

GEBRAUCHSINFORMATION

Anti-C, -c, -E, -e, -Kell monoklonal (IgM) **CE 0123**

Anti-C^w monoklonal (IgM) **CE**

Klone:

Anti-C:	MS24	MS273
Anti-C^w:	MS110	
Anti-c:	MS33	c1.16C.15A
Anti-E:	MS258	E1.16C.10F
Anti-e:	MS62/69	MS16/21/63
Anti-Kell:	MS56	K1.1.21HM.EF

IN VITRO DIAGNOSTIKA

1. Produktbeschreibung

Anti-C, -C^w, -c, -E, -e, -Kell monoklonal (IgM) werden aus monoklonalen humanen IgM-Antikörpern hergestellt. Die Klonbezeichnungen sind auf den Etiketten der Testreagenzien angegeben.

Anti-C, -C^w, -c, -E, -e, -Kell monoklonal (IgM) dienen zum Nachweis der korrespondierenden Antigene auf Erythrozyten und sind für den Röhrchentest und Plattentest geeignet.

Zur Stabilisierung enthalten die Testreagenzien Rinderalbumin und hochmolekulare Substanzen. Als Konservierungsmittel ist den Testreagenzien < 0,1% NaN₃ zugesetzt.

Die Reaktivität jedes Lots wird mit den angegebenen Testmethoden mit verschiedenen Erythrozytensuspensionen, die positiv für das jeweilige korrespondierende Antigen sind, überprüft. Der auf den Etiketten der Testreagenzien angegebene Titer wird im Röhrchentest mit Erythrozytensuspensionen, die in Bezug auf das jeweilige korrespondierende Merkmal positiv und heterozygot sind, ermittelt. Die Spezifität jedes Lots wird im Röhrchentest mit einem Panel von Erythrozyten überprüft, die negativ für das jeweilige korrespondierende Antigen sind.

2. Testprinzip

Die angegebenen Testmethoden beruhen auf dem Prinzip der Haemagglutination. Nach Zugabe von Erythrozyten zu den monoklonalen Testreagenzien findet eine spezifische Antigen-Antikörper-Reaktion statt, wenn das korrespondierende Antigen auf den Erythrozyten vorhanden ist. Diese Reaktion ist optisch durch die Agglutination der Erythrozyten erkennbar. Wenn keine Agglutination stattfindet, zeigt dies ein negatives Ergebnis an und weist unter Berücksichtigung der Einschränkungen der Testmethode auf die Abwesenheit des korrespondierenden Antigens hin.

3. Lagerung und Haltbarkeit

Die Testreagenzien bei 2...8°C lagern. Die Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18...25°C) erwärmen lassen und unmittelbar nach dem Gebrauch wieder bei 2...8°C lagern.

Die Testreagenzien sind bei Einhaltung der angegebenen Lagerbedingungen nach dem ersten Öffnen bis zum auf dem Etikett angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. Die Reagenzien nicht nach Ablauf des auf dem Etikett angegebenen Haltbarkeitsdatums benutzen.

4. Probenvorbereitung

Die Blutproben sollten entsprechend den üblichen medizinischen Verfahren entnommen werden. Blutproben mit und ohne Antikoagulanzen (EDTA, Heparin, Citrat) sind für die Testung geeignet. Keine hämolytischen Proben verwenden! Die Testung sollte wenn möglich ohne zeitliche Verzögerung stattfinden.

Durch eine zu lange Lagerung der Erythrozyten vor der Testung können sich die Erythrozytenantigene verändern, was abgeschwächte Reaktionen zur Folge haben kann (s. 9. Wichtige Hinweise/Grenzen der Methode).

5. Zusätzlich benötigte Materialien

Isotonische NaCl-Lösung
Testplatten für die Blutgruppenbestimmung
Reagenzgläser (75 x 12 mm)
Einweg-Pasteur-Pipetten
Zentrifuge

6. Testdurchführung

Plattentest

1. Von den zu untersuchenden Erythrozyten eine ca. 10%ige Suspension in isotonischer NaCl-Lösung herstellen.
2. Auf einer Testplatte 1 Tropfen Testreagenz und 1 Tropfen der Erythrozytensuspension mischen.
3. 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
4. Unter vorsichtigem Rotieren der Platte makroskopisch auf Agglutination prüfen.

