

체외진단의료기기

1. 품목정보

허가(신고)번호	체외 수허 14-3188 호	
품 목 명	ABO.RhD혈액형면역검사시약	
분류번호(등급)	L02010.01(4)	
모 델 명	NOVACLONE™ Anti-D IgM+IgG Monoclonal Blend	
포장단위	용기 등의 기재사항 참조.	
제조번호	용기 등의 기재사항 참조.	
제조연월	용기 등의 기재사항 참조.	
수입원	상 호	아산제약(주)
	주 소	서울특별시 동대문구 청계천로 485
	전화번호	02-3290-5700
	F a x	02-3290-5750
제조원	상 호 (국가)	Dominion Biologicals Limited(캐나다)

2. 구성

2.1 체외진단의료기기

번호	명칭	세부구성
1	NOVACLONE™ Anti-D IgM+IgG Monoclonal Blend	단일

2.2 별도판매구성품

해당 없음.

3. 작용원리

본 제품의 검사원리는 입자응집법 (particle-agglutination assay)에 기초를 두었으며, 다음과 같은 반응으로 이루어진다. 사람의 적혈구와 Anti-D IgM + IgG 시약을 함께 배양하여 적혈구에 있는 D(RH1)항원을 입자응집법으로 정성하여 D(RH1)항원의 존재 유무를 판별한다.

4. 사용목적

사람 적혈구의 D 항원 검출을 위한 검사용 시약

5. 성능

번호	성능항목	결과		
1	분석적 성능	반응성	100%	
		특이성	100%	
2	임상적 성능	반응성	Microplate Test	99.3%
			Slide Test	100%
		특이성	Microplate Test	100%
			Slide Test	100%

6. 사용방법

6.1 표본 수집

표본 수집 전 환자/기증자에게 요구되는 특별한 준비는 없습니다. 혈액 샘플은 항응고제의 유무와 상관없이 수집 할 수 있습니다. 응고 된 적혈구 또는 항응고제 처리된 EDTA 샘플들은 수집 후 최대 14일까지 시험 할 수 있습니다. ACD, CPD 및 CPDA-1 으로 항응고제 처리된 혈액 샘플들은 유효 기간까지 시험할 수 있습니다. 모든 적혈구 샘플들은 1-10도씨에 적절히 보관해야 합니다. 적혈구 보존액은 장기간 저장 시에 사용될 수 있습니다. 테스트 전 적혈구의 장기간 저장은 적혈구 항원의 저하 및 예상되는 시험 반응보다 더 약한 결과를 초래할 수 있습니다.

6.2. 테스트 절차

6.2.1 슬라이드 테스트 법:

참고: 슬라이드 테스트 절차는 약한 항원 발현의 안정적인 검출에 용이하지 않을 수 있습니다.

가열된 표면에 슬라이드/플레이트를 올려 놓지 마십시오.

- 1) 35-45% 테스트 적혈구 현탁액을 준비하십시오. 적혈구 현탁액은 식염수 또는 자가/그룹 혈청 또는 혈장(전혈)에서 준비될 수 있습니다.
- 2) 용기 등의 기재사항이 부착된 슬라이드의 한쪽 끝(또는 TP-12 플레이트의 하나의 웰에) NOVACLONE™ Anti-D IgM + IgG Monoclonal Blend시약을 한 방울(~40-50uL)을 추가하십시오.
- 3) 전송 피펫을 이용하여 NOVACLONE™ Anti-D IgM + IgG Monoclonal Blend가 추가된 각각에 35-45% 테스트 적혈구 현탁액을 한 두 방울 추가하십시오.
- 4) 깨끗하고 별도의 주걱 스틱을 이용하여 대략 20x40mm의 타원 영역(또는 TP-12 마이크로 웰)에 적혈구 현탁액을 철저히 섞어주십시오.
- 5) 최대 2분 동안 슬라이드 또는 플레이트를 앞뒤로 기울여 주고 거시적인 혈구 응집에 대해 검사하십시오.
- 6) 2분 동안 미 응집을 보인다면 음성입니다. 주변 건조나 섬유소 가닥 때문에 실수하지 않도록 주의해야 합니다.
- 7) 음성이나 weak D 시험이 필요한 경우, weak D 시험 방법에 따라 시험 하십시오.

