

# ODCZYNNIKI DO BADANIA GRUP KRWI

## INSTRUKCJA UŻYCIA

### Odczynnik monoklonalny anty-D (IgG&IgM)

Do metody probówkowej, DiaMed-ID, Ortho BioVue, mikropłytkowej oraz szkiełkowej.

### STRESZCZENIE

System grupowy Rh odkryto w 1940 roku. Antygen D ma największe znaczenie kliniczne z antygenów poza układem ABO i jest powiązany z powodowaniem reakcji hemolitycznych podczas transfuzji oraz chorobą hemolityczną noworodków.

Anty-D	Fenotyp	R. kaukaska%	Afroamerykanie%
+	Rh D +ve	85	72
0	Rh D -ve	15	28

### ZASADA DZIAŁANIA

Odczynnik będzie powodować bezpośrednią aglutynację (zlepianie) krwinek badanych posiadających antygen D oraz pośrednią aglutynację krwinek kategorii DVI w fazie antyglobulinowej testu. Brak aglutynacji oznacza zazwyczaj brak antygeny D (patrz Ograniczenia badania).

### ODCZYNNIK

Odczynnik monoklonalny anty-D (IgG&IgM) Blend posiada niską zawartość protein i stanowi mieszaninę przeciwciał monoklonalnych IgM oraz IgG pochodzenia ludzkiego rozpuszczonych w buforze fosforanowym zawierającym chlorek sodu (0.9g%), albuminę wołową (3 g%) oraz wzmacniacze makromolekularne. Podczas badania próbek pacjenta, odczynnik będzie bezpośrednio aglutynował krwinki Rh D dodatnie, włączając większość odmian (poza DVI) oraz większość słabych D (Du) podczas użycia w rekomendowanych technikach. Odczynnik dostarczany jest w optymalnym rozcieńczeniu do użycia z próbkami pacjenta w we wszystkich zalecanych technikach wymienionych poniżej bez potrzeby dalszych rozcieńczeń bądź dodatków. W celu określenia serii i daty ważności należy zapoznać się z etykietą na buteleczce.

### SŁABA ESKPRESJA ANTYGENU RhD

Termin Du jest szeroko stosowany w celu opisanie krwinek czerwonych, które posiadają słabszą niż normalną ekspresję antygeny D. Określenie słabe D oznacza jednostki ze zmniejszoną liczbą kompletnego antygeny D na krwinkę czerwoną. Termin częściowe D oznacza jednostki z brakującymi epitopami antygeny D. Krwinki DVI stanowią częściową kategorię D w której brakuje większości epitopów D. Niniejszy odczynnik wykryje większość przykładów częściowego i słabego D w bezpośredniej aglutynacji lecz nie wykryje krwinek DVI. Odczynnik wykryje krwinki DVI oraz częściowe D w fazie PTA.

### PRZECHOWYWANIE

Odczynnik powinien być przechowywany w temperaturze 2 - 8°C. Wydłużone przechowywanie w temperaturach poza tym zakresem może skutkować przyspieszoną utratą reaktywności odczynnika. Odczynnik został poddany badaniom transportowym w temperaturze +37C oraz -25C jak opisano w dokumencie EN13640:2002.

### POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

Próbki krwi powinny być pobrane przy użyciu antykoagulantów lub bez ich użycia. Jeśli badanie się opóźnia, próbki należy przechowywać w temperaturze 2-8°C. Próbkę z EDTA lub cytrynianem powinny być przebadane w ciągu 7 dni. Próbkę pobraną na ACD, CPD lub CPDA-1 mogą być przebadane do 35 dni od daty pobrania. Wszystkie próbki krwi powinny zostać przemycie przynajmniej dwukrotnie PBS lub izotonicznym roztworem soli przed użyciem. Próbkę wykazujące liżę mogą powodować niewiarygodne wyniki.

### ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Odczynnik przeznaczony jest wyłącznie do diagnostyki in vitro.
- Jeśli buteleczka z odczynnikiem jest uszkodzona bądź przecieka należy niezwłocznie odrzucić jej zawartość.
- Nie należy używać odczynnika po dacie ważności (patrz etykieta na buteleczce).
- Nie używać odczynnika jeśli widoczny jest osad.
- Podczas pracy z odczynnikami należy uwzględnić ubranie ochronne takie jak jednorazowe rękawiczki oraz fartuch laboratoryjny.
- W celu ograniczenia obciążenia biologicznego odczynnik został zefiltrowany przez sączki 0.2 µm. Zawartość fiołki po otwarciu będzie przydatna do użycia do daty określonej na etykiecie do momentu kiedy widoczne będzie znaczne zmętnienie, które może oznaczać zanieczyszczenie bądź osłabienie odczynnika.
- Odczynnik zawiera < 0.1% azydki sodu. Azydek sodu może być toksyczny po spożyciu oraz może reagować z ołowiem i miedzią tworząc wybuchowe azydki metali. Podczas utylizacji przepłukać znaczną ilością wody.
- Materiały użyte do produkcji odczynników zostały przetestowane z wynikiem negatywnym w kierunku HIV1+2, przeciwciał HCV oraz HBsAg przy użyciu zatwierdzonych testów mikrobiologicznych.
- Żadna ze znanych procedur nie gwarantuje, że produkty pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego są wolne od czynników zakaźnych. Należy zachować szczególną ostrożność podczas użycia i utylizacji każdej buteleczki oraz jej zawartości.

### UTYLIZACJA ODCZYNNIKA

W celu uzyskania informacji na temat utylizacji odczynnika oraz odkażania powierzchni należy zapoznać się z Kartą Charakterystyki Substancji Niebezpiecznych dostępną na życzenie.



1434

# Rapid Labs

### KONTROLE I ZALECENIA

- Zaleca się stosowanie kontroli dodatniej (najlepiej krwinki R1r) oraz kontroli ujemnej (najlepiej krwinki rr) z każdą partią. Test należy uznać za nieważny jeśli kontrole nie wykazują spodziewanych wyników.
- Podczas badania krwinek czerwonych pacjenta u którego zdiagnozowano chorobę wywołującą pokrycie krwinek przeciwciałem lub innym białkiem (np. HDN, AIHA) ważne jest aby przeprowadzić badanie krwinek używając kontroli ujemnej odczynnika (takiej jak np. Odczynnik monoklonalny D kontrola ujemna firmy Rapid Labs). Krwinki pokryte przeciwciałami lub nietypowymi białkami mogą być aglutynowane kiedy zostaną zawieszone w odczynniku zawierającym chemiczne wzmacniacze.
- Testowanie próbek kategorii DVI tylko techniką Pośredniej Aglutynacji, Coombs DiaMed-ID oraz Coombs Ortho BioVue.
- Słabe i częściowe odmiany antygeny D są słabo wykrywane w kartach żelowych, na mikropłytkach oraz metodą szkiełkową. Zaleca się testowanie słabych oraz częściowych odmian D przy użyciu metody probówkowej.
- Metodę antyglobulinową probówkową można uznać za ważną tylko jeśli wszystkie ujemne wyniki reagowały pozytywnie z krwinką opłaszczoną IgG.
- W rekomendowanych technikach 1 objętość kropli wynosi około 50µl jeśli używa się zakraplacza dostarczonego do zestawu.
- Użycie odczynnika oraz interpretacja wyników musi zostać przeprowadzona przez przeszkolony i wykwalifikowany personel zgodnie z wytycznymi kraju w którym odczynnik jest stosowany.
- Użycie odczynnika w innych technikach musi zostać uprzednio potwierdzone przez użytkownika.

