

**ANTI-A (ABO1), ANTI-B (ABO2), ANTI-A,B (ABO3)
ANTI-D (RH1) IgM I, ANTI-D (RH1) IgM II,
ANTI-D (RH1) TOTEM, ANTI-D (RH1) IgG,
ANTI-DCE (RH1,2,3), NEG CONTROL, GROUPAKIT**



INTRODUCERE

Acesti reactivi sunt dispozitive medicale pentru diagnostic in vitro (IVDMD) pentru uz profesional.

ANTI-A (ABO1), ANTI-B (ABO2), ANTI-A, B (ABO3) sunt utilizate la determinarea grupei ABO a celulelor rosii din sangele uman. Acestea permit determinarea prezentei de antigeni eritrocitari A si/sau B pe suprafata celulelor rosii din sange.

ANTI-D (RH1) IgM I, ANTI-D (RH1) IgM II, ANTI-D (RH1) TOTEM si ANTI-D (RH1) IgG sunt utilizate pentru determinarea grupei de sange. Acestea permit determinarea prezentei de antigen D (RH1) pe suprafata celulelor rosii din .

ANTI-DCE (RH1, 2, 3) permite detectarea prezentei a cel putin unul din antigenii eritrocitari: D (RH1), C (RH2) si E (RH3). NEG CONTROL este utilizat la determinarea grupei ABO de sange. Este lipsit de activitate a anticorpilor. Testat in aceleasi conditii ca si reactivul folosit, permite controlul interpretarii rezultatului obtinut.

PRINCIPIU

Tehnica manuala folosita, pe placa sau in tub, utilizeaza principiul hemaglutinarii. Celule rosii din sangele pentru test care contine un aglutinat antigen, in prezenta reactivului care contine anticorpi corespunzatori:

- fie in metoda hemaglutinarii directe, atunci cand vin in contact cu reactivul care contine anticorpi (tip: IgM);
- sau in metoda hemaglutinarii indirecte: testul antiglobulin in caz de utilizare a unui anticorp IgG. Reactia are loc in doua etape: eritrocitele sunt expuse la anticorpul IgG. Anticorpul adeva la celulele rosii care detin antigenul corespunzator. Dupa spalare, adaugarea de antiglobulin "AGH MAESTRIA IGG" induce aglutinare celulelor rosii sensibilizate care detin antigenul corespunzator.

Determinarea grupei ABO este definita atat de demonstrarea antigenilor A si / sau B de pe suprafata celulelor rosii din sangele uman, precum si de prezenta sau absenta anticorpilor anti-A si / sau anti-B in plasma. Prin urmare, este necesar sa se identifice antigeni eritrocitari folosind reactivi anti-A, anti-B si anti-A, B cunoscuti (test de celule rosii din sange), apoi pentru a confirma rezultatele anterioare de verificarea prezentei anticorpilor corespunzatoare in plasma de la sange de testare folosind globule rosii cunoscute A1, B si, eventual, A2 si O (test plasma).

Pentru determinarea grupei RH1, este necesara utilizarea de reactivi ANTI-D (RH1) si NEG CONTROL.

COMPOZITIE

Reactivii sunt preparati din anticorpi monoclonali intr-un mediu de stocare. Anticorpul monoclonal produs de DIAGAST sunt derivati din supernatantii de culturi in vitro de hibridoame de origine murina sau umana.

Acesti reactivi contin azot de sodiu (<0,1%), arsenit de sodiu (0,02%) si albumina bovina.

Reactivii sunt ambalati in flacoane prevazute cu un picurator calibrat si sunt de asemenea inclusi in kitul GROUPAKIT. Setul **GROUPAKIT** (Ref. DIAGAST **70888**) consta dintr-un flacon de ANTI-A (ABO1), un flacon de ANTI-B (ABO2), un flacon de ANTI-A,B (ABO3), un flacon de ANTI-D (RH1) IgM I si un flacon de NEG CONTROL.

NEG CONTROL produs de DIAGAST este lipsit de anticorpi.

Pentru o descriere a reactivilor vedeti ultima pagina.

PRECAUTII

Este recomandat sa purtati manusi si ochelari de protectie, iar manuirea probelor de origine umana sa fie facuta cu prudenta. Toate substraturile care au venit in contact cu probele trebuie sa fie tratate ca produse potential infectioase. Masuri speciale de protectie, conditii pentru eliminarea reziduurilor si dezinfectie ar trebui sa fie implementate in conformitate cu reglementarile locale.

