

## GEBRAUCHSANWEISUNG

### Anti-D (RH1), P3x61, monoclonal IgM (human)

**REF** 690121A

#### ZWECKBESTIMMUNG

Monoklonal agglutinierendes Anti-D - Testserum wird aus Zellkulturüberständen von Heterohybridoma-Zelllinien gewonnen, die Antikörper vom IgM-Typus sezernieren, die spezifisch gegen das korrespondierende Blutgruppenantigen gerichtet sind. Der Antikörper ist dabei humanes Protein. Das Testserum wird zum qualitativen In-Vitro Nachweis des Vorhandenseins oder Fehlens des Blutgruppenantigens D auf menschlichen Erythrozyten verwendet. Dieses Testserum reagiert negativ mit Bluten der Kategorie D<sup>VI</sup>.

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 Agglutination. Normale menschliche Erythrozyten, die das entsprechende Antigen tragen, werden durch den korrespondierenden Antikörper agglutiniert.

#### TESTSEREN

Das aufgeführte Blutgruppentestserum enthält Antikörper des folgenden Klon:

Anti-D monoclonal, human IgM clone: P3x61

Das 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 Veterinary 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 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 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 des oben aufgeführten Testserums wird durch leichte Trübung nicht beeinträchtigt. Eine bakterielle und chemische Kontamination des Testserums 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.
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)“<sup>1</sup> in ihrer gültigen Fassung.
8. Dieses Testserum reagiert negativ mit Bluten der Kategorie D<sup>VI</sup>.

#### 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	Röhrenmethode
1. Objektträger	1. Teströhrchen, 10 x 75 mm oder 12 x 75 mm
2. Pasteurpipette	2. Mikroliterpipette für 50 µL/100 µL
3. Rührstäbchen	3. Kurzzeitwecker
4. Kurzzeitwecker	4. Zentrifuge
	5. Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)
	6. Einweg Pipettenspitzen

#### Testdurchführung

##### Objektträgertest

1. Nur Erythrozytensediment verwenden.
2. Auf einen beschrifteten Objektträger einen Tropfen (ca. 50 µL) des Testserums auftropfen.
3. Zu dem Tropfen Testserum auf dem Objektträger einen Tropfen (ca. 50 µL) Erythrozytensediment 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. Ergebnisse protokollieren.

##### Röhren-Zentrifugationstest

1. 2-5%ige Erythrozytensuspension in isotonischer Kochsalzlösung vorbereiten.  
(Erythrozyten können vorab 1-3 mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
2. In ein beschriftetes Teströhrchen als erstes 100 µL Testserum geben und anschließend in das Teströhrchen 100µl der entsprechenden Erythrozytensuspension zugeben.  
Alternativ können ein Tropfen = ca. 50µl Erythrozytensuspension zu einem Tropfen = ca. 50 µl Testserum gegeben werden.
3. Die Erythrozyten-/Testserenmischung durch leichtes Schütteln vermischen.
4. Teströhrchen 1-15 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 Röhrchenboden lösen und innerhalb von 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
7. Ergebnisse protokollieren.

#### INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

„Vorsichtiges Schwenken/ Schütteln“ bei der Objektträgermethode und Röhren-Zentrifugationsmethode:

**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.

#### 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. Bei der Objektträgermethode können unspezifische Reaktionen beim Eintrocknen des Reaktionsansatzes bzw. beim Erwärmen des Objektträgers auftreten.
6. Beim Objektträger-Test werden die meisten schwachen D-Antigene (Dweak) und Kategorien nicht angezeigt.
7. Das oben aufgeführte Testserum reagiert negativ mit Bluten der Kategorie D<sup>VI</sup>.
8. Aufgrund der unterschiedlichen Ausprägung der Antigene kann es bei bestimmten Phänotypen mit diesem Reagenz zu einer schwächeren Reaktion kommen als mit Kontrollerythrozyten.
9. Kein einzelnes Testserum oder eine einzelne Methode kann garantieren alle seltenen oder schwachen Antigene und alle Varianten der Antigene zu detektieren.<sup>2</sup>

## LEISTUNG

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






Produkt	Positiv	Falsch negativ	Sensitivität	Negativ	Falsch positiv	Spezifität
Anti-D monoclonal, human IgM clone: P3x61	1335	0*	100%*	309	0	100%

\* für Anti-D (Klon: P3x61) wurden im Objektträgertest 8 D<sup>weak</sup> Proben falsch negativ bewertet, so dass in dieser Technik die Sensitivität lediglich 99,56% betrug.


## 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.

## SYMBOL - LEGENDE

 Lagerung von - bis	<b>REF</b> Artikel- Nummer	 Verfallsdatum	 Hersteller nach 98/79/EG
<b>LOT</b> Los	<b>CLON</b> Klon(e)	<b>IVD</b> In-vitro- Diagnostikum	 EG CE-Symbol
<b>UDI</b> Unique Device Identification	 Gebrauchsinformation beachten		

730-22-0306 Version 006 / 01.07.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Deutschland

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

# INSTRUCTIONS FOR USE

## Anti-D (RH1), P3x61, monoclonal IgM (human)

**REF** 690121A

### INTENDED USE

Monoclonal agglutinating Anti-D reagent is produced from cell culture supernatants of hetero-hybridoma cell lines. The cells secrete an antibody of IgM-type that reacts specifically with the corresponding antigen. The antibody is human protein. The reagent is used for In-Vitro-Diagnostic, to determine whether human red blood cells possess or lack the corresponding blood group antigen D. This reagent reacts negatively with erythrocytes of category D<sup>VI</sup>. The reagent is intended to be used by qualified and technical personnel only.

### PRINCIPLE OF PROCEDURE

The procedures used with this reagent is 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 reagent contains antibodies of the following cell clone:

Anti-D monoclonal, human IgM clone: P3X61

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

**CAUTION:** Please handle biological reagent with proper care: This test serum was 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 its labelled expiration date!

### REMARKS

1. It is recommended that each lot of reagent be tested with appropriate positive and negative controls.
2. Inappropriate storage impairs efficacy of the reagent.
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 test method 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 reagent all effective national laws, directives and guidelines must be followed.  
[In Germany especially: „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“.<sup>1</sup> in its current version.]
8. This test serum reacts negatively with erythrocytes of category D<sup>VI</sup>.

### SAMPLE 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 reagent required. Use reagent directly from the vials.

### 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 50 µL/100 µL
3. Timer
4. Centrifuge
5. Isotonic saline (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)
6. Disposable pipette tips

### Test procedure

#### Slide Method

1. Use erythrocyte sediment only.
2. Place one drop (approximately 50 µL) of the 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 a 2% to 5% suspension 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 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 Erythrocytes-/Reagent mixture well by slightly shaking.
4. Incubate tube at room temperature for 1-15 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.

### INTERPRETATION OF RESULTS

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

**Positive result (+):** visible agglutination of erythrocytes indicates the presence of the corresponding antigen.

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

### LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. The "Procedure" and "Interpretation of Results" sections must be followed closely to assure the accuracy of the test 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. With slide method most of weak D-antigens (D<sup>weak</sup>) and categories are not recognized.
7. This test serum reacts negatively with erythrocytes of category D<sup>VI</sup>.
8. Due to variability of antigen expression, reactivity of this reagent against certain phenotypes may produce a weaker reaction compared to control cells.
9. No one specific antiserum or technique can be guaranteed to detect all rare, weak or variant antigens <sup>2</sup>.

## PERFORMANCE

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











Product	Positive	False negative	Sensitivity	Negative	False positive	Specificity
Anti-D monoclonal, human IgM clone: P3x61	1335	0*	100%*	309	0	100%

\* for Anti-D (clone: P3x61) in slide method 8 D<sup>weak</sup> samples were tested false negative, so in this single method sensitivity was 99,56% only.


## 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 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.

## SYMBOL - LEGENDE

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

730-22-0306 Version 006 / 01.07.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Germany

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

## ISTRUZIONI PER L'USO

### Anti-D (RH1), P3x61, monoclonal IgM (human)

**REF** 690121A

#### USO PREVISTO

L'Antisiero Monoclonale agglutinante Anti-D è preparato da sovrantanti di colture di linee cellulari di etero-ibridomi. Le cellule secernono un anticorpo di tipo IgM, 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 D su eritrociti umani. Questo antisiero risponderà negativamente con eritrociti della categoria D<sup>VI</sup>. L'uso di questo antisiero deve essere fatto unicamente 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-D monoclonal, human IgM clone: P3x61

Il reagente contengono <0.1% (w/v) di Sodio Azide come conservante. Oltre alla componente di anticorpi attiva, questo reagente contiene anche cloruro di sodio, macromolecole e 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. Il reagente contiene 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 i motivi di cui sopra questo reagente deve essere maneggiato con la dovuta cautela.

