

ODCZYNNIKI MONOKLONALNE DO BADANIA GRUP KRWI

Anti-D (IgG & IgM)

NUMER KATALOGOWY

BG-D10

BG-D10X10

ZASTOSOWANIE

Anti-D (IgG & IgM) firmy Rapid Labs jest odczynnikiem mającym zastosowanie w badaniu grup krwi w jakościowej metodzie identyfikacji obecności lub braku antygenu RhD na powierzchni krwinek czerwonych u dawców lub pacjentów wymagających przetoczenia krwi w ramach rekomendowanych technik określonych w niniejszej instrukcji użycia.

WPROWADZENIE

Układ grupowy Rh

RhD (D lub RH1), pierwotnie zidentyfikowany w 1939 roku, był pierwszą istotną klinicznie grupą krwi, którą odkryto po układzie ABO 39 lat wcześniej. Związek fenotypowy pomiędzy D a antygenem na ludzkich krwinkach czerwonych wykryty przez przeciwciała wytworzone u immunizowanych królików krwinkami czerwonymi małpy rhesus, doprowadził do tego, że D został niewłaściwie nazwany antygenem Rhesus. Ślad tego określenia pozostał w Rh, nazwie układu grupowego, który zawiera D. Około 15% rasy kaukaskiej nie posiada antygenu RhD i jest łatwo stymulowana przez ciężą RhD dodatnią lub transfuzję krwi do wytwarzania anti-D. Może to powodować chorobę hemolityczną płodu i noworodka lub ciężkie hemolityczne reakcje poprzetoczeniowe. Częstość występowania fenotypu D+ wynosi u osób rasy kaukaskiej około 85%, około 95% w Afryce Subsaharyjskiej i więcej niż 99,5% we wschodniej Azji (Daniels, 2013).

SŁABE ORAZ CZĘŚCIOWE D

Anti-D (-RH1) z układu grup krwi Rh jest istotny klinicznie, ponieważ powoduje hemolityczne reakcje poprzetoczeniowe oraz choroby hemolityczne płodu i noworodków. Chociaż większość ludzi posiada grupę D+ lub D-, istnieje wiele wariantów grupy D, często określanych jako słabe D lub częściowe D. Te dwa typy są niewystarczająco zdefiniowane, a dychotomia potencjalnie myląca. D^{VI} jest wariantem D najczęściej związanym z wytwarzaniem anti-D i wytyczne brytyjskie (UK guidelines) zalecają, aby pacjenci przy testowaniu odczynników anti-D, które nie reagują z D^{VI}. Odczynnik Rapid Labs Anti-D (IgG & IgM) wykryje większość przykładów słabego D w bezpośredniej aglutynacji; patrz zalecana technika podana w niniejszej instrukcji. Odczynnik Rapid Labs Anti-D (IgG & IgM) wykryje częściowe D kategorii DVI metodą aglutynacji pośredniej; patrz zalecana technika podana w niniejszej instrukcji.

ZASADA DZIAŁANIA

Zasada użycia w rekomendowanych technikach niniejsze odczynniki będą powodować bezpośrednią aglutynację (zlepianie) krwinek posiadających odpowiedni antygen (test dodatni) oraz pośrednią aglutynację krwinek sklasyfikowanych jako D^{VI} w fazie antyglobulinowej rekomendowanej techniki. Brak aglutynacji krwinek czerwonych oznacza brak odpowiedniego antygenu (test ujemny). Niniejsze odczynniki zostały zoptymalizowane do użycia w rekomendowanych technikach bez potrzeby dalszych rozcieńczeń bądź dodatków. Produkty są dostarczane jako bezzfiltrowane przez sączki 0.2 µm.

ODCZYNNIKI ORAZ MATERIAŁY

Odczynniki do badania grup krwi zawierają monoklonalne, ludzkie przeciwciała IgM oraz IgG w roztworze buforowym. Roztwór zawiera makromolekularne wzmacniacze chemiczne. Odczynnik zawiera < 0.1% azydku sodu oraz następujące barwniki i linie komórkowe:

Odczynnik	Kolor	Barwnik	Linia komórkowa
Anti-D (IgG&IgM)	Słomkowy/bezbarwny	Brak	MS-26 & RUM-1

Materiały wymagane, ale niedostarczone:

Technika szkiełkowa *Szkiełka mikroskopowe/plastikowe * Izotoniczna sól fizjologiczna, PBS lub kompatybilna surowica/osocze * Plastikowe mieszadła * Czasomierz

