D reaguje negatywnie z komórkami kategorii D VI, składnik anti-D IgG reaguje pozytywnie z tymi komórkami w pośrednim teście Coombsa.

WYDAJNOŚĆ











Ocena właściwości użytkowych produktów została przeprowadzona zgodnie ze Wspólnymi Specyfikacjami Technicznymi (Decyzja Komisji CTS z dnia 03 lutego 2009 r.). Użyto różnych próbek (dawca, pacjent, krew panelowa) i porównano je z innymi Metody referencyjne / produktami.

Kod produktu	Pozytywny	Fałszywy negatywny	Czułość	negatywny	Fałszywy pozytywny	Swoistość
Anti- CDE monoclonal, human IgM+IgG	1208	705	1	1	99,86%	99,92%


LITERATURA




1. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)
2. CLSI, I/LA33-A Validatin of Automated System for Immunhematological Testing Before Implementation; Approved Guideline CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE Dezember 2009
3. Peter D. Issit, David J. Anstee Applied Blood Group Serology, fourth edition, Montgomery Scientific Publications 1998
4. Christian Mueller-Eckhardt, Volker Kiefel Transfusionsmedizin, 3. Auflage, Springer-Verlag 2004.
5. Blood Transfusion Management for Patients Treated with Anti-CD38 monoclonal Antibodies. Frontiers in Immunology November 2018 / Artikel 2616

SYMBOL - LEGENDA

 Przechowywa nie od - do	 Numer katalogowy	 Data ważności	 Producent zgodnie z 98/79/WE
 Partia	 Klon(y)	 Diagnostyka in vitro	 Symbol WE CE
 Unique Device Identification	 Gebrauchsinformation beachten		

730-22-6307 Wersja 007 / 01.07.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Deutschland

 +49 (0) 6223/ 8661-0  +49 (0) 6223/ 8661-13  gara@antitoxin-gmbh.de