sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | T: +49 30 700 144-0 | F: +49 30 700 144-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Anti-D

Monoklonales Testreagenz zur Blutgruppenbestimmung

INFORMATION ZUM GEBRAUCH DURCH FACHPERSONAL

CE 0483 IVD

de

Zweckbestimmung

Anti-D ist ein In-vitro-Diagnostikum und wird im Rahmen der Blutgruppenbestimmung eingesetzt. Es dient dem qualitativen Nachweis des RhD-Antigens des Rhesus-Blutgruppensystems durch Agglutination Erythrozyten in humanen Blutproben [ohne oder mit Antikoagulanzien (EDTA oder PAGGS-M)] im manuellen Platten- und Röhrchentest durch Fachpersonal. Das partielle RhD-Antigen der Kategorie VI wird mit diesem Klon nicht erfasst.

Testprinzip

Neben den Antigenen des AB0-Systems ist das Antigen D das wichtigste Blutgruppenantigen in der Blutgruppenserologie. Im Gegensatz zu Antikörpern gegen Antigene des AB0-Systems treten Antikörper gegen die Rh-Antigene nicht prinzipiell im Serum auf. Sie sind immer das Ergebnis eines Kontakts mit dem Antigen infolge von Schwangerschaft oder Transfusion. Das Rh-Merkmal D tritt in unterschiedlichen Ausprägungsformen auf:

- als ein voll ausgeprägtes Merkmal, welches typisch ist für Rh positiv (D positiv)
- als ein abgeschwächtes und/oder in seiner Ausprägung verändertes Merkmal: entweder als schwach ausgeprägtes Antigen D (weak D) oder als qualitativ verändertes D-Antigen (partial D), welches gleichzeitig auch schwach ausgeprägt sein kann (z. B. D-Kategorie VI = D^{VI}). Personen mit einem qualitativ deutlich veränderten D-Antigen können durch ein voll ausgeprägtes Rh-Merkmal D immunisiert werden, besonders Träger der Kategorie D^{VI}.

Laut Richtlinien ist die Untersuchung von Patienten, Schwangeren und Neugeborenen mit mindestens zwei Testreagenzien Anti-D mit verschiedenen IgM-Antikörpern, welche die Kategorie D^{VI} nicht erfassen, durchzuführen. Die Untersuchung von Spendern erfolgt ebenfalls mit zwei Testreagenzien Anti-D. Jedes schwach oder nur partiell ausgeprägte Rhesus-Antigen D muss zuverlässig erfasst werden (s. Interpretation der Ergebnisse). Die bei der Verwendung des Testreagenzes Anti-D angewendeten Tests beruhen auf dem Prinzip der Agglutination. Eine Agglutination der Erythrozyten ist als positives Testergebnis zu werten und zeigt die Anwesenheit des Rh-Antigens D an. Das Fehlen einer Agglutination ist als negatives Testergebnis zu werten, Rh-Antigen D ist nicht nachweisbar.

Zusammensetzung

Das Testreagenz wird aus dem Kulturüberstand der Heterohybridom-Zelllinie BS225 hergestellt. Die Antikörper gehören zum Human-IgM-Isotyp. Der Zusatz von Stabilisatoren sichert die Wirksamkeit des Testreagenzes über die Verwendbarkeitsdauer. Konservierungsmittel: Natriumazid (≤0,99 mg/ml).

Haltbarkeit und Lagerungsbedingungen

Das Testreagenz ist bei Lagerung bei 2...8 °C bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Datum verwendbar. Nach dem erstmaligen Öffnen ist es gut verschlossen bei 2...8 °C zu lagern. Bakterielle Kontamination ist zu vermeiden. Deutlich getrübtes Testreagenz ist vom Gebrauch auszuschließen.

Untersuchungsmaterial

Das Blut sollte aseptisch mit oder ohne Antikoagulans (EDTA oder PAGGS-M) entnommen werden. Die Probe sollte so schnell als möglich getestet und bei Verzug bei 2...8 °C gelagert werden. Bakterielle Kontamination der Probe kann falsche Resultate verursachen. Mit EDTA antikoagulierte Blutproben sowie geronnenes Blut kann bis 14 Tage nach Entnahme, Spenderblut bis zum Verwendbarkeitsdatum der Konserve untersucht werden. Allerdings kann die Aufbewahrung schwächere Reaktionen als normalerweise bedingen (s. unten unter „Fehlerquellen und Beschränkungen").

Nicht mitgelieferte Materialien und Ausrüstungen

Teströhrchen (75 × 12 mm oder 70 × 8 mm), Platten, Pipetten (Tropfenvolumen: 40-50 µl), Rührstäbchen, physiologische Natriumchloridlösung (154 mmol/l), Laborzentrifuge, Kurzzeitwecker.

Methodik

1. Plattentest

1.1. Auf einer korrekt beschrifteten Platte wird je 1 Tropfen (40-50 µl) Testreagenz Anti-D vorgelegt.

1.2. Zu jedem Tropfen Testreagenz wird 1 Tropfen (40-50 µl) einer 5%igen Erythrozytensuspension der zu untersuchenden Blutprobe in physiologischer Natriumchloridlösung gegeben und mit einem sauberen Glas- oder Kunststoffstäbchen sorgfältig gemischt.

1.3. Nach 5, maximal nach 20 min Inkubation bei 18...26 °C wird unter Rotieren oder Kippen der Platte auf Agglutination geprüft. Die Inkubation kann auch für 20 min bei 37 °C erfolgen.

1.4. Das Ergebnis wird abgelesen und protokolliert. Die Ablesung muss unmittelbar nach Abschluss des Tests erfolgen, da das Reaktionsprodukt nicht stabil ist.

2. Röhrchentest

2.1. Die Erythrozyten der zu untersuchenden Blutprobe (gewaschen oder ungewaschen) werden 3 bis 5%ig in physiologischer Natriumchloridlösung suspendiert.

2.2. In einem geeigneten, korrekt beschrifteten Röhrchen (z. B. 70 × 8 mm) wird 1 Tropfen (40-50 µl) Testreagenz Anti-D vorgelegt.

2.3. Zu jedem Röhrchen wird 1 Tropfen Erythrozytensuspension (40-50 µl) zugegeben und durch Schütteln gut gemischt.

2.4. Die Mischung wird sofort bei 180 bis 270 × *g* 1 bis 2 min zentrifugiert.

2.5. Das Sediment wird durch vorsichtiges Schütteln vom Boden des Röhrchens gelöst und auf Agglutination geprüft.

2.6. Das Ergebnis wird abgelesen und protokolliert. Die Ablesung muss unmittelbar nach Abschluss des Tests erfolgen, da das Reaktionsprodukt nicht stabil ist.

2.7. Bei schwach positivem, zweifelhaftem oder negativem Ergebnis wird der Röhrcheninhalt durch Schütteln homogenisiert, das Röhrchen 15 bis 20 min bei 18...26 °C inkubiert und danach erneut zentrifugiert und beurteilt (siehe 2.4. bis 2.6.).

Interpretation der Ergebnisse

Interpretation bei Patienten, Schwangeren und Neugeborenen: Bei übereinstimmend positivem Ergebnis mit beiden Testreagenzien Anti-D und auch bei unzweifelhaft schwach positivem Ergebnis ist das Resultat Rh positiv (D positiv). Bei diskrepanten oder fraglich positiven Ergebnissen der beiden Testreagenzien Anti-D ist der Proband als „Empfänger Rh negativ (D negativ)" zu deklarieren.

Interpretation bei Spendern: Bei übereinstimmend positivem Ergebnis mit beiden Testreagenzien Anti-D und auch bei unzweifelhaft schwach positivem Ergebnis ist der Spender Rh positiv (D positiv).

In allen anderen Fällen ist die Probe mit geeigneten polyklonalen oder oligoklonalen Reagenzien im indirekten Anti-humanglobulintest zu untersuchen oder eine geeignete RhD-PCR durchzuführen, um auch jedes schwach oder nur partiell ausgeprägte D-Antigen zu erfassen (siehe o. a. Richtlinien oder landesspezifische Regularien).

Vorsichtsmaßnahmen und Warnungen

- Durch die biotechnologische Herstellung des Testreagenzes ist das Risiko einer Kontamination durch infektiöse Krankheitserreger nahezu ausgeschlossen. Wegen des Gehalts an Materialien tierischen Ursprungs (fetales Kälberserum, Stabilisator) sollte es als potentiell infektiös gehandhabt werden.
- Wegen des Gehalts an Natriumazid Kontakt mit der Haut oder den Schleimhäuten vermeiden!
- Materialien von abgearbeiteten Tests müssen entsprechend der jeweiligen nationalen Richtlinien entsorgt werden, z.B. in Deutschland als Abfall der AVV-Gruppe 18 01 (AS 18 01 03) gemäß der „Richtlinie über die ordnungsgemäße Entsorgung von Abfällen aus Einrichtungen des Gesundheitswesens" (LAGA-Richtlinie, aktuelle Version).

