

**Anti-D**

Reactiv monoclonal de testare pentru determinarea grupei sanguine

INFORMAȚII PENTRU UZ PROFESIONAL



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 ABO de grupe sanguine, antigenul D este cel mai important antigen de grupă sanguină în serologia grupelor sanguine. Spre deosebire de cei ai sistemului ABO, 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<sup>VI</sup>).
- Persoanele care prezintă un antigen D cu importante modificări calitative, în special persoanele cu categoria D<sup>VI</sup> pot fi imunizate printr-o expunere 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<sup>VI</sup>.

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 aseptie, 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”).

**Material 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 incubati 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; incubati 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).

**Măsurile de precauție și avertismente**

- Utilizarea procedeelelor 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 teste 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 <sup>1)</sup>	1142	0	100 % <sup>1)</sup>	288	0	100 %
	1516 <sup>2)</sup>	1221 <sup>2)</sup>	7 <sup>2)</sup>	99,43 % <sup>2)</sup>	292 <sup>2)</sup>	0	100 % <sup>2)</sup>
Testul pe placă	2168 <sup>1)</sup>	1686	1	99,94 % <sup>1)</sup>	524	0	100 %
	2250 <sup>2)</sup>	1726 <sup>2)</sup>	39 <sup>2)</sup>	97,79 % <sup>2)</sup>	527 <sup>2)</sup>	0	100 % <sup>2)</sup>

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<sup>VI</sup> până la D<sup>VII</sup>, singura cu care anticorpii IgM monoclonali BS225 nu reacționează este categoria D<sup>VII</sup>.

**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 produsilor 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), Versione 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**

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