

# Anti-Co<sup>a</sup> for card method Coombs-reactive, polyclonal, human

# Anti-Co<sup>b</sup> for card method Coombs-reactive, polyclonal, human

Deutsch

NUR ZUR IN-VITRO-DIAGNOSTIK

## ZWECKBESTIMMUNG

Polyklonale Coombs-reaktive Anti-Co<sup>a</sup> und Anti-Co<sup>b</sup> Testseren werden aus humanen Plasmen hergestellt, die Antikörper vom IgG-Typus, die spezifisch gegen das korrespondierende Blutgruppenantigen gerichtet sind, enthalten. Die Testseren werden zum qualitativen In-vitro-Nachweis des Vorhandenseins oder Fehlens der Blutgruppenantigene Co<sup>a</sup> und Co<sup>b</sup> auf menschlichen Erythrozyten verwendet. Die Anwendung dieser Testseren ist nur für qualifiziertes und geschultes Fachpersonal vorgesehen.

## PRINZIP DES VERFAHRENS

Die bei Verwendung dieser Testseren angewendeten Testmethoden beruhen auf dem Prinzip der Säulen-Agglutinations-Technik. Normale menschliche Erythrozyten, die eines der entsprechenden Antigene tragen, werden durch den korrespondierenden Antikörper erkannt, beladen und anschließend durch einen Zweit-Antikörper, der humane IgG-Moleküle erkennt, agglutiniert.

## TESTSEREN

Die aufgeführten Blutgruppentestseren werden in folgender Form angeboten:

Anti-Co<sup>a</sup> for card method Coombs-reactive, polyclonal, human

Anti-Co<sup>b</sup> for card method Coombs-reactive, polyclonal, human

Die Testseren enthalten als Konservierungsmittel <0.1% (w/v) Natriumazid. Außer dem aktiven Antikörperbestandteil und menschlichem Serum beinhalten die Testseren Natriumchlorid, hochmolekulare Verbindungen und Rinderalbumin, das durch die US Veterinary service Inspektoren überprüft und zertifiziert wurde.

## WARNUNG

Diese Testseren wurden aus humanen Plasmen hergestellt. Unabhängig davon, dass die Ausgangsmaterialien negativ auf HBsAg sowie HIV 1/2- und HCV-Antikörper geprüft wurden, sollten diese biologischen Produkte wegen nie völlig auszuschließender Gefährdung durch Krankheitsreger als potentiell infektiös angesehen werden. Die Testseren enthalten 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 sollten diese Testseren mit angemessener Sorgfalt gehandhabt werden.

## LAGERUNG

Ungeöffnet und nach dem erstmaligen Öffnen gut verschlossen bei +2 bis +8 °C lagern, kurzzeitig zur Anwendung auch bei Raumtemperatur. Grundsätzlich nur bis zum angegebenen Verfallsdatum lagern und anwenden.

## HINWEISE

- Es sollten bei jeder Austestung positive und negative Kontrollen mitgeführt werden.
- Unschonbare Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit der Produkte.
- Die Reaktionsfähigkeit der Testseren wird durch leichte Trübung nicht beeinträchtigt. Bakterielle und chemische Kontamination der Testseren ist zu vermeiden. Wenn eine sichtbare Veränderung des Testserums festgestellt wird, sollte das Testserum nicht mehr eingesetzt werden, es kann auf eine mikrobielle Kontamination hinweisen.
- Die Stärke der positiven Reaktion ist vom Alter des verwendeten Blutes abhängig.
- Verwenden Sie die entsprechende Kartenzentrifuge. Der Einsatz einer anderen kartenspezifischen Zentrifuge (jede Kartenzentrifuge hat seine festgelegte unveränderliche g-Zahl) kann auf Grund der dadurch veränderten g-Zahl zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Die beschriebenen Testmethoden zur Anwendung gelten ausschließlich für manuelle Methoden und für das in dieser Gebrauchsinformation aufgeführte Gerät. Werden andere Automaten oder halbautomatische Systeme verwendet, müssen die Laboratorien die Angaben der Gerätehersteller befolgen und Validierungen nach anerkannten Verfahren durchführen.
- Bei der Anwendung der Testseren 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)“ in ihrer gültigen Fassung.
- Die Angaben zum Einsatz der Testkarten in der jeweils zugehörigen Gebrauchsinformation sind unbedingt zu beachten.