Leistungsmerkmale und Grenzen des Verfahrens

Die Leistungsbewertung entsprechend der Durchführungsverordnung (EU) 2022/1107 der Kommission zur Festlegung gemeinsamer Spezifikationen (GS) ergab die folgenden berechneten diagnostischen Werte:

	Σ	positiv	falsch-negativ	Sensitivität	negativ	falsch-negativ	Spezifität
Röhrchentest	1430 [1]	1142	0	100 % [1]	288	0	100 %
	1516 [2]	1221 [2]	7 [2]	99,43 % [2]	292 [2]	0	100 % [2]
Plattentest	2168 [1]	1686	1	99,94 % [1]	524	0	100 %
	2250 [2]	1726 [2]	39 [2]	97,79 % [2]	527 [2]	0	100 % [2]

1) Proben mit normaler Antigenausprägung 2) inklusive D weak-Proben

- Schwach ausgeprägtes D-Antigen (D weak) wird im Plattentest nur mit unzureichender Empfindlichkeit erfasst. Deshalb ist für negative, zweifelhafte und schwach positive Ergebnisse der Röhrchentest mit Nachinkubation anzuwenden.
- Ein schwach positives Ergebnis kann ein Hinweis auf das Vorliegen eines D weak oder eines D partial (einer Kategorie) sein.
- Erythrozyten, die das Antigen nicht besitzen, werden nicht agglutiniert.
- Der monoklonale IgM-Antikörper BS225 agglutiniert von den häufigeren Kategorien D^{II} bis D^{VII} nur die Kategorie D^{VI} nicht.

Fehlerquellen und Beschränkungen

- **Kontrollen:** Bei jedem Versuch sind positive und negative Kontrollerythrozyten und eine Eigenkontrolle (Prüfung auf Autoagglutination) mitzuführen.
- Gealterte Blutproben ergeben schwächere Reaktionen als frische Blutproben.
- Die angegebenen Konzentrationen der Erythrozytensuspensionen, die Reaktionszeiten und -bedingungen sind einzuhalten, um korrekte Resultate zu erhalten.
- Unsachgemäße Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit des Testreagenzes.
- Titerbestimmungen: Zur Verdünnung des monoklonalen Testreagenzes für Titerbestimmungen sollte physiologische Natriumchloridlösung mit einem Zusatz von ca. 2 % Protein (Rinderserumalbumin) benutzt werden, um die Resuspendierung der Reaktionsprodukte von der Platte bzw. dem Röhrchenboden zu erleichtern.
- Die Verfahren zur Anwendung gelten ausschließlich für die beschriebenen manuellen Methoden. Werden Automaten oder halbautomatische Systeme verwendet, müssen die Laboratorien die Angaben der Gerätehersteller befolgen und Validierungen nach anerkannten Verfahren durchführen.

Vigilanz

Alle im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetretenen schwerwiegenden Vorkommnisse sind der sifin diagnostics gmbh als Hersteller sowie der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und/oder Patient niedergelassen ist, zu melden. Den aktuellen Kurzbericht über Sicherheit und Leistung erhalten Sie auf Anfrage (info@sifin.de) oder über EUDAMED.

Literatur

(1) Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Richtlinie Hämotherapie), aktuelle Version (2) Technical Manual , 17th ed. Bethesda, American Assoc. of Blood Banks, 2011 (3) Daniels G: Variants of RhD – current testing and clinical consequences. British J Haematol 2013; 161:461-470 (4) Wienzek-Lischka S, Flegel WA: Zur klinischen Bedeutung des Antigen D und seiner Varianten. Transfusionsmedizin 2016; 6(02): 57-64

Packungsgröße

Spezifität	Anti-D
1 x 10 ml	BG1315
10 x 10 ml	BG1315-01

Erklärung der benutzten Symbole

LOT	Chargennummer (Chargenbezeichnung)
REF	Bestellnummer
IVD	In-vitro-Diagnostikum
Rh	Blutgruppentestreagenz
ACT	Aktivität/ Mindesttiter
CLONE	Klonbezeichnung
	Verwendbar bis JJJJ-MM (MM = Monatsende)
	Temperaturbegrenzung
www.sifin.de	Gebrauchsanweisung beachten

Weitere Sprachen der Gebrauchsanweisung für Ihr Produkt finden Sie hier: www.sifin.de

Revision 3, Datum der Fassung: 06/06/2025

sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | T: +49 30 700 144-0 | F: +49 30 700 144-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Anti-D

Monoclonal test reagent for blood-group determination

INFORMATION FOR PROFESSIONAL USE

CE 0483 IVD

en

Intended use

Anti-D is an in vitro diagnostic and is used for blood grouping. It is employed by specialized personnel to qualitatively detect RhD antigens of the rhesus blood type system by erythrocyte agglutination in human blood samples [with or without anticoagulants (EDTA or PAGGS-M)] in manual plate and tube tests. The category VI partial RhD antigen is not detected with this clone.

Principle of the test

Along with the antigens of the ABO blood group system, antigen D is the most important blood group antigen in blood group serology. Unlike those of the ABO system, antibodies of the Rh system do not occur generally in the serum. They are always the result of exposure to the antigen during pregnancy or through transfusion.
The Rh characteristic D occurs in different forms of expression:

- as a completely expressed characteristic, typical for Rh positive (D positive)
- as a characteristic that is weakened and/or changed in expression: either as weakly expressed antigen D (weak D) or as qualitatively changed antigen D (partial D) which can also be weakly expressed (e. g. D category VI = D^{VI}). Persons with a significantly qualitatively changed D antigen, especially persons with the category D^{VI}, can be immunized by a completely expressed Rh characteristic D.

The guidelines require that the testing of patients, pregnant women and newborns be performed using at least two Anti-D test reagents with different IgM antibodies which do not agglutinate the category D^{VI}.
The testing of blood donors must also be performed using two Anti-D test reagents. It is necessary that every weakly or only partially expressed Rh characteristic antigen D is reliably detected (see „Interpretation of test results“).
The procedures used with the test reagent Anti-D are based on the principle of agglutination. Agglutination of the red blood cells is a positive test result and shows the presence of the Rh antigen D. The presence of no agglutination constitutes a negative result and indicates that Rh antigen D is not detectable.

Composition

The test reagent is manufactured from the cell culture supernatant of the heterohybridoma cell line BS225. The antibodies belong to the human IgM isotype. The addition of stabilizing substances ensures that the test reagent remains active throughout its shelf life. Preservative: sodium azide (≤0.99 mg/ml).

Shelf life and storage

If stored at 2...8 °C, the test reagent can be used until the date indicated on the label. After the first opening, it must be stored well closed at 2...8 °C. Avoid bacterial contamination. Do not use if markedly turbid.

Test material

Blood should be drawn by an aseptically, with or without an anticoagulant (EDTA or PAGGS-M). The specimen should be tested as soon as possible after collection. If testing is delayed, the specimen must be stored at 2...8 °C.
Bacterial contamination of the specimen may cause false test results. Blood drawn into EDTA as well as clotted blood may be tested up to 14 days after collection, and donor blood may be tested up to the expiration date. Note, however, that storage may result in weaker than normal reactions (see „Error sources and limitations“ below).

Materials and equipment not supplied

Test tubes (75 × 12 mm or 70 × 8 mm), plates, pipettes (drop volume: 40-50 µl), applicator sticks, physiological sodium chloride solution (154 mmol/l), laboratory centrifuge, timer.

Methods

1. Plate test

1.1. Place 1 drop (40-50 µl) of test reagent Anti-D on a properly labelled plate.
1.2. To each drop of test reagent, add 1 drop (40-50 µl) of a 5 % suspension of the red blood cells from the blood to be tested (in physiological sodium chloride solution). Mix carefully with a clean glass or plastic rod.
1.3. Read for agglutination after 5, at the most 20 min incubation at 18...26 °C by rotating or rocking the plate. Alternatively, incubate for 20 min at 37 °C.
1.4. Record test results. Test results must be interpreted immediately upon completion of the test as the reaction product is unstable.

2. Tube test

2.1. Prepare a 3-5 % suspension of the red blood cells to be tested (washed or unwashed) in physiological sodium chloride solution.
2.2. Place 1 drop (40-50 µl) of the test reagent Anti-D in a small, properly labelled test tube (e. g., 70 × 8 mm).
2.3. Add 1 drop (40-50 µl) of the suspension to each tube and mix thoroughly by shaking.
2.4. Centrifuge immediately for 1 to 2 min at rcf 180 to 270 × *g*.
2.5. Gently shake the tube to loosen the sediment from the bottom of the tube and read for agglutination.
2.6. Record test results. Test results must be interpreted immediately upon completion of the test as the reaction product is unstable.
2.7. In the case of a weak positive, doubtful or negative result, homogenize the tube contents by shaking; incubate the tube for 15 to 20 min at 18...26 °C and centrifuge and read again (see 2.4. to 2.6.)

