Anti-C, Anti-c, Anti-E, Anti-e monoclonal, human IgM

Deutsch

Für die Objektträger-, Röhrchen-, Karten- und Mikrotiterplatten-Methode
NUR ZUR IN-VITRO-DIAGNOSTIK

ZWECKBESTIMMUNG

Monoklonale agglutinierende Anti-C, Anti-c, Anti-E und Anti-e Testseren werden aus Zellkulturüberständen von Heterohybridoma-Zelllinien gewonnen, die Antikörper vom IgM-Typus sezernieren, die spezifisch gegen das jeweilige korrespondierende Blutgruppenantigen gerichtet sind. Der Antikörper ist jeweils humanes Protein. Die Testseren werden zum qualitativen In-Vitro-Nachweis des Vorhandenseins oder Fehlens der Blutgruppenantigene C, c, E, bzw. e auf menschlichen Erythrozyten verwendet.
Die Anwendung dieser Testseren ist nur für qualifiziertes und geschultes Fachpersonal vorgesehen.

PRINZIP DES VERFAHRENS

Die bei Verwendung der oben aufgeführten Testseren angewendeten Testmethoden beruhen auf dem Prinzip der Agglutinationstechnik. Normale menschliche Erythrozyten, die das entsprechende Antigen tragen, werden durch den korrespondierenden Antikörper agglutiniert.

TESTSEREN

Die aufgeführten monoclonal, human IgM Blutgruppentestseren werden in jeweils zwei Varianten angeboten, die sich nur durch die Antikörper produzierenden Klone unterscheiden:

Anti-C	clones: MS-24, P3x25513G8	Anti-C	clone: MS-273
Anti-c	clone: MS-33	Anti-c	clone: MS-35
Anti-E	clones: MS-258, 906	Anti-E	clones: MS-12, MS-260
Anti-e	clones: MS-16, MS-21, MS-63	Anti-e	clones: MS-62, MS-69

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

WARNUNG

Diese Testseren werden aus Zellkulturüberständen hergestellt. Unabhängig davon sollten diese biologischen Produkte wegen nie völlig auszuschließender Gefährdung durch Krankheitserreger 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 die 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

1. Es sollten bei jeder Austestung positive und negative Kontrollen mitgeführt werden.
2. Unsachgemäße Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit der Produkte.
3. Die Reaktionsfähigkeit eines der oben aufgeführten Testseren wird durch eine leichte Trübung nicht beeinträchtigt. Eine bakterielle und chemische Kontamination ist zu vermeiden. Wenn eine sichtbare Veränderung eines Testserums festgestellt wird, sollte das Testserum 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. Bei der Kartenmethode kann der Einsatz einer anderen karten-spezifischen Zentrifuge (jede Kartenzentrifuge hat seine festgelegte unveränderlicher g-Zahl) auf Grund der dadurch veränderten g-Zahl zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
6. Die beschriebenen Testmethoden zur Anwendung gelten ausschließlich für manuelle Verfahren. Werden Automaten oder halbautomatische Systeme verwendet, müssen die Laboratorien die Angaben der Gerätehersteller befolgen und Validierungen nach anerkannten Verfahren durchführen.
7. Bei der Anwendung der oben aufgeführten 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)“ [1] in ihrer gültigen Fassung.
8. Die Angaben zum Einsatz der Testkarten, in der jeweils zugehörigen Gebrauchsinformation, sind unbedingt zu beachten.

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 der Testseren ist nicht erforderlich.
Die Testseren werden direkt aus den Fläschchen entnommen und eingesetzt.

VERFAHRENSWEISE

Nicht im Lieferumfang enthaltene, aber benötigte Materialien

Objektträgermethode:	Objektträger; Pasteurpipette; Rührstäbchen; Kurzzeitwecker
Röhrchenmethode:	Teströhrchen (10 x 75 mm oder 12 x 75 mm); Mikroliterpipette; Zentrifuge; Kurzzeitwecker; isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)
Kartenmethode:	Karten: - BIO-RAD (*DiaMed*) „NaCl, Enzyme Test and cold Agglutinins“ - Grifols „DG Gel Neutral“ - Ortho BioVue® System Reverse Röhrchen; Mikroliterpipette; Zentrifuge; Kurzzeitwecker; entsprechende Kartenzentrifuge; kartenspezifisches Verdünnungsmittel; isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)
Mikrotiterplatten Methode:	Mikrotiterplatte mit 96 U-Vertiefungen; Mikroliterpipette; Zentrifuge; Kurzzeitwecker; Mikrotiterplatten-Schüttler; Mikrotiterplatten-Zentrifuge; isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)