Technika próbkowa * Probówki szklane 75 x 12 mm * Izotoniczna sól fizjologiczna * Inkubator 37°C (jeśli potrzebny) * Czasomierz * Wirówka (1000 rcf)

Technika pośredniego testu antyglobulinowego * Odczynnik antyglobulinowy * Krwinki czerwone uczulone IgG (krwinki kontrolne Coombsa)

Technika kart Bio-Rad ID * Karty Bio-Rad ID do techniki aglutynacji kolumnowej (NaCl, Enzyme tests and cold agglutinins) * Wirówka Bio-Rad ID * Cell stab lub ID diluent 2 Bio-Rad ID

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

* Odczynniki zawierają < 0.1% azydku 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.

* Wszystkie produkty krwiopochodne powinny być traktowane jako potencjalnie zakażne. Dawca krwi lub linia komórkowa użyta do produkcji niniejszego odczynnika została przetestowana z wynikiem negatywnym w kierunku Anti-HIV, Anti-HCV, HBsAg, EBV. Żadna ze znanych procedur nie gwarantuje, że produkty pochodzenia ludzkiego są wolne od czynników zakaźnych. Należy zachować szczególną ostrożność podczas użycia i utylizacji każdej buteleczki oraz jej zawartości.



1434

Rapid Labs

* Niniejsze produkty zostały zfiltrowane przez sączki 0.2 µm, powinny być bezbarwne, jednakże jeśli pojawi się zmętnienie może to wskazywać na skażenie bakteryjne. Nie należy stosować odczynników jeśli pojawi się osad, żel fibrynowy bądź cząsteczki stałe.

* Nie należy używać odczynnika po dacie ważności.

* Podczas pracy z odczynnikami należy uwzględnić ubranie ochronne takie jak jednorazowe rękawiczki oraz fartuch laboratoryjny.

* Odczynniki przeznaczone są wyłącznie do profesjonalnej diagnostyki in vitro.

* Materiały wołowe są uzyskiwane ze źródeł zatwierdzonych przez USDA lub ze źródeł dla których dostępne są informacje o pochodzeniu. Zwierzęta będące dawcami materiału bydlęcego zostały poddane inspekcji i uznane za wolne od chorób i uznaje się, że mają one niskie ryzyko TSE (zakaźnej encefalopatii gąbczastej).

* 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 ORAZ POSTĘPOWANIE W PRZYPADKU ROZLANIA

W celu uzyskania informacji na temat utylizacji odczynnika oraz odkażania powierzchni oraz postępowania w przypadku rozlania należy skontaktować się z Rapid Labs w celu uzyskania karty charakterystyki substancji niebezpiecznych.

ZALECENIA DLA UŻYTKOWNIKÓW

* Zaleca się stosowanie kontroli dodatniej oraz kontroli ujemnej równoległe z każdą partią testów. Test należy uznać za nieważny jeśli kontrole nie wykazują spodziewanych reakcji. Nie jest wymagane użycie kontroli odczynnika równoległe ze wszystkim badaniami podczas użycia niniejszych odczynników.

* Użycie odczynnika oraz interpretacja wyników musi zostać przeprowadzona przez przeszkolony i kompetentny personel profesjonalny.

* Jedynie przy badaniu krwinek czerwonych pacjentów, u których wiadomo, że posiadają autoprzeciwciała lub nieprawidłowości białkowe, zaleca się stosowanie kontroli odczynnika. Powinno być to przeprowadzone równoległe z odczynnikami.

* Antygeny słabe oraz D^{VI} są słabo wykrywane na kartach Bio-Rad ID oraz techniką szkiełkową. Zaleca się testowanie słabych odmian D przy użyciu techniki próbkowej oraz D^{VI} w pośredniej technice antyglobulinowej.

* Technikę antyglobulinową próbkową można uznać za ważną tylko wtedy jeśli wszystkie ujemne wyniki reagowały pozytywnie z krwinką uczuloną IgG.

* Po otwarciu fiolki jej zawartość pozostaje przydatna do użycia do daty ważności chyba, że widoczne jest zmętnienie lub zanieczyszczenie.

* Przed użyciem doprowadzić odczynnik do temperatury pokojowej. Po użyciu umieścić ponownie w temperaturze 2 - 8°C.

* Należy zachować ostrożność podczas interpretacji wyników badań wykonywanych w innych temperaturach niż rekomendowane.

* Odczynniki zostały scharakteryzowane zgodnie z procedurami rekomendowanymi w niniejszej instrukcji, ich przydatność do stosowania w innych technikach musi zostać określona przez użytkownika.