## PROBENVORBEREITUNG

- Blutproben sollten mit einer der üblichen Entnahmetechnik gewonnen werden.
- Das auszutestende Blut sollte so bald wie möglich nach der Blutentnahme geprüft werden, um die Gefahr falsch positiver bzw. falsch negativer Reaktionen durch unschonbare 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 der Testseren ist nicht erforderlich. Die Testseren werden direkt aus den Fläschchen entnommen und eingesetzt.

## VERFAHRENSWEISE

Nicht im Lieferumfang enthaltene, aber benötigte Materialien:

### Kartentechnik manuell:

- Karten: - Grifols „DG Gel Coombs“  
- Ortho BioVue® System AHG polyspecific oder  
- Ortho BioVue® System Anti-Humanglobulin Anti-IgG
- Mikroliterpipette
- Teströhrchen
- Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)
- Zentrifuge
- Karten-Zentrifuge
- Karten-Inkubator
- Kartenspezifisches Verdünnungsmittel

### Kartentechnik automatisch:

Vision® Analyzer

### Testdurchführung

**Kartentest** (manuelle Methode / gültig für die Karte:  
- Grifols „DG Gel Coombs“)

- 0,8%ige Erythrozytensuspensionen im kartenspezifischen Verdünnungsmedium vorbereiten (Erythrozyten können vorab 1-3 Mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
- In jedes beschriftete Mikroröhrchen 50 µL der entsprechenden Erythrozyten-suspension geben.
- In jedes Mikroröhrchen 25 µL des entsprechenden Testserums zugeben
- Inkubieren Sie die Karte für 15 min. bei +37 °C im entsprechenden Inkubator.
- Zentrifugieren Sie die Karte in der jeweiligen entsprechenden Kartenzentrifuge mit der, für die jeweilige Zentrifuge, unveränderlichen g-Zahl.
- Innerhalb von 30 Min. makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
- Ergebnisse protokollieren.

### Ortho BioVue® System (manuelle Methode)

- 3-5 %ige Erythrozytensuspensionen im kartenspezifischen Verdünnungsmedium vorbereiten. (Erythrozyten können vorab 1-3 Mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden)
- In die entsprechend beschrifteten Reaktionskammern 40 µL des entsprechenden Testserums geben.
- In die Reaktionskammern 10 µL der entsprechenden Erythrozytensuspension zugeben.
- Inkubieren Sie die Karte für 15 min. bei +37 °C im entsprechenden Inkubator.
- Zentrifugieren Sie die Karte in der entsprechenden Kartenzentrifuge mit der, für die jeweilige Zentrifuge, unveränderlichen g-Zahl.
- Die Testergebnisse sollen direkt nach Ende der Zentrifugation abgelesen werden.
- Ergebnisse protokollieren.

### Ortho BioVue® System (Ortho Vision® Analyzer)

Der Einsatz der aufgeführten Testseren ist auf dem Ortho Vision® Analyzer validiert.

Der Ortho Vision® Analyzer bietet folgende Optionen / Einstellungen an:

- 50 µL 0,8% Erythrozytensuspension in PBS Puffer oder
- 10 µL 3-5% Erythrozytensuspension in PBS Puffer

## INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

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

Negatives Ergebnis (-): Das Fehlen einer Agglutination der Erythrozyten ist als negatives Testergebnis zu bewerten, das entsprechende Antigen ist nicht nachweisbar.

Die Ablesung und Interpretation der Ergebnisse bei den Kartenmethoden entsprechend der Karten-Gebrauchsinformation durchführen. Die Interpretation der Ergebnisse vom Ortho Vision® Analyzer findet automatisch durch die Software statt.