Interpretation of the test results

Interpretation of the test results of patients, pregnant women and newborns: In the case of concurring positive reactions of the two anti-D test reagents, including unambiguously weak positive reactions, the result is “Rh positive (D positive)”. If the two test reagents yield different or questionable positive results, the patient is to be declared as „recipient Rh negative (D negative)“.
Interpretation of the results of blood donors: In the case of concurring positive reactions of the two anti-D test reagents, including unambiguously weak positive reactions, the result is „Rh positive (D positive)“
In all other cases the sample must be examined using suitable polyclonal or oligoclonal reagents in the indirect anti-human globulin test or a suitable RhD PCR must be carried out in order to also be able to detect any weak or only partial D antigen (see guidelines listed above or country-specific regulations).

Warnings and precautions

- The use of biotechnological production means that the risk of contamination of the test reagent with infectious agents is virtually excluded. Since the test reagent contains materials of animal origin (fetal calf serum, stabilizer), it should be treated as a potential health hazard and be handled accordingly.
- The test reagent contains sodium azide; avoid any contact with the skin or mucous membranes.
- Materials from processed tests must be disposed of in accordance with the appropriate national guidelines, e.g. in Germany as waste of Waste Catalog Ordinance (AVV) group 18 01 (AS 18 01 03) as set out in the “Guideline on the proper disposal of waste from health-care establishments“ (LAGA guideline, current version).

Notes and limits of the procedure

The performance evaluation according to the Commission Implementing Regulation (EU) 2022/1107 laying down common specifications (CS) yielded the following calculated diagnostic values:

	Σ	positive	false negative	sensitivity	negative	false negative	specificity
Tube test	1430 [1]	1142	0	100 % [1]	288	0	100 %
	1516 [2]	1221 [2]	7 [2]	99.43 % [2]	292 [2]	0	100 % [2]
Plate test	2168 [1]	1686	1	99.94 % [1]	524	0	100 %
	2250 [2]	1726 [2]	39 [2]	97.79 % [2]	527 [2]	0	100 % [2]

1) Samples with normal antigen expression 2) including weak D samples

- Weakly expressed D antigen (weak D) is recognized by the plate test with only insufficient sensitivity. Therefore, the tube test with post-incubation in the case of negative, doubtful or weak positive results is recommended.
- A weakly positive result may indicate the presence of a weak D or a partial D (of one category).
- Red blood cells which do not possess the D antigen are not agglutinated.
- Of the more frequent categories D^{II} to D^{VII}, the only one with which the monoclonal IgM antibody BS225 does not react is the category D^{VI}.

Error sources and limitations

- **Controls:** For each test, positive and negative control red blood cells and an auto control (test for autoagglutination) must be tested in parallel.
- Older blood specimens may show weaker reactions than fresh specimens.
- The concentrations of red blood cell suspensions and the reaction times and conditions specified above must be observed in order to obtain correct results.
- Inappropriate storage decreases the activity of the reagent.
- Titre determination: To prepare dilutions of the monoclonal test reagents the use of physiological saline containing 2 % protein (bovine serum albumin) is recommended to facilitate the resuspension of the reaction products from the plate or the bottom of the tube.
- The application procedures are for the described manual methods only. When using automated or semi-automated instruments, laboratories must follow the instructions contained in the operator‘s manual provided by the manufacturer of the instrument and perform validations according to approved procedures.

Vigilance

All serious incidents occurring in connection with the product must be reported to sifin diagnostics gmbh as manufacturer and the responsible authority of the member state in which the user and/or the patient is based. The current summary report on safety and performance is available on request (info@sifin.de) or via EUDAMED.

Literature

(1) Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Richtlinie Hämotherapie), current version (2) Technical Manual , 17th ed. Bethesda, American Assoc. of Blood Banks, 2011 (3) Daniels G: Variants of RhD – current testing and clinical consequences. British J Haematol 2013; 161:461-470 (4) Wienzek-Lischka S, Flegel WA: Zur klinischen Bedeutung des Antigen D und seiner Varianten. Transfusionsmedizin 2016; 6(02): 57-64

Package size

Specificity	Anti-D
1 x 10 ml	BG1315
10 x 10 ml	BG1315-01

Explanation of the symbols used

LOT Batch code (Lot)
REF Catalogue number
IVD In Vitro Diagnostic Medical Device
Rh Blood grouping test reagent
ACT Activity/ Minimum titre
CLONE Clone designation

Use by YYYY-MM (MM = end of month)
Temperature limitation
www.sifin.de Consult instructions for use

Additional languages of the instruction for use of your product you will find here: www.sifin.de

Revision 3, Date of revision: 06/06/2025

sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | T: +49 30 700 144-0 | F: +49 30 700 144-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Anti-D

Réactif monoclonal pour la détermination des groupes sanguins

INFORMATIONS À USAGE PROFESSIONNEL

CE 0483 IVD

fr

Usage prévu

Anti-D est un produit de diagnostic in vitro utilisé dans le cadre de la détermination du groupe sanguin. Il permet d'identifier qualitativement l'antigène RhD du système des groupes sanguins par l'agglutination d'érythrocytes dans des échantillons de sang humain [avec ou sans anticoagulant (EDTA ou PAGGS-M)] lors d'un test manuel sur plaques et éprouvettes réalisé par du personnel spécialisé. L'antigène partiel RhD de catégorie VI n'est pas détecté avec ce clone.

Principe du test

Avec les antigènes du système de groupe sanguin ABO, l'antigène D est l'antigène de groupe sanguin le plus important pour la sérologie de groupe sanguin. Contrairement au système ABO, les anticorps du système Rh ne sont pas généralement présents dans le sérum. Ils résultent toujours d'une exposition à l'antigène durant la grossesse ou lors d'une transfusion sanguine.
La caractéristique Rh D peut avoir différentes formes d'expression:

- en tant que caractéristique complètement exprimée, typique des Rh positifs (D positif)
- en tant que caractéristique dont l'expression est affaiblie et/ou modifiée: soit en tant qu'antigène D faiblement exprimé (D faible) ou en tant qu'antigène D qualitativement modifié (D partiel) qui peut également être faiblement exprimé (par ex. catégorie D^{VI} = D^{VI}). Les personnes porteuses d'un antigène D modifié qualitativement de manière significative, et en particulier les personnes porteuses de la catégorie D^{VI}, peuvent être immunisées par une caractéristique Rh D complètement exprimée.

Les directives exigent que le test des patients, des femmes enceintes et des nouveau-nés soit réalisé avec au moins deux réactifs Anti-D avec différents anticorps IgM n'agglutinant pas la catégorie D^{VI}.
Les donneurs de sang doivent également être testés avec deux réactifs Anti-D. Il est nécessaire de détecter de manière fiable chaque antigène Rh D faiblement ou seulement partiellement exprimé (voir « Interprétation des résultats du test »).
Les procédures utilisées avec le réactif Anti-D sont basées sur le principe de l'agglutination. L'agglutination des globules rouges du test est un résultat positif et montre la présence de l'antigène Rh D. L'absence d'agglutination constitue un résultat négatif et indique que l'antigène Rh D est non détectable.

Composition

Le réactif du test est fabriqué à partir de surnageant de cultures cellulaires de la lignée BS225 d'hétérohybridome. Les anticorps sont d'isotype IgM humain. L'ajout de substances stabilisatrices permet de garantir que le réactif du test reste actif pendant toute sa durée de conservation.
Conservateur: azoture de sodium (≤ 0,99 mg/ml).

Durée de conservation et stockage

S'il est conservé à 2...8 °C, le réactif du test peut être utilisé jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette. Après la première ouverture, il doit être conservé bien fermé à 2...8 °C. Éviter toute contamination bactérienne. Ne pas utiliser si la solution est nettement trouble.

Matériel pour le test

Le sang doit être prélevé de manière aseptique, avec ou sans anticoagulant (EDTA ou PAGGS-M). L'échantillon doit être testé dès que possible après le prélèvement. Si le test est retardé, l'échantillon doit être conservé à 2...8 °C. Une contamination bactérienne de l'échantillon peut donner de faux résultats lors du test. Le sang prélevé dans un tube contenant de l'EDTA ainsi que le sang coagulé peuvent être testés jusqu'à 14 jours après le prélèvement, et le sang de donneur peut être testé jusqu'à la date d'expiration. Il est à noter cependant que la conservation peut donner des réactions plus faibles que la normale (voir « Sources d'erreur et restrictions » ci-dessous).

Matériel et équipement non fournis

Tubes à essai (75 × 12 mm ou 70 × 8 mm), plaques, pipettes (volume de goutte 40-50 µl), bâtonnets applicateurs, solution physiologique de chlorure de sodium (154 mmol/L), centrifuge de laboratoire, minuterie.