Nu folositi reactivi deteriorati sau ce prezinta scurgeri.

DEPOZITARE

Reactivii trebuie sa fie depozitati la o temperatura intre +2 °C si +8 °C. Performanta lor este garantata in metoda recomandata de la prima utilizare la data expirarii indicata pe eticheta. Nu trebuie utilizat dupa aceasta data. Este recomandabil reducerea timpului in afara frigiderului si sa evitati sa-l lasati la temperatura camerei intre doua utilizari.

REACTIVI SI MATERIALE NECESARE

- Solutie salina izotonica (0,9% NaCl).
- Incubator sau baie de apa la 37 ° C.
- Eprubete, 10 sau 12 x 75 mm, stativ eprubete.
- Agitator mecanic.
- Placa opala.
- Pipete automate reglabile de precizie.
- Centrifuga cu o forta relativa de 100-1200 g.
- Probe de sange de control de fenotipuri cunoscute, cum ar fi HEMA CQI (DIAGAST ref.: a se vedea catalogul).
- Antiglobuline "AGH MAESTRIA IGG" (DIAGAST ref.: a se vedea catalogul).
- Sange sensibilizat IgG.
- Kit de identificare D partial pentru utilizare in cercetare: D-SCREEN (DIAGAST ref: a se vedea de catalog.).

PROBE – CONTROL

Probele de sange care urmeaza sa fie testate

Sange colectat in anticoagulant: EDTA, heparina sau citrat intr-un tub steril cu dop, depozitat intre 2 si 8°C, trebuie sa fie examinat in termen de 48 de ore, in masura in care nici un semn de hemoliza este vizibil.

La momentul testului, se centrifugheaza proba de sange la 1200 g timp de 3 minute.

Probele de sange cu fenotipuri cunoscute: HEMA CQI

Sistemul de analiza trebuie sa fie validat prin utilizarea de probe cu fenotipuri cunoscute:

- o proba care poseda antigenul corespunzator anticorpilor in reactivul folosit,
- o proba lipsita de antigenul corespunzator anticorpilor in reactivul folosit.

Utilizarea acestor probe sau HEMA CQI permite detectarea de anomalii (manipulare, reactivi, aparate si mediu) si implementarea actiunilor corective.

Controlul reactivilor

Pentru fiecare proba, la determinarea grupei RH1, un reactiv de control se testeaza in aceleasi conditii, prin inlocuirea ANTI-D (RH1) cu NEG CONTROL.

In cazul existentei unei anomalii in determinarea grupei sanguine ABO, un reactiv de control se testeaza in aceleasi conditii, prin inlocuirea reactiv ABO cu NEG CONTROL.

PROCEDURA

a) Tehnica pe placa la temperatura camerei (+18 ... +25° C) cu exceptia ANTI-D (RH1) IgG

- Pe o placa curata riguros, folosind pipeta flaconului, se aplica o picatura de reactiv.
- Se iau 25 µL de celule nespalate si se aplica alaturi de fiecare picatura de reactiv, avand grija sa nu creeze contact intre picaturi.
- Se amesteca sangele si reactivul folosind o miscare de spirala, cu sfarsitul agitatorului, astfel incat sa creeze un cerc regulat cu diametrul de 2 - 3 cm.
- Se incubeaza placa la temperatura camerei si fara agitare timp de 30 de secunde.
- Tineti placa si efectuati miscare de rotire timp de 3 minute, urmarind aparitia eventuala a aglutinarii.
- Cititi reactia imediat.

b) Metoda directa in eprubeta, la temperatura camerei, cu exceptia anti-D (RH1) IgG

- Se prepara o suspensie de 5% de celule rosii din sange in solutie salina izotona.
- Folosind picuratorul, transferati o picatura de reactiv intr-o eprubeta.
- Se adauga 50 µL de suspensie de celule rosii din sange.
- Se agita amestecul pentru omogenizare, apoi se centrifugheaza la 500 g timp de 1 minut.
- Cititi macroscopic in timp ce se agitati usor eprubeta, astfel incat sa separati granulele de celule rosii.
- Notati aparitia aglutinarii.