Röhrchentest

1. Von den zu untersuchenden Erythrozyten eine ca. 3 - 5%ige Suspension in isotonischer NaCl-Lösung herstellen.
2. 1 Tropfen Testreagenz und 1 Tropfen der Erythrozytensuspension in einem beschrifteten Röhrchen mischen und 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
3. 1 Minute bei 150 x g (1000 UpM) oder 20 Sekunden bei 1000 x g (3000 UpM) zentrifugieren.
4. Unter vorsichtigem Aufschütteln des Röhrchens makroskopisch auf Agglutination prüfen.
5. Bei schwachem oder zweifelhaftem Befund das Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
6. 1 Minute bei 150 x g (1000 UpM) oder 20 Sekunden bei 1000 x g (3000 UpM) zentrifugieren.
7. Unter vorsichtigem Aufschütteln des Röhrchens erneut makroskopisch auf Agglutination prüfen.

Anmerkungen: Den Test nicht mikroskopisch auswerten.

Erythrozyten, die in Bezug auf das jeweilige Merkmal positiv sind (bevorzugt heterozygote Zellen), und Erythrozyten, die in Bezug auf das jeweilige Merkmal negativ sind, sowie die Rh-Kontrolle für monoklonale Testreagenzien und eine Eigenkontrolle zur Prüfung auf Autoagglutination sind zur Kontrolle mitzuführen.

Die Bestimmung der Antigene sollte mit mindestens 2 verschiedenen Testreagenzien durchgeführt werden. Bei Verwendung von zwei monoklonalen Testreagenzien sollten zwei verschiedene Klone eingesetzt werden.

7. Interpretation der Ergebnisse

Eine Agglutination der Erythrozyten mit dem Testreagenz zeigt das Vorhandensein des korrespondierenden Antigens an.

Findet keine Agglutination der Erythrozyten mit dem Testreagenz statt, weist dies auf die Abwesenheit des korrespondierenden Antigens hin.

Tritt mit der bekannt positiven Erythrozytensuspension keine Agglutination auf oder findet mit der bekannt negativen Erythrozytensuspension oder der Rh-Kontrolle für monoklonale Testreagenzien oder der Eigenkontrolle eine Agglutination statt, kann das Testergebnis nicht gewertet werden.

Treten bei der Bestimmung des Antigens mit zwei verschiedenen Testreagenzien diskrepante Ergebnisse auf, muss die Bestimmung mit einer anderen Testmethode und/oder einem weiteren Testreagenz wiederholt werden.

Bei der Interpretation der Ergebnisse müssen die Grenzen der Methode (s. 9. Wichtige Hinweise/Grenzen der Methode) beachtet werden.

8. Stabilität der Reaktionen

Alle Testergebnisse müssen unmittelbar nach Beendigung der Testdurchführung beurteilt werden.

