

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. Der Antikörper ist dabei humanes Protein. Das Testserum wird zur Bestimmung des Vorhandenseins oder Fehlens des Blutgruppenantigens D auf menschlichen Erythrozyten verwendet. Dieses Testserum reagiert negativ mit Bluten der Kategorie D^{VI}. Die Anwendung dieses Testserums ist nur für qualifiziertes und geschultes Fachpersonal vorgesehen.

PRINZIP DES VERFAHRENS

Die bei Verwendung dieses Produktes angewendeten Tests 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 monoklonal, human IgM (Klon: P3x61)

Das Testserum enthält als Konservierungsmittel <0,1% (w/v) Natriumazid. Außer dem aktiven Antikörper-Bestandteil beinhaltet das Testserum Natriumchlorid, hochmolekulare Verbindungen und Rinderalbumin.

WARNUNG: Dieses Testserum wurde aus Zellkulturüberständen hergestellt. Unabhängig davon sollte dieses 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 (+15 bis +30 °C). Grundsätzlich nur bis zum angegebenen Verfallsdatum lagern und anwenden!

HINWEISE

- Die Stärke der positiven Reaktion ist vom Alter des verwendeten Blutes abhängig.
- Es sollten bei jeder Austestung positive und negative Kontrollen mitgeführt werden.
- Unschonungsmäßige Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit der Produkte.
- Zentrifugieren außerhalb des angegebenen Drehzahl-Bereiches kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Das auszutestende Blut sollte möglichst rasch geprüft werden. Nicht sofort getestetes Blut ist bei +2 bis +8 °C zu lagern. Mit EDTA oder Natriumzitrat antikoagulierte Blutproben müssen innerhalb von 14 Tagen getestet werden.
- 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.
- 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) in ihrer gültigen Fassung.
- Dieses Testserum reagiert negativ mit Bluten der Kategorie D^{VI}.

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

- Objektträger
- Pasteurpipette
- Rührstäbchen

Röhrchenmethode

- Teströhrchen, 10 x 75 mm oder 12 x 75 mm
- Mikroliterpipette für 50 µL/100 µL
- Zentrifuge
- Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)
- Einweg Pipettenspitzen

Testdurchführung

Objektträgertest

- Nur Erythrozytensediment oder Vollblut verwenden.
- Auf einen Objektträger je einen Tropfen (ca. 50 µL) des Testserums auftropfen.
- Geben Sie zu jedem Tropfen Testserum auf den Objektträger mit einer Pasteurpipette einen Tropfen (ca. 50 µL) Erythrozytensediment oder Vollblut.
- Die Erythrozyten-/Testserenmischungen mit einem Rührstäbchen gut vermischen und ausbreiten (Kreis von ca. 2 cm Durchmesser).
- Bei leichtem Schwenken des Objektträgers innerhalb einer Minute auf Agglutination prüfen (Reaktionsbeginn nach Sekunden). Ergebnisse protokollieren. Unspezifische Reaktionen können beim Eintrocknen des Reaktionsansatzes bzw. Erwärmen des Objektträgers auftreten.

Röhrchen-Zentrifugationstest

- Nur 2-5%ige Erythrozytensuspension in isotonischer Kochsalzlösung (ein- bis dreimal gewaschen mit isotonischer Kochsalzlösung) verwenden.
- In jedes Teströhrchen 100 µL (alternativ je einen Tropfen, ca. 50 µL) des Testserums geben.
- Geben Sie zu jedem Teströhrchen 100 µL (alternativ je einen Tropfen, ca. 50 µL) der entsprechenden Erythrozytensuspension.
- Die Erythrozyten-/Testserenmischungen durch leichtes Schütteln vermischen.
- Teströhrchen 1-15 Minuten bei Raumtemperatur (+15 bis +30 °C) inkubieren.
- Teströhrchen 1 Minute bei 2.000 U/min (ca. 800 - 1.000 g) zentrifugieren.
- Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig resuspendieren und innerhalb von 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination untersuchen. Ergebnisse protokollieren.

INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

„Vorsichtiges Schwenken/ Schütteln“ beim Objektträger-Schnelltest und beim Röhrchen-Zentrifugationstest:

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

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

GRENZEN DER METHODE

- Ungenauigkeiten bei der Einhaltung der Anweisungen in den Abschnitten „Testdurchführung“ und „Interpretation der Testergebnisse“ können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Mitgeführte Kontrollen mit nicht eindeutigen oder falschen Ergebnissen führen automatisch zur nicht Verwertbarkeit aller Ergebnisse.
- Enzymbehandelte Erythrozyten können mit diesem Testserum unspezifisch reagieren.
- Auf Grund der unterschiedlichen Ausprägung der Antigene kann es bei bestimmten Phänotypen mit diesem Testserum zu einer schwächeren Reaktion kommen als mit Kontrollerythrozyten.
- Bei Erythrozyten, die mit Alloantikörpern oder Autoantikörpern derselben oder einer ähnlichen Spezifität wie das Testserum sensibilisiert sind (z.B. Erythrozyten positiv im direkten Antiglobulintest), kann es zu schwach ausgeprägten Reaktionen kommen. In äußerst seltenen Fällen kann es zu falsch-negativen Resultaten kommen.
- Beim Objektträger-Test werden die meisten schwachen D-Antigene (D^{weak}) und Kategorien nicht angezeigt.
- Dieses Testserum reagiert negativ mit Bluten der Kategorie D^{VI}.

LEISTUNG

Eine Leistungsbewertung für das Produkt wurde entsprechend der Common Technical Specifications (CTS Entscheidung der Kommission vom 03. Februar 2009) durchgeführt. Es wurden unterschiedliche Proben (Spender-, Patienten-, Panelblute) eingesetzt und mit anderen Produkten verglichen. Die errechneten diagnostischen Werte betragen für diese Studien:

Produkt	Positiv	Falsch negativ	Sensitivität	Negativ	Falsch positiv	Spezifität
Anti-D (Klon: P3x61)	1986	0*	100%*	517	0	100%

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

SYMBOL - LEGENDE

	Lagerung von - bis	REF	Artikel- Nummer		Verfallsdatum		Hersteller nach 98/79/EG
LOT	Los	CLON	Klon(e)	IVD	In-vitro- Diagnostikum		EG CE-Symbol

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 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^{VI}. 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.

CAUTION: Please handle 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 (+15 to +30 °C) while in use. Do not use reagent beyond its labeled expiration date!

REMARKS

- Strength of positive reactions also depends on age of used blood.
- It is recommended that each lot of reagent be tested with appropriate positive and negative controls.
- Inappropriate storage impairs efficacy of the reagent.
- Overcentrifugation or undercentrifugation may lead to false results.
- Blood samples to be tested should be used as soon as possible. If a delay in testing occurs, samples should be stored at +2 to +8 °C. Blood drawn into sodium citrate or EDTA should be tested within 14 days.
- The procedures 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 to demonstrate compatibility of this product on automated systems.
- 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)“.]
- This test serum reacts negatively with erythrocytes of category D^{VI}.

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

- Glass slide
- Pasteur pipette
- Mixing stick

Tube Centrifugation Method

- Test tubes, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm
- Pipettes designed to deliver 50 µL/100 µL
- Centrifuge
- Isotonic saline (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)
- Disposable pipette tips

Test procedure

Slide Method

- Use erythrocyte sediment or whole blood only.
- Place one drop (approximately 50 µL) of reagent on a glass slide.
- Using a Pasteur pipette add one drop erythrocyte sediment or whole blood (approximately 50 µL) to the glass slide.
- Using a stick, mix the erythrocytes with reagent well and spread to a circle (diameter 2 cm).
- By slightly rotating the slide, check for agglutination within 1 minute (reaction starts within seconds). Document the results. Unspecific reactions might appear due to drying of the reaction-formation or if the slide is heated.

Tube Centrifugation Method

- Use a 2% to 5% suspension of red blood cells in isotonic saline only (cells washed one time or up to three times with isotonic saline).
- Add 100 µL (alternative: one drop, approximately 50 µL) of reagent to each tube.
- Add 100 µL (alternative: one drop, approximately 50 µL) of appropriate cell suspension to each tube.
- Mix well by slightly shaking.
- Incubate tube at room temperature (+15 to +30 °C) for 1-15 min.
- Centrifugation of tube for 1 minute at 2.000 rpm (approximately 800 - 1.000 g).
- Gently resuspend the red cells and within 3 minutes check macroscopically for agglutination. 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

- The "Procedure" and "Interpretation of Results" sections must be followed closely to assure the accuracy of the test results.
- No valid conclusion concerning the test result can be reached, if controls with uncertain or false results occur.
- Enzyme treated erythrocytes may react unspecifically.
- Due to variability of antigen expression, reactivity of this reagent against certain phenotypes may produce a weaker reaction compared to control cells.
- Red blood cells coated with alloantibodies or autoantibodies of the same or similar specificity as the reagent (i.e., cells that are positive in the direct antiglobulin-test [DAT]) may give weak reactions. In extreme cases, false-negative results may occur.
- With the slide method will most of weak D-antigens (D^{weak}) and categories not be recognized.
- This test serum reacts negatively with erythrocytes of category D^{VI}.