Méthodes

1. Test sur plaque

1.1. Placer 1 goutte (40-50 µl) de réactif Anti-D sur une plaque étiquetée de manière appropriée.
1.2. À chaque goutte de réactif, ajouter 1 goutte (40-50 µl) de suspension à 5 % de globules rouges du sang à tester (dans une solution de chlorure de sodium physiologique). Mélanger avec soin avec un bâtonnet applicateur propre en verre ou en plastique.
1.3. Lire le degré d'agglutination au bout de 5 minutes - 20 minutes au plus - d'incubation à 18...26 °C en faisant tourner ou basculer la plaque. Alternativement, incuber pendant 20 minutes à 37 °C.
1.4. Enregistrer les résultats du test. Les résultats du test doivent être interprétés immédiatement après sa réalisation car le produit de la réaction est instable.

2. Test en tube

2.1. Préparer une suspension à 3-5 % de globules rouges à tester (lavés ou non) dans une solution physiologique de chlorure de sodium.
2.2. Placer 1 goutte (40-50 µl) de réactif Anti-D dans un petit tube à essai (par ex. 70 x 8 mm) étiqueté de manière appropriée.
2.3. À chaque tube, ajouter 1 goutte (40-50 µl) de la suspension et agiter pour bien mélanger.
2.4. Centrifuger immédiatement pendant 1 à 2 minutes à une FCR de 180 à 270 × g.
2.5. Agiter doucement le tube pour dégager le sédiment du fond du tube et lire le degré d'agglutination.
2.6. Enregistrer les résultats du test. Les résultats du test doivent être interprétés immédiatement après sa réalisation car le produit de la réaction est instable.
2.7. En cas de résultat positif faible, équivoque ou négatif, homogénéiser le contenu du tube en l'agitant ; incuber le tube pendant 15 à 20 minutes à 18...26 °C et centrifuger puis relire le résultat (voir les rubriques 2.4. à 2.6.).

Interprétation des résultats du test

Interprétation des résultats du test pour les patients, les femmes enceintes et les nouveau-nés: En cas de réactions positives concordantes avec les deux réactifs anti-D du test, y compris de réactions faiblement positives sans ambiguïté, le résultat est « Rh positif (D positif) ». Si les deux réactifs du test donnent des résultats différents ou des résultats positifs discutables, le patient doit être déclaré comme étant « receveur Rh négatif (D négatif) ».
Interprétation des résultats pour les donneurs de sang : En cas de réactions positives concordantes avec les deux réactifs anti-D du test, y compris de réactions faiblement positives sans ambiguïté, le résultat est « Rh positif (D positif) ».
Dans tous les autres cas, l'échantillon doit être analysé avec des réactifs polyclonaux ou oligoclonaux adaptés dans le cadre d'un test indirect de l'antiglobuline humaine ou un test RhD-PCR adapté doit être réalisé, de sorte à déceler également tout antigène D faiblement ou partiellement marqué (voir les directives mentionnées ci-dessus ou les réglementations nationales).

Mesures de précautions et mises en garde

- La production biotechnologique signifie que le risque de contamination du réactif du test par des agents infectieux est pratiquement exclu. Puisque le réactif contient des substances d'origine animale (sérum de veau foetal, stabilisateur), il doit être traité comme étant potentiellement dangereux pour la santé et donc manipulé en conséquence.
- Le réactif utilisé pour le test contient de l'azoture de sodium; éviter tout contact avec la peau ou les muqueuses.
- Les matériaux issus des tests réalisés doivent être éliminés conformément aux directives nationales applicables, par ex., en Allemagne, comme déchet du groupe AVV 18 01 (AS 18 01 03) selon la « directive relative à l'évacuation conforme des déchets provenant des établissements de soins de santé » (version actuelle de la directive LAGA).

Caractéristiques et limites du procédé

L'évaluation de la performance selon le règlement d'exécution (UE) 2022/1107 de la Commission établissant des spécifications communes (SC) a permis de calculer les valeurs diagnostiques suivantes :

	Σ	positif	faux négatif	sensibilité	négatif	faux négatif	spécificité
Test en tube	1430 [1]	1142	0	100 % [1]	288	0	100 %
	1516 [2]	1221 [2]	7 [2]	99,43 % [2]	292 [2]	0	100 % [2]
Test sur plaque	2168 [1]	1686	1	99,94 % [1]	524	0	100 %
	2250 [2]	1726 [2]	39 [2]	97,79 % [2]	527 [2]	0	100 % [2]

1) Échantillons présentant une expression antigène normale 2) Échantillons incluant une faiblesse D

- L'antigène D faiblement exprimé (D faible) n'est reconnu qu'avec une sensibilité insuffisante dans le test sur plaque. Par conséquent, en cas de résultats négatifs, équivoques ou faiblement positifs, le test en tube avec post-incubation est recommandé.
- Un résultat faiblement positif peut indiquer la présence d'un D faible ou d'un D partiel (une catégorie).
- Les globules rouges qui ne possèdent pas l'antigène D ne sont pas agglutinés.
- Parmi les catégories les plus courantes, D^{II} à D^{VII}, la seule avec laquelle l'anticorps IgM monoclonal BS225 ne réagit pas est la catégorie D^{VI}.

Sources d'erreur et restrictions

- **Témoins:** Des globules rouges témoins positifs et négatifs et un témoin auto (pour tester l'agglutination) doivent être testés en parallèle pour chaque test.
- Les échantillons sanguins plus anciens peuvent donner des réactions plus faibles que les échantillons frais.
- Les concentrations de suspensions de globules rouges, les temps de réaction et les conditions spécifiées ci-dessus doivent être respectés afin d'obtenir des résultats exacts.
- Un mode de conservation inapproprié est susceptible de réduire l'activité du réactif.
- Détermination du titre : Pour préparer les dilutions de réactifs monoclonaux pour le test, l'utilisation de sérum physiologique contenant 2 % de protéines (albumine sérique bovine) est recommandée afin de faciliter la remise en suspension des produits de la réaction de la plaque ou du fond du tube.
- Les procédures d'application sont uniquement destinées aux méthodes manuelles décrites. Lors de l'utilisation d'instruments automatisés ou semi-automatisés, les laboratoires doivent suivre les instructions contenues dans le manuel de l'opérateur fourni par le fabricant de l'instrument et effectuer des validations selon des procédures approuvées.

Vigilance

Tous les cas graves survenant en lien avec le produit doivent être signalés à sifin diagnostics gmbh – en tant que fabricant – ainsi qu'aux autorités compétentes de l'État membre où l'utilisateur et/ou le patient est établi. Le rapport succinct à jour relatif à la sécurité et à la performance est disponible sur demande (info@sifin.de) ou sur EUDAMED.

Bibliographie

(1) Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Richtlinie Hämotherapie), Version actuelle (2) Technical Manual , 17th ed. Bethesda, American Assoc. of Blood Banks, 2011 (3) Daniels G: Variants of RhD – current testing and clinical consequences. British J Haematol 2013; 161:461-470 (4) Wienzek-Lischka S, Flegel WA: Zur klinischen Bedeutung des Antigen D und seiner Varianten. Transfusionsmedizin 2016; 6(02): 57-64

Taille de conditionnement

Spécificité	Anti-D
1 x 10 ml	BG1315
10 x 10 ml	BG1315-01

Explication des symboles utilisés

LOT	Code lot (Lot)		Utiliser jusque AAAA-MM (MM = fin du mois)
REF	Référence de catalogue		Limites de température
IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro	www.sifin.de	Consulter les instructions d'utilisation
Rh	Réactif pour test de groupage sanguin	CLONE	Désignation de clone
ACT	Activité/ Titre minimum		

Révision 3, DDate de la présente version: 06/06/2025

sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | T: +49 30 700 144-0 | F: +49 30 700 144-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Anti-D

Reactiv monoclonal de testare pentru determinarea grupei sanguine

INFORMAȚII PENTRU UZ PROFESIONAL

CE 0483 IVD

RO

Scopul propus
Anti-D este destinat utilizării diagnostice in vitro și este utilizat pentru identificarea grupei sanguine. Acesta este utilizat pentru identificarea calitativă a antigenului RhD al sistemului de grupe sanguine Rhesus prin aglutinarea eritrocitelor în probe de sânge uman [fără sau cu anticoagulanți (EDTA sau PAGGS-M)] în teste manuale pe placă și în eprubete efectuate de personal specializat. Antigenul RhD parțial din categoria VI nu este detectat cu această clonă.

