

# Anti-D monoclonal, human IgM

Deutsch

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

## ZWECKBESTIMMUNG

Monoklonale agglutinierende Anti-D Testseren werden aus Zellkulturüberständen von Hetero-Hybridoma-Zelllinien gewonnen, die Antikörper vom IgM-Typus sezernieren, die spezifisch gegen das korrespondierende Blutgruppenantigen gerichtet sind. Der Antikörper ist jeweils humanes Protein. Die Testseren werden zum qualitativen In-Vitro Nachweis des Vorhandenseins oder Fehlens des Blutgruppenantigens D auf menschlichen Erythrozyten verwendet. Die Testseren reagieren negativ mit Blutproben der Kategorie D<sup>VI</sup>. Die Anwendung dieser Testseren ist nur für qualifiziertes und geschultes Fachpersonal vorgesehen.

## PRINZIP DES VERFAHRENS

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

## TESTSEREN

Die aufgeführten Blutgruppentestseren enthalten Antikörper der folgenden Klone:

Anti-D monoclonal, human IgM clone: RUM-1

Anti-D monoclonal, human IgM clone: P3x61

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

## WARNUNG

Diese Testseren werden aus Zellkulturüberständen hergestellt. Unabhängig davon sollten diese biologischen Produkte wegen der völlig auszuschließender Gefährdung durch Krankheitserreger als potentiell infektiös angesehen werden. Die Testseren enthalten Natriumazid, das toxisch wirken und mit Blei oder Kupfer explosive Salze bilden kann. Bei der Entsorgung mit reichlich Wasser nachspülen. Aus den oben genannten Gründen sollten die Testseren mit angemessener Sorgfalt gehandhabt werden.

## LAGERUNG

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

## HINWEISE

- Es sollten bei jeder Austestung positive und negative Kontrollen mitgeführt werden.
- Unschonungsmäßige Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit der Produkte.
- Die Reaktionsfähigkeit der oben aufgeführten Testseren wird durch leichte Trübung nicht beeinträchtigt. Eine bakterielle und chemische Kontamination der Testseren 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.
- Die Stärke der positiven Reaktion ist vom Alter des verwendeten Blutes abhängig.
- Zentrifugieren außerhalb des angegebenen Drehzahl-Bereiches kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Bei der Kartenmethode kann der Einsatz einer anderen kartenspezifischen Zentrifuge (jede Kartenzentrifuge hat seine festgelegte unveränderliche g-Zahl) auf Grund der dadurch veränderten g-Zahl zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Die beschriebenen Testmethoden zur Anwendung gelten ausschließlich für manuelle Verfahren. Werden Automaten oder halbautomatische Systeme verwendet, müssen die Laboratorien die Angaben der Gerätehersteller befolgen und Validierungen nach anerkannten Verfahren durchführen.
- Bei der Anwendung dieser Testseren sind alle gültigen nationalen Gesetze, Verordnungen und Richtlinien zu beachten, in Deutschland insbesondere die „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“<sup>1</sup> in ihrer gültigen Fassung.
- Die oben aufgeführten Testseren reagieren negativ mit Bluten der Kategorie D<sup>VI</sup>.
- Die Angaben zum Einsatz der Testkarten, in der jeweils zugehörigen Gebrauchsinformation, sind unbedingt zu beachten.

## PROBENVORBEREITUNG

- Blutproben sollten mit einer der üblichen Entnahmetechnik gewonnen werden.
- Das auszutestende Blut sollte so bald wie möglich nach der Blutentnahme geprüft werden, um die Gefahr falsch positiver bzw. falsch negativer Reaktionen, durch unsachgemäße Lagerung oder Kontamination der Probe, zu minimieren. Nicht sofort getestetes Blut ist bei +2 bis +8 °C zu lagern. Mit EDTA antikoagulierte Blutproben müssen innerhalb von 7 Tagen und mit Natriumzitrat behandelte Proben innerhalb von 14 Tagen nach der Entnahme getestet werden. Konserven/Spenderblute können bis zum Verfallsdatum ausgetestet werden.

## VORBEREITUNG DER TESTSEREN

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

## VERFAHRENSWEISE

Nicht im Lieferumfang enthaltene, aber benötigte Materialien

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

## Testdurchführung

### Objektträgermethode

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

### Röhrchen-Zentrifugationsmethode

- Eine 2-5%ige Erythrozytensuspension in isotonischer Kochsalzlösung vorbereiten. (Erythrozyten können vorab 1-3 Mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
- In ein beschriftetes Teströhrchen 100 µL des entsprechenden Testserum geben und anschließend in das Teströhrchen 100 µL der entsprechenden Erythrozytensuspension zugeben. Alternativ können ein Tropfen = ca. 50 µL Erythrozytensuspension zu einem Tropfen = ca. 50 µL Testserum gegeben werden.
- Die Erythrozyten-/Testserummischung durch leichtes Schütteln vermischen.
- Teströhrchen 1-15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
- Teströhrchen 1 Minute bei 2.000 U/min (ca. 800-1.000 x g) zentrifugieren.
- Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig vom Boden lösen und innerhalb 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
- Ergebnis protokollieren.