PRZECHOWYWANIE I TRWAŁOŚĆ

Nieotwarte produkty przechowywać w temperaturze 2-8°C do daty ważności podanej na etykiecie produktu. Nieprzechowywanie produktów w odpowiedniej temperaturze, na przykład przechowywanie w wyższej temperaturze lub wielokrotne zamrażanie i rozmrażanie, może skutkować przyspieszoną utratą aktywności odczynnika. Odczynnik został poddany badaniom transportowym w temperaturze 37°C oraz 2-8°C jak opisano w dokumencie BS EN ISO 23640:2015.

POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

• Próbkę krwi można pobierać na antykoagulanty EDTA, cytrynian, CPDA, heparynę litową i heparynę sodową lub jako skrzepnięte próbki.

• Nie jest wymagane żadne specjalne przygotowanie pacjenta przed pobraniem próbki.

• Próbkę należy zbadać jak najszybciej po pobraniu. W przypadku opóźnienia w testowaniu próbkę należy przechowywać w temperaturze 2-8°C.

• Próbki wykazujące silną hemolizę lub skażenie mikrobiologiczne nie powinny być testowane za pomocą tego odczynnika.

• Nieprzechowywanie próbek we właściwej temperaturze, na przykład przechowywanie w wyższej temperaturze lub wielokrotne zamrażanie i rozmrażanie, może skutkować fałszywie dodatnimi lub fałszywie ujemnymi wynikami.

• Pobieranie i przygotowywanie próbek powinno być wykonywane wyłącznie przez przeszkolonego specjalistę lub personel, zgodnie z wymogami kraju, w którym odczynniki są używane.

INSTRUKCJE STOSOWANIA

TECHNIKA SZKIEŁKOWA:

1. Przygotować 35-50% zawiesinę testowanych krwinek w osoczu własnym (lub kompatybilnym), surowicy, izotonicznym roztworze soli lub PBS.
2. Na czyste, odpowiednio oznaczone szkiełko nanieść 1 kroplę (45-50µl) odczynnika Anti-D (IgG & IgM).
3. Dodać 1 kroplę(45-50µl) zawiesiny testowanych krwinek.
4. Wymieszać odczynnik i krwinki przy użyciu plastikowych mieszadeł na obszarze o średnicy 2 cm poprzez delikatne i ciągłe potrząsanie szkiełkiem.

5. Po 1 minucie odczytać wynik makroskopowo. Nie mylić wysychania mieszaniny z aglutynacją.
6. Jakielkolwiek słabe reakcje powinny być powtórzone metodą próbówkową.

TECHNIKA PRÓBÓWKOWA (rekomendowana dla słabego D):

1. Przygotować 3-5% zawiesinę krwinek czerwonych w izotonicznym roztworze soli.
2. Do odpowiednio oznaczonej, szklanej próbówki dodać 1 kroplę (45-50µl) odczynnika Anti-D (IgG & IgM).
3. Dodać 1 kroplę (45-50µl) zawiesiny krwinek czerwonych.
4. Wymieszać oraz odwirować przez 20 sekund przy 1000 rcf.
5. Delikatnie potrząsnąć próbówką celem rozbicia krwinek i zbadać aglutynację makroskopowo.
6. Inkubować reakcje słabsze niż oczekiwane przez 1 minutę w temperaturze pokojowej, po czym ponownie odwirować.

TECHNIKABIO-RAD-ID MICRO

1. Przygotować 0,8% zawiesinę krwinek w ID-CellStab lub ID-Diluent.
2. Usunąć folię zabezpieczającą z tyłu kolumnienek ile potrzebnych jest do badania.
3. Umieścić w odpowiedniej mikrokolumnie: 50µl zawiesiny krwinek oraz 25µl odczynnika RapidLabs Anti-D (IgG & IgM).
4. Odwirować karty IDw wirówce do kart żelowych Bio-Rad.
5. Odczytać wynik makroskopowo.