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. The calculated diagnostic values found for these studies:

Product	Positive	False negative	Sensitivity	Negative	False positive	Specificity
Anti-D (clone: P3x61)	1986	0*	100%*	517	0	100%

* for Anti-D (clone: P3x61) in slide method 8 D^{weak} samples were tested false negative, so in this single method sensitivity was 99,56% only.

LEGEND OF SYMBOLS

Store from - to	REF Product Code	Expiration Date	Manufacturer as to 98/79/EU
LOT Lot	CLON Clone(s)	IVD In vitro diagnostic medical device	EU CE-symbol

ISTRUZIONI PER L'USO

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

REF 690121A

USO PREVISTO

L'Antisiero Monoclonale agglutinante Anti-D è preparato da sovranatanti 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. L'antisiero è utilizzato per determinare se gli eritrociti abbiano o meno i corrispondenti antigeni gruppo ematici. Questo antisiero reagisce con eritrociti della variante D^{VI}. 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 è prodotto del seguente clone:

Anti-D monoclonale, IgM umano (Clone: P3x61)

Il reagente contengono <0.1% (w/v) di Sodio Azide come conservante. In aggiunta, i reagenti contengono anticorpi attivi, cloruro di sodio, macromolecole ed albumina bovina.

AVVERTENZE: Questo reagente è preparato da sovranatanti 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 questi motivi debbono essere maneggiati con estrema cura.

CONSERVAZIONE

Conservare (chiuso non ancora usato/chiuso già usato) da +2 a +8 °C. Tenere a temperatura di laboratorio (da +15 a +30 °C) mentre sono in uso. Conservare ed utilizzare il reagente solamente fino alla data di scadenza segnalata.

NOTE

1. Il grado di reazione positiva dipende anche dal periodo di conservazione del campione utilizzato.
2. In ogni sessione di test devono essere eseguiti controlli positivi e negativi.
3. Una conservazione inadeguata diminuisce l'efficacia del reagente.
4. Una centrifugazione molto differente da quella consigliata può causare risultati non adeguati.
5. I campioni di sangue da testare devono essere valutati il più presto possibile. Se sono testati in tempi successivi, devono essere conservati tra +2 ed +8 °C. Il sangue prelevato in Sodio Citrato o in EDTA deve essere testato entro 14 giorni dal prelievo.
6. Le procedure sotto descritte si riferiscono all'esecuzione manuale dei test. Utilizzando strumentazioni automatiche, seguire le procedure contenute nei manuali forniti dal produttore dello strumento. I laboratori devono seguire procedure di validazione approvate per dimostrare la compatibilità di questo prodotto con i sistemi automatici.
7. 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)“.
8. Questo antisiero non reagisce con gli eritrociti della variate D^{VI}.

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

1. Vetrino
2. Pipetta Pasteur
3. Bastoncino per miscelare

Metodo in Provetta con Centrifugazione

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

Procedura del test

Metodo su Vetrino

1. Usare emazie sedimentate o sangue intero.
2. Porre una goccia (ca. 50 µL) del reagente sul vetrino.
3. Usando una pipetta Pasteur aggiungere una goccia di emazie sedimentate o di sangue intero (ca. 50 µL) sul vetrino.
4. Miscelare reagente ed emazie con un bastoncino in maniera circolare (diametro 2 cm).
5. Ruotando dolcemente il vetrino, controllare per agglutinazione entro 1 minuto (la reazione parte in pochi secondi). Registrare il risultato. Possono riscontrarsi reazioni aspecifiche da artefatti dovuti all'essiccazione o per il riscaldamento del vetrino.