### Kartenmethode (manuelle Methode / gültig für die Karten:

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

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

### Mikrotiterplattenmethode

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

## INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

„Vorsichtiges Schwenken / Schütteln“

bei der Objektträgermethode / Röhrchen-Zentrifugationsmethode / Mikrotiterplatten Methode:

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

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

Die Ablesung und Interpretation der Ergebnisse bei der Kartenmethode entsprechend der Gebrauchsinformation der jeweiligen Karte durchführen.

## GRENZEN DER TESTMETHODEN

- Ungenauigkeiten bei der Einhaltung der Anweisungen in den Abschnitten „Testdurchführung“ und „Interpretation der Testergebnisse“ können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Mitgeführte Kontrollen mit nicht eindeutigen oder falschen Ergebnissen führen automatisch zu nicht Verwertbarkeit aller Ergebnisse.
- Enzymbehandelte Erythrozyten oder die Zugabe von Rinderalbumin und/oder anderer proteinhaltiger Lösungen können mit diesen Testseren zu unspezifischen Reaktionen führen.
- Hämolytierte, trübe, kontaminierte oder geronnene Blutproben dürfen nicht eingesetzt werden.
- Bei der Objektträgermethode können unspezifische Reaktionen beim Eintrocknen des Reaktionsansatzes bzw. beim Erwärmen des Objektträgers auftreten
- Beim Objektträger-Test werden die meisten schwachen D-Antigene (D<sup>weak</sup>) und Kategorien nicht angezeigt.
- Die oben aufgeführten Testseren reagieren negativ mit Bluten der Kategorie D<sup>VI</sup>.
- Aufgrund der unterschiedlichen Ausprägung der Antigene kann es bei bestimmten Phänotypen mit diesen Testseren zu einer schwächeren Reaktion kommen als mit Kontrollerythrozyten.
- Kein einzelnes Testserum oder eine einzelne Methode kann garantieren alle seltenen oder schwachen Antigene und alle Varianten der Antigene zu detektieren.<sup>2</sup>
- Bei Erythrozyten, die stark mit Antikörpern beladen sind (Erythrozyten positiv im direkten Antiglobulintest), kann es im Kartentest zu falsch-positiven Ergebnissen kommen. Diese Zellen reagieren auch ohne Testserum positiv!
- Angaben zu Grenzen in der Gebrauchsanweisung der eingesetzten Karte sind zu beachten.
- Neugeborenen-Blute sind für den Klon P3x61 auf der Mikrotiterplatte ausgeschlossen.
- Bei Verwendung von Produkten aus 1 L Flaschen ist der Inhalt innerhalb 6 Monaten nach dem ersten Öffnen der Flasche zu verbrauchen.



# OPTIMA TESTSEREN

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

**LEISTUNGSDATEN**

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

Produkt	Positive	Negative	Falsch Positive	Falsch Negative
Anti-D (clone: Rum-1)	2449	592	0	0 *
Anti-D (clone: P3x61)	2586	617	0	0 *

Die errechneten Werte betragen für:

Produkt	Sensitivität	Spezifität
Anti-D (clone: Rum-1)	100% *	100%
Anti-D (clone: P3x61)	100% *	100%

\* für Anti-D (clone: RUM-1) wurden im Objekträgergest 4 D<sup>weak</sup>-Proben falsch negativ bewertet, sodass in dieser Technik die Sensitivität lediglich 99,77% betrug und bei Anti-D (clone: P3x61) waren es 8 D<sup>weak</sup>-Proben, sodass 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.

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

**REF**

- 314110 Anti-D monoclonal, human IgM clone: RUM-1 10 ml
- 316110 Anti-D monoclonal, human IgM clone: P3X61 10 ml

**CE 0483**

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

730-15-0306 Version 006 / 01.07.2021

*Erklärung der Mini-Gebrauchsinformation (für die Röhrchen-Technik) auf dem Fläschchenetikett:*

<b>Anti-D</b> <i>monoclonal, human IgM</i> <i>(clone: RUM-1)</i>	<b>CE 0483</b> Art.-Nr.: 314110 Lot: XX3141 Verw. bis: 20XX-XX-XX	<b>10 ml</b>	Röhrchen-Technik	<b>Testdurchführung</b>
			15-30°C 2 - 5% 1S + 1E 1 - 15 Min. 800-1000g 1 Min	15-30° C = Temperaturangabe für die Inkubation 2 - 5% = Stärke der Erythrozytensuspension 1S + 1E = 1 Tropfen Serum und 1 Tropfen Erythrozytensuspension 1 - 15 Min. = Inkubationsdauer in Minuten 800-1000g = Zentrifugalkraft 1 Min. = Zentrifugationszeit

**OPTIMA TESTSEREN**  
 Antitoxin GmbH, Industriestr.88  
 69245 Bammental

Zu lagern bei 2-8° C  
 In vitro Diagnostikum

**OPTIMA TESTSEREN**

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