#### CONSERVAZIONE

Conservare (chiuso non ancora usato/chiuso già usato) da +2 a +8 °C. Tenere a temperatura di laboratorio mentre sono in uso. Conservare ed utilizzare il reagente solamente fino alla data di scadenza segnalata.

#### NOTE

- In ogni sessione di test devono essere eseguiti controlli positivi e negativi.
- Una conservazione inadeguata diminuisce l'efficacia del reagente.
- 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.
- Il grado di reazione positiva dipende anche dal periodo di conservazione del campione utilizzato.
- Una centrifugazione molto differente da quella consigliata può causare risultati non adeguati.
- Le procedure sotto descritte si riferiscono all'esecuzione manuale dei test. Qualora impieghino sistemi automatici o semiautomatici, i laboratori sono tenuti a seguire le istruzioni del produttore del dispositivo e a eseguire le convalide secondo procedimenti riconosciuti.
- Per l'uso di questo antisiero va osservate tutte le leggi nazionali, direttive e linee guida in vigore. In Germania la „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“<sup>3</sup> nella versione attuale.
- Questo antisiero non reagisce con gli eritrociti della variate D<sup>VI</sup>.

#### PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

- I campioni di sangue devono essere raccolti secondo una procedura medica approvata.
- 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 DEI REAGENTI

Non è richiesta alcuna preparazione del reagente. Utilizzare direttamente il reagente dai flaconi.

#### PROCEDURA

Materiale non provvisto, ma necessario:

Metodo su Vetrino

- Vetrino
- Pipetta Pasteur
- Bastoncino per miscelare
- Cronometro

Metodo in Provetta con Centrifugazione

- Provette, 10 x 75 mm o 12 x 75 mm
- Micropipetta da 50 µL/100 µL
- Cronometro
- Centrifuga
- Soluzione fisiologica Isotonica (0,85 - 0,9% Cloruro di Sodio)
- Puntali per micro-pipetta

#### Procedura del test

##### Metodo su Vetrino

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

##### Metodo in Provetta con Centrifugazione

- Preparare una sospensione in soluzione fisiologica al 2 - 5% di emazie (è possibile lavare preventivamente gli eritrociti 1-3 volte con soluzione salina isotonica).
- Aggiungere 100 µL del reagente in una provetta contrassegnata et 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.
- Miscelare reagente ed emazie bene con delicatezza.
- Incubare la provetta a temperatura ambiente per 1-15 Minuti.
- Centrifugare 1 Minuto a 2.000 rpm (ca. 800 - 1.000 g).
- Staccare completamente le cellule dal fondo scuotendole delicatamente e verificare macroscopicamente per agglutinazione entro 3 Minuti.
- Registrare il risultato.

#### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

"Attenta rotazione / agitazione" per il metodo su vetrino / metodo di centrifugazione del tubo:

**Risultati Positivi (+):** L'agglutinazione visibile di emazie è un risultato positivo ed indica la presenza del corrispondente antigene.

**Risultati Negativi (-):** Una agglutinazione non visibile degli eritrociti è un risultato negativo ed indica l'assenza del corrispondente antigene.

#### LIMITI DELLA PROCEDURA

- Il mancato rispetto delle istruzioni riportate nella sezione „Procedure“ ed „Interpretazione dei risultati“ può produrre risultati non corretti.
- Se i controlli sono dubbi o non corretti, non può essere raggiunta alcuna conclusione valida per quanto riguarda i risultati.
- Gli eritrociti trattati con enzimi o l'aggiunta di albumina bovina e/o altre soluzioni proteiche possono dare luogo a reazioni aspecifiche.
- Campioni di sangue emolizzati, torbidi, contaminati o coagulati non possono essere impiegati nel test.
- Possono riscontrarsi reazioni aspecifiche da artefatti dovuti all'essiccazione o per il riscaldamento del vetrino.
- Con il test su vetrino non sono rilevabili un numero maggiore di D-deboli (D<sup>weak</sup>) e alcune varianti.
- Questo antisiero non reagisce con gli eritrociti della variate D<sup>VI</sup>.
- A causa della variabilità degli antigeni, la reattività di questo reagente verso alcuni fenotipi potrebbe dare reazioni più deboli rispetto a quelle ottenute con le emazie di controllo.
- Non è possibile garantire l'esistenza di un antisiero o di una tecnica specifica per rilevare tutti gli antigeni varianti, deboli o rari.<sup>2</sup>

## PRESTAZIONI

Una valutazione delle prestazioni dei prodotti 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 . I valori diagnostici calcolati per questo studio sono:











Prodotto	Positivo	Falso negativo	Sensibilità	Negativo	Falso positivo	Specificità
Anti-D monoclonal, human IgM clone: P3x61	1335	0*	100%*	309	0	100%

\* per Anti-D (clone: P3x61) nel test su vetrino 8 campione D<sup>weak</sup> erano percentuali di false negativi, in modo che in questa tecnica la sensibilità solo del 99,56% truffa.

## 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.

## SIMBOLI

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

730-22-0306 Versione 006 / 01.07.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Germania

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

## INSTRUCCIONES DE USO

### Anti-D (RH1), P3x61, IgM monoclonal (humana)

REF 690121A

#### USO PREVISTO

El reactivo de aglutinación Anti-D monoclonal se obtiene del sobrenadante de cultivos celulares de una línea celular heterohíbrida. Las células segregan un anticuerpo del tipo IgM, que reacciona específicamente con el correspondiente antígeno. El anticuerpo es una proteína humana. El reactivo se usa cualitativamente *in vitro* para determinar si los hematíes poseen o no los correspondientes antígenos de grupo D. El reactivo reacciona de manera negativa con hematíes de categoría D<sup>VI</sup>. El reactivo debe utilizarse exclusivamente por personal técnico cualificado.

#### PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El procedimiento usado con este reactivo se basa en el principio de aglutinación. Hematíes humanos normales, con el correspondiente antígeno, aglutinarán en presencia del anticuerpo específico dirigido contra el antígeno.

#### REACTIVO

El reactivo contiene anticuerpos de los siguientes clones celulares:

Anti-D monoclonal, human IgM clone: P3X61

El reactivo contiene <0,1% (p/v) de azida sódica como conservante. Adicionalmente, el reactivo se compone de anticuerpo activo, cloruro sódico, macromoléculas y albúmina bovina, probada y certificada por los inspectores del Servicio de Veterinaria de Estados Unidos.

**PRECAUCIÓN:** Manipule el reactivo con el cuidado adecuado. Este reactivo se obtiene del sobrenadante de cultivos celulares. Maneje este producto biológico como potencialmente capaz de transmitir agentes infecciosos. El reactivo contiene azida sódica, que puede ser tóxica y puede reaccionar con plomo o cobre formando sales altamente explosivas. Si lo elimina a través del desagüe, enjuague con grandes cantidades de agua.

#### CONDICIONES DE CONSERVACIÓN

Conservar entre +2 y +8 °C (una vez abierto o sin abrir) o bien a temperatura ambiente durante su uso. No utilizar el reactivo más allá de la fecha de caducidad que figura en etiqueta.

#### OBSERVACIONES

- Se recomienda que cada lote de reactivo sea ensayado con controles positivos y negativos adecuados.
- La conservación inadecuada perjudica la eficacia del reactivo.
- Una débil turbiedad del reactivo no afecta su efectividad. Se debe evitar la contaminación química y bacteriana del producto. Si se detecta algún cambio visible, no se debe emplear el reactivo, pues este signo puede ser indicativo de contaminación microbiológica.
- La fuerza de las reacciones positivas depende también de la antigüedad de la sangre usada.
- Una centrifugación notablemente diferente de la fuerza de centrifugado relativa indicada puede conducir a resultados incorrectos.
- Los procedimientos especificados a continuación son exclusivamente para pruebas manuales. En caso de usar instrumentación automática o semi-automática, se deben seguir las instrucciones de uso incluidas en el manual proporcionado por el fabricante del instrumento. Los laboratorios deben seguir los procedimientos de validación.
- Para el uso de este reactivo deberán contemplarse todas las leyes nacionales, directrices y recomendaciones; específicamente en Alemania la "Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)"<sup>1</sup> en la versión actual.
- Esta prueba reacciona negativamente con hematíes de la categoría D<sup>VI</sup>.

#### PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

- Las muestras de sangre se deben recoger siguiendo un procedimiento médico aprobado.
- Las muestras de sangre por analizar deben testarse lo antes posible tras su recogida a fin de reducir el riesgo de resultados falsos positivos y falsos negativos debido a una conservación inadecuada o a una contaminación de las muestras reactivas. Si se retrasan los ensayos, las muestras se deberán almacenar a una temperatura de 2 a 8 °C. La sangre en EDTA debería analizarse en un plazo de 7 días y las muestras tratadas con citrato de sodio, en los 14 días siguientes a la recogida. Las bolsas de sangre o la sangre de donantes se pueden analizar hasta la fecha de caducidad.

#### PREPARACIÓN DEL REACTIVO

No se requiere preparación específica del reactivo. Usar el reactivo directamente de los viales.

#### PROCEDIMIENTO

Material necesario no suministrado:

##### Método en porta

- Porta de cristal
- Pipeta Pasteur
- Barita de mezcla
- Cronómetro

##### Método de centrifugación en tubo

- Tubos ensayo de 10x75 mm o 12x75 mm
- Pipetas diseñadas para dispensar 50 µL/100 µL
- Centrífuga
- Cronómetro
- Solución salina isotónica (0,85 - 0,9% cloruro sódico)
- Puntas de pipeta desechables

#### Procedimiento de ensayo

##### Método en porta

- Usar únicamente concentrado de hematíes.
- Dispensar una gota (50 µL aprox.) del reactivo en un porta de cristal.
- Usando una pipeta Pasteur, añadir una gota de concentrado de hematíes (50 µL aprox.) en el porta de cristal.
- Mezclar bien los eritrocitos con el reactivo con una barita y esparcir en un círculo de aproximadamente 2 cm de diámetro.
- Rotando ligeramente el porta, comprobar durante un minuto si se produce aglutinación (la reacción comienza en segundos).
- Documentar el resultado.

##### Método de centrifugación en tubo

- Preparar una suspensión del 2% al 5% de hematíes en solución salina (células lavadas de una a tres veces con solución salina).
- Añadir 100 µL del reactivo en un tubo de ensayo etiquetado y luego agregue 100 µL de la suspensión de eritrocitos correspondiente al tubo. Alternativamente, una gota = aproximadamente 50 µL de suspensión de eritrocitos se puede añadir a una gota = aproximadamente 50 µL de suero de ensayo.
- Agitar suavemente para mezclar bien.
- Incubar el tubo a temperatura ambiente durante 1-15 minutos.
- Centrifugar el tubo durante 1 minuto a 2.000 rpm (aproximadamente 800-1.000 g)
- Resolver completamente las células de la parte inferior del tubo agitándolas suavemente y compruebe macroscópicamente la aglutinación en 3 minutos.
- Documentar el resultado.

#### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Rotar/agitar ligeramente en el método en porta y en el método de centrifugación en tubo:

**Resultados positivos (+):** aglutinación visible de hematíes indica presencia del antígeno correspondiente.

**Resultados negativos (-):** aglutinación no visible de hematíes indica ausencia del antígeno correspondiente.

#### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Se deben seguir cuidadosamente las instrucciones descritas en las secciones "Procedimientos" e "Interpretación de resultados" para asegurar la exactitud de los resultados de la prueba.
- Controles con resultados inesperados o dudosos, invalidan el resultado de la prueba.
- El tratamiento con enzimas de los eritrocitos o la adición de albúmina bovina u otras soluciones que contengan proteínas pueden causar reacciones no específicas.
- No emplee muestras de sangre hemolizada, turbia, contaminada o coagulada en este ensayo.
- Pueden darse reacciones inespecíficas si se seca la reacción o se calienta el porta.
- Al realizar el procedimiento en porta la mayoría de los antígenos y categorías D débiles (D<sup>weak</sup>) no son detectadas.
- Esta prueba reacciona negativamente con hematíes de la categoría D<sup>VI</sup>.
- Debido a la variabilidad de la expresión antigénica, la reactividad de este reactivo frente a ciertos fenotipos puede ocasionar reacciones más débiles comparadas con las células control.
- Ningún antisuero o técnica concreta pueden garantizar la detección de todos los antígenos raros o con una expresión débil, ni tampoco todas las variantes.<sup>2</sup>

## CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

En cumplimiento con las Especificaciones Técnicas Comunes (Decisión de la Comisión CTS del 03 de febrero de 2009) se ha llevado a cabo una evaluación del funcionamiento. Se han utilizado diferentes muestras (donante, paciente y panel celular) y se han comparado con otros productos. Los valores de diagnóstico calculados, para este estudio son:











Anticuerpo	Positivo	Falso negativo	Sensibilidad	Negativo	Falso positivo	Especificidad
Anti-D monoclonal, human IgM clon: P3x61	1335	0*	100%*	309	0	100%

\* para el anti-D (clon P3x61) en el método en porta 8 muestras D<sup>weak</sup> resultaron falsos negativos, por lo que la sensibilidad fue de sólo el 99,56% con este método.


## 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 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.

## CLAVE DE LOS SÍMBOLOS

 Almacenar entre de... a.... °C	 Código de producto	 Fecha de caducidad	 Fabricado de acuerdo con 98/79/CE
 Número de Lote	 Clon/es	 Producto sanitario para diagnóstico in vitro	 Símbolo CE
 Unique Device Identification	 Consulte las instrucciones de uso		

730-22-0306 Versión 006 / 01.07.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Alemania

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



# INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

## Anti-D (RH1), P3x61, IgM monoclonal (humano)

**REF** 690121A

### INDICAÇÃO DE USO

O reagente de aglutinação Anti-D monoclonal é produzido a partir do sobrenadante de culturas celulares de linhas celulares hetero-híbrida. As células produzem um anticorpo do tipo IgM que reage especificamente com o antígeno correspondente. O anticorpo é uma proteína humana. O reagente é usado para determinar qualitativamente "in vitro" se os glóbulos vermelhos humanos possuem ou não os sorrespondentes antígeno do grupo sanguíneo D. Este reagente reage negativamente com eritrócitos do tipo D<sup>VI</sup>. O reagente deve ser usado apenas por pessoal técnico qualificado.

### PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

Os procedimentos utilizados com este reagente baseia-se no princípio da aglutinação. Os eritrócitos humanos normais, que possuem o antígeno correspondente irão aglutinar na presença de anticorpos específicos dirigidos contra esse antígeno.

### REAGENTES

O reagente contém anticorpos do seguinte clone de células:

Anti-D IgM humana monoclonal, (clone: P3X61).

O reagente contém azida de sódio a < 0,1% (p/v) como conservante. Para além disso, o reagente é constituído por anticorpos activos, cloreto de sódio, macromoléculas e albumina bovina, probada y certificada por los inspectores del Servicio de Veterinaria de Estados Unidos.

**ATENÇÃO:** Por favor manuseie este reagente com cuidado. Este reagente é preparado a partir do sobrenadante de culturas celulares. Como produto biológico deverá ser considerado como potencialmente infeccioso uma vez que não se pode garantir completamente a exclusão de agentes infecciosos. Este reagente contém azida de sódio que pode ser tóxica e pode reagir com chumbo ou cobre para formar sais altamente explosivos. Para eliminar, lave abundantemente com água. Pelas razões acima mencionadas, o reagente deve ser manuseado com cuidado.

### ARMAZENAMENTO

Produtos abertos e fechados armazenados de +2 a +8°C ou à temperatura ambiente enquanto está em uso. Não utilize o reagente após a data de validade indicada.