## GRENZEN DER TESTMETHODEN

- Ungenauigkeiten bei der Einhaltung der Anweisungen in den Abschnitten „Testdurchführung“ und „Interpretation der Testergebnisse“ können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Mitgeführte Kontrollen mit nicht eindeutigen oder falschen Ergebnissen führen automatisch zur nicht Verwertbarkeit aller Ergebnisse.
- Enzymbehandelte Erythrozyten oder die Zugabe von Rinderalbumin und/oder anderer proteinhaltiger Lösungen können zu unspezifischen Reaktionen führen.
- Hämolyse, trübe, kontaminierte oder geronnene Blutproben dürfen nicht im Test eingesetzt werden.
- Aufgrund der unterschiedlichen Ausprägung der Antigene auf menschlichen Erythrozyten kann es bei bestimmten Phänotypen, mit den oben aufgeführten Testseren, zu einer schwächeren Reaktion kommen als mit Kontrollerythrozyten.
- Kein einzelnes Testserum oder eine einzelne Methode können garantieren alle seltenen oder schwachen Antigene und alle Varianten der Antigene zu detektieren.
- Bei Erythrozyten, die mit Alloantikörpern oder Autoantikörpern derselben oder einer ähnlichen Spezifität wie das für den Test eingesetzte Testserum sensibilisiert sind (z.B. Erythrozyten positiv im direkten Antiglobulintest), sind für diese Austestung ungeeignet.
- Bei Erythrozyten mit positivem direktem Coombs-Test kann es zu falsch positiven Ergebnissen kommen.
- 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.<sup>2</sup>
- Angaben zu Grenzen in der Gebrauchsanweisung von eingesetzten Karten sind zu beachten.
- Beim Einsatz auf dem Ortho Vision® Analyzer darf das Testserum höchstens 7 Tage ununterbrochen auf dem Gerät (+15 bis +30 °C) verbleiben. Wird das Testserum dagegen über Nacht 12 Stunden bei +2 bis +8 °C gelagert, verlängert sich die Zeitspanne entsprechend auf 14 Tage.
- In dem Testserum Anti-Co<sup>a</sup> liegt der Begleitantikörper Anti-Kp<sup>a</sup> vor. 0,2% aller Blute der europäischen Population sind negativ für das Antigen Co<sup>a</sup>. Theoretisch können davon < 2% falsch positiv reagieren, da diese das Antigen Kp<sup>a</sup> tragen.

## LITERATUR

- Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)
- CLSI, ILA33-A Validatoin of Automated System for Immunhematological Testing Before Implementation; Approved Guideline CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE Dezember 2009
- Peter D. Issitt, David J. Anstee Applied Blood Group Serology, 4. edition, Montgomery Scientific Publications 1998
- Christian Mueller-Eckhardt, Volker Kiefel Transfusionsmedizin, 3. Auflage, Springer-Verlag 2004.
- Blood Transfusion Management for Patients Treated with Anti-CD38 monoclonal Antibodies. Frontiers in Immunology November 2018 / Artikel 2616

<b>REF</b> Artikel-Nummer	<b>LOT</b> Charge
Lagerung von - bis	Verfallsdatum
<b>IVD</b> In-Vitro Diagnostikum	<b>CE</b> EG CE Symbol
Hersteller nach 98/79/EG	Gebrauchsinformation beachten

## REF

- 700191/A1** Anti-Co<sup>a</sup> for card method Coombs-reactive, polyclonal, human 3 ml  
**700190/A1** Anti-Co<sup>b</sup> for card method Coombs-reactive, polyclonal, human 3 ml

## CE

ANTITOXIN GmbH Industriestraße 88 69245 Bammental Deutschland

730-15-7508 Version 008 / 15. Januar 2021

**LOXO** GMBH  
IMMUNOLOGIE • MOLEKULARBIOLOGIE  
BIOCHEMIE • PRODUKTE UND SYSTEME

69221 Dossenheim  
Gerhart-Hauptmann-Str. 48  
E-Mail: [info@loxo.de](mailto:info@loxo.de)  
Internet: [www.loxo.de](http://www.loxo.de)  
TEL: (0 62 21) 86 80 23  
FAX: (0 62 21) 86 80 255

**Anti-Co<sup>a</sup>** for card method Coombs-reactive, polyclonal, human  
**Anti-Co<sup>b</sup>** for card method Coombs-reactive, polyclonal, human  
 FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

English

**INTENDED USE**

Polyclonal Coombs-reactive Anti-Co<sup>a</sup> and Anti-Co<sup>b</sup> reagents are produced from human plasma that contains antibody of IgG-type, which reacts specific with the corresponding blood group antigen. The reagents are used to in-vitro determine qualitative whether human red blood cells possess or lack the corresponding blood group antigen Co<sup>a</sup> and Co<sup>b</sup>.  
 The reagents are intended to be used by qualified and technical personnel only.