9. Wichtige Hinweise/Grenzen der Methode

1. Die Testreagenzien sind nur für den in vitro diagnostischen Gebrauch geeignet und dürfen nur von geschultem Fachpersonal eingesetzt werden.
2. In seltenen Fällen kann es bei in vivo mit Immunglobulinen beladenen Erythrozyten zu spontanen und nicht spezifischen Agglutinationen kommen. Das gleiche Phänomen tritt dann aber meistens auch bei der Bestimmung des ABO-Systems und anderen Blutgruppen-Systemen auf. Als Kontrolle sollte deshalb immer die Rh-Kontrolle für monoklonale Testreagenzien und autologes Patientenserum mitgeführt werden. Zeigen die Kontrollteste auch eine positive Reaktion, kann das Ergebnis der Blutgruppenbestimmung nicht interpretiert werden.
3. Suspensionen von ungewaschenen Erythrozyten in Plasma oder Serum fördern falsch positive Reaktionen wie solche die mit Geldrollenbildung oder Autoantikörpern assoziiert sind. Der Einsatz von gut gewaschenen Erythrozyten kann das Auftreten solch falsch positiver Reaktionen vermindern.
4. Eine zu späte Ablesung der Tests, ein zu starkes Aufschütteln des Erythrozytensediments und andere Abweichungen von der angegebenen Testdurchführung können zu schwächeren oder falsch negativen Ergebnissen führen.
5. Die Testreagenzien sollten nicht für die Testung von Enzym-behandelten Erythrozyten eingesetzt werden.
6. Hämolytische Proben sollten nicht verwendet werden.
7. Um falsch positive Reaktionen zu vermeiden, sollten die Reagenzien nicht zu kalt sein, wenn sie für Testungen benutzt werden. Die Reagenzien und die zu untersuchenden Erythrozyten sowie die Kontrollmaterialien sollten vor der Testdurchführung Raumtemperatur erreicht haben.
8. Falsch negative oder unerwartet schwache Reaktionen können auch durch zu lange Lagerung und/oder ungeeignete Lagerbedingungen der Erythrozyten verursacht werden.
9. Ungeeignete Techniken, falsche Zentrifugation oder Inkubation, unsaubere Röhrchen oder Testplatten, falscher pH-Wert der isotonischen NaCl-Lösung und/oder kontaminierte Materialien und Proben können zu falsch negativen oder falsch positiven Ergebnissen führen.
10. Eine mikrobielle Kontamination der Testreagenzien unbedingt vermeiden, weil dies die Haltbarkeit des Produkts verkürzen und zu falschen Ergebnissen führen kann. Die Testreagenzien deshalb nicht mehr benutzen, wenn eine Trübung oder andere sichtbare Veränderungen festgestellt werden. Dies kann auf eine mikrobielle Kontamination hinweisen.
11. Bei der Interpretation der Ergebnisse sollte immer berücksichtigt werden, ob Transfusionen oder Transplantationen stattgefunden haben. Die Transfusions- und/oder Transplantationsanamnese, aber auch die Medikamentenanamnese, sollte zur Interpretation herangezogen werden.
12. Einige Erythrozyten können nur schwache Antigene oder Rh-Varianten exprimiert haben, die eine entsprechend schwächere Reaktion, im Plattentest auch keine Reaktion, mit den Testreagenzien zeigen. Eine weitere Abklärung und Spezifizierung der Befunde kann mit **BAGene** (SSP-Kits zur Bestimmung der RH-Eigenschaften auf molekulargenetischer Basis) erfolgen.
13. Der Klon MS62/69 reagiert nicht mit einigen seltenen e-Varianten. Der Klon MS16/21/63 zeigt dagegen mit diesen e-Varianten eine zwar etwas schwächere, aber eindeutig positive Reaktion. Es wird daher empfohlen, für die Bestimmung des Merkmals e beide Klone einzusetzen. Reagiert Klon MS62/69 negativ und Klon MS16/21/63 positiv, weist dies auf eine seltene e-Variante hin.
14. Die Klone MS24 und MS273 erfassen C^w und C^x und können schwächere Reaktionen mit C-Antigenen von Individuen des Typs R₂R_z zeigen. Es liegen Berichte vor, dass der Klon MS24 Erythrozyten des sehr seltenen Rh-Typs rG nicht agglutiniert, der Klon MS273 dagegen Agglutination mit dem Typ rG zeigt.
15. Klon E1.16C.10F erkennt E^w, E^{weak} und andere seltene E-Varianten nicht. Klon MS258 reagiert mit dem E^w-Antigen. Es wird daher empfohlen, für die Bestimmung des Merkmals E beide Klone einzusetzen. Reagiert Klon E1.16C.10F negativ und Klon MS258 positiv, weist dies auf E^w oder eine andere seltene E-Variante hin.

10. Leistungsdaten

Anti-C, Klon MS24, und Anti-C, Klon MS273

285 Proben von Blutspendern, -empfängern und Neugeborenen wurden mit dem BAG-Anti-C-Testreagenz, Klon MS24 und einem monoklonalen Anti-C-Testreagenz eines anderen Herstellers im Röhrchen- und Plattentest getestet (s. Tabelle 1). Alle Testungen ergaben für das BAG-Testreagenz eine 100%ige Übereinstimmung mit dem Vergleichsreagenz.