Principiul testului
Împreună cu antigenele sistemului AB0 de grupe sanguine, antigenul D este cel mai important antigen de grupă sanguină în serologia grupelor sanguine. Spre deosebire de cei ai sistemului AB0, anticorpii sistemului Rh nu apar în general în ser. Ei sunt întotdeauna rezultatul expunerii la antigen în timpul sarcinii sau prin transfuzie.
Caracteristica D a Rh este exprimată sub diferite forme:
– ca o caracteristică exprimată complet, tipic pentru Rh pozitiv (D pozitiv)
– ca o caracteristică mai puțin intensă și/sau cu expresie modificată: fie ca un antigen D cu expresie slabă (D slab), fie ca un antigen D modificat calitativ (D parțial) care, de asemenea, poate fi slab exprimat (de ex. D categoria VI = D^{VI}).
Persoanele care prezintă un antigen D cu importante modificări calitative, în special persoanele cu categoria D^{VI} pot fi imunizate printr-o exprimare completă a caracteristicii D a Rh.
Îndrumările prevăd ca testarea pacienților, a femeilor însărcinate și a nou-născuților să fie efectuată utilizând cel puțin doi reactivi de testare anti-D cu anticorpi IgM diferiți care nu aglutinează categoria D^{VI}.
Testarea donatorilor de sânge trebuie să fie, de asemenea, efectuată utilizând doi reactivi de testare anti-D. Este necesar ca fiecare antigen D caracteristic Rh exprimat slab sau doar parțial să fie detectat cu siguranță (a se vedea „Interpretarea rezultatelor testului").
Procedeele care se aplică în cazul reactivului de testare anti-D se bazează pe principiul aglutinării. Aglutinarea eritrocitelor reprezintă un rezultat pozitiv al testului și indică prezența antigenului D al Rh. Absența aglutinării constituie un rezultat negativ și indică faptul că antigenul D al Rh nu este detectabil.

Compoziție
Reactivul de testare este obținut din supernatantul din culturi celulare al liniei celulare heterohibride BS225. Anticorpii aparțin izotipului uman IgM. Adăugarea de stabilizatori asigură activitatea Reactivului de testare pe parcursul termenului de valabilitate. Conservant: azidă de sodiu (≤ 0,99 mg/ml).

Termen de valabilitate și condiții de depozitare
În cazul în care este păstrat la temperaturi cuprinse între 2 °C și 8 °C, reactivul de testare pentru determinarea grupelor sanguine poate fi utilizat până la data indicată pe ambalaj. După prima deschidere, acesta trebuie păstrat în ambalajul închis bine la temperaturi cuprinse între 2 °C și 8 °C. A se evita contaminarea bacteriană. Nu utilizați reactivul dacă are aspect evident tulbure.

Materialul de testare
Sângele trebuie recoltat în condiții de asepsie, cu sau fără anticoagulant (EDTA sau PAGGS-M). Proba trebuie testată cât mai curând posibil. Dacă testarea este efectuată mai târziu, proba trebuie păstrată la temperaturi cuprinse între 2 °C și 8 °C. Contaminarea bacteriană a probei poate conduce la obținerea unor rezultate false ale testării.
Probele de sânge recoltate în EDTA, precum și sângele coagulat pot fi examinate într-un interval de până la 14 zile de la recoltare, iar sângele donat poate fi testat până la data de expirare. Totuși, aveți în vedere faptul că păstrarea în timp poate conduce la apariția unor reacții de intensitate mai redusă decât cele normale (a se vedea mai jos, la secțiunea „Surse de eroare și limitări").

Materiale și echipamente nefurnizate
Eprubete pentru testare (75 × 12 mm sau 70 × 8 mm), plăci, pipete (volumul picăturii 40-50 µl), baghete aplicatoare, ser fiziologic (154 mmol/l), centrifugă de laborator, cronometru.

Metode
1. Testul pe placă
1.1. Aplicați o picătură (40-50 µl) din reactivul de testare Anti-D pe o placă etichetată corespunzător.
1.2. La fiecare picătură de reactiv pentru testare adăugați o picătură (40-50 µl) dintr-o suspensie 5 % de eritrocite din sângele care urmează să fie testat (în ser fiziologic). Amestecați cu atenție cu o baghetă aplicatoare curată din sticlă sau plastic.
1.3. Examinați amestecul pentru a observa prezența aglutinării, după ce acesta a fost incubat timp de 5, maxim 20 de minute la 18...26 °C, prin rotirea sau scuturarea plăcii. Alternativ incubați timp de 20 de minute la 37 °C.
1.4. Notați rezultatele testului. Rezultatele testului trebuie interpretate imediat după încheierea testului, deoarece produsul de reacție este instabil.

2. Testul în eprubetă
2.1. Preparați o suspensie celulară de 3-5% din eritrocitele care trebuie testate (spălate sau nespălate) în ser fiziologic.
2.2. Aplicați o picătură (40-50 µl) din reactivul pentru testare Anti-D într-o eprubetă mică (de ex. 70 × 8 mm) etichetată corespunzător.
2.3. Adăugați o picătură (40-50 µl) din suspensia de eritrocite în fiecare eprubetă și amestecați bine prin scuturare.
2.4. Centrifugați imediat timp de 1 minut până la 2 minute la o forță relativă de centrifugare (rcf) de 180 până la 270 × *g*.
2.5. Scuturați ușor eprubeta pentru a desprinde sedimentul de pe fundul acesteia și examinați amestecul pentru a observa prezența aglutinării.
2.6. Notați rezultatele testului. Rezultatele testului trebuie interpretate imediat după încheierea testului, deoarece produsul de reacție este instabil.
2.7. În cazul unei reacții slab pozitive, incerte sau negative, omogenizați conținutul eprubetei prin scuturare; incubați eprubeta timp de 15-20 de minute la 18...26 °C, centrifugați și apoi notați din nou rezultatele testului (a se vedea 2.4 până la 2.6).

Interpretarea rezultatelor testului
Interpretarea rezultatelor testului la pacienți, femei însărcinate și nou-născuți: În cazul existenței concomitente de reacții pozitive la cei doi reactivi de testare anti-D, inclusiv reacții pozitive slabe neambigue, rezultatul este „Rh pozitiv (D pozitiv)".
Dacă cei doi reactivi de testare conduc la rezultate diferite sau la rezultate pozitive discutabile, pacientul este declarat ca fiind „primitor Rh negativ (D negativ)".
Interpretarea rezultatelor donatorilor de sânge: În cazul existenței concomitente de reacții pozitive la cei doi reactivi de testare anti-D, inclusiv reacții pozitive slabe neambigue, rezultatul este „Rh pozitiv (D pozitiv)".
În toate celelalte cazuri, proba trebuie examinată cu reagenți policlonali sau oligoclonali corespunzători în cadrul unui test indirect cu globulină anti-umană sau trebuie efectuat un test PCR RhD adecvat, pentru a detecta chiar și fiecare antigen D exprimat slab sau doar parțial (a se vedea îndrumările menționate mai sus sau reglementările naționale specifice).

Măsuri de precauție și avertismente
– Utilizarea procedeelor biotehnologice de producție înseamnă că riscul de contaminare a reactivului de testare cu agenți infecțioși este practic inexistent. Deoarece reactivul pentru testare conține materiale de origine animală (ser de făt bovin, stabilizatori), acesta ar trebui tratat ca având potențial infecțios și trebuie manipulat corespunzător.
– Reactivul pentru testare conține azidă de sodiu; evitați contactul cu tegumentul sau cu membranele mucoase.
– Materialele rămase de la testele utilizate trebuie eliminate ca deșeu în conformitate cu directivele naționale aferente, de exemplu, în Germania, ca deșeu din grupa AVV 18 01 (AS 18 01 03) în conformitate cu „Directiva privind eliminarea corectă a deșeurilor din unitățile sanitare" (Directiva LAGA, versiunea actuală).

Caracteristici de performanță și limitele metodei
Evaluarea performanței conform Regulamentului de punere în aplicare (UE) 2022/1107 al Comisiei de stabilire a unor specificații comune (SC) a evidențiat următoarele valori de diagnostic calculate:

	Σ	pozitiv	fals-negativ	sensibilitate	negativ	fals-negativ	specificitate
Testul în eprubetă	1430 [1]	1142	0	100 % [1]	288	0	100 %
	1516 [2]	1221 [2]	7 [2]	99,43 % [2]	292 [2]	0	100 % [2]
Testul pe placă	2168 [1]	1686	1	99,94 % [1]	524	0	100 %
	2250 [2]	1726 [2]	39 [2]	97,79 % [2]	527 [2]	0	100 % [2]

1) Probe cu expresie normală a antigenului 2) inclusiv probe cu D slab

– Antigenul D slab exprimat (D slab) este recunoscut prin intermediul testului pe placă cu o sensibilitate care este insuficientă. Din acest motiv se recomandă efectuarea testului în eprubetă cu incubare ulterioară în cazul unor rezultate negative, incerte sau slab pozitive.
– Un rezultat slab pozitiv poate indica prezența unui D slab sau a unui D parțial (dintr-o categorie).
– Eritrocitele care nu posedă antigenul D nu sunt aglutinate.
– Dintre categoriile mai frecvente D^{II} până la D^{VII}, singura cu care anticorpul IgM monoclonal BS225 nu reacționează este categoria D^{VI}.