Testdurchführung

Objektträgermethode

1. Nur Erythrozytensediment verwenden.
2. Auf einen beschrifteten Objektträger einen Tropfen (ca. 50 µL) des entsprechenden Testserums auftropfen.
3. Zu dem Tropfen Testserum auf dem Objektträger einen Tropfen (ca. 50 µL) Erythrozyten-sediment mit einer Pasteurpipette geben.
4. Die Erythrozyten-/Testserummischung 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. Ergebnis protokollieren.

Röhrchen-Zentrifugationsmethode

1. Eine 2-5%ige Erythrozytensuspensionen in isotonischer Kochsalzlösung vorbereiten. (Erythrozyten können vorab 1-3 Mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
2. In ein beschriftetes Teströhrchen 100 µL des entsprechenden Testserums 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 mischen.
4. Teströhrchen 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
5. Teströhrchen 1 Minute bei 2.000 U/min (ca. 800-1.000 x g) zentrifugieren.
6. Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig vom Röhrchenboden lösen und innerhalb 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
7. Ergebnis protokollieren.

Kartenmethode (manuelle Methode / gültig für die Karten:

- BIO-RAD (*DiaMed*) „NaCl, Enzyme Test and cold Agglutinins“
- Grifols „DG Gel Neutral“)

1. Eine 0,8%ige Erythrozytensuspensionen im kartenspezifischen Verdünnungsmedium vorbereiten. (Erythrozyten können vorab 1-3 Mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
2. In ein beschriftetes Mikroröhrchen 50 µL der entsprechenden Erythrozytensuspension geben.
3. In das Mikroröhrchen 25 µL des entsprechenden Testserums zugeben.
4. Die Karte innerhalb von 30 Minuten in der jeweils entsprechenden Kartenzentrifuge mit der, für die Zentrifuge unveränderliche g-Zahl, zentrifugieren.
5. Innerhalb von 30 Minuten Mikroröhrchen makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
6. Ergebnis protokollieren.

Ortho BioVue® System

1. Eine 3-5%ige Erythrozytensuspensionen in isotonische Kochsalzlösung vorbereiten (Erythrozyten können vorab 1-3 Mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
2. In eine beschriftete Reaktionskammer 40 µL des entsprechenden Testserums geben.
3. In die Reaktionskammer 10 µL der entsprechenden Erythrozytensuspension zugeben.
4. Die Kassette innerhalb 15 Minuten in der entsprechenden Kartenzentrifuge mit der, für die Zentrifuge unveränderliche g-Zahl zentrifugieren.
5. Die Testergebnisse direkt nach Ende der Zentrifugation makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
6. Ergebnis protokollieren.

Mikrotiterplattenmethode

1. Eine 2-5%ige Erythrozytensuspensionen in isotonischer Kochsalzlösung vorbereiten. (Erythrozyten können vorab 1-3 Mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
2. In eine beschriftete Vertiefung 50 µL des entsprechenden Testserums geben.
3. In die Vertiefung 50 µL der entsprechenden Erythrozytensuspension zugeben.
4. Die Mikrotiterplatte auf einem Mikrotiterplatten-Schüttler für 30 Sekunden auf mittlerer Stufe schütteln.
5. Die Mikrotiterplatte in einer entsprechenden Mikrotiterplatten-Zentrifuge für 30 Sekunden bei 400 x g zentrifugieren.
6. Die Mikrotiterplatte auf dem Mikrotiterplatten-Schüttler für 30 Sekunden auf mittlerer Stufe kurz schütteln.
7. Die Testergebnisse direkt nach dem aufschütteln makroskopisch auf Agglutination unter-suchen.
8. Ergebnis protokollieren.
9. Die Tests mit negativen oder fraglichen Ergebnissen für eine Dauer von 5 bis 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
10. Die Schritte 5 bis 8 nach der Inkubation wiederholen.

INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

"Vorsichtiges Schwenken / Schütteln"
bei der Objektträgermethode / Röhrchen-Zentrifugationsmethode / Mikrotiterplatten Methode:

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 der Kartenmethode entsprechend der Gebrauchsinformation der jeweiligen Karte durchführen.