c) Metoda indirecta pentru anti-D (RH1) numai TOTEM

- Imediat dupa centrifugare si citire ca mai sus, in cazul in care reactia este slaba sau negativa, se agita eprubeta si se incubeaza la 37° C timp de 15 minute.
- Spalati celulele rosii de doua ori cu solutie salina izotona si aruncati lichidul de la ultima spalare.
- Se adauga 50 µL de antiglobulina " AGH MAESTRIA IGG" la granulele de celule rosii. Amestecati, apoi centrifughati la 120 g timp de 1 minut.
- Efectuati citirea cum este indicat in sectiunea b).

d) Metoda indirecta pentru numai ANTI-D (RH1) IgG

- Se prepara o suspensie de 5% de celule rosii din sange in solutie salina izotona.
- Folosind picuratorul, transferati o picatura de reactiv intr-o eprubeta.
- Se adauga 50 µL de suspensie de celule rosii din sange.
- Se agita eprubeta pentru a omogeniza amestecul si se incubeaza la 37° C timp de 15 minute.
- Spalati celulele rosii de doua ori cu solutie salina izotona si aruncati lichidul de la ultima spalare.
- Se adauga 50 µL de antiglobulina " AGH MAESTRIA IGG" la granulele de celule rosii. Amestecati, apoi centrifugati la 120 g timp de 1 minut.
- Efectuati citirea cum este indicat in sectiunea b).

INTERPRETARE

- Daca exista aglutinare (celulele rosii din sange sub forma a unul sau mai multe aglomerate), reactia este pozitiva si antigenul sau cel putin unul dintre antigeni corespunzatori reactivului folosit este prezent pe celulele rosii din sangele testat. Daca nu exista aglutinare (celulele rosii din sange reiau forma unei suspensii omogene), reactia este negativa, iar antigenul nu este prezent pe celulele rosii din sange.
- Grupa ABO a unui subiect poate fi determinata fara echivoc numai daca exista concordanta intre rezultatele testului de celule rosii si cele ale testului de plasma.
- Daca exista discordanta, nu raporteaza rezultatul si sa faceti un panel de identificare a grupei de sange in conformitate cu recomandarile protocoalele actuale si sau transmiteti proba la un laborator de specialitate.
- Controlul "Auto", controlul "allo" si controlul "reactiv", si contextul clinic pot ajuta la elucidarea anomaliei.
- Controlul "Auto": in aceleasi conditii, testati plasma subiectului vis-à-vis de propriile celulele rosii din sange.
- Controlul "Allo": in aceleasi conditii, testati plasma subiectului vis-à-vis de un panou de testare cunoscut de celulele rosii din sange de tip O (detectarea anticorpilor anti-eritrocitari anormali, altii decat anti-A sau anti-B).
- Controlul "Reactiv": in aceleasi conditii, testati celulele rosii din sangele subiectului vis-à-vis de negativ control.
- Cu metoda hemaglutinarii directe pe o placa sau intr-o eprubeta: daca exista aglutinare cu ANTI-D (RH1) IgM sau TOTEM, antigenul D este prezent. Daca nu exista nici o aglutinare, este posibil sa folositi ANTI-D (RH1) TOTEM sau ANTI-D (RH1) IgG intr-un test indirect, pentru a detecta antigeni slabi si / partiali D.
- O reactie negativa obtinuta intr-un test antiglobulin indirect poate fi validat cu eritrocite senzibilizate IgG (a se vedea prospectul pentru reactivul corespunzator).
- Reactia este doar interpretabila in cazul in care:
 - controlul reactivului folosind NEG CONTROL este negativ,
 - sistemul analitic este validat prin utilizarea de esantioane cu fenotipuri cunoscute.
- In plus, reactia in testul antiglobulin indirect este interpretabil doar daca testul antiglobulin direct este negativ.