Metodo in Provetta con Centrifugazione

1. Usare solamente una sospensione in soluzione fisiologica al 2 - 5% di emazie (emazie lavate da una a tre volte con soluzione fisiologica).
2. Aggiungere 100 µL (in alternativa una goccia, ca. 50 µL) del reagente in ogni provetta.
3. Aggiungere 100 µL (in alternativa una goccia, ca. 50 µL) della appropriata sospensione eritrocitaria in ogni provetta.
4. Miscelare bene con delicatezza.
5. Incubare la provetta a temperatura ambiente (da +15 a +30 °C) per 1-15 Minuti.
6. Centrifugare 1 Minuto a 2.000 rpm (ca. 800 - 1.000 g).
7. Risospendere delicatamente le emazie e verificare macroscopicamente per agglutinazione entro 3 Minuti. Registrare il risultato.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Metodo su Vetrino, Metodo in Provetta con Centrifugazione:

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

1. Il mancato rispetto delle istruzioni riportate nella sezione „Procedura“ ed „Interpretazione dei risultati“ può produrre risultati non corretti.
2. Se i controlli sono dubbi o non corretti, non può essere raggiunta alcuna conclusione valida per quanto riguarda i risultati.
3. Gli eritrociti trattati con enzima possono reagire aspecificamente.
4. 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.
5. Le procedure descritte prevedono l'uso di Siero di Coombs prodotto da Antitoxin GmbH. Possono essere utilizzati anche Sieri di Coombs di altri produttori; il laboratorio deve seguire le procedure di quel produttore. Anche i laboratori devono seguire procedure di validazione approvate che dimostrino la compatibilità di questo prodotto.
6. Con il test su vetrino non sono rilevabili un numero maggiore di D-deboli (Dweak) e alcune varianti.
7. Questo antisiero non reagisce con gli eritrociti della variate D^{VI}.

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 (clon: P3x61)	1986	0*	100%*	517	0	100%

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

SIMBOLI

	Conservare da..... a..... °C	REF	Art.- N° Articolo		Data di scadenza		Fornitore 98/79/EU
LOT	Codice lotto	CLON	Clone	IVD	In-Vitro-Diagnostic		EU CE-symbol

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 para determinar si los hematíes poseen o carecen del correspondiente antígeno D. Este reactivo reacciona de manera negativa con hematíes de categoría D^{VI}. 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 del siguiente clon celular:

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

Este 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.

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 (+15 y +30 °C) durante su uso. No utilizar el reactivo más allá de la fecha de caducidad que figura en etiqueta.

OBSERVACIONES

- La fuerza de las reacciones positivas depende también de la antigüedad de la sangre usada.
- Se recomienda que cada lote de reactivo sea ensayado con controles positivos y negativos adecuados.
- La conservación inadecuada perjudica la eficacia del reactivo.
- Una sobre o subcentrifugación puede conducir a falsos resultados.
- Las muestras a procesar deben usarse lo antes posible. Si se produce un retraso de la prueba, las muestras se deben conservar entre +2 y +8 °C. La sangre anticoagulada con citrato sódico o EDTA deberá procesarse dentro de los 14 días después de la extracción.
- 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.
- 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)".
- Esta prueba reacciona negativamente con hematíes de la categoría D^{VI}.

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

Método de centrifugación en tubo

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

Procedimiento de ensayo

Método en porta

- Usar únicamente concentrado de hematíes o sangre total.
- Dispensar una gota (50 µL aprox.) del reactivo en un porta de cristal.
- Usando una pipeta Pasteur, añadir una gota de concentrado de hematíes o sangre total (50 µL aprox.) en el porta de cristal.
- Usando la barita mezclar bien los hematíes con el reactivo y extender en un círculo (de 2 cm de diámetro).
- Rotando ligeramente el porta, comprobar durante 1 minuto si se produce aglutinación (la reacción comienza en segundos). Documentar el resultado. Pueden darse reacciones inespecíficas si se seca la reacción o se calienta el porta.

Método de centrifugación en tubo

- Utilizar una suspensión del 2% al 5% de hematíes en solución salina (células lavadas de una a tres veces con solución salina).
- Añadir 100 µL (una gota = 50 µL aprox.) del reactivo a cada tubo.
- Añadir 100 µL (una gota = 50 µL aprox.) de la suspensión de células a cada tubo.
- Agitar suavemente para mezclar bien.
- Incubar el tubo a temperatura ambiente ((+15 y +30 °C) durante 1-15 minutos.
- Centrifugar el tubo durante 1 minuto a 2.000 rpm (aproximadamente 800-1.000 g)
- Resuspender ligeramente los hematíes y comprobar macroscópicamente si se produce aglutinación en los siguientes 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.
- Hematíes tratados con enzimas pueden reaccionar inespecíficamente.
- 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.
- Hematíes sensibilizados con alo-anticuerpos o con auto-anticuerpos de la misma o similar especificidad que el reactivo (es decir, células que son positivas en la prueba de antiglobulina directa (DAT)) pueden presentar reacciones débiles. En casos extremos, podrían producirse resultados falsos negativos.
- Al realizar el procedimiento en porta la mayoría de los antígenos y categorías D débiles (D^{weak}) no son detectadas.
- Esta prueba reacciona negativamente con hematíes de la categoría D^{VI}.