GRENZEN DER TESTMETHODEN

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 diesen Testseren zu unspezifischen Reaktionen führen.
4. Hämolysierte, trübe, kontaminierte oder geronnene Blutproben dürfen nicht eingesetzt werden.
5. Bei der Objektträgermethode 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 den oben aufgeführten Testseren zu einer schwächeren Reaktion kommen als mit Kontrollerythrozyten.
7. Einige Erythozyten können Rh-Varianten ausgebildet haben, die mit monoclonalen Antikörpern eines Klons möglicherweise nicht erkannt werden. Die Austestungen sollten / müssen mit mindestens zwei unterschiedlichen Klonen / Klongemischen durchgeführt werden, wie es in einigen Ländern vorgeschrieben ist. Bei abweichenden Testergebnissen müssen weitere Austestungen durchgeführt werden.
8. Kein einzelnes Testserum oder eine einzelne Methode kann garantieren alle seltenen oder schwachen Antigene und alle Varianten der Antigene zu detektieren [2].
9. Bei Erythrozyten, die mit Alloantikörpern oder Autoantikörpern derselben oder einer ähnlichen Spezifität wie das Testserum sensibilisiert sind (z.B. Erythrozyten positiv im direkten Antiglobulintest), sind für diese Austestungen ungeeignet.
10. Bei Erythrozyten, die stark mit Antikörpern beladen sind (Erythrozyten positiv im direkten Antiglobulintest), kann es in der Kartenmethode zu falsch-positiven Ergebnissen kommen. Diese Zellen reagieren auch ohne Testserum positiv.

➔

SD-nostik

Diagnostik -Vertrieb
Bastian Schneider & Anne-Christin Schneider GbR
Am Hohenstein 31
74889 Sinsheim / Germany
☏: +49 (0) 72 61 – 91 34 80

11. Angaben zu Grenzen in der Gebrauchsanweisung der eingesetzten Karte sind zu beachten.
12. Beim Mikrotiterplattentest sind alle negativen Ergebnisse mit Anti-e (Klone: MS-62, MS-69) in einer anderen Technik zu wiederholen, da es zu falsch negativen Ergebnissen kommen kann.
13. Neugeborenen-Blute sind für die Testmethode auf der Mikrotiterplatte ausgeschlossen.
14. Bei Neugeborenen-Bluten kann Anti-c (Klon: MS-33) Anti-I/i Kälteantikörper Aktivitäten zeigen und somit zu falsch positiven Ergebnissen führen.

LEISTUNGSDATEN

Eine Leistungsbewertung für die oben aufgeführten Produkte wurde entsprechend der Common Technical Specifications (CTS Entscheidung der Kommission vom 03. Februar 2009) durchgeführt.
Es wurde unterschiedliches Probenmaterial (Spender-, Patienten-, Neugeborenen-, Panelblute) eingesetzt und mit anderen Referenzmethoden / Produkten verglichen.

Produkt	Positive	Negative	Falsch Positive	Falsch Negative
Anti-C clones: MS-24, P3x25513G8	844	391	0	0
Anti-C clone: MS-273	844	391	0	0
Anti-c clone: MS-33	1005	230	0	0
Anti-c clone: MS-35	1005	230	0	0
Anti-E clones: MS-258, 906	327	908	0	0
Anti-E clones: MS-12, MS-260	327	908	0	0
Anti-e clones: MS-16, MS-21, MS-63	1217	18	0	0
Anti-e clones: MS-62, MS-69	1417	65	0	0 *

Die errechneten Werte betrugen für:

Produkt	Sensitivität	Spezifität
Anti-C clones: MS-24, P3x25513G8	100%	100%
Anti-C clone: MS-273	100%	100%
Anti-c clone: MS-33	100%	100%
Anti-c clone: MS-35	100%	100%
Anti-E clones: MS-258, 906	100%	100%
Anti-E clones: MS-12, MS-260	100%	100%
Anti-e clones: MS-16, MS-21, MS-63	100%	100%
Anti-e clones: MS-62, MS-69	100% *	100%

* für Anti-e (Klone MS-62, MS-69) wurden im Mikrotiterplattentest 42 Proben falsch negativ bewertet, so dass in dieser Technik die Sensitivität lediglich 97,12% betrug

LITERATUR

1. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blut-produkten (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.