POŚREDNI TEST ANTYGLOBULINOWY (rekomendowany dla D^{VI}):

1. Przygotować 3-5% zawiesinę krwinek czerwonych w izotonicznym roztworze soli.
2. Do odpowiednio oznaczonej, szklanej próbówki dodać 1 kroplę (45-50µl) odczynnika Anti-D (IgG & IgM).
3. Dodać 1 kroplę (45-50µl) zawiesiny krwinek czerwonych.
4. Dokładnie wymieszać i inkubować w temperaturze 37°C przez 15 minut.
5. Przemyc krwinki jednokrotnie w izotonicznym roztworze soli dbając, aby dekantować dokładnie sól.
6. Dodać 2 krople (80-100µl) odczynnika antyglobulinowego, dokładnie wymieszać i odwirować przez 20 sekund przy 1000 rcf.
7. Delikatnie wstrząsnąć próbówką celem rozbicia krwinek oraz zbadać makroskopowo aglutynację.
8. Potwierdzić wiarygodność wyników ujemnych krwinkami opłaszczonymi IgG.

INTERPRETACJA WYNIKÓW

Przy użyciu w rekomendowanych technikach odczynnik będzie powodował:

* Wynik dodatni:

Aglutynacja (zlepianie) krwinek czerwonych posiadających odpowiedni antygen.

* Wynik ujemny:

Brak aglutynacji krwinek czerwonych stanowi brak odpowiedniego antygeny

OGRANICZENIA METODY

- * Antygeny ABO nie są w pełni rozwinięte po narodzinach, dlatego słabsze reakcje mogą wystąpić z próbkami pępowinowymi lub próbkami od noworodków
- * Przechowywana krew może wykazywać słabsze reakcje niż świeża.
- * Wyniki fałszywie dodatnie lub fałszywie ujemne mogą również wystąpić z powodu:
 - Zanieczyszczenia materiałów testowych
 - Niewłaściwego przechowywania, stężenia komórek, czasu inkubacji lub temperatury
 - Niewłaściwego lub nadmiernego wirowania
 - Odstępstwa od zalecanych technik
 - Zanieczyszczenia krwi pępowinowej Galaretką Whartona

CHARAKTERYSTYKA









- * Odczynniki będą działały najlepiej przy użyciu procedur opisanych w rekomendowanych technikach.
- * Przed zwolnieniem, każda seria odczynników monoklonalnych do badania grup krwi firmy Rapid Labs jest badana przy użyciu rekomendowanych technik i krwinek panelowych antygenowo dodatnich.
- * Specyficzność źródła monoklonalnych przeciwciał została wykazana przez panel krwinek antygenowo ujemnych.
- * 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.
- * Odczynniki spełniają wymagania zawarte w najnowszym wydaniu Guidelines for the UK Blood Transfusion Services.
- * Odczynnik Rapid Labs Anti-D (IgG & IgM) został przetestowany w każdej z rekomendowanych technik z próbkami dawców, próbkami klinicznymi oraz próbkami noworodków pobranymi albo na EDTA, cytrynian, CPDA, heparynę litową lub heparynę sodową. Populacja próbek reprezentowała wszystkie główne fenotypy ABO. Czulość odczynnika Rapid Labs Anti-D (IgG & IgM) wynosi 100%, specyficzność 100%.


PIŚMIENNICTWO



1. Kholer, G. and Milstein, C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature. 256 : 495- 497 (1975).
2. Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man Wydanie 6, Oxford, Blackwell Scientific Publishers Rozdział 2 (1975).
3. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, Wydanie 3, Montgomery Scientific, Miami, Rozdział 10 (1985).
4. Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, Wydanie 8, Oxford, Blackwell Scientific Publications, Rozdział 7 (1987).
5. Tippett P. Sub-divisions of the Rh (D) antigen. Medical. Laboratory Science; 45: 88-93 (1988).

6. Thompson KM, Hughes-Jones NC. Production and characteristics of monoclonal anti-Rh. Bailliere's Clinical Haematology; (1990).
7. 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 5: 171-184 (1995).
8. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Wersja aktualna.
9. Daniels, G. Variants of RhD – Current Testing and Clinical Consequences, British Journal of Haematology; 161: 461-470 (2013).

Indeks symboli

	Zapoznać się z instrukcją stosowania		Wyłącznie do diagnostyki in vitro
	Numer referencyjny		Numer serii
	Przechowywać w 2-8 st. C		Użyć do
	Wytwórca		Data produkcji

 Advena Ltd. Tower Business Centre, 2nd Flr., Tower Street, Swatara, BKR 4013 Malta

	Importer	Farmator Sp. z o.o. ul. Na Zapleczu 4B 87-100 Toruń, Polska
	Tłumaczenie	

 Rapid Labs Ltd
Unit2&2A Hall Farm Business Centre, Church Road,
LittleBentley, Colchester, Essex, CO78SD, Wielka Brytania
Email: info@rapidlabs.co.uk
Strona internetowa: www.rapidlabs.co.uk

Wersja 9