6.2.2 튜브 테스트 방법

- 1) 등장 식염수에 시험 적혈구의 2-4% 현탁액을 준비합니다. (혈액형 테스트를 위해 세척된 적혈구 현탁액의 사용은 비정상적인 반응의 발생을 줄이기 위해 권장됩니다.)
- 2) 각 용기 등의 기재사항이 부착된 테스트 튜브에 NOVACLONE™ Anti-D IgM + IgG Monoclonal Blend 시약을 한 방울(~40-50uL)씩 분배해줍니다.
- 3) 전송 피펫을 이용하여 테스트 튜브에 준비된 2-4% 테스트 적혈구 현탁액을 한 방울 추가해줍니다.
- 4) 테스트 튜브의 내용물을 철저히 섞어줍니다.
- 5) 원심분리 시키십시오.
 - a. 900-1000 rcf에서 15-30초
 - b. 이와 동등한 힘으로 원심분리
- 6) 조심스럽게 적혈구 버튼을 채부유 시키고 응집에 대하여 거시적으로 검사합니다. **현미경으로 검사하지 마십시오.**
- 7) 등급을 매기고 결과를 기록하십시오.

6.2.3 약한 D 테스트 방법 - 수정된 간접 항 글로불린 검사 (IAT):

- 1) 2-4% 세척된 테스트 적혈구 부유액을 준비합니다. 수정된 IAT를 위하여 테스트 적혈구는 최소 한 번 이상 세척하고 등장성 식염수에 현탁해야 합니다.
- 2) 적절히 용기 등의 기재사항이 부착된 테스트 튜브에 NOVACLONE™ Anti-D IgM + IgG Monoclonal Blend를 한 방울(~40-50uL)씩 분배합니다.
- 3) 전송 피펫을 이용하여, 준비된 2-4% 테스트 적혈구 현탁액을 한 테스트 튜브에 한 방울 추가 합니다.
- 4) 튜브 내용물을 철저히 섞어주고, 15분 동안 37도씨(+,-1도씨)에서 배양합니다.
- 5) 등장성 식염수로 세포를 한 번 세척합니다.
- 6) 잔류 염분을 제거하기 위해 세척하고 그 결과로 생긴 "dry" 적혈구 버튼에 등장성 식염수를 부으십시오.
- 7) 테스트 튜브에 있는 'dry' 적혈구 버튼에 Polyspecific Anti-Human Globulin 또는 Anti-IgG를 2 방울 떨어뜨립니다.(Anti-Human Globulin 사용자 지침서를 참고하세요.)

체외진단의료기기

- 8) 적혈구 버튼 재현탁을 위해 부드럽고 철저히 섞어주세요.
- 9) 딜레이 없이 원심분리 하세요.
 - a. 900-1000 rcf에서 15초
 - b. 또는 동일한 힘으로 원심분리
 - c. 또는 사용자 지침서에 따라.
- 10) 조심스럽게 적혈구 버튼을 재부유 시키고 응집에 대하여 거시적으로 검사합니다. **현미경으로 검사하지 마십시오.**
- 11) 등급을 매기고 결과를 기록하십시오.
- 12) 사용자 지침서에 따라 IgG sensitized Antiglobulin Control cells을 사용하여 음성 시험의 타당성을 확인하십시오.

6.2.4 마이크로 플레이트 법:

다음은 이 시약을 사용하여 마이크로 플레이트 테스트에 대한 권장되는 매뉴얼 방법입니다. 대체 방법은 사용자에게 의해 적절히 평가되는 경우 적절할 수 있습니다.