LIMITARI ALE METODEI

- Numai personal calificat ar trebui sa utilizeze reactivul.
- Este imperios necesar de a utiliza pipeta calibrata prevazuta in flaconul IVDMD pentru dispersia unei picaturi de reactiv.
- Rezultatele trebuiesc citite imediat dupa centrifugare si resuspendare.
- Este imperios necesar sa lucreze cu echipament curat si produse necontaminate (contaminare bacteriana sau de alta natura).
- Urmatoarele puncte trebuie sa fie respectate:
 - conditiile de depozitare si data expirarii,
 - procedura,
 - calibrare a echipamentului recomandat.
- Fenotipurile A si / sau B slabe nu pot fi detectate prin metoda placii, deoarece este mai putin sensibila decat metoda tubului. In consecinta, in caz de discordanta intre testul direct si cel pe plasma, deoarece un fenotip slab poate fi prezent, testul trebuie repetat cu metode mai sensibile.
- Este imperios necesar de a utiliza AGH MAESTRIA IGG pentru testul antiglobulin indirect.
- Este imperios necesar de a utiliza NEG CONTROL ca si control negativ.
- ANTI-D (RH1) nu trebuie folosit in metodele care implica tratament enzimatic al eritrocitelor.
- ANTI-D (RH1) IgM nu pot fi utilizat in testul antiglobulin indirect. - Anumite discordante (reactie negativa pentru metoda hemaglutinarii directe si reactie pozitiva pentru metoda antiglobulin indirecta) pot sa apara cu ANTI-D (RH1) TOTEM. Un antigen D slab si / sau partial pot fi prezent.
- O reactie fals-positiva poate sa apara:
 - cand reactivul se foloseste pentru metoda hemaglutinarii directe cu un subiect care are aglutinare rece,
 - cand reactivul se foloseste in test antiglobulin indirect cu eritrocite care prezinta o reactie pozitiva la testul antiglobulin direct.

Aceste posibilitati constituie motivul pentru utilizarea concomitenta a NEG CONTROL.

SPECIFICATII

- In metodele recomandate, acesti reactivi sunt conformi cu Specificatiile Tehnice Comune ale IVDMD.
- O evaluare a performantei ANTI-A (ABO1), ANTI-B (ABO2) si ANTI-A,B (ABO3) a fost efectuata pe mai mult de 15.000 probe (donatori de sange, pacientii si nou-nascuti) recoltate pe fiecare din anticoagulantele recomandate (EDTA, heparina, citrat). Evaluarea a demonstrat specificitatea 100% din fiecare dintre reactivi fata de rezultatele asteptate vis-à-vis de fenotipurile comune cunoscute A1, A2, A1B, A2B, B si O.
- Testele efectuate asupra celulelor rosii din sange cu fenotip ABO slab au aratat buna specificitate vis-à-vis de fenotipurile A3 si B3.
- Anti-A, B (ABO3) recunoaste celulele rosii din sange Ax.
- Anti-B (ABO2) nu aglutineaza celulele rosii din sange "dobandit B",.
- In anumite cazuri (beneficiari de transfuzii, anumite fenotipuri slab A sau B (A3, B3 ...), anumite modificari hemopatologice, mozaicuri sau himere, etc), o imagine de o populatie dubla poate fi observata.
- Anticorpul ANTI-A si, implicit, anticorpul ANTI-A, B produce o reactie incrucisata cu antigenul Tn care da nastere la o imagine de o populatie dubla (fenomen exceptional).
- O evaluare a performantei de ANTI-D (RH1) IgM I, IgM II, IgG, TOTEM si ANTI-DCE (RH1, 2,3) a fost realizat pe un grup de 1.000 la 200.000 probe (donatori de sange, pacientii si nou-nascuti) recoltate pe fiecare din anticoagulantele recomandate (EDTA, heparina, citrat). Evaluarea a demonstrat specificitatea 100% din fiecare dintre reactivi fata de rezultatele asteptate vis-à-vis de fenotipurile comune cunoscute Rhesus
- Intensitatea reactiilor obtinute cu anti-D (RH1) IgM poate depinde de numarul de site-uri de antigen prezente pe celulele rosii din sange.
- ANTI-D (RH1) TOTEM si ANTI-D (RH1) IgG permite screening de celulelor rosii din sange slab D (RH1) in metoda indirect de hemagglutinare cu antiglobulina.
- Testele efectuate pe fenotipuri speciale, desi satisfacatoare; nu permit ca recunoasterea tuturor probelor slabe sau variate sa fie garantata, din cauza variabilitatii motive antigenice.
- ANTI-D (RH1) IgM I si TOTEM au caracteristica speciala de a recunoaste anumite motive rare antigen de tip RH33 (DHar) si pot produce astfel reactii discordante cu reactivi policlonali care le recunosc putin sau deloc.
- Numai anti-D (RH1) TOTEM permite detectarea DVI D partial metoda hemagglutinare directa in tub.
- In plus, clonele ANTI-D pot recunoaste in mod specific anumite epitopii de antigen D (vezi tabelul de pe ultima pagina).
- In general, pentru identificarea partiala D, este recomandata utilizarea setului D-Screen.