Surse de eroare și limitări
– **Testări de control:** pentru fiecare test trebuie testate în paralel eritrocite martor pozitive și negative și un test de auto-control (test pentru autoaglutinare).
– În cazul probelor mai vechi de sânge se pot obține rezultate de intensitate mai slabă decât în cazul probelor proaspete.
– Pentru a obține rezultate corecte trebuie respectate concentrațiile suspensiilor de eritrocite și timpii de reacție și condițiile specificate mai sus.
– Depozitarea inadecvată scade activitatea reactivului.
– Determinarea titrului: Pentru prepararea diluțiilor reactivilor monoclonali de testare este recomandată utilizarea serului fiziologic care conține 2 % proteine (albumină serică bovină), pentru a facilita resuspensia produșilor de reacție de pe placă sau de pe fundul eprubetei.
– Procedeele de aplicare sunt valabile doar pentru metodele manuale descrise. Atunci când se utilizează instrumente automate sau semi-automate, laboratoarele trebuie să urmeze instrucțiunile cuprinse în manualul de utilizare oferit de producătorul instrumentului și să efectueze validările în conformitate cu procedeele aprobate.

Vigilență
Toate incidentele grave apărute în legătură cu produsul trebuie raportate către sifin diagnostics gmbh, în calitate de producător, precum și către autoritatea competentă a statului membru în care utilizatorul și/sau pacientul își are sediul sau reședința. Raportul sumar actual privind siguranța și performanța este disponibil la cerere (info@sifin.de) sau prin intermediul EUDAMED.

Referințe
(1) Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Richtlinie Hämotherapie), Versiune curentă (2) Technical Manual , 17th ed. Bethesda, American Assoc. of Blood Banks, 2011 (3) Daniels G: Variants of RhD – current testing and clinical consequences. British J Haematol 2013; 161:461-470 (4) Wienzek-Lischka S, Flegel WA: Zur klinischen Bedeutung des Antigen D und seiner Varianten. Transfusionsmedizin 2016; 6(02): 57-64

Dimensiunea ambalajului

Specificitate	Anti-D
1 x 10 ml	BG1315
10 x 10 ml	BG1315-01

Explicarea simbolurilor utilizate

LOT	Numărul lotului		A se utiliza până la AAAA-LL (LL=sfârșitul lunii)
REF	Numărul de catalog		Limitare a temperaturii
IVD	Aparatură medicală de diagnostic in vitro	www.sifin.de	Consultați instrucțiunile de utilizare
Rh	Reactiv de testare pentru determinarea grupei sanguine	CLONE	Descrierea clonei
ACT	Activitate / titru minim		

Revizuirea 3, Data revizuirii textului: 06/06/2025

sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | T: +49 30 700 144-0 | F: +49 30 700 144-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Anti-D

Моноклонален тест-реагент за определяне на кръвни групи

ИНФОРМАЦИЯ ЗА ПРОФЕСИОНАЛНА УПОТРЕБА

CE 0483 IVD

bg

Предназначение
Anti-D е продукт за in vitro диагностика и се използва в рамките на определянето на кръвната група. Той служи за качествено откриване на антигена RhD на кръвногруповата система Резус чрез аглутинация на еритроцити в човешки кръвни проби [без или със антикоагуланти (EDTA или PAGGS-M)] в ръчни тестове с плочки и епруветки, извършвани от квалифициран персонал. Частичният антиген RhD от категория VI не се открива с този клон.

Принцип на теста
Заедно с антигените от кръвногрупова система ABO, D е най-важният кръвногрупов антиген в рутинната серология на кръвни групи. За разлика от тези от ABO-системата, антителата от Rh-системата по принцип не се срещат в серума. Те винаги са резултат от излагане на действието на антигена по време на бременност или при кръвопреливане.
Rh белегът D се среща в различни форми на експресия:
- като напълно изразен (напълно експресиран) белег, което е характерно за Rh позитивните (D позитивните);
- като белег с отслабена и/или променена експресия: като слабо експресиран антиген D (слаб D) или като качествено променен антиген D (частичен D), който също може да бъде слабо изразен (например D категория VI = D^{VI}). Лица със съществено качествено променен D антиген и особено лица с категория D^{VI} могат да са имунизирани с напълно експресиран Rh белег D.

Съгласно официалните препоръки тестването на пациенти, бременни жени и новородени трябва да се извършва с използване най-малко на 2 тест реагента Анти-D с различни антитела IgM, които не аглутинират категория D^{VI}. Тестването на донори на кръв също трябва да се извършва с помощта на два тестови реагента Анти-D.
Необходимо е всеки слабо или само частично експресиран Rh белег D да бъде надеждно установен (вж. „Интерпретация на резултатите от теста").
Използваните процедури с тестовия реагент Анти-D се основават на принципа на аглутинацията. Получаването на аглутинация на червени кръвни клетки се счита за положителен резултат от теста и показва наличието на Rh антиген D. Липсата на аглутинация представлява отрицателен резултат, показващ, че Rh антиген D не е установим.

Състав
Тестовият реагент е произведен от супернатанта (течния повърхностен слой) на клетъчна култура от хетерохибридомна клетъчна линия BS 225. Антителата се отнасят към човешки IgM изотип. Добавените стабилизиращи вещества гарантират, че тестовият реагент ще бъде ефективен по време на целия си срок на годност. Консервант: натриев азид (макс. 0.99 mg/ml).

Срок на годност и съхранение
При съхранение при температура от 2 до 8 °C тест-реагентът може да се използва до датата на годност, означена на етикета. След първото му отваряне е необходимо да се съхранява добре затворен при 2...8 °C. Внимавайте за евентуално замърсяване с бактерии. Не използвайте реагента, ако е видимо мътен.

Тестов материал
Вземането на кръв трябва да стане чрез използване на асептична техника, с или без антикоагулант (EDTA или PAGGS-M). Пробата трябва да се тества възможно най-скоро след вземането ѝ. В случай че тестът ще бъде извършен по-късно, пробата трябва да се съхранява при температура 2...8 °C. Ако пробата е замърсена с бактерии, това може да доведе до получаване на фалшиви резултати от теста.
Кръвни проби, антикоагулирани с EDTA, както и сусирена кръв, могат да се изследват до 14 дни след вземане на пробата, а донорска кръв – до изтичане на срока на годност на консервата. Съхраняването им обаче може да доведе до по-слаби реакции от обичайното (вж. по-долу „Източници на грешки и ограничения").

Материали и оборудване, които не са осигурени
Тест-епруветки (75 × 12 мм или 70 × 8 мм), плочки, пипети (обем на капане 40-50ml), пръчици, физиологичен разтвор (154 mmol/l), центрофуга, таймер.

Методи

1. Изпълнение с тестови плочки

1.1. Сложете 1 капка (40-50ml) от тест-реагента Анти-D на подходящо означена тестова плочка.
1.2. Към всяка капка тест-реагент добавете по 1 капка 5 % суспензия от червените кръвни клетки за тестване във физиологичен разтвор. Разбъркайте внимателно с чиста стъклена или пластмасова пръчица.
1.3. Отчетете дали се е получила аглутинация след 5 или най-много след 20 минути инкубация при 18...26 °C, като завъртите или разклатите плочката. Друг начин е да инкубирате за 20 минути при 37 °C.
1.4. Запишете резултатите от теста. Резултатите от теста трябва да се интерпретират веднага след завършването му, тъй като реакционният продукт е нестабилен.

2. Изпълнение с тестови епруветки

2.1. Пригответе приблизително 3 – 5 % суспензия от червените кръвни клетки за тестване (промити или не) във физиологичен разтвор.
2.2. Сложете 1 капка от тестовия реагент Анти-D в малка тест-епруветка (например 70 × 8 мм), означена по подходящ начин.
2.3. Добавете по 1 капка от суспензията към всяка епруветка и разбъркайте добре чрез разклащане.
2.4. Продължете веднага с центрофугиране за 1 – 2 минути при rcf 180 – 270 *g* (приблизително 1000 оборота в минута).
2.5. Ресуспендирайте червените кръвни клетки, като разклатите внимателно епруветката, и отчетете дали има аглутинация.
2.6. Запишете резултатите от теста. Резултатите от теста трябва да се интерпретират веднага след завършването му, тъй като реакционният продукт е нестабилен.
2.7. В случай на получаване на слабо положителен, несигурен или отрицателен резултат, хомогенизирайте съдържанието на епруветката чрез разклащане, инкубирайте епруветката за 15 – 20 минути при 18...26 °C, центрофугирайте и отчетете резултата отново (вж. Стъпки 2.4 – 2.6).

Интерпретация на резултатите от теста

Интерпретация на резултатите от теста на пациенти, бременни жени и новородени: В случай на съвпадащи положителни реакции на двата тест-реагента, включително и ясни слабо положителни реакции, резултатът е "D положителен". Ако двата тестови реагента дадат различни или несигурно положителни резултати, пациентът следва да бъде определен като „реципиент D отрицателен".