### PRECAUÇÕES

1. Recomenda-se que cada lote de reagente deve ser testado com os controlos positivos e negativos adequados .
2. Armazenamento impróprio prejudica a eficácia do reagente.
3. Uma turvação fraca do reagente não afeta a sua reatividade. As bactérias e a contaminação química do produto devem ser evitadas. Se for detectada uma alteração visível no soro de teste, o soro de teste não deve mais ser usado, isso pode indicar contaminação microbiana.
4. A força das reacções positivas também depende da idade do sangue utilizado.
5. Centrifugação muito diferente da força centrífuga designada pode conduzir a falsos resultados.
6. Os procedimentos identificados abaixo são apenas para testes manuais. Ao utilizar instrumentos automáticos ou semiautomáticos siga os procedimentos que estão incluídos no manual do operador fornecido pelo fabricante do dispositivo. Os laboratórios têm que seguir os procedimentos de validação.
7. Para uso deste reagente todas a legislação nacional, directivas e orientações têm que ser seguidas. Na Alemanha especialmente o "Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)"<sup>1</sup> na versão actual.
8. Este soro de teste reage negativamente com células vermelhas da categoria D<sup>VI</sup>.

### PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

1. Las muestras de sangre se deben recoger con arreglo a un procedimiento médico aprobado.
2. Las muestras de sangre por analizar deben emplearse lo antes posible tras su recogida a fin de reducir el riesgo de resultados falsos positivos y falsos negativos debido a una conservación inadecuada o a la contaminación de los reactivos.  
Si se retrasan los ensayos, las muestras se deberán almacenar a una temperatura de 2 a 8 °C.  
La sangre en EDTA debería analizarse en un plazo de 7 días y las muestras tratadas con citrato de sodio, en los 14 días siguientes a la recogida.  
Las bolsas de sangre o la sangre de donantes se pueden analizar hasta la fecha de caducidad.

### PREPARAÇÃO DO REAGENTE

Não é necessário qualquer preparação específica do reagente. Utilize o reagente directamente a partir do frasco.

### PROCEDIMENTO

Material necessário mas não fornecido:

Para o Método de lâmina

1. Lâminas de vidro
2. Pipeta Pasteur
3. Vareta para misturar
4. Cronómetro

Para o Método de Centrifugação de tubo

1. Tubos de ensaio, 10 x 75 mm ou 12 x 75 mm
2. Pipetas para dispensar 50 µL/100 µL
3. Cronómetro
4. Centrifugadora
5. Solução salina isotónica (cloreto de sódio a 0,85 - 0,9%)
6. Pontas de pipetas descartáveis

### Procedimento do teste

#### Método de lâmina

1. Utilize apenas sedimento de eritrócitos.
2. Coloque uma gota (aproximadamente 50 µL) de reagente numa lâmina.
3. Com uma pipeta de Pasteur adicione uma gota de sedimento de eritrócitos (aproximadamente 50 µL) na lâmina.
4. Misture bem os eritrócitos com o reagente com uma vareta e espalhe num círculo diâmetro 2 cm.
5. Agitando a lâmina ligeiramente, observe a aglutinação dentro de 1 minuto (a reacção começa dentro de segundos).
6. Registe o resultado.

#### Método de Centrifugação de tubo

1. Preparar uma suspensão de glóbulos vermelhos de 2% a 5% em solução salina isotónica (células lavadas uma a três vezes com solução salina isotónica).
2. Primeiro adicione 100 µL do reagente a um tubo de teste rotulado e, em seguida, adicione 100 µL da suspensão de eritrócitos correspondente ao tubo de teste.  
Alternativamente, uma gota = aproximadamente 50 µL de suspensão de eritrócitos pode ser adicionada a uma gota = aproximadamente 50 µL reagente.
3. Misture bem agitando ligeiramente.
4. Deixe incubar o tubo à temperatura ambiente durante 1-15 min.
5. Centrifugue o tubo durante 1 minuto a 2.000 rpm (aproximadamente 800-1.000 g).
6. Suavemente resuspenda os glóbulos vermelhos e observe macroscopicamente a presença de aglutinação dentro de 3 minutos.
7. Registe o resultado.

### INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS

"Rodar/ Agitar ligeiramente" no Método de lâmina e no Método de Centrifugação de Tubo.

**Resultados positivos (+):** a aglutinação visível de eritrócitos indica a presença do antígeno correspondente.

**Resultados negativos (-):** nenhuma aglutinação visível de eritrócitos indica a ausência do antígeno correspondente.

### LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

1. As secções "Procedimento" e "Interpretação de Resultados" devem ser seguidas rigorosamente para garantir a exatidão dos resultados obtidos.
2. Não é possível retirar conclusões válidas se os controlos derem resultados falsos ou inconclusivos.
3. Os eritrócitos tratados com enzima ou a adição de albumina bovina e/ou outras soluções que contenham proteína podem provocar reacções inespecíficas.
4. Neste teste não devem ser usadas amostras de sangue hemolizadas, turvas, contaminadas ou coaguladas.
5. Reacções não específicas podem surgir por secagem da reacção formada ou se a lâmina for aquecida.
6. om método em lâmina a maioria de antígenos D fracos (<sup>Dweak</sup>) não são reconhecidos.
7. Este soro de teste reage negativamente com eritrócitos de categoria D<sup>VI</sup>.
8. Devido à variabilidade da expressão dos antígenos, a reactividade deste reagente contra certos fenótipos pode dar uma reacção mais fraca quando comparada com células de controlo.
9. Nenhum antissor ou técnica específica podem ser garantidos para detetar todos os antígenos raros, fracos ou variantes. <sup>2</sup>

## CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMENTO

Em cumprimento com as Especificações Técnicas Comuns (decisão da comissão CTS de 03 de Fevereiro de 2009) foi efectuada uma avaliação das características de desempenho. Para tal foram utilizadas diferentes amostras (doadores, doentes, painéis de amostras positivas e negativas) e foram comparadas com outros produtos. Os valores de diagnóstico calculados para este estudo são:


Producto	Positivo	Falso negativo	Sensibilidade	Negativo	Falso positivo	Especificidade
Anti-D monoclonal, human IgM clone: P3x61	1335	0*	100%*	309	0	100%

\* para o Anti-D (clone: P3x61) 8 amostras de Dweak foram classificadas falsamente negativas no método lâmina, de modo que nesta técnica a sensibilidade foi de apenas 99,56%.


## 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 Guidline CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE Dezembro 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.

## SIMBOLOGIA

 Armazenar entre	 Código do Produto	 Utilizar até/Data de validade	 Fabricado de acordo com 98/79/EU
 Número de Lote	 Clone(s)	 Dispositivo Médico para Diagnóstico In vitro	 Símbolo CE
 Unique Device Identification	 Consulte as instruções de utilização		

30-22-0306 Versão 006 /01.07.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Alemanha

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

## INSTRUKCJA UŻYCIA

### Anti-D (RH1), P3x61, monoclonal IgM (human)

REF 690121A

#### PRZEZNACZENIE

Surowice monoklonalne anti-D testowa uzyskiwane są z supernatantów hodowli komórkowych linii komórkowych heterohybridoma wydzielających przeciwciała typu IgM skierowane swoiście przeciwko odpowiednim antygenom grup krwi. Przeciwciała w każdym przypadku jest ludzkim białkiem. Surowice testowa są stosowane do jakościowego wykrywania in vitro obecności lub braku antygenów grupy krwi D na ludzkich erytrocytach. Ta surowica testowa reaguje negatywnie na krwawienia kategorii D<sup>VI</sup>. 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 niosące odpowiedni antygen są aglutynowane przez odpowiednie przeciwciała.

#### SUROWICE TESTOWE

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

Anti-D monoclonal, human IgM clone: P3x61

Wszystkie surowice testowa zawierają <0,1% (w/v) azydku sodu jako środka konserwującego. Oprócz aktywnego składnika przeciwciała, surowice testowa zawierają chlorek sodu, dużą masę cząsteczkową Związki i albumina wołowa, która została skontrolowana i certyfikowana przez inspektorów amerykańskich służb weterynaryjnych.

**OSTRZEŻENIE:** Te surowice testowa 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 spłukać 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 validację 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)<sup>2</sup> z późniejszymi zmianami.
8. Ta surowica testowa reaguje negatywnie na krwawienia kategorii D<sup>VI</sup>.

#### PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

1. Próbkę 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. Próbkę 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 surowic testowych 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. Wirówka
5. Izotoniczny roztwór soli (0,85-0,9% chlorku sodu)
6. Jednorazowe końcówki

#### 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 szkiełku podstawowym, używając pipety Pasteura.
4. Dobrze wymieszać mieszaninę krwinek czerwonych i surowicy testowej za pomocą mieszadła i rozprzecznić 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. Zaprojektować 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 1-15 minut w temperaturze pokojowej.
5. Odwirować 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. Zaprojektować wyniki.

#### INTERPRETACJA WYNIKÓW TESTU

„Ostrożne wirowanie/wstrząsanie” metodą szkiełka i próbówki:

Wynik pozytywny (+): Aglutynacja erytrocytów jest uważana za pozytywny wynik testu i wskazuje na obecność odpowiedniego antygeny.  
Wynik ujemny (-): Brak aglutynacji erytrocytów należy uznać za negatywny wynik testu, odpowiadający im antygen nie jest wykrywalny.

#### OGRANICZENIA METODY

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 i 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. Test szkiełkowy nie pokazuje większości słabych antygenów D<sup>(weak)</sup> i kategorii.
7. Ta surowica testowa reaguje negatywnie na krwawienia kategorii D<sup>VI</sup>.
8. Ze względu na różną ekspresję antygenów, niektóre fenotypy mogą wykazywać słabszą reakcję z tymi odczynnikami niż erytrocyty kontrolne.
9. Żadna pojedyncza surowica testowa ani metoda nie może zagwarantować wykrycia wszystkich rzadkich lub słabych antygenów oraz wszystkich wariantów antygenów<sup>2</sup>.

#### WYDAJNOŚĆ

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






Kod produktu	Pozytywny	Fałszywy negatywny	Czułość	negatywny	Fałszywy pozytywny	Swoistość
Anti-D monoclonal, human IgM clone: P3x61	1335	0*	100%*	309	0	100%

\* dla Anti-D (Klon: P3x61), 8 próbek D<sup>weak</sup> były fałszywie ujemne w teście wykorzystującej szkiełka, tak więc czułość w tej technice wynosiła tylko 99,56%.


## 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 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.

## SYMBOL - LEGENDA

 Przechowywanie od - do	<b>REF</b> Numer katalogowy	 Data ważności	 Producent zgodnie z 98/79/WE
<b>LOT</b> Partia	<b>CLON</b> Klon(y)	<b>IVD</b> Diagnostyka in vitro	 Symbol WE CE
<b>UDI</b> Unique Device Identification	 Należy przestrzegać zaleceń zawartych w ulotce dołączonej do opakowania.		

730-22-0306 wersja 006 / 01.07.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Deutschland

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

## NAVODILA ZA UPORABO

### Anti-D (RH1), P3x61, monoclonal IgM (human)

**REF** 690121A

#### NAMENSKA UPORABA

Testni serumi monoklonskih anti-D se pridobivajo iz supernatantov celične kulture celičnih linij heterohibridoma, ki izločajo protitelesa tipa IgM, ki so specifično usmerjena proti ustreznemu antigenu krvne skupine. Protitelesa so pri tem človeške beljakovine. Testni serumi se uporabljajo za kvalitativno in vitro detekcijo prisotnosti ali odsotnosti antigenov krvne skupine D na človeških eritrocitih. Ta preskusni serum negativno reagira s krvavitvi iz kategorije D<sup>VI</sup>. Uporaba teh testnih serumov je namenjena samo kvalificiranemu in usposobljenemu specializiranemu osebju.

#### NAČELO POSTOPKA

Testne metode, ki se uporabljajo pri uporabi teh izdelkov, temeljijo na principu aglutinacije. Normalni človeški eritrociti, ki nosijo ustrezen antigen, so aglutinirani z ustreznim protitelesom.

#### TESTNI SERUMI

Navedeni testni serumi krvnih skupin so proizvedeni iz naslednjih celičnih klonov:

Anti-D monoclonal, human IgM clone: P3x61

Vsi testni serumi vsebujejo < 0,1 % (mase/prostornino) natrijevega azida kot konzervansa. Poleg aktivne komponente protiteles testni serumi vsebujejo natrijev klorid, spojine z visoko molekularno maso in goveji albumin, ki so ga pregledali in certificirali inšpektorji ameriškega veterinarske urada.

**OPOZORILO:** Ti testni serumi so narejeni iz supernatantov celične kulture. Ne glede na to je treba te biološke proizvode obravnavati kot potencialno nalezljive zaradi nevarnosti patogenov, ki jih nikoli ni mogoče popolnoma izključiti. Testni serumi vsebujejo natrijev azid, ki je strupen in lahko tvori eksplozivne soli s svincem ali bakrom. Pri odstranjevanju sperite z veliko vode. Iz zgoraj navedenih razlogov je treba s testnimi serumi ravnati previdno.

#### HRAMBA

Shranjujte pri +2 do +8 °C (neodprto/odlomljeno), kratkotrajno za uporabo tudi pri sobni temperaturi. Shranjujte in uporabljajte samo do navedenega roka uporabnosti!

#### OPOMBE

1. Pozitivne in negativne kontrole morajo biti vključene v vsak test.
2. Nepravilno shranjevanje bo vplivalo na učinkovitost izdelkov.
3. Rahla motnost ne vpliva na reaktivnost katerega koli od zgoraj navedenih testnih serumov. Preprečite bakterijsko in kemično kontaminacijo. Če se v testnem serumu odkrije vidna sprememba, se ga ne sme več uporabljati, saj lahko to kaže na kontaminacijo z mikrobi.
4. Moč pozitivne reakcije je odvisna od starosti uporabljene krvi.
5. Centrifugiranje zunaj določenega območja hitrosti lahko povzroči napačne rezultate.
6. Opisani postopki uporabe veljajo samo za navedene ročne in avtomatizirane metode. Če se uporabljajo drugi avtomatski ali polavtomatski sistemi, morajo laboratoriji upoštevati navodila proizvajalcev naprav in izvajati validacije po priznanih metodah.
7. Pri uporabi testnih serumov je treba upoštevati vse veljavne nacionalne zakone, odloke in smernice; v Nemčiji zlasti »Smernice za odvzem krvi in krvnih komponent ter uporabo krvnih pripravkov (hemoterapija)«<sup>1</sup> v trenutni različici.
8. Ta preskusni serum negativno reagira s krvavitvi iz kategorije D<sup>VI</sup>.

#### PRIPRAVA VZORCA

1. Vzorce krvi je treba pridobiti s standardnimi tehnikami odvzema.
2. Kri za testiranje je treba testirati čim prej po odvzemu krvi, da zmanjšate tveganje lažno pozitivnih ali lažno negativnih reakcij zaradi nepravilnega shranjevanja ali kontaminacije vzorca. Kri, ki se ne testira takoj, je treba hraniti pri +2 do +8 °C. Vzorce krvi, antikoagulirane z EDTA, je treba testirati v 7 dneh, vzorce, obdelane z natrijevim citratom, pa v 14 dneh po odvzemu. Konzerve/kri darovalcev je mogoče testirati do datuma izteka roka uporabnosti.

#### PRIPRAVA TESTNIH SERUMOV

Priprava testnih serumov ni potrebna. Serumi se vzamejo neposredno iz stekleničk in uporabijo.

#### POSTOPEK

Materiali, ki niso vključeni v obseg dobave, vendar so potrebni za:

##### Metoda z objektnim stekelcem

1. Objektno stekelce
2. Pasteurjeva pipeta
3. Mešalna paličica
4. Merilnik časa

##### Metoda z epruveto

1. Testne epruvete 10 x 75 mm ali 12 x 75 mm
2. Mikrolitrska pipeta za 50 µL/100 µL
3. Merilnik časa
4. Centrifuga
5. Izotonična fiziološka raztopina (0,85-0,9 % natrijevega klorida)
6. Pipetne konice za nekratno uporabo

#### Izvedba testa

##### Test z objektnim stekelcem

1. Uporabljajte samo sediment eritrocitov.
2. Kapnite kapljico (približno 50 µL) ustreznega testnega seruma na označeno stekelce.
3. S pasteurjevo pipeto kapnite eno kapljico (približno 50 µL) sedimenta eritrocitov v testni serum na objektnem stekelcu.
4. Mešanico eritrocitov in testnega seruma dobro premešajte z mešalno paličico in razporedite v krog s premerom približno 2 cm.
5. V eni minuti preverite aglutinacijo z nežnim stresanjem objektnega stekelca (reakcija se začne v nekaj sekundah).
6. Zabeležite rezultate.