REF Artikel-Nummer	LOT Charge
Lagerung von - bis	Verfallsdatum
IVD In-Vitro Diagnostikum	CE EG CE Symbol
Hersteller nach 98/79/EG	Gebrauchsinformation beachten
UDI Unique Device Identification	

REF

240305	Anti-C monoclonal, human IgM	clones:	MS-24, P3X25513G8	5 ml
240310	Anti-C monoclonal, human IgM	clones:	MS-24, P3X25513G8	10 ml
243305	Anti-C monoclonal, human IgM	clone:	MS-273	5 ml
243310	Anti-C monoclonal, human IgM	clone:	MS-273	10 ml
240405	Anti-c monoclonal, human IgM	clone:	MS-33	5 ml
240410	Anti-c monoclonal, human IgM	clone:	MS-33	10 ml
243405	Anti-c monoclonal, human IgM	clone:	MS-35	5 ml
243410	Anti-c monoclonal, human IgM	clone:	MS-35	10 ml
240505	Anti-E monoclonal, human IgM	clones:	MS-258, 906	5 ml
240510	Anti-E monoclonal, human IgM	clones:	MS-258, 906	10 ml
243505	Anti-E monoclonal, human IgM	clones:	MS-12, MS-260	5 ml
243510	Anti-E monoclonal, human IgM	clones:	MS-12, MS-260	10 ml
240605	Anti-e monoclonal, human IgM	clones:	MS-16, MS-21, MS-63	5 ml
240610	Anti-e monoclonal, human IgM	clones:	MS-16, MS-21, MS-63	10 ml
243605	Anti-e monoclonal, human IgM	clones:	MS-62, MS-69	5 ml
243610	Anti-e monoclonal, human IgM	clones:	MS-62, MS-69	10 ml

730-13-0518 Version 018 / 01.07.2021

CE 0483

ANTITOXIN GmbH Industriestraße 88 69245 Bammental Deutschland
+49 (0) 6223/ 8661-0 +49 (0) 6223/ 8661-13 qara@antitoxin-gmbh.de

SD-nostik
Diagnostik -Vertrieb
Bastian Schneider & Anne-Christin Schneider GbR
Am Hohenstein 31
74889 Sinsheim / Germany
☏: +49 (0) 72 61 – 91 34 80

Anti-C, Anti-c, Anti-E, Anti-e monoclonal, human IgM

English

For Slide-, Tube-, Card- and Microplate-Method
FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

INTENDED USE

Monoclonal agglutinating Anti-C, Anti-c, Anti-E and Anti-e reagents are produced from cell culture supernatants of heterohybridoma - cell lines. The cells are secreting an antibody of IgM-type that reacts specific with the respective corresponding blood group antigen. The antibody in each case is human protein. The reagents are used for In-Vitro-Diagnostic, to determine qualitative whether human red blood cells possess or lack the corresponding blood group antigens C, c, E, and e.
The reagents are intended to be used by qualified and technical personnel only.

PRINCIPLE OF PROCEDURE

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

REAGENT

The listed monoclonal, human IgM reagents are available in two different variations.
The differences depends only in the antibody-producing clones:

Anti-C	clones: MS-24, P3x25513G8	Anti-C	clone: MS-273
Anti-c	clone: MS-33	Anti-c	clone: MS-35
Anti-E	clones: MS-258, 906	Anti-E	clones: MS-12, MS-260
Anti-e	clones: MS-16, MS-21, MS-63	Anti-e	clones: MS-62, MS-69

These reagents contain <0.1% (w/v) sodium azide as preservative.
Additionally the reagents are prepared of active antibody, sodium chloride, macromolecules and bovine albumin, which has been tested and certified by the US Veterinay service inspectors.

WARNING

These reagents are prepared from supernatants of cell cultures. As biological products they 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, 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 reagents to indicated 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 mentioned above 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. Centrifugation outside the specified speed range may lead to false results.
   With the card method, 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. 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 the reagents mentioned above all effective national laws, directives and guidelines have to be observed, in Germany especially the „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestand-teilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)" [1] in its current version.
8. The information on the use of the test cards in the relevant insert must be observed.

SAMPLE PREPARATION

1. Blood sample 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 samples.
   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 reagents directly from the vials.

