
	CE-Immundiagnostika GmbH Karl-Landsteiner-Str. 6, D-69151 Neckargemünd Tel.: +49 6223-80094 00 Tel./fax: +49 6223-80094 99 www.ce-immundiagnostika.com	
	Instrukcja używania Rev. 002/07-2021	
	Opis:	Nr katalogowy:
	Anty-D RUM-1 (monoklonalny) 10 ml	06210
	Anty-D MS-201 (monoklonalny) 10 ml	06110

Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro

WSTĘP

Układ grupowy Rhesus został po raz pierwszy opisany w 1940 roku. Oprócz antygenów ABO, szczególne znaczenie kliniczne ma antygen D, ponieważ błąd w transfuzji krwi może spowodować ciężkie reakcje hemolityczne po przetoczeniu oraz chorobę hemolityczną płodu i noworodka (HDFN).

Rh dodatni (D poz.)/rhesus ujemny (D neg.) oznaczają, że antygen D jest odpowiednio obecny/nieobecny na powierzchni erytrocytów danej osoby.

Rozmieszczenie antygeny D

Anty-D	Fenotyp	Rasa kaukaska %	Afrykanie Amerykanie %
+	Rh D dodatnie	85	72
-	Rh D ujemne	15	28

Tabela 1: Częstotliwość występowania antygenów według Mollisona i in.

PRZEZNACZENIE

Anty D (monoklonalne IgM) jest przeznaczone do specyficznego i jakościowego wykrywania erytrocytów niosących odpowiedni antygen D (RH1) i nadaje się do stosowania w technikach szkiełkowych, płytkowych, mikroplątkowych i probówkowych.

Powyższe techniki opierają się na zasadzie bezpośredniej hemaglutynacji. Po dodaniu erytrocytów do anty-D (monoklonalne IgM) zachodzi specyficzna reakcja antygen-przeciwciała, jeśli odpowiedni antygen D (RH1) jest obecny na erytrocytach. Na tę reakcję wskazuje widoczna aglutynacja erytrocytów. Brak aglutynacji krwinek czerwonych wskazuje – biorąc pod uwagę ograniczenia metod badawczych – na brak odpowiedniego antygeny D (RH1).

Oba klony rozpoznają większość wariantów D_{weak}, z wyjątkiem D VI.

INFORMACJA O PRODUKCIE

Odczynniki monoklonalne anty-D IgM są pobierane z mysich komórek hybrydomy.

Medium rozcieńczające dla tego odczynnika o niskiej zawartości białka zawiera następujące potencjatory: NaCl, BSA, bufor i kilka innych składników.

Konserwant: < 0,1% azydek sodu.

Jeśli odczynnik jest stosowany zgodnie z instrukcją używania, odczynnik aglutynuje ludzkie erytrocyty, gdy obecny jest odpowiedni antygen D (RH1).

Anty D (monoklonalne IgM) rozpoznaje i bezpośrednio aglutynuje wiele czerwonych krwinek o słabym fenotypie D, które wcześniej prawdopodobnie interpretowano jako Rh ujemne (lub słabe D). Obejmuje to również niektóre typy niezwykle rzadkich krwinek z częściowym D. Klony anty D IgM nie wykazują reaktywności z krwinkami D kategorii VI, które były do tej pory testowane. Słabe warianty można wykryć tylko przy użyciu technik probówkowych i mikroplątkowych. Swoistość każdej serii jest sprawdzana przy użyciu techniki probówkowej i panelu erytrocytów ujemnych dla antygeny D (RH1).

Odczynniki te zostały zoptymalizowane do użycia bez dalszego rozcieńczania lub dodatków.

Numer serii i data ważności są wyszczególnione na etykiecie buteleczki.

PRZECHOWYWANIE

Odczynniki należy przechowywać w temperaturze 2-8°C do daty ważności podanej na etykiecie produktu. Po pierwszym otwarciu produktu ponownie szczelnie go zamknąć i przechowywać w temperaturze 2-8°C.

POBIERANIE I PRZYGOTOWYWANIE PRÓBEK

Próbki krwi należy pobierać aseptycznie do probówek z EDTA lub cytrynianem. Próbkę należy przetestować jak najszybciej po pobraniu. W przypadku opóźnienia w testowaniu, próbkę należy przechowywać w temperaturze 2-8°C. Próbki wykazujące

hemolizę lub skażenie mikrobiologiczne nie powinny być testowane, ponieważ może to skutkować fałszywie dodatnimi lub fałszywie ujemnymi wynikami.

Wszystkie próbki krwi należy dwukrotnie przemyć 0,9% roztworem NaCl przed badaniem metodą probówkową, płytkową punktową lub mikroplątkową. Stosując technikę szkiełkową przygotować 35-45% zawiesinę badanych erytrocytów (krew pełna).

OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Odczynniki te są przeznaczone wyłącznie do użytku laboratoryjnego do diagnostyki in vitro.
- Odczynniki te są przeznaczone do użytku przez upoważnionych operatorów przeszkolonych w zakresie technik serologicznych.
- Odczynniki te nie są przeznaczone do samodzielnego stosowania.
- Nie używać tych odczynników po upływie daty ważności.
- Wyrzucić zawartość uszkodzonych fiolek.
- Podczas korzystania z tych produktów należy nosić odzież ochronną, jak na przykład fartuch i jednorazowe rękawiczki.
- Odczynniki zostały przefiltrowane przez filtr 0,2 µm w celu zmniejszenia obciążenia biologicznego.
- Po otwarciu fiolki zawartość powinna zachować stabilność do daty ważności. Wyrzucić zawartość, jeśli po otwarciu pojawi się zmętnienie lub zanieczyszczenie.
- CE-Immundiagnostika GmbH nie gwarantuje, że produkty pochodzące od ludzi lub zwierząt są wolne od czynników zakaźnych. Należy zachować ostrożność podczas używania i usuwania każdej fiolki i jej zawartości.

UTYLIZACJA ODCZYNNIKA I OGRANICZENIE WYCIEKU

Informacje na temat usuwania odczynnika i dekontaminacji miejsca rozlania znajdują się w Karcie Charakterystyki Mieszaniny, dostępnej na żądanie od CE-Immundiagnostika GmbH.

KONTROLE I WSKAZÓWKI

- Erytrocyty będące kontrolą dodatnią i ujemną należy badać równolegle z każdą serią testów. Testy należy uznać za nieważne, jeśli kontrole nie wykazują oczekiwanych reakcji.
- Ponieważ odczynniki te nie zawierają potencjatorów wielkocząsteczkowych, jest bardzo mało prawdopodobne, że w krwinkach opłaszczonych IgG wystąpią fałszywie dodatnie lub fałszywie ujemne reakcje.
- Słabe antygeny (częściowe D) mogą nie zostać zidentyfikowane.
- Objętość kropli uzyskana z zakraplacza z fiolki wynosi około 35-45 µl.
- Odczyt i interpretacja wyników musi być przeprowadzona przez odpowiednio przeszkolony i wykwalifikowany personel, zgodnie z wymogami kraju, w którym odczynniki są używane.
- Odczynniki te należy używać wyłącznie zgodnie z niniejszą instrukcją używania.

MATERIAŁY I ODCZYNNIKI WYMAGANE

- 0,9% roztwór NaCl
- Szklane probówki
- Statyw na probówki
- Wirówka do probówek
- Pipety wolumetryczne
- Mikroplątka, wytrząsarka do płytek
- Płyta
- Szklane szkiełko mikroskopowe
- Bagietki do mieszania
- Erytrocyty kontrolne dodatnie i ujemne
- Czasomierz



ZALECANE TECHNIKI

A. TECHNIKA PROBÓWKOWA

1. Przygotować 2-4% zawiesinę erytrocytów w 0,9% roztworze NaCl.
2. Umieścić 1 objętość odczynnika i 1 objętość zawiesiny badanych erytrocytów w oznakowanej probówce.
3. Dokładnie wymieszać i od razu wirować przy 400 g przez 1 minutę (przy 1500 obr./min lub w innym odpowiednim czasie i z odpowiednią siłą).
4. Natychmiast odczytać wynik: delikatnie wstrząsnąć probówką, aby poruszyć osad erytrocytów z dna próbki i odczytać makroskopowo wynik aglutynacji; zapisać wynik.
5. Inkubować wszystkie negatywne lub słabo pozytywne wyniki przez 15 minut w temperaturze pokojowej (18-25° C), następnie powtórzyć 3. i 4. Zapisać wynik i intensywność reakcji.

B. TECHNIKA MIKROPLYTOWA

Przygotowanie mikroplatek:

Mikroplateki wykonane przez różnych producentów/dostawców mają różne właściwości statyczne, które mogą powodować nieswoiste reakcje krwinek czerwonych i białek. Zaleca się wstępne przygotowanie nieużywanych mikroplatek przed użyciem, aby ograniczyć do minimum gromadzenie się czerwonych krwinek. Zalecamy stosowanie studzienek „U” wykonanych z tworzywa sztucznego.