374 Proben von Blutspendern, -empfängern und Neugeborenen wurden mit dem BAG-Anti-C-Testreagenz, Klon MS273, im Vergleich mit dem Testreagenz Anti-C monoklonal, Klon MS24, im Röhrchen- und Plattentest getestet (s. Tabelle 1). Alle Testungen ergaben eine 100%ige Übereinstimmung mit dem Vergleichsreagenz.

Die Klone MS24 und MS273 erfassen C^w und C^x und können schwächere Reaktionen mit C-Antigenen von Individuen des Typs R₂R_Z zeigen. Es liegen Berichte vor, dass der Klon MS24 Erythrozyten des sehr seltenen Rh-Typs rG nicht agglutiniert, der Klon MS273 dagegen Agglutination mit dem Typ rG zeigt.

Anti-C^w, Klon MS110

105 Proben von Blutspendern, -empfängern und Neugeborenen wurden mit dem BAG-Anti-C^w-Testreagenz, Klon MS110, und einem monoklonalen Anti-C^w-Testreagenz eines anderen Herstellers im Röhrchen- und Plattentest getestet (s. Tabelle 1). Alle Testungen ergaben für das BAG-Testreagenz eine 100%ige Übereinstimmung mit dem Vergleichsreagenz.

Anti-c, Klon MS33, und Anti-c, Klon c1.16C.15A

304 Proben von Blutspendern, -empfängern und Neugeborenen wurden mit den beiden BAG-Anti-c-Testreagenzien, Klon MS33 und Klon c1.16C.15A, und einem monoklonalen Anti-c-Testreagenz eines anderen Herstellers im Röhrchen- und Plattentest getestet (s. Tabelle 2). Alle Testungen ergaben für die BAG-Testreagenzien eine 100%ige Übereinstimmung mit dem Vergleichsreagenz.

Anti-E, Klon E1.16C.10F, und Anti-E, Klon MS258

294 Proben von Blutspendern, -empfängern und Neugeborenen wurden mit dem BAG-Anti-E-Testreagenz, Klon MS258, und einem monoklonalen Anti-E-Testreagenz eines anderen Herstellers im Röhrchen- und Plattentest getestet (s. Tabelle 2). Alle Testungen ergaben für das BAG-Testreagenz eine 100%ige Übereinstimmung mit dem Vergleichsreagenz.

299 Proben von Blutspendern, -empfängern und Neugeborenen wurden mit dem BAG-Anti-E-Testreagenz, Klon E1.16C.10F, und monoklonalen Anti-E-Testreagenzien von anderen Herstellern im Röhrchen- und Plattentest getestet (s. Tabelle 2). 5 Proben, die als E^w, E^{weak} und E-Variante charakterisiert waren, reagierten negativ mit dem BAG-Testreagenz, das Vergleichsreagenz reagierte mit den E^{weak}-Zellen ebenfalls negativ. Bei allen anderen Proben zeigten sich identische Ergebnisse mit den BAG-Testreagenzien und den Vergleichsreagenzien.

Klon E1.16C.10F erkennt E^w, E^{weak} und andere seltene E-Varianten nicht. Klon MS258 reagiert mit dem E^w-Antigen.

Anti-e, Klon MS16/21/63, und Anti-e, Klon MS62/69

263 Proben von Blutspendern, -empfängern und Neugeborenen wurden mit den beiden BAG-Anti-e-Testreagenzien, Klon MS16/21/63 und Klon MS62/69, und einem monoklonalen Anti-e-Testreagenz eines anderen Herstellers im Röhrchen- und Plattentest getestet (s. Tabelle 2). Eine Probe reagierte im Röhrchentest mit dem Vergleichsreagenz negativ und mit den beiden BAG-Testreagenzien eindeutig positiv. Von dem Spender dieser Probe war aufgrund früherer Untersuchungen mit verschiedenen Testreagenzien bekannt, dass er das Blutgruppenmerkmal e aufweist. Bei allen anderen Proben zeigten sich identische Ergebnisse mit den BAG-Testreagenzien und dem Vergleichsreagenz.