Интерпретация на резултатите на кръвни донори: В случай на съвпадащи положителни реакции на двата тест-реагента, включително и ясни слабо положителни реакции, резултатът е „D положителен".

Във всички останали случаи, пробата трябва да се изследва с с подходящи поликлонални или олигоклонални реагенти в индиректния тест с противо-човешки глобулин или трябва да се направи подходящ RhD PCR, за да се открие всеки слабо или само частично експресиран D антиген (вижте насоките или специфичния за държавата регламент).

Предпазни мерки и предупреждения
- Използването на биотехнологични продукти означава практическо изключване на риска от замърсяване на тест-реагента с инфекциозни агенти. Тъй като съдържа материали от животински произход (фетален телешки серум, стабилизатор), тест-реагентът следва да се третира като потенциално опасен за здравето и с него да се работи по съответния начин.
- Тъй като съдържа натриев азид, избягвайте всякакъв контакт на тест-реагента с кожата или лигавиците!
- Материалите от извършените тестове трябва да се изхвърлят съгласно съответните национални директиви, напр. в Германия като отпадъци от група AVV 18 01 (AS 18 01 03) в съответствие с „Директива за правилното изхвърляне на отпадъци от здравни заведения" (директива LAGA, актуална версия).

Характеристики и ограничения на процедурата
Оценката на характеристиките съгласно Регламент за изпълнение (ЕС) 2022/1107 на Комисията относно определянето на общи спецификации (ОС) даде следните изчислени диагностични стойности:

	Σ	положителна	фалшив оотрица телна	чувствителн ост	отрицател ена	фалшив оотрица телна	специфичност
Изпълнение с тестови епруветки	1430 [1]	1142	0	100 % [1]	288	0	100 %
	1516 [2]	1221 [2]	7 [2]	99,43 % [2]	292 [2]	0	100 % [2]
Изпълнение с тестови плочки	2168 [1]	1686	1	99,94 % [1]	524	0	100 %
	2250 [2]	1726 [2]	39 [2]	97,79 % [2]	527 [2]	0	100 % [2]

1) Проби с нормална антигенна експресия 2) включително проби със слаб D

- Слабо експресираният D антиген се разпознава с теста с плочки само по недостатъчната чувствителност. Затова по правило се препоръчва провеждане на теста с епруветки, с инкубация, в случай на отрицателен, несигурен или слабо положителен резултат.
- Слабо положителен резултат може да бъде индикация за наличието на слаб D или частичен D (от дадена категория).
- Червените кръвни клетки, които не притежават D антиген не се аглутинират.
- Единствената от по-често срещаните категории D^{II} – D^{VII}, с която моноклоналното антитяло IgM BS 225 не реагира, е категория D^{VI}.

Източници на грешки и ограничения
- **Контроли:** При всеки тест трябва паралелно да се тестват положителна и отрицателна контрола от червени кръвни клетки, както и автоконтрола (тест за автоаглутинация).
- По-старите кръвни проби могат да дадат по-слаби реакции в сравнение с пресните клетки.
- За да получите коректни резултати, трябва да се придържате стриктно към горепосочените концентрации на суспензиите с червени кръвни клетки и реакционните времена и условия.
- Неподходящото съхранение нарушава ефективността на реагента.
- Титруване: За приготвянето на разреждания на моноклоналните тест-реагенти се препоръчва използването на физиологичен разтвор, съдържащ 2 % белтък (волски серумен албумин), улесняващ ресуспендирането на реакционните продукти от тестовата плочка или от дъното на епруветката.
- Приложните процедури важат само за описаните ръчни методи. При използване на автоматизирани или полуавтоматизирани инструменти, следвайте процедурите в съответните ръководства и инструкции, осигурени от производителя им. Лабораториите трябва да следват одобрените процедури за валидация, за да има съвместимост на продукта при употребата на автоматизирани системи.

Бъдете бдителни
Всички сериозни инциденти, възникнали във връзка с продуктите, трябва да бъдат докладвани на sifin diagnostics gmbh като производител и на компетентния орган на държавата-членка, в която е установен потребителят и/или пациентът. Актуалното резюме относно безопасността и клиничната ефективност може да бъде получено при поискване (info@sifin.de) или чрез EUDAMED.

Литература
(1) Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Richtlinie Hämotherapie), актуална версия (2) Technical Manual , 17th ed. Bethesda, American Assoc. of Blood Banks, 2011 (3) Daniels G: Variants of RhD – current testing and clinical consequences. British J Haematol 2013; 161:461-470 (4) Wienzek-Lischka S, Flegel WA: Zur klinischen Bedeutung des Antigen D und seiner Varianten. Transfusionsmedizin 2016; 6(02): 57-64

Търговска опаковка

Спецификация	Анти-D
1 x 10 мл.	BG1315
10 x 10 мл.	BG1315-01

Легенда на използваните означения

LOT Партиден номер
REF Каталожен номер
IVD Медицинско средство за in vitro диагностика
Rh Тест-реактив за определяне на кръвна група
ACT Активност/ Минимален титър
Срок на годност: ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца)
Температурни граници
www.sifin.de Вижте инструкциите за употреба
CLONE Обозначаване на клона

Преработено издание 3, Дата на редакцията: 06/06/2025

sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | T: +49 30 700 144-0 | F: +49 30 700 144-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Anti-D

Monoklonális teszt reagens vércsoport meghatározáshoz

INFORMÁCIÓ PROFESSZIONÁLIS HASZNÁLATHOZ

CE 0483 IVD

hu

Felhasználás

Az Anti-D egy vércsoportmeghatározásra szolgáló in vitro diagnosztikai eszköz. A Rhesus-vércsoportrendszer RhD-antigénjeinek képzett szakemberek általi minőségi kimutatására szolgál emberi vérmintákból az eritrociták agglutinációjával [antikoagulánssal (EDTA-val, citráttal vagy PAGGS-M-el) vagy azok nélkül] manuális lemezes és csöves tesztek során. A VI. kategóriába tartozó parciális RhD-antigént ez a klón nem mutatja ki.

A teszt alapelve

Az ABO rendszer antigénjei mellett a D antigén a legfontosabb vércsoportantigén a vércsoportszerológiában. Ellentétben az ABO rendszer antigén-ellenes antitestjeivel az Rh-antigének elleni antitestek nem jelennek meg általánosságban a szérumban. Azok mindig az antigénnel való találkozás eredményei terhességet vagy transzfúziót követően.
Az RhD tulajdonság különböző expressziós formában lép fel:

- mint egy teljesen kifejeződött tulajdonság, amely Rh pozitív esetben tipikus (D pozitív)
- mint egy gyengült és/vagy kifejeződésében megváltozott jelleg, vagy mint gyengén kifejeződött D antigén (D weak) vagy mint minőségileg megváltozott D antigén (részleges D), amely egyidejűleg szintén gyengén kifejezett lehet, pl. VI-os kategóriájú D (D^{VI}). Emberek mennyiségileg jól láthatóan megváltozott D antigénnel egy teljesen kifejezett RhD jelleggel immunizálódhatnak, különösen a D^{VI} kategóriások.

Az irányvonalak alapján betegek, terhesek és újszülöttek vizsgálatát legalább két Anti-D tesztreagenssel kell elvégezni, amelyek különböző IgM antitestet tartalmaznak, és amelyek nem agglutinálják a D^{VI}-ot.
Donorok vizsgálatát is mindig két Anti-D tesztreagenssel kell végezni. Minden gyenge vagy csak részlegesen kifejezett Rhesus D antigént megbízhatóan ki kell mutatni (ld. „Az eredmények értékelése").
Az Anti-D tesztreagenst folyamatok az agglutináció elvén alapulnak. A vörösvértestek agglutinációját pozitív eredménynek kell tekinteni és az az RhD antigén jelenlétét mutatja. Agglutináció hiányát negatív teszteredménynek kell értékelni, RhD antigén nem mutatható ki.

Összetétel

A tesztreagensek BS225 heterohybridoma-sejtvonal felülúszójából készülnek. Az antitestek IgM izotípushoz tartoznak. Stabilizátorok hozzáadása a tesztreagens hatékonyságát biztosítja a felhasználhatóságai idő alatt.
Konzerválóanyag: nátrium-azid (≤0,99 mg/ml).

Eltarthatóság és tárolási feltételek

A tesztreagensek +2 és +8°C között tárolva a címkén megadott időpontig felhasználhatók. Az első kinyitást követően a tesztreagenseket jól lezárva +2 és +8°C között kell tárolni. A bakteriális kontaminációt el kell kerülni. Az egyértelműen zavaros tesztreagenseket a használatból ki kell zárni.