1. Umieścić 1 objętość 22% albuminy wołowej (BSA) w odpowiednich dołkach.
2. Dokładnie wymieszać poprzez delikatne wstrząsanie lub używając wytrząsarki do mikroplatek, aby zapewnić równomierne pokrycie dołków.
3. Inkubować w temperaturze pokojowej (18-25°C) nie krócej niż 10 i nie dłużej niż 15 minut.
4. Wylać BSA i wyrzucić do odpowiedniego pojemnika na odpady.
5. Przepłukać mikroplatekę co najmniej 10 razy wodą z kranu.
6. Następnie dwukrotnie przepłukać mikroplatekę wodą destylowaną lub dejonizowaną.
7. Przechylić i potrząsnąć mikroplateką, aby usunąć nadmiar wody.
8. Przed użyciem pozostawić mikroplatekę do wyschnięcia.

Alternatywne techniki mogą być stosowane pod warunkiem, że zostały zatwierdzone przez użytkownika.

Procedura:

1. Przygotować 2-4% zawiesinę badanych erytrocytów w 0,9% roztworze NaCl.
2. Przy użyciu zakraplacza z fiolki umieścić 30 µl odpowiedniego odczynnika w oznakowanych dołkach mikroplateki.
3. Dodać na mikroplatekę 30 µl przygotowanej wcześniej zawiesiny badanych erytrocytów.
4. Mieszać przez 30 sekund ręcznie lub za pomocą wytrząsarki.
5. Odwirować mikroplatekę przez 1 minutę przy 400 g (przy 1500 obr./min lub w innym odpowiednim czasie i z odpowiednią siłą).
6. W razie potrzeby krótko wstrząsnąć mikroplateką przy użyciu wytrząsarki.
7. Zapisać wynik i siłę reakcji, równolegle testując erytrocyty kontroli dodatniej i ujemnej. Urządzenia do odczytu, jeśli są używane, muszą być zatwierdzone. Korzystanie z dodatkowych środków wizualnych, takich jak lusterka lub szkła powiększające, może ułatwić odczyt wyników.

C. TECHNIKA SZKIELKOWA

1. Z krwi pełnej przygotować 35-45% zawiesinę badanych erytrocytów.
2. Umieścić 1 objętość odczynnika i 1 objętość krwi pełnej na szkiełku.
3. Używając czystej bagietki, dokładnie wymieszać obie objętości na obszarze około 20x40mm.
4. Powoli poruszać szkiełkiem w przód i w tył.
5. Odczytać wynik makroskopowo po nie więcej niż 2 minutach i zapisać.

6. Nieprawidłowe postępowanie lub przekroczenie czasu inkubacji może prowadzić do artefaktów spowodowanych wysychaniem, a test należy uznać za nieważny.

D. TECHNIKA PŁYTKOWA

1. Z krwi pełnej przygotować 35-45% zawiesinę badanych erytrocytów lub 10% zawiesinę badanych erytrocytów w 0,9% roztworze NaCl.
2. Umieścić 1 objętość odczynnika + 1 objętość zawiesiny badanych erytrocytów na płytce.
3. Używając czystej bagietki, dokładnie wymieszać obie objętości.
4. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 5-10 minut.
5. Odczytać wynik makroskopowo i zapisać.

Nieprawidłowe postępowanie lub przekroczenie czasu inkubacji może prowadzić do artefaktów spowodowanych wysychaniem.

INTERPRETACJA WYNIKÓW BADAŃ

1. **Dodatni:** Aglutynacja badanych erytrocytów wskazuje, w ramach przyjętych ograniczeń procedury testowej (patrz poniżej), na obecność odpowiedniego antygeny D na badanych erytrocytach.
2. **Ujemny:** Brak aglutynacji badanych erytrocytów wskazuje, w ramach przyjętych ograniczeń procedury testowej (patrz poniżej), na brak odpowiedniego antygeny D na badanych erytrocytach.

Rozbieżności: Jeżeli wyniki uzyskane dla antygenów na badanych erytrocytach nie korelują z wykrytymi alloprzeciwciałami, wymagane są dalsze badania.

OGRANICZENIA

1. Przechowywana krew może dawać słabsze reakcje niż świeża krew.
2. Wyniki fałszywie dodatnie lub fałszywie ujemne mogą również wystąpić z powodu:
 - a. Zanieczyszczenia materiałów testowych
 - b. Niewłaściwego przechowywania, stężenia erytrocytów, czasu inkubacji lub temperatury
 - c. Niewłaściwego wirowania
 - d. Odstępstwa od zalecanych technik
3. Podczas stosowania techniki płytkowej i próbek krwi pełnej może czasami wystąpić tworzenie się rulonów, które przypominają słabą aglutynację i mogą być interpretowane jako fałszywie dodatnia reakcja. Można spodziewać się powstawania rulonów we krwi z heparyną oraz u pacjentów leczonych ekspanderami osocza (np. dekstranem), jak również u pacjentów z plazmocytomą (wysoka zawartość białka, zmieniony skład białka), w zaburzeniach onkologicznych (nieprawidłowy hemogram) i zaburzeniach krzepnięcia. Próbkę krwi od tych pacjentów należy zawsze badać techniką probówkową, ponieważ tego zjawiska generalnie nie obserwuje się podczas używania zawiesiny erytrocytów. Obecność słabych antygenów należy wykazać techniką probówkową, ze względu na większą czułość, w stosownych przypadkach po 30 minutach inkubacji.
4. Próbkę krwi od pacjentów cierpiących na niektóre schorzenia mogą wykazywać reakcje fałszywie dodatnie/fałszywie ujemne. Próbkę krwi pępowinowej zanieczyszczoną galaretką Whartona mogą wykazywać fałszywie dodatnie reakcje.
5. Do oznaczania antygenów D zawsze używać dwóch różnych klonów.