**PRINCIPLE OF PROCEDURE**

The test methods used with these reagents are based on the principle of column agglutination. Normal human erythrocytes, possessing the appropriate antigen, will be recognized and coated by the corresponding specific antibody and then the cells will be agglutinated by a secondary antibody that reacts with human IgG-molecules.

**REAGENTS**

The listed reagents are available in following formulation:

Anti-Co<sup>a</sup> for card method Coombs-reactive, polyclonal, human

Anti-Co<sup>b</sup> for card method Coombs-reactive, polyclonal, human

The reagents contain <0.1% (w/v) sodium azide as preservative. Besides the parts active antibody and human serum, the reagents contain sodium chloride, macromolecules and bovine albumin, which has been tested and certified by the US Veterinary service inspectors.

**WARNING**

The reagents are prepared from human plasma. The raw materials for these reagents are tested for HBsAg, HIV 1/2- and HCV-antibodies and found to be negative. Nevertheless as biological products it should be looked upon as potentially infectious because of never complete exclusion of danger through excitants of disease. The reagents contain 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.  
 For the reasons mentioned above these reagents should be handled with proper care.

**STORAGE REQUIREMENT**

Store opened and unopened products at +2 to +8°C. May be at room temperature while in use. In principle, store and use the reagent to declared expiry date only.

**REMARKS**

1. With each testing positive and negative controls should be performed.
2. Inappropriate storage impairs efficacy of the reagents.
3. Weak turbidity of the reagents does not affect its reactivity. Bacteria and chemical contamination of the products 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. Use the appropriate card centrifuge. The use of another card-specific centrifuge (each card centrifuge has its specified unchangeable g-force) may lead to false results due to the changed g-force.
6. The test methods identified below are for manual testing only and for the devices listed in this insert. When using other 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 these reagents all effective national laws, directives and guidelines have to be observed, in Germany especially the „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“ in its actual form.
8. The information on the use of the test cards in the relevant insert must be observed.

**SAMPLE PREPARATION**

1. Blood samples should be collected by approved medical procedure.
2. Blood samples 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, samples should be stored at +2 to +8°C.  
 Blood drawn into EDTA should be tested within 7 days and samples 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 preparation of the reagents required. Take and use the reagents directly from the vials.

**PROCEDURE**

Not included but necessary materials:

**Card Method manual:**

1. Cards: - Grifols „DG Gel Coombs“  
 - Ortho BioVue® System AHG polyspecific or  
 - Ortho BioVue® System Anti-Humanglobulin Anti-IgG
2. Microliter pipette
3. Tubes
4. Isotonic saline (0,85 - 0,9% sodium chloride)
5. Centrifuge
6. Card Centrifuge
7. Card Incubator
8. Card specific diluent

**Card Method automatic:**

Vision® Analyzer

**Test procedure**

**Card Method** (manual method / valid for the card:

- Grifols „DG Gel Coombs“)

1. Prepare 0,8 % suspensions of red blood cells in card specific diluent (red blood cells may be washed 1-3 times with isotonic saline).
2. Add 50 µL of appropriate cell suspension to each marked micro tube.
3. Add 25 µL of the appropriate reagent to each micro tube.
4. Incubate card at +37°C for 15 minutes in a Grifols card incubator.
5. Centrifuge the card in a Grifols card centrifuge with the for this centrifuge unchangeable g-force.
6. Check macroscopically for agglutination within 30 minutes.
7. Document the result.

