

Anti-D blend monoclonal, human IgG + IgM

Deutsch

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

ZWECKBESTIMMUNG

Das monoklonale Anti-D blend Testserum wird aus Zellkulturüberständen von Hetero-Hybridoma-Zelllinien gewonnen, die Antikörper vom IgG- bzw. IgM-Typus sezernieren, die spezifisch gegen das korrespondierende Blutgruppenantigen gerichtet sind. Der Antikörper ist jeweils humanes Protein. Das Testserum wird zum qualitativen In-Vitro Nachweis des Vorhandenseins oder Fehlens des Blutgruppenantigens D auf menschlichen Erythrozyten verwendet. Dieses Testserum reagiert mit dem IgM-Antikörper negativ und mit dem IgG-Antikörper im indirekten Coombs-Test positiv mit Blutproben der Kategorie D^{VI}. Die Anwendung dieses Testserums ist nur für qualifiziertes und geschultes Fachpersonal vorgesehen.

PRINZIP DES VERFAHRENS

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

TESTSEREN

Das aufgeführte Blutgruppentestserum enthält Antikörper der folgenden Klone:

Anti-D blend monoclonal, human IgG+IgM clones: MS-26, TH-28

Dieses Testserum enthält als Konservierungsmittel <0.1% (w/v) Natriumazid. Außer dem aktiven Antikörperbestandteil beinhaltet das Testserum Natriumchlorid, hochmolekulare Verbindungen und Rinderalbumin, das durch die US Veterinär service Inspektoren überprüft und zertifiziert wurde.

WARNUNG

Dieses 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 dieses Testserum 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.
- Unschärfeliche Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit des Produktes.
- Die Reaktionsfähigkeit des Testserums wird durch leichte Trübung nicht beeinträchtigt. Eine bakterielle und chemische Kontamination 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.
- Zentrifugieren außerhalb des angegebenen Drehzahl-Bereiches kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Bei der Kartenmethode kann der Einsatz einer anderen kartenspezifischen Zentrifuge (jede Kartenzentrifuge hat seine festgelegte unveränderliche g-Zahl) auf Grund der dadurch veränderten g-Zahl zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- 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.
- Bei der Anwendung dieses 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.
- Dieses Testserum reagiert mit dem IgM-Antikörper negativ und mit dem IgG-Antikörper im indirekten Coombs-Test positiv mit Blutproben der Kategorie D^{VI}.
- 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 geprüf 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 Testserum wird direkt aus dem 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); Mikrotiterpipette; Kurzzeitwecker; Brutschrank; Zentrifuge; isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid); Anti-Human-Globulin-Serum (Coombs-Serum / AHG-Serum)
Kartenmethode:	Karten: - BIO-RAD (<i>DiaMed</i>) „NaCl, Enzyme Test and cold Agglutinins“ - BIO-RAD (<i>DiaMed</i>) LISS/Coombs - Grifols „DG Gel Neutral“ - Grifols „DG Gel Coombs“ Röhrchen; Mikrotiterpipette; Zentrifuge; Kurzzeitwecker; entsprechende Kartenzentrifuge; Karten-Inkubator kartenspezifisches Verdünnungsmittel; isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)
Mikrotiterplatten Methode:	Mikrotiterplatte mit 96 U-Vertiefungen; Mikrotiterpipette; Zentrifuge; Kurzzeitwecker; Mikrotiterplatten-Schüttler; Mikrotiterplatten -Zentrifuge; isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)

Testdurchführung

Objektträgermethode

- Nur Erythrozytensediment verwenden.
- Auf einen beschrifteten Objektträger einen Tropfen (ca. 50 µL) des Testserums auftropfen.
- Zu dem Tropfen Testserum auf dem Objektträger einen Tropfen (ca. 50 µL) Erythrozytensediment mit einer Pasteurpipette geben.
- Die Erythrozyten-/Testserummischung mit einem Rührstäbchen gut vermischen und zu einem Kreis von ca. 2 cm Durchmesser ausbreiten.
- Bei leichtem Schwenken des Objektträgers innerhalb einer Minute auf Agglutination prüfen (Reaktionsbeginn nach Sekunden).
- Ergebnis protokollieren.

Röhrchen-Zentrifugationsmethode

- Eine 2-5%ige Erythrozytensuspension in isotonischer Kochsalzlösung vorbereiten. (Erythrozyten können vorab 1-3 Mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
- 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.
- Die Erythrozyten-/Testserummischung durch leichtes Schütteln mischen
- Teströhrchen 1-15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
- Teströhrchen 1 Minute bei 2.000 U/min (ca. 800-1.000 x g) zentrifugieren.
- Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig vom Röhrchenboden lösen und innerhalb 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
- Ergebnis protokollieren.

Bei negativen Ergebnissen Weiterführung zum Indirekten Coombs-Test

- Schritte 1. bis 3. neu durchführen oder nach dem Ablesen des Ergebnisses direkt fortfahren.
- Teströhrchen 30 Minuten bei +37 °C inkubieren.
- Die Erythrozyten dreimal mit (kalter) isotonischer Kochsalzlösung waschen.
- Zu dem Teströhrchen 100 µL Anti-Human-Globulin-Serum (Coombs-Serum / AHG-Serum) geben, durch leichtes schütteln den Zellknopf vom Röhrchenboden lösen und mit dem Coombs-Serum / AHG-Serum mischen.
- Teströhrchen 1 Minute bei 1.000 U/min (ca. 180-270 x g) zentrifugieren.
- Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig vom Röhrchenboden lösen und innerhalb 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
- Ergebnis protokollieren.