STABILNOŚĆ REAKCJI

1. Odczytać wszystkie wyniki bezpośrednio po odwirowaniu probówek i mikroplatek.
2. Wyniki testów szkiełkowych należy zinterpretować w ciągu 2 minut, aby zapewnić swoistość i uniknąć możliwości błędnego zinterpretowania wyniku ujemnego jako dodatniego z powodu wyciszenia odczynnika.
3. Badania należy uznać za nieważne, jeżeli zostały przeprowadzone w temperaturach innych niż zalecane.

CHARAKTERYSTYKI WYDAJNOŚCI

1. Odczynniki zostały przetestowane przy użyciu wszystkich zalecanych procedur.
2. Każda SERIA odczynnika anty-D (monoklonalne IgM) jest badana zgodnie z wymaganiami Wspólnych Specyfikacji



Instrukcja używania

Rev. 002/07-2021

Anty-D

- Technicznych dla wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro podanych w wykazie A Załącznika II do dyrektywy 98/79/WE Parlamentu Europejskiego i Rady w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro i spełnia wymagania.
- Reaktywność każdej serii została sprawdzona przy użyciu panelu erytrocytów zgodnie z technikami zalecanymi w niniejszej instrukcji używania
 - Swoistość przeciwciał monoklonalnych jest wykazana przy użyciu panelu erytrocytów antygenowo ujemnych.
 - Kontrolę jakości odczynników przeprowadzono przy użyciu erytrocytów lub krwi pełnej, które zostały dwukrotnie przemyte 0,9% roztworem soli fizjologicznej.
 - Przetestowano ponad 1000 próbek z czułością i swoistością >99%.

ZASTRZEŻENIA

- Użytkownik jest odpowiedzialny za działanie odczynników inną metodą niż zalecane.
- Wszelkie odstępstwa od zalecanych technik należy sprawdzić przed użyciem.

LITERATURA

- Cartron JP. Defining the Rh Blood Group Antigens. Blood Reviews 1994; 8:199-212
- Garratty G et al. Spontaneous Agglutination of Red Cells with a Positive Direct Antiglobulin Test in Various Media. Transfusion 1984; 24:214-217
- Issitt PD, Anstee DJ. Applied Blood Group Serology. 4th Edition. Montgomery Scientific. Durham SC. 1998
- Levine P, Stetson RE. An Unusual Case of Intragroup Agglutination. J. Amer Med Assoc. 1939; 113:126-127
- Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine. 6th Edition. Blackwell Science. Oxford. 1979
- Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man. 6th Edition. Blackwell Scientific. Oxford. 1975
- Technical manual of the American Association of Blood Banks, 17th ed., 2011
- Thorpe SJ, Boulton CE, Stevenson FK et al. Cold Agglutination Activity is Common Among Human Monoclonal IgM Rh System Antibodies Using the V4-34 Heavy Chain Variable Gene Segment. Transfusion 1997; 37: 1111-1115
- Westhoff CM, Siphred BD, Toalson ID. Red cell antigen stability in K3EDTA. Immunohematol 1993; 9:109-111
- Richtlinien 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/

NUMERY KATALOGOWE

Nr kat.	Ilość
06210 Anti-D RUM-1	1 x 10ml 5 x 10ml 10 x 10ml 50 x 10ml
06110 Anti-D MS-201	1 x 10ml 5 x 10ml 10 x 10ml 50 x 10ml

Dystrybutor:

Hydrex Diagnostics Sp. z o.o.

Aleja Stanów Zjednoczonych 61A

04-028 Warszawa, Infolinia 801 000 977, info@hydrex.pl

Data tłumaczenia ulotki 01.12.2021

Data aktualizacji ulotki: 04.05.2023

WYKAZ SYMBOLI

	Numer serii		Tylko do diagnostyki in vitro
	Numer katalogowy		Przechowywać w temp. 2-8°C
	Data ważności		Wytwórca
	Zapoznaj się z instrukcją używania		