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 (clon: P3x61)	1986	0*	100%*	517	0	100%

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

CLAVE DE LOS SÍMBOLOS

 Almacenar entre de... a... °C	REF Código de producto	 Fecha de caducidad	 Fabricado de acuerdo con 98/79/CE
LOT Número de Lote	CLON Clon/es	IVD Producto sanitario para diagnóstico in vitro	 Símbolo CE

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 utilizado para determinar se os glóbulos vermelhos possuem ou não os antígenos correspondentes do grupo sanguíneo D. Este reagente reage negativamente com eritrócitos do tipo D^{VI}. Os reagentes devem ser usados apenas por pessoal técnico qualificado.

PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

O procedimento utilizado 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.

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 (+15 a +30°C) enquanto está em uso. Não utilize o reagente após a data de validade indicada.

PRECAUÇÕES

1. A força das reacções positivas também depende da idade do sangue utilizado.
2. Recomenda-se que cada lote de reagente deve ser testado com os controlos positivos e negativos adequados.
3. Armazenamento impróprio prejudica a eficácia do reagente.
4. Centrifugação muito diferente da força centrífuga designada pode conduzir a falsos resultados.
5. As amostras de sangue a serem testadas devem ser usadas o mais rapidamente possível. Se não forem logo processadas devem ser armazenadas entre +2 e +8°C. Sangue colhido em citrato de sódio ou EDTA deve ser testado dentro de 14 dias.
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 aprovados para demonstrar a compatibilidade deste produto em sistemas automatizados.
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)".
8. Este soro de teste reage negativamente com células vermelhas da categoria D^{VI}.

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

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. Centrifugadora
4. Solução salina isotónica (cloreto de sódio a 0,85 - 0,9%)
5. Pontas de pipetas descartáveis

Procedimento do teste

Método de lâmina

1. Utilize apenas o sedimento de eritrócitos ou o sangue total.
2. Coloque uma gota (aproximadamente 50 µL) de reagente apropriado numa lâmina de vidro.
3. Com uma pipeta de Pasteur adicione uma gota de sedimento de eritrócitos ou de sangue total (aproximadamente 50 µL) na lâmina de vidro.
4. Misture bem os eritrócitos com o reagente com o auxílio de uma vareta e espalhe num círculo (diâmetro de 2 cm).
5. Agitando a lâmina ligeiramente, observe a aglutinação dentro de 1 minuto (a reacção começa dentro de segundos). Registe o resultado. As reacções não específicas podem surgir por secação da reacção formada ou se a lâmina for aquecida.

Método de Centrifugação de tubo

1. Use uma suspensão de glóbulos vermelhos de 2% a 5% em solução salina isotónica (células lavadas uma a três vezes com solução salina isotónica).
2. Adicione 100 µL (em alternativa: uma gota = aproximadamente 50 µL) do reagente apropriado em cada tubo.
3. Adicione 100 µL (em alternativa: uma gota = aproximadamente 50 µL) da suspensão de células apropriada em cada tubo.
4. Misture bem agitando ligeiramente.
5. Deixe incubar o tubo à temperatura ambiente (+15 a +30 °C) durante 1-15 min.
6. Centrifugue o tubo durante 1 minuto a 2.000 rpm (aproximadamente 800-1.000 g).
7. Suavemente resuspenda os glóbulos vermelhos e observe macroscopicamente a presença de aglutinação dentro de 3 minutos. 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. Eritrócitos tratados com enzimas podem originar reacções inespecíficas.
4. 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.
5. Os glóbulos vermelhos revestidos com aloanticorpos ou auto-anticorpos da mesma ou semelhante especificidade com o reagente (i.e., células que dão positivo no teste directo anti-globulina (DAT)) podem originar reacções fracas. Em casos extremos, podem ocorrer resultados falso-negativos.
6. detectadas no método de lâmina a maioria das categorias e antígenos D-fracos (D^{fraco}) não serão reconhecidos.
7. Este reagente reage negativamente com eritrócitos do tipo categoria D^{VI}.