BIBLIOGRAFIE

- BETREMIEUX C., BEOLET M., KEYSER L.
A new strategy for D phenotyping with TOTEM® multimonoclonal ANTI-D reagent, XXIII rd I.S.B.T. Congress, July 1994.
- ARAMBURU E., RABASA P., ESQUIROZ R., GALARRETA T., OLCOZ B.
Valoracion de un antisuero anti-D IgM-IgG monoclonal (DIAGAST) en donantes de sangre con expresividad debil del antigeno D. Hematology Congress, Madrid, October 1990.
- MANNESSIER L. Blood Transfusion Centre, Lille, France. The use of monoclonal antibodies as blood grouping reagents: applications, advantages and problems. Congress of the Italian society for blood transfusion, Rome, June 1992.

REACTIVII		REFERINȚĂ	CLONE	TIP	ORIGINE
ANTI-A (ABO1)	5 x 10 ml	70501	9113D10	IgM	Murin
	100 x 10 ml	70540			
ANTI-B (ABO2)	5 x 10 ml	70502	9621A8	IgM	Murin
	100 x 10 ml	70541			
ANTI-A,B (ABO3)	5 x 10 ml	70503	9113D10 + 152D12	IgM	Murin
	100 x 10 ml	70542			
ANTI-D (RH1) IgM I	5 x 10 ml	71000	P3X61	IgM	Uman
	100 x 10 ml	70543			
ANTI-D (RH1) IgM II	5 x 10 ml	71005	HM10	IgM	Uman
ANTI-D (RH1) TOTEM	5 x 10 ml	71010	P3X61 + P3X21223B10 + P3X290 + P3X35	IgM IgM IgG IgG	Uman
	100 x 10 ml	70544			
ANTI-D (RH1) IgG	5 x 10 ml	71020	HM16	IgG	Uman
ANTI-DCE (RH1,2,3)	5 x 5 ml	74111	P3X61 + P3X25513G8 + P3X234	IgM	Uman
NEG CONTROL	5 x 10 ml	79000			
	100 x 10 ml	70545			

Clones	Type	DII	DIIIa DIIIb DIIIc	DIVa	DIVb	DVa	DVI	DVII	DFR	DBT	DHAR	DHMI
P3X61	IgM	+	+	+	+	+	-	+	+/-	+	+	+
HM10	IgM	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+
HM16	IgG	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
P3X21223B10	IgM	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+
P3X290	IgG	+	+	+/-	-	+	+/-	+	+	-	-	+
P3X35	IgG	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+

+ indica un rezultat pozitiv, a carui intensitate poate varia in functie de numarul de site-uri de antigen prezent pe celulele rosii din sange de testare.

+/- indica faptul ca un rezultat pozitiv sau negativ poate fi obtinut. Rezultatul depinde de antigenitate.

ISTORIC AL REVIZUIRILOR

Descrierea modificării	Impact asupra verificării metodei în conformitate cu standardul NF EN ISO 15189
<ul style="list-style-type: none"> - § „ISTORIC AL REVIZUIRILOR” : adăugat. - § „SPECIFICATII” : Corectarea termenului „hemaglutinare indirectă” cu „hemaglutinare directă”, pentru detectarea DVI în versiunea spaniolă. 	Nu



DIAGAST 251, AV. AVINEE - 59120 LOOS – FRANCE



www.diagast.com
key-code : DIA00105

Data revizuire : Mai 2021

	Pour obtenir les notices dans la langue de votre choix : For Instructions For Use in your language : Para las instrucciones de uso en su idioma : Para Instruções de Uso na sua língua : Per le istruzioni di uso nella sua lingua : Für Gebrauchsanleitungen in Ihrer Sprache : För bruksanviningar pa ditt eget språk : For brugsanvisninger pa dit sprog :	
http://	www.diagast.com	
 For European Union	 België - Belgique - България - Česká Republika - Danmark - Deutschland - Eesti - España - France - Ireland - Italia - Кyпpос - Latvija - Luxembourg – Magyarország - Nederland - Norge - Österreich - Polska - Portugal - Schweiz - Suisse - Suomi - Slovenija - Sverige - United Kingdom	+800 135 79 135
 Free	Ελλάδα	00800 161 2205 7799
	Ísland	800 8996
	Lietuva	8800 30728
	România	0800 895 084
	Slovensko	0800 606 287
 Not free	Liechtenstein	+31 20 796 5692
	Malta	+31 20 796 5693