### ODCZYNNIKI ORAZ MATERIAŁY DODATKOWE

- ❖ Odczynnik antyglobulinowy lub odczynnik anty-IgG.
- ❖ Mieszadła.
- ❖ Automatyczny czytnik mikropłytek.
- ❖ Myjka do krwinek.
- ❖ Karty żelowe DiaMed ID-(LISS/Coombs) oraz (Neutral).
- ❖ Wirówka DiaMed ID-Centrifuge.
- ❖ DiaMed ID-CellStab lub ID-Diluent 2.
- ❖ DiaMed ID-Incubator skalibrowany na 37°C ± 2°C.
- ❖ Szkiełka mikroskopowe.
- ❖ Szklane probówki (10 x 75 mm lub 12 x 75 mm).
- ❖ krwinki opłaszczające IgG np. Rapid Labs Coombs Control Cells (nr kat # 970010).
- ❖ Wirówka do mikropłytek.
- ❖ Kasety Ortho BioVue System Cassettes (AHG/Coombs) oraz (Neutral).
- ❖ Wirówka Ortho BioVue System Centrifuge.
- ❖ Inkubator Ortho BioVue System HeatBlockskalibrowany na 37°C ± 2°C.
- ❖ Ortho 0.8% Red Cell Diluent.
- ❖ Wytrząsarka do płytek.
- ❖ PBS (pH 6.8–7.2) lub Izotoniczny Roztwór Soli (pH 6.5–7.5).
- ❖ Dodatnia (najlepiej R r) oraz ujemna (rr) kontrola.
- ❖ Wirówka do probówek.
- ❖ Mikropłytki.
- ❖ Pipety objętościowe.
- ❖ Łażnia wodna bądź inkubator do suchego rozmrażania skalibrowany na 37°C ± 2°C.

### REKOMENDOWANE TECHNIKI (NIE DOTYCZY DVI)

#### A. Technika probówkowa

- Przygotować 2-3% zawiesinę krwinek czerwonych przemycie w PBS lub izotonicznym roztworze soli.
- Umieścić w oznaczonej probówce: 1 objętość odczynnika firmy Rapid Labs oraz 1 objętość testowanej zawiesiny krwinek.
- Dokładnie wymieszać oraz odwirować wszystkie probówki przez 20 sekund przy 1000 rcf lub przy alternatywnym czasie i sile wirowania.
- Delikatnie wstrząsnąć krwinką i odczytać aglutynację makroskopowo.
- Jakakolwiek probówka wykazująca ujemny bądź wątpliwy wynik (co może mieć miejsce w przypadku Du lub słabych D) powinna zostać inkubowana przez 15 minut w temperaturze pokojowej.
- Po inkubacji należy powtórzyć kroki 3 oraz 4.

#### B. Metoda DiaMed-ID Micro (Karty Neutralne)

- Przygotować 0,8% zawiesinę krwinek przemycie w ID-CellStab lub ID-Diluent 2.
- Usunąć folię zabezpieczającą z tyłu kolumnienek ile potrzebnych jest do badania.
- Umieścić w odpowiedniej mikrokolumnie: 50µl zawiesiny krwinek oraz 25µl odczynnika.
- Odwirować karty ID-Card w wirówce DiaMed gel card centrifuge.
- Odczytać wynik makroskopowo.

#### C. Metoda Ortho BioVue Typing Technique (Karty Neutralne)

- Przygotować 0.8% zawiesinę krwinek przemycie w 0.8% Ortho Red Cell Diluent.
- Usunąć folię zabezpieczającą z tyłu komórek ile potrzebnych jest do badania.
- Umieścić w odpowiedniej komorze: 50µl zawiesiny krwinek oraz 40µl odczynnika.
- Odwirować kasety w wirówce Ortho BioVue System Centrifuge.
- Odczytać wynik makroskopowo.

#### D. Technika mikropłytkowa

1. Przygotować 2-3% zawiesinę krwinek czerwonych przemitych w PBS lub izotonicznym roztworze soli.
2. Umieścić w odpowiednim dołku: 1 objętość odczynnika oraz 1 objętość testowanej zawiesiny krwinek.
3. Dokładnie wymieszać, najlepiej używając wytrząsarki uważając aby unikać zanieczyszczenia między dołkami.
4. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 15 minut (czas uzależniony od użytkownika).
5. Odwirować mikropłytkę przez 1 minutę przy 140 rcf lub przy alternatywnym czasie i sile wirowania.
6. Delikatnie wstrząsnąć krwinki przy użyciu wytrząsarki.
7. Odczytać makroskopowo lub przy użyciu zwalidowanego czytnika automatycznego.
8. Jakiegokolwiek słabe reakcje powinny być powtórzone metodą próbówkową.