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 (dadores, 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 (clone: P3x61)	1986	0*	100%*	517	0	100%

* em anti-D (clone P3x61) havia oito amostras D^{weak}, assim nesta técnica, a sensibilidade foi de apenas 99,56%.

SIMBOLOGIA

	Armazenar entre	REF	Código do Produto		Utilizar até/Data de validade		Fabricado de acordo com 98/79/EU
LOT	Número de Lote	CLON	Clone(s)	IVD	Dispositivo Médico para Diagnóstico In vitro		Símbolo CE



BRUGSANVISNING

Anti-D (RH1), P3x61, monoclonal IgM (human)**REF** 690121A

TILSIGTET BRUG

Monoklonal agglutinerende Anti-D -reagens fremstilles af cellekultur-supernatanter fra heterohybridoma-cellelinjen. Cellerne sekreterer et antistof af IgM-type, som reagerer specifikt med det tilsvarende antigen. Antistoffet er humant protein. Reagenset anvendes til at fastslå, hvorvidt røde blodlegemer indeholder eller mangler blodgruppeantigenet. Reagenset reagerer negativt med blod af D^{VI} kategorien. Reagenset må kun anvendes af kvalificeret og teknisk personale.

PRICIP FOR PROCEDUREN

Procedurene, der anvendes i forbindelse med dette reagens, er baseret på princippet om agglutination. Normale menneskelige erythrocytter, der besidder det tilsvarende antigen, vil agglutinere i tilstedeværelse af det specifikke antistof rettet mod antigenet.

REAGENS

Det angivne reagens fremstilles af følgende celleklon:

Anti-D monoklonal, human IgM (klon: P3x61)

Dette reagens indeholder <0,1% (w/v) natriumazid som konserveringsmiddel. Derudover består reagenset af aktivt antistof, natriumchlorid, makromolekyler og bovin albumin.

ADVARSEL: Vær venlig at håndtere dette reagens med passende omhu. Dette reagens er fremstillet af supernatanter i cellekulturer. Håndter dette biologiske produkt, som om det kunne overføre smitstoffer. Reagenset indeholder natriumazid, som kan være giftigt, og som kan reagere med bly eller kobber og danne yderst eksplosive salte. Efter bortskafling skylles med rigelige mængder vand.

KRAV TIL OPBEVARING

Opbevares ved +2 til +8 °C (uåbnet / åbnet) eller ved stuetemperatur (+15 °C til +30 °C), mens den er i brug. Anvend ikke reagenset ud over den mærkede udløbsdato.

BEMÆRKNINGER

1. Styrken af positive reaktioner afhænger også af det anvendte blods alder.
2. Det anbefales, at hvert enkelt parti reagens-batch testes med relevante positive og negative kontrolprøver.
3. U hensigtsmæssig opbevaring svækker effektiviteten af reagenset.
4. Overcentrifugering eller undercentrifugering kan føre til forkerte resultater.
5. Blodprøver, der skal testes, skal bruges hurtigst muligt. Hvis der opstår en forsinkelse i testningen, skal prøverne opbevares ved +2 til +8 °C. Blod, der er antikoaguleret med natriumcitrat eller EDTA, bør testes inden 14 dage.
6. Procedurene nedenfor gælder kun manuel test. Ved brug af automatiske eller halvautomatiske instrumenter, skal de procedurer følges, der er indeholdt i instruktionsbogen leveret af producenten. Laboratorier skal følge godkendte valideringsprocedurer, der påviser produktets kompatibilitet med automatiserede systemer.
7. For brug af dette reagens skal alle gældende nationale love, direktiver og retningslinjer følges. [i Tyskland især: „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“].
8. Reagenset reagerer negativt med blod af D^{VI} kategorien

KLARGØRING AF REAGENS

Der kræves ingen specifik forberedelse af reagenset. Brug reagenset direkte fra glasset.