##### Test s centrifugiranjem epruvete

1. Pripravite 2-5-odstotno suspenzijo eritrocitov v izotonični fiziološki raztopini (rdeče krvne celice lahko predhodno sperete 1-3-krat z izotonično fiziološko raztopino).
2. V označeni epruveti najprej dodajte 100 µL preskusnega seruma in nato v preskusno cev dodajte 100µl ustreznega erythrocyte suspenzija. Druga možnost je, ena kapljica = približno 50µl erythrocyte suspenzijo lahko dodate na eno kapljico = približno 50 µl testni serum.
3. Zmešajte mešanico eritrocitov in testnega seruma z nežnim stresanjem.
4. Inkubirajte epruveto pri sobni temperaturi 1-15 minut.
5. Epruveto centrifugirajte 1 minuto pri 2.000 vrt/min (približno 800-1.000 g).
6. V celoti odstranite celice z dna epruvete tako, da jih nežno stresete in v 3 minutah makroskopsko pregledate za aglutinacijo.
7. Zabeležite rezultate.

#### INTERPRETACIJA REZULTATOV TESTOV

»Previdno mešanje/tresenje« pri metodi z objektnim stekelcem in epruveto:

- Pozitivni rezultat (+): Aglutinacijo eritrocitov je treba oceniti kot pozitiven rezultat testa in prikazati prisotnost ustreznega antigena.  
Negativni rezultat (-): Odsotnost aglutinacije eritrocitov je treba oceniti kot negativen rezultat testa, ustrezni antigeni dokazljiv.

#### OMEJITVE METODE

1. Netočnosti pri upoštevanju navodil v razdelkih »Izvedba testa« in »Razlaga rezultatov testov« lahko vodijo do napačnih rezultatov.
2. Kontrole z dvouminimi ali napačnimi rezultati, samodejno vodijo do tega, da so vsi rezultati neuporabni.
3. Eritrociti, obdelani z encimi, ali dodajanje govejega albumina in/ali drugih raztopin, ki vsebujejo beljakovine, lahko povzročijo nespecifične reakcije s temi testnimi serumi.
4. Hemoliziranih, motnih, kontaminiranih ali koaguliranih vzorcev krvi se ne sme uporabljati.
5. Pri metodi objektnega stekelca se lahko pojavijo nespecifične reakcije, ko se reakcijska zmes posuši ali se stekelce segreje.
6. Pri metodi objektnega diapozitivu se večina šibkih D-antigenov (D<sup>weak</sup>) in kategorij ne prikaže.
7. Ta preskusni serum negativno reagira s krvavitvi iz kategorije D<sup>VI</sup>.
8. Zaradi različnih lastnosti antigenov lahko nekateri fenotipi s temi reagenti povzročijo šibkejšo reakcijo kot s kontrolnimi eritrociti.
9. Noben testni serum ali ena sama metoda ne zagotavlja, da bodo odkriti vsi redki ali šibki antigeni in vse različice antigenov <sup>2</sup>.

#### ZMOGLJIVOST

Ocenjevanje zmogljivosti izdelkov je bilo izvedeno v skladu s skupnimi tehničnimi specifikacijami (odločba CTS Komisije z dne 3. februarja 2009). Uporabljenih je bilo več vzorčni material (na primer kri darovalca, bolnika, panelna kri) in primerjenih z drugimi referenčna metoda / produkti.





Produkt	Pozitivno	Lažno negativno	Občutljivost	Negativno	Lažno pozitivno	Specifičnost
Anti-D monoclonal, human IgM clone: P3x61	1335	0*	100%*	309	0	100%

\* za anti-D (klon: P3x61) je bilo 8 vzorcev lažno negativnih v testu z objektnimi stekelci, tako da je bila občutljivost pri tej tehniki le 99,56 %


## LITERATURA




1. Navodila za odvzem krvi in krvnih komponent ter uporabo krvnih pripravkov (hemoterapija)
2. CLSI, I/LA33-A Validatin of Automated System for Immunhematological Testing Before Implementation; Approved Guideline CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE Dezembar 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.

## SIMBOL - LEGENDA

 Skladiščenje od-do	<b>REF</b> Številka artikla	 Rok uporabe	 Proizvajalec po 98/79/ES
<b>LOT</b> Šarža	<b>CLON</b> Klon(i)	<b>IVD</b> In vitro diagnostični medicinski pripomoček	<b>CE</b> Simbol CE
<b>UDI</b> Unique Device Identification	 Upoštevajte navodila za uporabo		

730-22-0306 Razičica 006 / 01.07.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Deutschland

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

## UPUTE ZA UPOTREBU

### Anti-D (RH1), P3x61, monoclonal IgM (human)

REF 690121A

#### NAMJENA

Monoklonski pretraživani serum anti-D dobivaju se od supernatanata staničnih kultura heterohibridnih staničnih linija koje izlučuju antitijela tipa IgM posebno usmjerena protiv odgovarajućeg antigena krvne grupe. Antitijelo je pritom ljudski protein. Pretraživani serum upotrebljavaju se za kvalitativno in vitro otkrivanje prisutnosti ili nepostojanja antigena krvnih grupa D na ljudskim eritrocitima. Ovaj testni serum negativno reaguje sa krvarenjem D<sup>VI</sup> kategorije. Samo kvalificirano i obučeno osoblje smije upotrebljavati ove pretraživane serume.

#### PRINCIP POSTUPKA

Ispitne metode koje se primjenjuju pri upotrebi ovaj proizvod temelje se na načelu aglutinacije. Normalne ljudske eritrocite koji nose odgovarajući antigen aglutinira odgovarajuće antitijelo.

#### PRETRAŽIVANI SERUMI

Navedeni pretraživani serum krvnih grupa proizvode se od sljedećih staničnih klonova:

Anti-D monoclonal, human IgM clone: P3x61

To pretraživani serum sadrži < 0,1 % (w/v) natrijeva azida kao konzervansa.

Osim aktivnog sastojka antitijela pretraživanom serumu sadržavaju natrijev klorid, spojeve velike molekulske mase i govede albumin, koje su provjerili i certificirali inspektori Američke veterinarske službe (US Veterinary Service).

**UPOZORENJE:** Ovo pretraživani serum proizvode se od supernatanata staničnih kultura. Neovisno o tome, ti se biološki proizvodi trebaju smatrati potencijalno zaraznima zbog opasnosti od patogena koja se nikad ne može potpuno isključiti. Pretraživani serum sadržavaju natrijev azid, koji može djelovati otrovno te tvori eksplozivne soli s olovom ili bakrom. Pri zbrinjavanju isperite s puno vode. Iz gore navedenih razloga potrebno je oprezno rukovati pretraživanim serumima.

#### ČUVANJE

Čuvajte na temperaturi od +2 do +8 °C (neotvoreno/otvoreno), a kratkotrajno za upotrebu i na sobnoj temperaturi. Načelno čuvajte i upotrebljavajte samo do navedenog roka valjanosti!

#### NAPOMENE

- Pri svakom testiranju potrebno je uz sebe imati pozitivne i negativne kontrole.
- Neispravno čuvanje utječe na učinkovitost proizvoda.
- Lagana mutnoća ne utječe na reaktivnost gore navedenih pretraživanih seruma. Mora se spriječiti bakterijska i kemijska kontaminacija. Ako primijetite vidljive promjene u pretraživanom serumu, nemojte ga više upotrebljavati jer to može upućivati na mikrobnu kontaminaciju.
- Jakost pozitivne reakcije ovisi o starosti upotrijebljene krvi.
- Centrifugiranje izvan specificiranog raspona broja okretaja može dovesti do netočnih rezultata.
- Opisani postupci za primjenu vrijede samo za navedene ručne metode i automatske uređaje. Ako se upotrebljavaju drugi automatski ili poluautomatski sustavi, laboratoriji moraju slijediti upute proizvođača uređaja i provesti validaciju u skladu s prihvaćenim postupcima.
- Prilikom primjene pretraživanih seruma potrebno je pridržavati se svih važećih nacionalnih zakona, uredbi i smjernica, a u Njemačkoj posebno „Smjernica za prikupljanje krvi i krvnih sastojaka te za primjenu proizvoda od krvi (hemoterapija)”<sup>1</sup> u najnovijoj verziji.
- Ovaj testni serum negativno reaguje sa krvarenjem D<sup>VI</sup> kategorije.