#### E. Metoda szkiełkowa

1. Przygotować 35-45% zawiesinę testowanych krwinek w surowicy, osoczu, PBS lub izotonicznym roztworze soli.
2. Umieścić na oznaczonym szkiełku: 1 objętość odczynnika oraz 1 objętość zawiesiny testowanych krwinek.
3. Przy użyciu mieszadła wymieszać odczynnik i krwinki na obszarze ok. 20x40mm
4. Powoli obracać szkiełko w różnych kierunkach przez 30 sekund od czasu do czasu mieszając przez 2 minuty utrzymując szkiełko w temperaturze pokojowej.
5. Po 2 minutach odczytać wynik makroskopowo przy rozproszonym świetle nie myląc włókien fibrynowych z aglutynacją.
6. Jakiegokolwiek słabe reakcje powinny być powtórzone metodą próbówkową.

#### REKOMENDOWANE TECHNIKI (DOTYCZY DVI)

##### A. Pośredni test antyglobulinowy (PTA)

1. Przygotować 2-3% zawiesinę krwinek przemitych w PBS lub izotonicznym roztworze soli.
2. Umieścić w oznaczonej probówce: 1 objętość Rapid Labs oraz 1 objętość zawiesiny krwinek.
3. Dokładnie wymieszać i inkubować w temperaturze 37°C przez 15 minut.
4. Przemyc testowane krwinki czterokrotnie w PBS lub izotonicznym roztworze soli dbając, aby dekantować sól pomiędzy płukaniem oraz ponownie zawiesić krwinki po każdym płukaniu. W pełni dekantować sól po ostatnim płukaniu.
5. Dodać 2 krople odczynnika antyglobulinowego lub anti-IgG do każdej krwinki.
6. Dokładnie wymieszać i odwirować wszystkie próbówki przez 20 sekund przy 1000 rcf lub w alternatywnym czasie i sile wirowania.
7. Delikatnie wstrząsnąć krwinki oraz odczytać wynik makroskopowo.
8. Potwierdzić wiarygodność wszystkich wyników ujemnych krwinkami opłaszczonymi IgG.

##### B. Metoda DiaMed-ID Micro (karta LISS/Coombs)

1. Przygotować 0,8% zawiesinę krwinek przemitych w ID-CellStab lub ID-Diluent2
2. Usunąć folię zabezpieczającą z tyłu kolumniek ile potrzebnych jest do badania.
3. Umieścić w odpowiedniej mikrokolumnie: 50µl zawiesiny krwinek oraz 25µl odczynnika.
4. Inkubować karty ID-Card w temperaturze 37°C przez 15 minut.
5. Odwirować karty ID-Card w wirówce Diamed gel card centrifuge.
6. Odczytać wynik makroskopowo.

##### C. Metoda Ortho BioVue Typing Technique (karta AHG/Coombs)

1. Przygotować 0.8% zawiesinę krwinek przemitych w 0.8% Ortho Red Cell Diluent.
2. Usunąć folię zabezpieczającą z tyłu komór ile potrzebnych jest do badania.
3. Umieścić w odpowiedniej komorze: 50µl zawiesiny krwinek oraz 40µl odczynnika.
4. Inkubować kasety przez 15 minut w temperaturze 37°C.
5. Odwirować kasety w wirówce Ortho BioVue System Centrifuge.
6. Odczytać wynik makroskopowo.

#### INTERPRETACJA WYNIKÓW

1. Dodatni: aglutynacja krwinek badanych stanowi dodatni wynik badania i przy akceptowalnych ograniczeniach procedury testu wskazuje na obecność antygeny D w badanych krwinkach.
2. Ujemny: Brak aglutynacji stanowi ujemny wynik badania i przy akceptowalnych ograniczeniach procedury testu wskazuje na brak antygeny D w badanych krwinkach.
3. Wyniki testów krwinek które aglutynowały przy użyciu ujemnej kontroli odczynnika należy wykluczyć, jako, że aglutynacja była najprawdopodobniej spowodowana efektem wzmacniaczy makromolekularnych w odczynniku bądź uczulonymi krwinkami.