FREMANGSMÅDE

Nødvendigt, men ikke leveret materiale:

Objektglas-metode

1. Glasplade
2. Pasteur-pipetter
3. Rørepind

Rørcentrifugerings-metode

1. Reagensglas, 10 x 75 mm eller 12 x 75 mm
2. Pipetter udviklet til at levere 50 µL/100 µL
3. Centrifuge
4. Isotonisk saltopløsning (0,85 - 0,9% natriumchlorid)
5. Engangspipette-spids

Testprocedure

Objektglas-metode

1. Anvend erythrocyt-sediment eller kun fuldblod.
2. Anbring en dråbe (ca. 50 µL) af reagens på en glasplade.
3. Med en Pasteur-pipette tilsættes en dråbe erythrocyt-sediment eller fuldblod (ca. 50 µL) på glaspladen.
4. Med en pind blandes erythrocytter godt med reagens og spredes i en cirkel (diameter 2 cm).
5. Ved forsigtigt at dreje glaspladen kontrolleres for agglutination i løbet af 1 minut (reaktionen starter inden for et par sekunder). Dokumenter resultatet. Uspecifikke reaktioner kan fremkomme på grund af udtørring af reaktions-dannelsen. eller hvis glaspladen er opvarmet.

Rørcentrifugerings-metoden

1. Brug en 2% til 5% suspension af røde blodlegemer i isotonisk saltopløsning (celler kun vasket én gang eller op til tre gange med isotonisk saltvand).
2. Tilføj 100 µL (alternativ: en dråbe, ca. 50 µL) af reagens til hvert glas.
3. Tilføj 100 µL (alternativ: en dråbe, ca. 50 µL) af passende cellesuspension til hvert glas.
4. Bland godt ved at ryste lidt.
5. Røret inkuberes ved stuetemperatur (+15 °C til +30 °C) i 1-15 min.
6. Centrifugering af rør i 1 minut ved 2,000 rpm (ca. 800 - 1,000 g).
7. Resuspender forsigtigt erythrocytterne og tjek makroskopisk for agglutination inden for 3 minutter. Dokumenter resultatet.

TOLKNING AF RESULTATERNE

"Forsigtigt at dreje/ryste lidt" ved objektglas-metode og rørcentrifugerings-metode.

Positivt resultat (+): synlig agglutination af erythrocytter tyder på tilstedeværelse af det tilsvarende antigen.

Negativt (-): ingen synlig agglutination af erythrocytter tyder på fraværet af det tilsvarende antigen.

BEGRÆNSNINGER VED FREMANGSMÅDEN

1. Afsnittene om "Fremgangsmåde" og "Tolkning af resultaterne" skal følges nøje for at sikre nøjagtigheden af testresultaterne.
2. Der kan ikke opnås nogen gyldig konklusion om testresultatet, hvis der opstår kontroller med usikre eller falske resultater.
3. Enzymbehandlede erythrocytter kan reagere uspecifikt.
4. Som følge af variabiliteten i antigenekspresion kan reaktiviteten af dette reagens over for visse fænotyper producere en svagere reaktion sammenlignet med kontrolcellerne.
5. Røde blodlegemer belagt med alloantistoffer eller autoantistoffer med den samme eller tilsvarende specificitet som reagenset (dvs. celler, der er positive i den direkte antiglobulin-test [DAT]) kan give svage reaktioner. I ekstreme tilfælde kan falsk-negative resultater forekomme.
6. De fleste svage D-antigener (D^{weak}) og kategorier vises ikke i glaspladen.
7. Reagenset reagerer negativt med blod af D^{VI} kategorien.









PRÆSTATION

Der blev i overensstemmelse med Common Technical Specifications (CTS Kommissionsbeslutningen af 3. Februar 2009) gennemført en præstationsevaluering. Forskellige prøver (donor, patient, panel blod) blev brugt og sammenlignet med andre produkter. Nedenstående tabel angiver de beregnede diagnostiske værdier fundet i disse studier:

Produkt	Positive	Falsk negative	Sensitivitet	Negative	Falsk positive	Specificitet
Anti-D (clone: P3x61)	1986	0*	100%*	517	0	100%

* for Anti-D (clone: P3x61) glasplade metode testes 8 D^{weak} falsk negativ, hvorfor der i denne ene metode kun blev opnået en sensitivitet på 99,56%.

FORKLARING AF SYMBOLER

 Opbevar fra - til	 REF	Produktkode	 Udløbsdato	 Produceret i henhold til			
 LOT	Parti	 CLON	Klon(er)	 IVD	In vitro diagnostisk medicinsk udstyr	 CE	EU CE-symbol

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental

731-22-0305 Version 005 / 04. Mrz 2016