Vizsgálati anyag

A vért aszeptikus módon alvadásgátlóba vagy anélkül kell levenni (EDTA vagy PAGGS-M). A mintát, amilyen gyorsan csak lehet, vizsgálni kell, késedelem esetén a mintát 2...8°C között kell tárolni. A minta bakteriális kontaminációja fals eredményeket okozhat.
A heparinos vér legfeljebb 2 napig tartható el. Az EDTA-val alvadásgátolt vérmintákat, illetve az alvadt vért a gyűjtés után maximum 14 napig, míg a donor vért a konzerv lejárati idejéig lehet vizsgálni. Megjegyzés: a tárolás normálisnál gyengébb reakciókat eredményezhet. (Lásd lentebb „Hibaforrások és korlátozások").

Nem szállított anyagok és eszközök

Tesztcsövek (75 × 12 mm, vagy 70 × 8 mm), lemezek, pipetták(csepp térfogat 40-50 µl), applikátor pálcák, fiziológiás (154 mmol/l) sóoldat, laboratóriumi centrifuga, időmérő eszköz.

Módszerek

1. Lemezes teszt

1.1. Tegyen 1 csepp (40-50 µl) Anti-D tesztreagenst megfelelően felcímkézett lemezre.
1.2. Tegye mindegyik vércsoport-tesztreagenshez a vizsgálandó vérminta 1 csepp (40-50 µl) 5%-os vörösvértest-szuszpenzióját sós közegben vizsgálva, és keverje meg alaposan egy tiszta üveg vagy műanyagpálcával.
1.3. 5 perc, maximálisan 20 perc inkubáció után 18...26°C között olvassa le az agglutinációt a lemez forgatása vagy a lemez enyhe rázogatása mellett. Az inkubációt 20 percig, 37°C-on is lehet végezni.
1.4. Olvassa le és jegyezze fel az eredményt. A leolvasást közvetlenül a teszt elvégzése után kell végezni, mivel a reakciótermék nem stabil.

2. Csöves teszt

2.1. A vizsgálandó vérminta vörösvértestjeit (mosott és nem mosott) 5%-os izotóniás nátriumklorid oldatban kell szuszpendálni.
2.2. Tegyen 1 csepp (40-50 µl) Anti-D tesztreagenst megfelelően felcímkézett tesztcsőbe (pl. 70 × 8 mm).
2.3. Adjon 1-1 csepp (40-50 µl) vörösvértest-szuszpenziót minden csőhöz és keverje meg alaposan rázóval.
2.4. A keveréket centrifugálja azonnal 1-2 percig 180-270 × *g*-n
2.5. A szedimentumot a csövek aljának óvatos rázása mellett oldja fel és vizsgálja az agglutinációt.
2.6. Olvassa le és jegyezze fel az eredményt. A leolvasást közvetlenül a teszt elvégzése után kell végezni, mivel a reakciótermék nem stabil.
2.7. Gyenge pozitív, kétes vagy negatív eredmény esetén a csövet rázóval homogenizálja, 15-20 percig 18....26°C-on inkubálja, azután újra centrifugálja és értékelje (ld. 2.4.-2.6.).

A teszteredmények értékelése

Értékelés betegeknél, terheseknél és újszülötteknél: Egybevágó pozitív eredmény mindkét Anti-D tesztreagens esetén és az egyértelmű gyenge pozitív eredményeknél az eredmény Rh pozitív (D pozitív).
Mindkét Anti-D reagenssel való diszkrepanciák és kérdéses pozitív eredmények esetén a beteget, mint „kapó Rh negatív" (D negatív) kell deklarálni.

Értékelés donoroknál: Egybevágó pozitív eredmény mindkét Anti-D tesztreagens esetén és az egyértelmű gyenge pozitív eredményeknél az eredmény „Rh pozitív" (D pozitív).
A mintát minden egyéb esetben megfelelő poliklonális vagy oligoklonális reagenssel végzett indirekt antihumán-globulinteszttel kell vizsgálni vagy megfelelő RhD-PCR-t kell végezni az összes gyengén vagy csak részben kifejeződő D-antigén kimutatásához (lásd többek között az irányelveket, illetve az országspecifikus szabályozásokat).

Óvintézkedések és figyelmeztetések

- A biotechnológiai gyártás használata azt jelenti, hogy a tesztreagensek fertőző ágensekkel való kontaminációja virtuálisan kizárható. Mivel tartalmaznak állati eredetű anyagokat (fötális borjú szérum, stabilizátor) a tesztreagenseket potenciálisan egészségveszélyeztetőnek kell tartani és megfelelően kezelni.
- Mivel a tesztreagensek nátrium-azidot tartalmaznak, kerüljön el minden bőr és nyálkahártya-érintkezést.
- Az elvégzett vizsgálatokból származó minden anyagot a vonatkozó nemzeti irányelveknek megfelelően kell ártalmatlanítani, pl. Németországban a 18 01 AVV csoportba tartozó hulladékként (AS 18 01 03), az „Egészsé gügyi intézményekből származó hulladékok megfelelő ártalmatlanításáról szóló irányelv" (LAGA-irányelv, hatályos változat) szerint.

Teljesítményjellemzők és az eljárás korlátai

Az egységes előírások megállapításáról szóló (EU) 2022/1107 bizottsági végrehajtási rendelet (EE) alapján történő értékelés az alábbi diagnosztikai értékeket eredményezte:

	∑	pozitív	fals-negatív	Szenzitivitás	negatív	fals-negatív	Specificitás
Csöves teszt	1430 [1]	1142	0	100 % [1]	288	0	100 %
	1516 [2]	1221 [2]	7 [2]	99,43 % [2]	292 [2]	0	100 % [2]
Lemezes teszt	2168 [1]	1686	1	99,94 % [1]	524	0	100 %
	2250 [2]	1726 [2]	39 [2]	97,79 % [2]	527 [2]	0	100 % [2]

1) Normál antigénexpressziójú minták 2) gyenge D mintákkal együtt

- Gyengén kifejezett D antigén (gyenge D) a lemeztesztnél csak elégtelen érzékenységgel mutatható ki.
- Egy gyengén pozitív eredmény utalhat gyenge D vagy parciális D (egy kategória) jelenlétére.
- Azok a vörösvértestek, melyek nem rndelkeznek a D antigénnel nem agglutinálódnak.
- A monoklonális IgM ellenanyag BS225 D^{II} és D^{VIII} leggyakoribb kategóriáival agglutinál, de D^{VI}-tal nem.

Hibaforrások és korlátozások

- **Kontrollok:** Minden tesztnél szükségesek pozitív és negatív kontroll vörösvértestek, és el kell végezni sajátkontrollt (autoagglutináció vizsgálata).
- Idősebb vérek gyengébb reakciókat adhatnak, mint a friss vérek.
- A vörösvértest-szuszpenziók megadott koncentrációit, a reakcióidőket és-körülményeket a helyes eredmények végett be kell tartani.
- Nem megfelelő tárolás károsítja a tesztreagensek hatékonyságát.
- Titermeghatározások: monoklonális tesztreagensek dilúciójának elkészítéséhez 2% proteint tartalmazó fiziológiás sóoldat ajánlott (bovin szérum albumin), hogy felgyorsítsa a reakciótermékek reszuszpendálását a lemezből és a cső aljáról.
- Az alkalmazási eljárás kizárólag a leírt manuális módszerekre érvényes. Amennyiben automatákat vagy félautomata rendszereket használ, a laboratóriumoknak követni kell a készülékgyártó által megadottakat és elismert eljárású validációkat szükséges végezni.

Figyelem

A termékkel kapcsolatban előforduló minden súlyos eseményt jelenteni kell a sifin diagnostics gmbh-nak mint gyártónak és a felhasználó és/vagy a beteg lakóhelye szerinti tagállam illetékes hatóságának. A biztonságról és a teljesítményről szóló legfrissebb összefoglaló jelentést kérésre (info@sifin.de) az EUDAMED rendelkezésre bocsátja.

Literature Irodalom

(1) Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Richtlinie Hämotherapie), aktuális verzió (2) Technical Manual, 17th ed. Bethesda, American Assoc. of Blood Banks, 2011 (3) Daniels G: Variants of RhD – current testing and clinical consequences. British J Haematol 2013; 161:461-470 (4) Wienzek-Lischka S, Flegel WA: Zur klinischen Bedeutung des Antigen D und seiner Varianten. Transfusionsmedizin 2016; 6(02): 57-64

Kiszerelési méret

Specificitás	Anti-D
1 x 10 ml	BG1315
10 x 10 ml	BG1315-01

Az alkalmazott szimbólumok jelentése

LOT	Sarzs szám (Lot)		ÉÉÉÉ-HH lejárati idő (HH = hónap vége)
REF	Katalógusszám		Hőmérsékleti határ
IVD	In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz	www.sifin.de	Lásd a használati utasítást
Rh	Vércsoport tesztreagens	CLONE	Klón meghatározás
ACT	Aktivitás/minimum titer		

Felülvizsgálat 3, A szerkesztés dátuma: 06/06/2025