Kartenmethode (manuelle Methode / gültig für die Karten:

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

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

Bei negativen Ergebnissen weitere Austestung mit der Coombs-Karte (indirekter Coombs-Test)

(manuelle Methode / gültig für die Karten:

- BIO-RAD (*DiaMed*) "LISS/Coombs "
- Grifols „DG Gel Coombs“)

- Eine 0,8%ige Erythrozytensuspension in kartenspezifischem Verdünnungsmedium vorbereiten (Erythrozyten können vorab 1-3 Mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
- In ein beschriftete Mikroröhrchen 50 µL der entsprechenden Erythrozytensuspension geben.
- In das Mikroröhrchen 25 µL des Testserums zugeben.
- Die Karte 15 Minuten bei +37 °C inkubieren.
- Die Karte in der jeweils entsprechenden Kartenzentrifuge mit der, für die Zentrifuge unveränderlichen g-Zahl zentrifugieren.
- Innerhalb von 30 Minuten Mikroröhrchen makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
- Ergebnis protokollieren.

Mikrotiterplattenmethode

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



OPTIMA TESTSEREN

Industriestraße 88
69245 Bammental, Deutschland
☎ 06223-97 22 59 / 0800 23 24 536

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 mit diesem Testserum zu unspezifischen Reaktionen führen.
- Hämolyisierte, trübe, kontaminierte oder geronnene Blutproben dürfen nicht eingesetzt werden.
- Beim Objektträgertest können unspezifische Reaktionen beim Eintrocknen des Reaktionsansatzes bzw. beim Erwärmen des Objektträgers auftreten.
- Beim Objektträgerest werden die meisten schwachen D-Antigene (D^{weak}) und Kategorie Blute nicht angezeigt.
- Dieses Testserum reagiert negativ mit Bluten der Kategorie D^{VI} im agglutinierenden Ansatz und positiv im indirekten Coombs-Test.
- Aufgrund der unterschiedlichen Ausprägung der Antigene kann es bei bestimmten Phänotypen mit diesem Testserum zu einer schwächeren Reaktion kommen als mit Kontrollerythrozyten.
- Kein einzelnes Testserum oder eine einzelne Methode kann garantieren alle seltenen oder schwachen Antigene und alle Varianten der Antigene zu detektieren.²
- 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 die Austestung ungeeignet.
- Bei Erythrozyten, die stark mit Antikörpern beladen sind (Erythrozyten positiv im direkten Antiglobulintest), kann es im Kartentest zu falsch-positiven Ergebnissen kommen. Diese Zellen reagieren auch ohne Testserum positiv.
- 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
- Angaben zu Grenzen in der Gebrauchsanweisung der eingesetzten Karte sind zu beachten.
- Bei Verwendung von Produkten aus 1 L Flaschen ist der Inhalt innerhalb 6 Monaten nach dem ersten Öffnen der Flasche zu verbrauchen.

LEITUNGSDATEN

Eine Leistungsbewertung für dieses Produkt 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- D blend	2164	590	0	0*

Die errechneten Werte betragen für:

Produkt	Sensitivität	Spezifität
Anti- D blend	100%*	100%

* für Anti-D blend monoclonal, human IgG+IgM, clones: MS-26, TH-28 wurden im Objektträgerest 4 D^{weak}-Proben falsch negativ bewertet, sodass in dieser Technik die Sensitivität lediglich 99,82% betrug.

LITERATUR

- Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)
- CLSI, I/LA33-A Validatin 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, fourth 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

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

317110 Anti-D blend monoclonal, human IgG+IgM clones: MS-26, TH-28 10 ml

CE 0483

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

730-13-2412 Version 012 / 01.07.2021

Erklärung der Mini-Gebrauchsinformation (für den Röhren-Technik) auf dem Fläschchenetikett:

Anti-D blend <i>monoclonal, human IgG+IgM</i> <i>(clones: MS-26, TH-28)</i>	CE 0483 10 ml Art.-Nr.: 317110 Lot: XX3171 Verw. bis: 20XX-XX-XX	Röhren-Technik 15-30°C 2 - 5% 1S + 1E 1 - 15 Min. 800-1000g 1 Min.	Testdurchführung 15-30° C = Temperaturangabe für die Inkubation 2 - 5% = Stärke der Erythrozytensuspension 1S + 1E = 1 Tropfen Serum und 1 Tropfen Erythrozytensuspension 1 - 15 Min. = Inkubationsdauer in Minuten 800-1000g = Zentrifugalkraft 1 Min. = Zentrifugationszeit
	Zu lagern bei 2-8° C In vitro Diagnostikum		

OPTIMA TESTSEREN
 Antitoxin GmbH, Industriestr. 88
 69245 Bammental

OPTIMA TESTSEREN

Industriestraße 88
 69245 Bammental, Deutschland
 06223-97 22 59 / 0800 23 24 536