참고: 다른 공급 업체 마이크로 플레이트는 적혈구 및 단백질의 비 특이적인 반응이 발생할 수 있습니다. 적혈구 부작을 최소화하기 위해 사용 전 전처리 된 사용하지 않은 마이크로 플레이트가 권장됩니다.

사용하지 않은 새 마이크로 플레이트의 전처리:

- 1) 등장성 식염수에 2-4% 적혈구 현탁액을 준비하세요. (혈액형 테스트에서 세척된 적혈구 현탁액의 일반적인 사용은 비정상적인 반응 발생의 위험을 줄이기 위해 권장됩니다).
- 2) 각각의 마이크로 플레이트 웰에 NOVACLONE™ Anti-D IgM + IgG Monoclonal Blend를 한 방울(~40-50uL) 분배해 줍니다.
- 3) 적절한 테스트 웰에 2-4% 적혈구 식염수 현탁액을 한 방울(~40-50uL) 추가해 줍니다.
- 4) 마이크로 플레이트를 수동으로 흔들거나 웨이커로 웰의 내용물을 섞어줍니다.†
- 5) ~400g(350-450g)에서 20-30초간 원심분리 합니다.‡
- 6) 다음 제안된 방법 중의 하나를 이용하여 결과를 읽어 기록합니다.

6.2.4.1 재부유/교반 방법:

- 1) 마이크로 플레이트 측면을 수동으로 톡톡 두드리거나, 웨이커를 이용하여 웰의 적혈구 버튼을 재부유 시키십시오.¶
- 2) 마이크로 플레이트 바닥을 관찰하고 응집 여부를 확인하십시오.

6.2.4.2 “틸트 및 스트림” 방법:

- 1) 약 70° 각도로 마이크로 플레이트를 기울입니다.
- 2) 셀 버튼을 분산시키기 위해 ~2-4분간 둥니다.
- 3) 마이크로 플레이트의 바닥을 보면서 각 웰의 분산 패턴을 관찰합니다.

6.3 테스트 결과 해석

슬라이드, 튜브 및 마이크로 플레이트 테스트:

양성(+): 테스트 절차의 허용되는 한계 내에서, NOVACLONE™ Anti-D IgM + IgG Monoclonal Blend와 테스트 적혈구의 응집은 대응하는 D(RH1) 항원의 존재로 표시됩니다.

6.3.1 양성- Weak D 테스트:

테스트 절차의 허용되는 한계 내에서, 오직 weak D 테스트 절차에 의한 NOVACLONE™ Anti-D IgM + IgG Monoclonal Blend와 테스트 적혈구의 응집은 weak D 표현형을 가지는 테스트 적혈구로 표시됩니다.

음성(-): 테스트 절차의 허용되는 한계 내에서, NOVACLONE™ Anti-D IgM + IgG Monoclonal Blend와 테스트 적혈구의 미 응집은 대응하는 D(RH1) 항원의 부재를 나타냅니다.

6.3.2 마이크로 플레이트 테스트:**6.3.2.1 재부유/ 교반 방법:**

양성 결과는 (튜브 테스트와 유사한) 반응 강도에 대하여 등급화 할 수 있는 응집 세포의 존재로 표시됩니다. 음성 반응은 눈에 보이는 응집이 없이 적혈구의 재부유로 표시됩니다.

6.3.2.1 “틸트 및 스트림” 방법:

음성 결과는 마이크로 웰의 측면 아래 세포의 원활한

“스트리밍”으로 나타냅니다. 양성 결과는 마이크로 플레이트 웰의 바닥에 남아있는 셀의 손상 버튼에 존재로 나타냅니다. 또한, 이 버튼은 이탈되며 큰 덩어리에 빠질 수 있습니다. 때때로, 양성 반응은 웰의 바닥에 세포의 고체 단층으로 나타날 수 있다 - 이러한 반응은 일반적으로 재현탁 또는 교반 다음 정상 응집으로 나타납니다.

