

**DE** **GEBRAUCHSINFORMATION****Anti-D monoklonal (IgM)****CE** 0123

saline / human

Elektronische Gebrauchsinformation siehe [www.bag-diagnostics.com](http://www.bag-diagnostics.com)**IN VITRO DIAGNOSTIKUM****REF** 6781 1 x 10 ml**REF** 6782 10 x 10 ml**1. Produktbeschreibung**

Anti-D monoklonal (IgM) wird aus monoklonalem, humanem Anti-D (IgM) (Klone: 597 Euclon und NaTH28-3c11) in isotonischer NaCl-Lösung hergestellt. Anti-D monoklonal (IgM) dient zum spezifischen, qualitativen Nachweis von korrespondierendem D-Antigen auf Erythrozyten und ist geeignet für den Röhrchentest.

Dieses Testreagenz erfasst nicht D Kategorie VI.

Als Konservierungsmittel ist dem Testreagenz < 0,1% NaN<sub>3</sub> zugesetzt.

Die Reaktivität jedes Lots Anti-D monoklonal (IgM) wird mit der angegebenen Testmethode mit verschiedenen Erythrozytensuspensionen, die positiv für das D-Antigen sind, überprüft. Der auf den Etiketten von Anti-D monoklonal (IgM) angegebene Titer wird mit D-positiven Erythrozytensuspensionen ermittelt. Die Spezifität jedes Lots wird mit einem Panel von Erythrozyten überprüft, die negativ für das D-Antigen sind.

**2. Testprinzip**

Die angegebene Testmethode beruht auf dem Prinzip der Haemagglutination. Nach Zugabe von Erythrozyten zu Anti-D monoklonal (IgM) findet eine spezifische Antigen-Antikörper-Reaktion statt, wenn das korrespondierende D-Antigen auf den Erythrozyten vorhanden ist (Achtung: Erkennt nicht D Kategorie VI !). Diese Reaktion ist optisch durch die Agglutination der Erythrozyten erkennbar. Wenn keine Agglutination stattfindet, zeigt dies ein negatives Ergebnis an und weist unter Berücksichtigung der Einschränkungen der Testmethode auf die Abwesenheit des korrespondierenden D-Antigens hin.

**3. Lagerung und Haltbarkeit**

Anti-D monoklonal (IgM) bei 2...8°C lagern. Das Reagenz vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18...25°C) erwärmen lassen und unmittelbar nach dem Gebrauch wieder bei 2...8°C lagern.

Anti-D monoklonal (IgM) ist bei Einhaltung der angegebenen Lagerbedingungen nach dem ersten Öffnen bis zum auf dem Etikett angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. Das Reagenz nicht nach Ablauf des auf dem Etikett angegebenen Haltbarkeitsdatums benutzen.

#### **4. Probenvorbereitung**

Die Blutproben sollten entsprechend den üblichen medizinischen Verfahren entnommen werden. Blutproben mit und ohne Antikoagulanzen (EDTA, Heparin, Citrat) sind für die Testung geeignet. Keine hämolytischen Proben verwenden! Die Testung sollte, wenn möglich, ohne zeitliche Verzögerung stattfinden. Durch eine zu lange Lagerung der Erythrozyten vor der Testung können sich die Erythrozytenantigene verändern, was abgeschwächte Reaktionen zur Folge haben kann (s. 9. Wichtige Hinweise/Grenzen der Methode).

#### **5. Zusätzlich benötigte Materialien**

Isotonische NaCl-Lösung

Reagenzgläser (75 x 12 mm)

Einweg-Pasteur-Pipetten

Zentrifuge

#### **6. Testdurchführung**

##### **Röhrchentest**

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

Anmerkungen: Den Test nicht mikroskopisch auswerten.

Eine bekannt D-positive und D-negative Erythrozytensuspension, die Rh-Kontrolle für monoklonale Testreagenzien und eine Eigenkontrolle zur Prüfung auf Autoagglutination sind zur Kontrolle mitzuführen.

Die Bestimmung des D-Antigens ist mit mindestens 2 verschiedenen Anti-D-Testreagenzien durchzuführen. Bei Verwendung von zwei monoklonalen Testreagenzien müssen zwei verschiedene Klone eingesetzt werden.

#### **7. Interpretation der Ergebnisse**

Eine Agglutination der Erythrozyten mit Anti-D monoklonal (IgM) zeigt das Vorhandensein des korrespondierenden D-Antigens an. D Kategorie VI wird nicht erkannt.

Findet keine Agglutination der Erythrozyten mit Anti-D monoklonal (IgM) statt, weist dies auf die Abwesenheit des korrespondierenden D-Antigens hin.