**Ortho BioVue® System (manual method)**

1. Prepare 3-5 % suspensions of red blood cells in card specific diluent (red blood cells may be washed 1-3 times with isotonic saline).
2. Add 40 µL of the appropriate reagent to the appropriate marked reaction chambers.
3. Add 10 µL of appropriate cell suspension to each reaction chamber.
4. Incubate card at +37°C for 15 minutes in an adequate incubator.
5. Centrifuge the cassette in appropriate centrifuge with the for this centrifuge unchangeable g-force.
6. The test results should be read directly after the end of centrifugation.
7. Document the result.

**Ortho BioVue® System (Ortho Vision® Analyzer)**

The use of the mentioned above reagents are validated on the Ortho Vision® Analyzer  
 The Ortho Vision® Analyzer offers the following options / settings:

- 50 µL 0,8% suspension of red blood cells in PBS buffer or
- 10 µL 3-5% suspension of red blood cells in PBS buffer

**INTERPRETATION OF RESULTS**

- Positive results (+): Visible agglutination of erythrocytes is a positive result and indicates the presence of the corresponding antigen.
- Negative results (-): No visible agglutination of erythrocytes is a negative result and indicates the absence of the corresponding antigen.









Read and interpret the results of the card method according to the instruction for use of the corresponding card.  
 The interpretation of the results from Ortho Vision® Analyzer is performed automatically by the software.

**LIMITATIONS OF THE PROCEDURE**

1. Inaccuracy at compliance with instructions written under section "Procedures" and "Interpretation of results" may lead to incorrect results.
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 blood samples must not be used in this test.
5. Due to variability of antigen expression on human red blood cells, reactivity of the reagents mentioned above, against certain phenotypes, may give weaker reactivity compared to control cells.
6. No one specific antiserum or technique can be guaranteed to detect all rare, weak or variants of antigens.<sup>2</sup>
7. Red blood cells coated with alloantibodies or autoantibodies of the same or similar specificity, as that reagent used for the test (i.e. cells that are positive in the direct Antiglobulin-test (DAT)) are not suitable for this test procedure.
8. Red blood cells with a positive direct Coombs-test may cause false-positive reactions.
9. It is described in the literature, that samples from patients treated with anti-CD38 monoclonal antibodies can cause false positive results in the Coombs test.<sup>5</sup>
10. Information on limits in the instructions for use of cards used must be observed.
11. When used on the Ortho Vision® Analyzer, the test serum may remain uninterruptedly on the device (+15 to +30 °C) for a maximum of 7 days. On the other hand if the test serum is stored overnight at +2 to +8 °C for 12 hours, the period will be extended accordingly to 14 days.
12. The reagent Anti-Co<sup>a</sup> contains the additional antibody Anti-Kp<sup>a</sup>, 0,2 % of all the european population are negative for the Antigen Co<sup>a</sup>. Theoretically < 2 % thereof can react false positive because they carry the antigen Kp<sup>a</sup>.

**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 Guideline CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE December 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.edition, Springer-Verlag 2004.
5. Blood Transfusion Management for Patients Treated with Anti-CD38 monoclonal Antibodies. Frontiers in Immunology November 2018 / Articele 2616

 Product Code	 Batch
 Store from - to	 Expiration Date
 In-Vitro Diagnostic	 EU CE symbol
 Manufacturer according to 98/79/EG	 Consult instructions for use

**REF**

- 700191/A1 Anti-Co<sup>a</sup> for card method Coombs-reactive, polyclonal, human 3 ml  
 700190/A1 Anti-Co<sup>b</sup> for card method Coombs-reactive, polyclonal, human 3 ml

**CE**

ANTITOXIN GmbH Industriestrasse 88 69245 Bammental Germany  
 730-15-7508 Version 008 / 15. January 2021

**LOXO** GMBH  
 IMMUNOLOGIE • MOLEKULARBIOLOGIE  
 BIOCHEMIE • PRODUKTE UND SYSTEME

69221 Dossenheim  
 Gerhart-Hauptmann-Str. 48  
 E-Mail: info@loxo.de  
 Internet: [www.loxo.de](http://www.loxo.de)  
 TEL: (0 62 21) 86 80 23  
 FAX: (0 62 21) 86 80 255