Der Klon MS62/69 reagiert nicht mit einigen seltenen e-Varianten. Der Klon MS16/21/63 zeigt dagegen mit diesen e-Varianten eine zwar etwas schwächere aber eindeutig positive Reaktion.

Anti-Kell, Klon MS56, und Anti-Kell, Klon K1.1.21HM.EF

267 Proben von Blutspendern, -empfängern und Neugeborenen wurden mit den beiden BAG-Anti-Kell-Testreagenzien, Klon MS56 und Klon K1.1.21HM.EF, und einem monoklonalen Anti-Kell-Testreagenz eines anderen Herstellers im Röhrchen- und Plattentest getestet (s. Tabelle 1). 6 Proben reagierten im Plattentest mit den BAG-Testreagenzien positiv (1+ bis 2+) und mit dem Vergleichsreagenz negativ. Im Röhrchentest konnten alle 6 Proben sowohl mit den BAG-Testreagenzien als auch mit dem Vergleichsreagenz eindeutig als Kell-positiv bestimmt werden. Bei allen anderen Proben zeigten sich identische Ergebnisse mit den BAG-Testreagenzien und dem Vergleichsreagenz.

Tabelle 1	Anti-C		Anti-C ^w	Anti-Kell	
	MS24	MS273	MS110	MS56	K1.1.21HM.EF
Getestete Proben	285	374	105	267	267
davon:					
Positiv für das korrespondierende Antigen	208	242	5	18	18
Negativ für das korrespondierende Antigen	77	132	100	249	249
EDTA-Blute	76	14	20	76	76
Heparin-Blute	58	270	0	58	58
Citrat-Blute	123	79	83	102	102
Blute der Blutgruppen A, B und AB	123	194	57	123	123
Blutspender	217	302	236	199	199
Klinische Proben	50	39	20	50	50
Neugeborene	14	22	6	18	18

Tabelle 2	Anti-c		Anti-E		Anti-e	
	MS33	c1.16C.15A	MS258	E1.16C.10F	MS62/69	MS16/21/63
Getestete Proben	304	304	294	299	263	263
davon:						
Positiv für das korrespondierende Antigen	251	251	87	87	256	256
Negativ für das korrespondierende Antigen	53	53	207	212	7	7
EDTA-Blute	76	76	86	86	76	76
Heparin-Blute	67	67	58	58	58	58
Citrat-Blute	93	93	82	82	101	101
Blute der Blutgruppen A, B und AB	151	151	143	143	121	121
Blutspender	236	236	226	226	195	195
Klinische Proben	50	50	50	50	50	50
Neugeborene	18	18	18	18	18	18

BAG-Testreagenzien im OrthoBioVue™-System

Proben von Blutspendern, -empfängern und Neugeborenen wurden mit den BAG-Testreagenzien im OrthoBioVue™-System getestet. Die Testreagenzien wurden mit Hilfe des AutoVue™-Automaten in eine BioVue™-Leerkassette (Reverse Diluent-Kassette) pipettiert und im Vergleich mit den in der BioVue™ Rh-Untergruppen/Kell-Kassette vorliegenden monoklonalen Testreagenzien getestet. Die Ergebnisse aller Testungen zeigten für die BAG-Testreagenzien eine 100%ige Übereinstimmung mit den in der BioVue™ Rh-Untergruppen/Kell-Kassette vorliegenden monoklonalen Testreagenzien (Testreagenzien und Probenanzahl s. Tabelle 3).

Außerdem wurden 241 Proben von Blutspendern, -empfängern und Neugeborenen von der Fa. Ortho Clinical Diagnostics mit dem BAG-Anti-Kell-Testreagenz, Klon K1.1.21HM.EF, im OrthoBioVue™-System getestet. Zum Vergleich wurden die Proben mit einem Gelkartensystem eines anderen Herstellers getestet. Eine Probe reagierte mit dem BAG-Testreagenz im OrthoBioVue™-System nicht eindeutig. Da für eine Testwiederholung kein Probenmaterial mehr zur Verfügung stand, konnte keine eindeutige Bestimmung erfolgen. Bei allen anderen Proben zeigten sich identische Ergebnisse mit dem BAG-Testreagenz im Ortho BioVue™-System und dem Vergleichssystem.