#### PRIPREMA UZORAKA

- Uzorke krvi potrebno je prikupljati jednom od uobičajenih tehnika uzorkovanja.
- Krv koja se ispituje potrebno je provjeriti čim prije nakon uzimanja uzorka kako bi se opasnost od lažno pozitivnih odnosno lažno negativnih reakcija zbog nepropisnog čuvanja ili kontaminacije uzorka svela na najmanju moguću mjeru. Krv koja se ne ispita odmah pohranite na temperaturi od +2 do +8 °C. Uzorke krvi antikoagulirane s pomoću EDTA-e potrebno je ispitati u roku od 7 dana, a uzorke obrađene natrijevim citratom u roku od 14 dana od prikupljanja. Konzervirana/darovana krv može se ispitati do datuma isteka valjanosti.

#### PRIPREMA PRETRAŽIVANIH SERUMA

Pretraživane serume nije potrebno pripremiti. Serum se uzimaju i upotrebljavaju izravno iz bočica.

#### POSTUPAK

Materijali koji nisu uključeni u isporuku, ali su potrebni:

##### Metoda predmetnih stakalaca

- Predmetno stakalo
- Pasteurova pipeta
- Štapići za miješanje
- Brojač vremena

##### Metoda epruveta

- Epruveta, 10 x 75 mm ili 12 x 75 mm
- Mikrolitarska pipeta za 50 µL/100 µL
- Brojač vremena
- Centrifuga
- Izotonična fiziološka otopina (0,85-0,9 % natrijeva klorida)
- Jednokratni nastavci za pipetu

#### Provođenje ispitivanja

##### Test predmetnog stakalca

- Upotrebljavajte samo sediment eritrocita.
- Na označeno predmetno stakalce nanosite jednu kap (oko 50 µL) odgovarajućeg pretraživanog seruma.
- Kapi pretraživanog seruma na predmetnom stakalcu s pomoću Pasteurove pipete dodajte jednu kap (oko 50 µL) sedimenta eritrocita.
- Dobro promiješajte smjesu eritrocita i pretraživanog seruma štapićem za miješanje i rasporedite je u obliku kruga promjera oko 2 cm.
- Uz jedinomutno lagano nihanje predmetnog stakalca provjerite je li došlo do aglutinacije (početak reakcije nakon nekoliko sekundi).
- Zabilježite rezultate.

##### Test centrifugiranja epruveta

- Pripremite 2 – 5 %-tnu suspenziju eritrocita u izotoničnoj fiziološkoj otopini (eritrociti se mogu prethodno 1-3 puta oprati izotoničnom fiziološkom otopinom).
- U označenoj epruveti prvo dodajte 100 µL testnog seruma, a zatim u epruvetu dodajte 100µl odgovarajuće suspenzije eritrocita. Alternativno, jedna kap = oko 50µl suspenzije eritrocita može se dodati u jednu kap = oko 50 µl test seruma.
- Lagano protresite smjesu eritrocita i pretraživanog seruma.
- Inkubirajte epruvete pri sobnoj temperaturi 1-15 minuta.
- Centrifugirajte epruvete 1 minutu pri 2000 okr./min (oko 800-1000 g).
- Stanice oprezno u potpunosti otrese te dna epruveta i u roku od 3 minute makroskopski provjerite je li došlo do aglutinacije.
- Zabilježite rezultate.

#### TUMAČENJE REZULTATA TESTA

„Oprezno nihanje/protresanje“ pri metodama predmetnih stakalaca i epruveta:

Pozitivni rezultat (+): Aglutinacija eritrocita smatra se pozitivnim rezultatom testa i pokazuje prisutnost odgovarajućeg antigena.  
Negativni rezultat (-): Izostanak aglutinacije eritrocita smatra se negativnim rezultatom testa te se odgovarajući antigen ne može otkriti.

#### GRENZEN DER METHODE

- Nepravilnosti u pridržavanju uputa iz odjeljaka „Provođenje ispitivanja“ i „Tumačenje rezultata testa“ mogu dovesti do pogrešnih rezultata.
- Provedene kontrole s nejasnim ili netočnim rezultatima automatski dovode do neiskoristivosti svih rezultata.
- Enzimski obrađeni eritrociti ili dodavanje govede albumina i/ili drugih otopina koje sadržavaju proteine mogu dovesti do nespecifičnih reakcija s ovim pretraživanim serumima.
- Ne smiju se upotrebljavati hemolizirani, mutni, kontaminirani ili zgrušani uzorci krvi.
- Pri metodi predmetnih stakalaca može doći do nespecifičnih reakcija pri sušenju reakcijske smjese odnosno zagrijavanju predmetnog stakalca.
- U testu predmetnih stakalaca većina slabih D-antigena (D<sup>weak</sup>) i kategorija se ne prikazuju.
- Testni serum gore naveden reagira negativno sa krvarenjem D<sup>VI</sup> kategorije.
- Zbog različite manifestacije antigena pri određenim fenotipovima s tim reagensima može doći do slabije reakcije nego s kontrolnim eritrocitima.
- Nijedan pojedinačni pretraživani serum i nijedna pojedinačna metoda ne može jamčiti otkrivanje svih rijetkih ili slabih antigena i svih varijanti antigena <sup>2</sup>.

#### UČINAK

Učinak proizvoda ocijenjen je u skladu sa zajedničkim tehničkim specifikacijama (odluka CTS Komisije od 3. veljače 2009.). Upotrijebljeni su različiti uzorak (krv darivatelja, pacijenata, panela) te su uspoređeni s drugim Referentne metode / proizvodima.






Proizvod	Pozitivno	Lažno negativno	Osjetljivost	Negativno	Lažno pozitivno	Specifičnost
Anti-D monoclonal, human IgM clone: P3x61	1335	0*	100%*	309	0	100%

\* za anti-D (klon: P3x61) u testu slajdova pločica lažno su negativno ocijenjena 8 D<sup>weak</sup> uzorka te je stoga osjetljivost u toj tehnici iznosila samo 99,56 %


## POPIS LITERATURE




1. Smjernice za prikupljanje krvi i krvnih sastojaka te za primjenu proizvoda od krvi (hemoterapija)
2. CLSI, I/LA33-A Validatin of Automated System for Immunhematological Testing Before Implementation; Approved Guidline CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, prosinac 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. izdanje, Springer-Verlag 2004.

## SIMBOL – LEGENDA

 Čuvanje od – do	<b>REF</b> Broj artikla	 Rok valjanosti	 Proizvođač prema 98/79/EZ
<b>LOT</b> Serija	<b>CLON</b> Klon/klonovi	<b>IVD</b> In vitro dijagnostički medicinski proizvod	 Simbol CE EZ-a
<b>UDI</b> Unique Device Identification	 Obratiti pozornost na upute za upotrebu		

730-22-0306 Verzija 0006 / 01.07.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Njemačka

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



## BRUGSVEJLEDNING

### Anti-D (RH1), P3x61, monoclonal IgM (human)

REF 690121A

#### FORMÅL

Monoklonalt agglutinerende anti-D-reagens udvindes af cellekultursupernatanter fra heterohybridome cellelinjer, som udskiller antistof af IgM-typen, og som retter sig specifikt mod det korresponderende antigen. Antistoffet er humant protein. Reagenset anvendes til kvalitativ in-vitro-påvisning af tilstedeværelsen eller fraværet af blodgruppetantigenet D på humane erythrocytter. Dette testserum reagerer negativt med blødning i kategori D<sup>VI</sup>. Anvendelse af dette testserum er kun beregnet til kvalificeret og uddannet fagpersonale.

#### PRINCIP FOR METODEN

Testmetoderne anvendt i anvendelse af dette produkt baserer på princippet om agglutinationsteknik. Normale humane erythrocytter, som bærer det tilsvarende antigen, agglutineres af det korresponderende antistof.

#### REAGNSER

Det nævnte blodprøvereagen indeholder antistof fra følgende klon:

Anti-D monoclonal, human IgM clone: P3x61

Reagenset indeholder <0,1% (w/v) natriumazid som konserveringsmiddel.

Udover det aktive antistof indeholder dette reagens natriumklorid, højmolekulære forbindelser og bovint albumin, som har veriferats och certifierats av de amerikanska inspektörerna för veterinärtjänster.