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

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

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

### **8. Stabilität der Reaktionen**

Alle Testergebnisse müssen unmittelbar nach Beendigung der Testdurchführung beurteilt werden.

### **9. Wichtige Hinweise/Grenzen der Methode**

1. Anti-D monoklonal (IgM) ist nur für den in vitro diagnostischen Gebrauch geeignet und darf nur von geschultem Fachpersonal eingesetzt werden.
2. In seltenen Fällen kann es bei in vivo mit Immunglobulinen beladenen Erythrozyten zu spontanen und nicht spezifischen Agglutinationen kommen. Das gleiche Phänomen tritt dann aber meistens auch bei der Bestimmung des ABO-Systems und anderen Blutgruppen-Systemen auf. Als Kontrolle deshalb immer die Rh-Kontrolle für monoklonale Testreagenzien und autologes Patientenserum mitführen. Zeigen die Kontrollteste auch eine positive Reaktion, kann das Ergebnis der Rh-Bestimmung nicht interpretiert werden.
3. Suspensionen von ungewaschenen Erythrozyten in Plasma oder Serum fördern falsch positive Reaktionen wie solche die mit Geldrollenbildung oder Autoantikörpern assoziiert sind. Der Einsatz von gut gewaschenen Erythrozyten kann das Auftreten solch falsch positiver Reaktionen vermindern.
4. Einige Erythrozyten können nur schwache und oder partielle D-Antigene exprimiert haben und eine entsprechend schwächere Reaktion oder keine Reaktion zeigen (s. Punkt 10: Leistungsdaten). Für die Bestimmung von D weak und partiellen D-Antigenen wird empfohlen, zusätzlich mit Anti-D Blend monoklonal (IgM + IgG) zu testen, weil es durch den IgG-Anteil häufig zu stärkeren Reaktionen kommt. Eine weitere Abklärung und Spezifizierung der Befunde kann mit **BAGene** (BAG-SSP-Kits zur Bestimmung der RH-Eigenschaften auf molekulargenetischer Basis) erfolgen.

Anti-D monoklonal (IgM) erfasst nicht D Kategorie VI.

5. Eine zu späte Ablesung der Tests, ein zu starkes Aufschütteln des Erythrozytensediments und andere Abweichungen von der angegebenen Testdurchführung können zu schwächeren oder falsch negativen Ergebnissen führen.
6. Anti-D monoklonal (IgM) darf nicht für die Testung von Enzym-behandelten Erythrozyten eingesetzt werden.
7. Hämolytische Proben dürfen nicht verwendet werden.

8. Um falsch positive Reaktionen zu vermeiden, darf das Reagenz nicht zu kalt sein, wenn es für Testungen benutzt wird. Das Reagenz und die zu untersuchenden Erythrozyten sowie die Kontrollmaterialien müssen vor der Testdurchführung Raumtemperatur erreicht haben.
9. Falsch negative oder unerwartet schwache Reaktionen können auch durch zu lange Lagerung und/oder ungeeignete Lagerbedingungen der Erythrozyten verursacht werden.
10. Ungeeignete Techniken, falsche Zentrifugation oder Inkubation, unsaubere Röhren, falscher pH-Wert der isotonischen NaCl-Lösung und/oder kontaminierte Materialien und Proben können zu falsch negativen oder falsch positiven Ergebnissen führen.
11. Eine mikrobielle Kontamination von Anti-D monoklonal (IgM) unbedingt vermeiden, weil dies die Haltbarkeit des Produkts verkürzen und zu falschen Ergebnissen führen kann. Anti-D monoklonal (IgM) deshalb nicht mehr benutzen, wenn eine Trübung oder andere sichtbare Veränderungen festgestellt werden. Dies kann auf eine mikrobielle Kontamination hinweisen.
12. Bei der Interpretation der Ergebnisse muss immer berücksichtigt werden, ob Transfusionen oder Transplantationen stattgefunden haben. Die Transfusions- und/oder Transplantationsanamnese, aber auch die Medikamentenanamnese, muss zur Interpretation herangezogen werden.
13. Für die Bestimmung von RHD muss die Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) vom Wissenschaftlichen Beirat der Bundesärztekammer und vom Paul-Ehrlich-Institut beachtet werden.

## **10. Leistungsdaten**

1012 Proben von D-positiven (ohne D weak und D partial) und D-negativen Blutspendern, Blutempfängern und Neugeborenen wurden mit BAG-Anti-D monoklonal (IgM) und einem monoklonalen Anti-D-Testreagenz eines anderen Herstellers im Röhrchentest (s. Tabelle 1) getestet. Alle Testungen ergaben mit dem BAG-Testreagenz eine 100%ige Übereinstimmung mit dem Vergleichsreagenz.