#### STABILNOŚĆ REAKCJI

1. Odczytać wyniki z wszystkich próbek oraz mikropłytek zaraz po odwirowaniu.
2. Wykonać kroki związane z przemycaniem bez przerwy oraz odwirować i odczytać wynik zaraz po dodaniu odczynnika antyglobulinowego. Opóźnienia mogą powodować rozpad związku antygen-przeciwciała prowadząc do fałszywie ujemnych lub słabych dodatnich reakcji.
3. Wyniki testów w metodzie szkiełkowej powinny zostać poddane interpretacji w ciągu 2 minut, aby zapewnić specyficzność i uniknąć sytuacji kiedy wynik ujemny może zostać mylnie odczytany jako dodatni z powodu wysychania odczynnika.
4. Należy zachować szczególną ostrożność w interpretacji wyników testów przeprowadzanych w temperaturach innych niż zalecane.

#### OGRANICZENIA METODY

1. Odczynnik monoklonalny anti-D (IgG&IgM) nie nadaje się do stosowania z krwinkami traktowanymi enzymami, krwinkami zawieszonymi w LISS.
2. Stara krew może wykazywać słabsze reakcje niż świeża.
3. Fałszywie dodatnia aglutynacja może zostać zaobserwowana przy testowaniu krwinek uczulonych IgG.
4. Fałszywie dodatnie lub ujemne wyniki mogą wystąpić także z powodu:
  - Zanieczyszczenia materiału badanego
  - Niewłaściwego przechowywania, stężenia krwinek, czasu inkubacji i temperatury
  - Niewłaściwego lub nadmiernego odwirowania
  - Odchylenia od rekomendowanych technik

#### CHARAKTERYSTYKA

1. Odczynniki zostały przebadane przy użyciu wszystkich wymienionych procedur.
2. Przed zwolnieniem, każda seria odczynnika monoklonalnego anti-D (IgG&IgM) jest badana przy użyciu rekomendowanych technik i panelu antygenowo dodatnich krwinek, aby zapewnić odpowiednią reaktywność.
3. Specyficzność źródła przeciwciał monoklonalnych wykazano przy użyciu panelu ujemnego krwinek.
4. Siła odczynników została przebadana w oparciu o następującą minimalną standardową wartość potencji otrzymaną przez Narodowy Instytut Standardów Biologicznych i Kontroli (NIBSC): Anti-D odnośnik 99/836.
5. Kontrola jakości odczynników została przeprowadzona przy użyciu krwinek przemitych dwukrotnie w PBS lub izotonicznym roztworze soli przed użyciem.
6. Odczynniki spełniają rekomendacje zawarte w najnowszym wydaniu Guidelines for the UK Blood Transfusion Services.

#### ODPOWIEDZIALNOŚĆ

1. Użytkownik jest odpowiedzialny za wydajność odczynników przy stosowaniu w jakiegokolwiek innej metodzie niż te zawarte w instrukcji.
2. Jakiegokolwiek odchylenia od rekomendowanych technik muszą być zwalidowane przed użyciem.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, Wydanie 6, Oxford, Blackwell Scientific Publishers 1975, Rozdział 2.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, Wydanie 3, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Rozdział 10.
3. Mollison PL. Blood Transfusion Clinical Medicine, Wydanie 8, Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1987, Rozdział 7.
4. Tippett P. Sub-divisions of the Rh (D) antigen. Medical. Laboratory Science 1988; 45, 88-93
5. Jones J, Scott ML, Voak D. Monoclonal anti-D specificity and Rh D structure: criteria for selection of monoclonal anti-D reagents for routine typing of patients and donors. Transfusion Medicine 1995, 5, 171-184
6. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Bieżące wydanie.
7. British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. Transfusion Medicine, 1995, 5, 145-150.

#### KODY PRODUKTU

Odczynnik  
monoklonalny anti-D  
(IgG&IgM)

BC-D10

#### TABELA SYMBOLI



Zapoznać się z  
instrukcją użycia



Wyrób do  
diagnostyki in  
vitro



Numer katalogowy



Numer serii



Temperatura przechowywania



Data ważności



Wytwórca



Data produkcji



Wyprodukowano przez: Rapid Labs Ltd

Unit 2 & 2A Hall Farm Business Centre, Church Road,  
Little Bentley, Colchester, Essex, CO7 8SD, Wielka Brytania

Email: [medical@rapidlabs.co.uk](mailto:medical@rapidlabs.co.uk)  
Strona internetowa: [www.rapidlabs.co.uk](http://www.rapidlabs.co.uk)