Tabelle 3	Anti-C		Anti-c		Anti-E		Anti-e		Anti-Kell	
	MS 24	MS 273	MS 33	c1. 16C. 15A	E1. 16C. 10F	MS 258	MS 16 21 63	MS 62 69	K1.1. 21 HM. EF	MS 56
Getestete Proben	135	146	135	122	135	122	135	122	135	122
davon:										
Positiv für das korrespondierende Antigen	80	104	111	99	40	34	130	117	11	10
Negativ für das korrespondierende Antigen	55	42	24	23	95	88	5	5	124	112
EDTA-Blute	135	146	135	122	135	122	135	122	135	122
Blute der Blutgruppen A, B und AB	56	70	56	53	56	53	56	53	56	53
Blutspender	106	99	106	95	106	95	106	95	106	95
Klinische Proben	19	40	19	19	19	19	19	19	19	19
Neugeborene	10	7	10	8	10	8	10	8	10	8

11. Warn- und Entsorgungshinweise

Humanes Ausgangsmaterial für die Produktion der Testreagenzien wurde auf HBsAg und Antikörper gegen HIV und HCV getestet. Nur negatives Material wurde für die Produktion verwendet. Trotzdem sollten sämtliche für den Test verwendete Materialien biologischen Ursprungs als potentiell infektiös betrachtet werden, da keine Testmethode alle infektiösen Krankheitserreger nachweisen kann. Beim Umgang mit biologischen Materialien werden deshalb angemessene Sicherheitsvorkehrungen empfohlen (Nicht mit dem Mund pipettieren; Schutzhandschuhe bei der Testdurchführung tragen; Händedesinfektion nach der Testdurchführung).

Biologische Materialien müssen vor der Entsorgung inaktiviert werden (z.B. durch Autoklavieren). Einwegmaterialien sind nach Gebrauch zu autoklavieren oder zu verbrennen.

Verschüttetes potentiell infektiöses Material sollte unverzüglich mit einem saugfähigen Papiertuch entfernt werden und der kontaminierte Bereich mit einem geeigneten Desinfektionsmittel oder 70%igem Ethanol desinfiziert werden. Material, das für die Entfernung von Verschüttetem benutzt wurde, muss vor der Entsorgung inaktiviert werden (z.B. durch Autoklavieren).

Die Testreagenzien enthalten NaN_3 als Konservierungsmittel. In der in den Reagenzien enthaltenen Konzentration von $< 0,1\%$ gilt NaN_3 nicht mehr als gesundheitsschädlich, trotzdem sollte ein Kontakt mit der Haut und Schleimhäuten vermieden werden. Kupfer und Blei, die in einigen Rohrsystemen eingesetzt werden, können mit Azid explosive Salze bilden. Die in den Reagenzien enthaltenen Azidmengen sind klein, trotzdem sollte bei der Beseitigung von Azid-haltigem Material mit reichlich Wasser nachgespült werden.

Die Entsorgung aller Proben und Testmaterialien sollte entsprechend der gesetzlichen Richtlinien erfolgen.

12. Packungsgrößen s. Preisliste

13. Literatur

Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie); Aufgestellt vom wissenschaftlichen Beirat der Bundesärztekammer und vom Paul-Ehrlich-Institut, Fassung 2005

Immunhämatologie und Transfusionsmedizin, Reinhold Eckstein, 5. Auflage, Urban & Fischer bei Elsevier, 2005

Blutgruppen und Transfusion, M. Metaxas-Bühler, Verlag Hans Huber, 1994

Erklärung der Symbole auf den Etiketten	
	In-vitro-Diagnostikum
	Lagertemperatur
	Lot-Nr.
	Verwendbar bis
REF	Bestell-Nr.
	Gebrauchsinformation beachten
	Monoklonal IgM
	Klon
	Ursprung: human
	Enthält Natriumazid
	Titer

Gebrauchsinformation	Stand: August 2008
----------------------	--------------------