PROCEDURE

Not provided material, additionally needed

Slide Method:	glass slide; Pasteur pipette; mixing stick; timer;
Tube Centrifugation Method:	test tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm); microliter pipette; centrifuge; timer; isotonic saline (0,85 - 0,9% sodium chloride)
Card Method:	Cards: - BIO-RAD *(DiaMed)* „NaCl, Enzyme Test and cold Agglutinins" - Grifols „DG Gel Neutral"; - Ortho BioVue® System Reverse; test tubes; microliter pipette; timer; centrifuge; corresponding card centrifuge; card specific diluent; isotonic saline (0,85 - 0,9% sodium chloride)
Microplate Method:	microplate with 96 U-wells; microliter pipette; centrifuge; timer; microplate shaker; microplate centrifuge; isotonic saline (0,85 - 0,9% sodium chloride)

Test procedure

Slide Method

1. Use erythrocyte sediment only.
2. Place one drop (approximately 50 µL) of appropriate reagent on a marked glass slide.
3. Using a Pasteur pipette add one drop erythrocyte sediment (approximately 50 µL) to the drop of reagent on the glass slide.
4. Mix the erythrocytes with reagent 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 (red blood cells may be washed 1-3 times with isotonic saline).
2. At first put 100 µL of appropriate 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 Erythrocytes- / Reagent mixture 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 x g).
6. Gently shake the red cells completely from the bottom of the tube and check macroscopically for agglutination within 3 minutes.
7. Document the result.

Card Method (manual method / valid for the cards:
- BIO-RAD *(DiaMed)* „NaCl, Enzyme Test and cold Agglutinins"
- Grifols „DG Gel Neutral"

1. Prepare 0,8 % suspension 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 a marked micro tube.
3. Add 25 µL of appropriate reagent to the micro tube.
4. Centrifuge the card after latest 30 minutes in appropriate card centrifuge with the for this centrifuge unchangeable g-force.
5. Check macroscopically micro tube for agglutination within 30 minutes.
6. Document the result.

Ortho BioVue® System

1. Prepare 3-5 % suspension of red blood cells in isotonic saline (red blood cells may be washed 1-3 times with isotonic saline).
2. Add 40 µL of appropriate reagent to a marked reaction chamber.
3. Add 10 µL of appropriate cell suspension to the reaction chamber.
4. Centrifuge the cassette after latest 15 minutes in appropriate card centrifuge with the for this centrifuge unchangeable g-force.
5. The test results should be read macroscopically for agglutination directly after the end of centrifugation.
6. Document the result.

Microplate Method

1. Prepare 2-5% suspension of red blood cells in isotonic saline (red blood cells may be washed 1-3 times with isotonic saline).
2. Add 50 µL of appropriate reagent to a marked well.
3. Add 50 µL of appropriate cell suspension to the well.
4. To mix both shake microplate for 30 seconds on microplate-shaker with medium speed.
5. Centrifugate microplate in appropriate microplate-centrifuge for 30 seconds at 400 x g.
6. Shake microplate for 30 seconds on a microplate shaker with medium speed.
7. Evaluated macroscopically for agglutination directly after centrifugation.
8. Document the result.
9. Tests with negative or doubtful results have to be incubated for 5 to 10 minutes at room temperature.
10. Repeat steps 5 to 8 after incubation at room temperature.

INTERPRETATION OF RESULTS

"Slightly rotating / shaking"
at Slide Method / at Tube Centrifugation Method / Microplate Method:

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 according to the instruction for use of the corresponding card.

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 samples should not be used.
5. With the slide method, unspecific reactions might appear due to drying of the reaction-formation or if the slide is heated.
6. Due to variability of antigen expression, reactivity of the reagents mentioned above against certain phenotypes may give weaker reactivity compared to control cells.
7. Some red blood cells may have developed Rh variants that may not be recognized with monoclonal antibodies of a clone. Therefore the tests should / have to be carried out with at least two different clones / cloning mixtures as required in some countries. Deviating test results require further testing.
8. No one specific antiserum or technique can be guaranteed to detect all rare, weak or variant antigens [2].
9. Red blood cells coated with alloantibodies or autoantibodies of the same or similar specificity as the reagent (i.e., cells that are positive in the direct antiglobulin-test (DAT)) are not suitable for this test procedure.
10. Red blood cells coated with antibodies (cells that are positive in the direct antiglobulin-test (DAT)) may give false-positive results in card method. These cells react positive without testserum too.