32 D weak- und D partial-Proben wurden mit BAG-Anti-D monoklonal (IgM) und einem monoklonalen Anti-D-Testreagenz eines anderen Herstellers (s. Tabelle 2) getestet. Beide Testreagenzien reagierten im Röhrchentest mit D weak Typ I und III, D Kategorie VII, Rh 33, DNB und DBT positiv. Erythrozyten vom Typ DFR reagierten im Röhrchentest positiv mit dem BAG-Testreagenz und negativ mit dem Vergleichsreagenz. Erythrozyten der Kategorie D V Typ VII und D weak Typ II wurden von beiden Testreagenzien im Röhrchentest nicht oder nur sehr schwach (+/- Reaktion) erfasst.

Beide Testreagenzien reagierten erwartungsgemäß nicht mit D Kategorie VI.

Da aufgrund der Vielfalt von seltenen D-Antigenen nicht alle Varianten getestet werden können, ist es nicht auszuschließen, dass Anti-D monoklonal (IgM) andere nicht getestete D-Varianten nicht erfasst.

Tabelle 1	
Getestete Proben	1012
davon:	
D-positive Blute	767
D-negative Blute	245
EDTA-Blute	650
Heparin-Blute	120
Citrat-Blute	121
Blute der Blutgruppen A, B und AB	540
Blutspender	779
Klinische Proben	181
Blute von Neugeborenen	29

Tabelle 2	
Getestete Proben (D weak und D partial)	32
davon:	
D weak / D partial nicht näher spezifiziert	16
D weak Typ I	2
D weak Typ II	2
D weak Typ III	1
D Kategorie V Typ VII	3
D Kategorie VI	1
D Kategorie VI Typ I	1
D Kategorie VI Typ II	1
D Kategorie VII	1
Rh 33	1
DNB	1
DBT	1
DFR	1

### **11. Warn- und Entsorgungshinweise**

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

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

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

Das Testreagenz enthält  $\text{NaN}_3$  als Konservierungsmittel. In der im Reagenz enthaltenen Konzentration von  $< 0,1\%$  gilt  $\text{NaN}_3$  nicht mehr als gesundheitsschädlich, trotzdem sollte ein Kontakt mit der Haut und Schleimhäuten vermieden werden. Kupfer und Blei, die in einigen Rohrsystemen eingesetzt werden, können mit Azid explosive Salze bilden. Die im Reagenz enthaltenen Azidmengen sind klein, trotzdem sollte bei der Beseitigung von Azid-haltigem Material mit reichlich Wasser nachgespült werden.

Die Entsorgung aller Proben, ungebrauchter Reagenzien und Abfälle sollte entsprechend der Gesetzgebung des jeweiligen Landes und der regionalen Behörden erfolgen.

Eine Erklärung zum Sicherheitsdatenblatt (SDS) kann unter [www.bag-diagnostics.com](http://www.bag-diagnostics.com) heruntergeladen werden.

## **12. Literatur**

Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie); Aufgestellt vom wissenschaftlichen Beirat der Bundesärztekammer und vom Paul-Ehrlich-Institut, Fassung 2017





Immunhämatologie und Transfusionsmedizin, Reinhold Eckstein / Robert Zimmermann, 6. Auflage, Urban & Fischer bei Elsevier, 2010

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

Flegel AW, Northoff H, Wagner FF. Rhesus-D-Bestimmung beim Transfusionsempfänger  
[www.uni-ulm.de/~wflegel/RH/MTA/](http://www.uni-ulm.de/~wflegel/RH/MTA/)

Applied Blood Group Serology, PD Issitt and DJ Anstee  
4<sup>th</sup> Edition, Montgomery Scientific, Durham SC, 1998

Technical manual of the American Association of Blood Banks, 17<sup>th</sup> ed., 2011

Erklärung der Symbole auf den Etiketten	
	Lagertemperatur / Temperaturbegrenzung
	Verwendbar bis
	Gebrauchsinformation beachten
	Hersteller
CLONE	Klon
CONT   NaN <sub>3</sub>	Enthält Natriumazid
IVD	In-vitro-Diagnostikum
LOT	Lot-Nr.
MONOCL   IGM	Monoklonal IgM
ORIG   HUM	Ursprung: human
REF	Bestell-Nr.
TIT	Titer

Gebrauchsinformation	Version: 2/2019 / Stand: 2019-06
----------------------	----------------------------------