**ADVARSEL:** Dette reagens er fremstillet af cellekultursupernatanter. Uafhængigt af dette ved et biologisk produkt kan der aldrig helt udelukkes risikoen for sygdomsfremkaldende organismer, og produktet skal derfor anses som potentielt infektiøst. Reagenset indeholder natriumazid, som kan virke toksisk og kan sammen med bly eller kobber danne eksplosive salte. Ved bortskaffelse skal der efterskylles med rigeligt vand. Af ovennævnte grunde skal reagenset behandles med passende agtpågivenhed.

#### OPBEVARING

Opbevares uåbnet og efter første åbning forsvarligt lukket ved +2 til +8°C; i kort tid ved brug ligeledes ved rumtemperatur. Må kun opbevares og anvendes indtil den sidste anvendelsesdag!

#### HENVISNINGER

1. Ved hver test skal der gennemføres positive- og negative-kontroller.
2. Uhensigtsmæssig opbevaring påvirker produktets virkning.
3. En let uklarhed påvirker ikke reagensets reaktionsevne. Bakteriel og kemisk kontaminering af reagenset bør undgås. Hvis der påvises en synlig ændring i reagenset, bør den ikke længere bruges, ændringen kan indikere mikrobiel kontaminering.
4. Styrken af den positive reaktion afhænger af alderen på det anvendte blod.
5. Centrifugering uden for det angivne hastighedsområde kan føre til fejlagtige resultater.
6. De beskrevne testmetoder angående brug gælder udelukkende for manuelle metoder. Anvendes automatiske eller halvautomatiske systemer, skal laboratorierne følge producentens oplysninger og gennemføre valideringer i henhold til anerkendte metoder.
7. Ved brug af reagenset skal alle gyldige nationale love, forordninger og retningslinjer følges, i Tyskland især retningslinjen, "Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)"<sup>1</sup> i den aktuelle version
8. Dette testserum reagerer negativt med blødning i kategori D<sup>VI</sup>.

#### PRØVEFORBEREDELSE

1. Blodprøver skal fås ved hjælp af en standard prøveudtagningsteknik.
2. Blodet, der skal testes, skal kontrolleres så hurtigt som muligt efter fjernelse af blodet for at undgå risikoen for falske positive eller falske negative reaktioner for at minimere forkert opbevaring eller kontaminering af prøven.  
Blodet, som skal testes, skal undersøges så hurtigt som muligt. Ikke anvendt blod skal opbevares ved +2 bis +8°C.  
EDTA-antikoagulerede blodprøver skal anvendes inden for 7 dage og blodprøver behandlet med natriumzitrat, skal anvendes inden for 14 dage efter blodprøvetagningen.  
Hermetisert / doneret blod kan testes indtil udløbsdatoen.

#### KLARGØRING AF REGENSEREN

Det er ikke nødvendigt at klargøre reagenset. Det tages direkte fra hætteglasset og anvendes.

#### FREM GANGSMÅDE

Nødvendigt materiale, som ikke medfølger

Slidemetode	Røremetode
1. Diastesten	1. reagensglas, 10 x 75 mm eller 12 x 75 mm
2. Pasteur pipette	2. Mikroliterpipette til 50 µL/100 µL
3. Omrørere	3. Kortvarigt vækkeur
4. Kortvarigt vækkeur	4. Centrifuge
	5. Isotonisk saltopløsning (0,85 - 0,9% NaCl)
	6. Engangs pipettespidser

#### Testgennemførelse

##### Slidemetode

1. Brug kun erythrocyt sediment.
2. På en mærket diastesten skal du tage et fald (ca. 50 µL) af testserummet.
3. Tilsæt en dråbe (ca. 50 µL) erythrocyt sediment med en pasteurpipette til dråben af testserum på objektbæreren.
4. Bland erythrocyt/test blandingen godt med en omrøring stick og spredes til en cirkel på omkring 2 cm i diameter.
5. Hvis diaset er let drejet, skal du kontrollere, om der er agglutination inden for et minut (reaktionen starter efter sekunder).
6. Log resultater.

##### Rørcentrifugeringsmetode

1. Forbered 2-5% erythrocyt suspension i isotonisk saltvand.  
(Erythrocytter kan vaskes på forhånd 1-3 gange med isotonisk saltvand).
2. Sæt reagensglas i et mærket reagensglas som det første 100 µL-testserum, og der tilsættes derefter 100 µL af den tilsvarende erythrocytaffjedring i reagensglasset.  
Alternativt kan en dråbe = ca. 50 µL erythrocyt suspension føjes til en dråbe = ca. 50 µL test serum.
3. Bland erythrocyt/test serum blandingen ved at ryste let.
4. Inkuber reagensglas ved stuetemperatur i 1-15 minutter.
5. Centrifuge reagensglasset i 1 minut ved 2.000 omdrejninger (ca. 800 - 1.000 g).
6. Løsriv cellerne helt fra bunden af røret ved omhyggelig rystelse og undersøg makroskopisk for agglutination inden for 3 minutter.
7. Log resultater.

#### FORTOLKNING AF TESTRESULTATER

Omhyggelig panorering/rysten<sup>1</sup> i diastemetoden og rørcentrifugeringsmetoden:

Positivt resultat (+): Agglutination af erythrocyterne vurderes som et positivt testresultat og viser tilstedeværelsen af tilsvarende antigener.

Negativt resultat (-): Mangel på agglutination af erythrocyterne vurderes som et negativt testresultat; det tilsvarende antigen er ikke påviseligt.

#### GRÆNSER FOR TESTMETODEN

1. Hvis instruktionerne i afsnittene "testgennemførelse" og "fortolkning af testresultater" ikke overholdes nøjagtigt, kan det føre til fejlagtige resultater.
2. Gennemførte kontroller, hvor resultaterne ikke er entydige eller er fejlagtige, fører automatisk til, at der ikke opnås en brugbar konklusion.
3. Enzymbehandlede erythrocytter eller tilsætning af bovint albumin og/eller andre proteinholdige opløsninger kan føre til uspecifikke reaktioner.
4. Hæmolyserede, uklare, kontaminede eller koagulerede blodprøver må ikke anvendes til testen.
5. Ved diastesten kan der forekomme ikke-specifikke reaktioner ved tørring af reaktionsbasen, eller når
6. I diastesten vises de fleste svage D-antigener (D<sup>weak</sup>) og kategorier ikke.
7. Ovennævnte testserum reagerer negativt med kategori DVI-blødning.
8. Grundet forskellig ekspresion af antigenerne kan der ved bestemte fænotyper komme en svagere reaktion med dette reagens end med kontrolerythrocytter.
9. Intet enkelt testserum eller metode kan garantere påvisning af alle sjældne eller svage antigener og alle varianter af antigenerne.<sup>2</sup>

## PRÆSTATION

Der blev foretaget en resultatevaluering for produktet i overensstemmelse med de fælles tekniske specifikationer (CTS-Kommissionens beslutning af 3. februar 2009). Der blev anvendt forskelligt prøvemateriale (donor, patient, panelblod) og sammenlignet med andre referencemetoder/produkter.











Produkt	Positiv	Falsk negativ	Følsomhed	Negativ	Falsk positiv	Specificitet
Anti-D monoclonal, human IgM clone: P3x61	1335	0*	100%*	309	0	100%

\* for Anti-D (klon: P3x61) 8 Dweak prøver blev bedømt falsk negativ i diastesten, således at følsomheden i denne teknik kun var 99,56%.


## LITERATUR



1. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)
2. CLSI, I/LA33-A Validation of Automated System for Immunhematological Testing Before Implementation; Approved Guideline CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE Dezember 2009
3. Peter D. Issitt, 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.

## SYMBOL - FORKLARING

 Opbevaring fra - til	 Varenummer	 Udløbsdato	 Producent i henhold til 98 /79 / EG
 Lotnummer	 Klon(er)	 In-Vitro-Diagnostik	 EG CE-Symbol
 Unique Device Identification	 Se brugsanvisningen		

730-22-0306 Version 006 / 01.07.2021

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental, Deutschland

+49 (0) 6223/ 8661-0  +49 (0) 6223/ 8661-13  [qara@antitoxin-gmbh.de](mailto:qara@antitoxin-gmbh.de)