➔

SD-nostik
Diagnostik -Vertrieb
Bastian Schneider & Anne-Christin Schneider GbR
Am Hohenstein 31
74889 Sinsheim / Germany
☏: +49 (0) 72 61 – 91 34 80

11. Pay attention to all statements to limitations in the instruction for use of the cards.
12. Negative test results with anti-e (clones: MS-62, MS-69) in the microplate method has to be confirmed with another technique, as false negative results may occur.
13. Do not use blood of newborn on microplates.
14. With blood of newborn anti-c (clone: MS-33) may possess anti-I/i cold agglutinin activity and therefore show false positive results.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

In compliance with Common Technical Specifications (CTS Commission Decision of 03. February 2009) a performance evaluation was conducted. Different samples (donor, patient, neonates-, panel blood) was used and compared with other reference methods / products.

Product	Positive	Negative	False Positive	False Negative
Anti-C clones: MS-24, P3x25513G8	844	391	0	0
Anti-C clone: MS-273	844	391	0	0
Anti-c clone: MS-33	1005	230	0	0
Anti-c clone: MS-35	1005	230	0	0
Anti-E clones: MS-258, 906	327	908	0	0
Anti-E clones: MS-12, MS-260	327	908	0	0
Anti-e clones: MS-16, MS-21, MS-63	1217	18	0	0
Anti-e clones: MS-62, MS-69	1417	65	0	0 *

The calculated values found for:

Product	Sensitivity	Specificity
Anti-C clones: MS-24, P3x25513G8	100%	100%
Anti-C clone: MS-273	100%	100%
Anti-c clone: MS-33	100%	100%
Anti-c clone: MS-35	100%	100%
Anti-E clones: MS-258, 906	100%	100%
Anti-E clones: MS-12, MS-260	100%	100%
Anti-e clones: MS-16, MS-21, MS-63	100%	100%
Anti-e clones: MS-62, MS-69	100% *	100%

* for Anti-e (clones MS-62, MS-69) in microplate method 42 samples were tested false negative, so in this method sensitivity was 97,12% only

LITERATURE

1. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blut-produkten (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.

REF Product Code	LOT Batch
Store from - to	Expiration Date
IVD In-Vitro Diagnostic	CE EU CE symbol
Manufacturer according to 98/79/EG	Consult instructions for use
UDI Unique Device Identification	

REF

240305	Anti-C monoclonal, human IgM	clones:	MS-24, P3X25513G8	5 ml
240310	Anti-C monoclonal, human IgM	clones:	MS-24, P3X25513G8	10 ml
243305	Anti-C monoclonal, human IgM	clone:	MS-273	5 ml
243310	Anti-C monoclonal, human IgM	clone:	MS-273	10 ml
240405	Anti-c monoclonal, human IgM	clone:	MS-33	5 ml
240410	Anti-c monoclonal, human IgM	clone:	MS-33	10 ml
243405	Anti-c monoclonal, human IgM	clone:	MS-35	5 ml
243410	Anti-c monoclonal, human IgM	clone:	MS-35	10 ml
240505	Anti-E monoclonal, human IgM	clones:	MS-258, 906	5 ml
240510	Anti-E monoclonal, human IgM	clones:	MS-258, 906	10 ml
243505	Anti-E monoclonal, human IgM	clones:	MS-12, MS-260	5 ml
243510	Anti-E monoclonal, human IgM	clones:	MS-12, MS-260	10 ml
240605	Anti-e monoclonal, human IgM	clones:	MS-16, MS-21, MS-63	5 ml
240610	Anti-e monoclonal, human IgM	clones:	MS-16, MS-21, MS-63	10 ml
243605	Anti-e monoclonal, human IgM	clones:	MS-62, MS-69	5 ml
243610	Anti-e monoclonal, human IgM	clones:	MS-62, MS-69	10 ml

730-13-0518 Version 018 / 01.07.2021

CE 0483

ANTITOXIN GmbH Industriestraße 88 69245 Bammental Germany
+49 (0) 6223/ 8661-0 +49 (0) 6223/ 8661-13 qara@antitoxin-gmbh.de

SD-nostik
Diagnostik -Vertrieb
Bastian Schneider & Anne-Christin Schneider GbR
Am Hohenstein 31
74889 Sinsheim / Germany
☏: +49 (0) 72 61 – 91 34 80