7. 사용 시 주의사항

1. 해당 제품은 전문적인 체외진단 목적으로만 사용한다.
2. 신생아 제대혈 및 A형 또는 B형의 아형을 갖고 있는 사람의 적혈구, 장기보관과 부적절한 저장조건, 혈구 및 혈청학적 시험간 불일치로 발생할 수 있는 혈청학적 문제 등에 의한 위음성 및 미약반응이 일어날 수 있다.
3. 생체 내에서 면역 글로불린에 코팅된 적혈구의 경우 드물게 일부 시약에서 비특이적 응집을 보일 수 있다. 이런 현상은 고 단백질과 미소분자의 첨가제로 형성된 시약과 보통 관계가 있으며 자사의 시약 또한, 매우 드문 경우지만 저단백질의 매개체에서 비 특이적으로 응집한다. 이런 경우, 테스트 세포가 Anti-A, B, D와 반응한다면 608% BSA 또는 자가 이식의 환자 혈청/혈장의 추가적인 실험 대조(control)가 필요하다.
4. 부적절한 검사방법, 부적당한 원심분리 및 배양, 세척으로 인한 유리 제품 및 오염물질 등이 위양성 및 위음성의 결과를 야기할 수 있다.
5. 세포 및 생리식염수로 부유된 적혈구 등은 언전현상(rouleaux) 또는 자가항체에 의하여 위양성의 결과를 야기할 수 있다.
6. 세척되지 않은 적혈구 또는 자가 이식의 혈청 또는 혈장으로 부유된 적혈구는 약 D에 대한 Modifide Indirect Antiglobulin Test에 사용되어선 안된다. 이것은 세척절차의 간소화와 결과적으로 미약 반응 내지는 위음성의 결과를 야기할 수 있다. 이런 경우, Anti-H globulin이 부분적으로 미약반응 및 위음성의 결과를 중화시킬 수 있으며 세척되지 않은 적혈구가 시험에 사용되어야 한다면, 세 번에서 네 번의 연속 세척을 통해 자존하는 혈청내의 IgG 제거를 통해 효과적인 시험 결과를 얻을 수 있다.
7. 효소로 처리된 적혈구세포를 시험에 사용해서는 안된다. 또한 위양성의 반응을 예방하기 위해 상온(18-25℃)에서 시험이 행해져야 한다.
8. 약 D에 대한 양성 간접 항 글로브린 테스트는 적당한 대조(608% BSA)를 사용하여 육안의 음성 Direct Antiglobulin Test 또는 음성의 Indirect Antiglobulin Test에 의해서 그 결과가 입증되어야 한다.
9. 몇몇의 적혈구는 정량적으로 부분의 약 D(Rh1)를 나타내므로 Anti-D와 예상된 반응보다 더 약한 반응을 보일 수 있다.
10. Anti-Dd는 부분 D의 모든 예를 표현하지 못한다. 게다가, 이 시약은 이전에 테스트 되었고 Anti-D의 다른 근원을 이용한 Rh 음성으로 해석된 weak D cells 그리고 부분 D의 드문 예와 반응한다.
11. 장기간 및 부적절한 조건의 적혈구 보관은 위음성 및 기대하지 않은 미약 반응을 야기할 수 있다.
12. 판독시간의 지연, 침전된 적혈구 재부유액 등은 미약반응 및 위음성의 결과를 야기할 수 있다.

체외진단의료기기

13. 아지드 나트륨은 유해하므로 섭취하지 않도록 주의하여야 한다.
아지드 나트륨은 구리, 납과 반응하여 폭발성의 금속 아지드를 형성할 수 있으므로 폐기 시 아지드의 축적을 방지하기 위해서 다량의 물과 함께 버린다.
14. 이 제품에는 천연고무 라텍스 성분이 포함되어 있어 일부 개인에게 알레르기 반응을 일으킬 수 있다
15. 모든 혈액형 판정시약은 잠재적인 감염성이 있는 것처럼 다루어야 하고, 섭취하지 않는다. 쥐 바이러스가 없는 것은 확인되지 않았다.
16. 탁도가 나타난 경우, 이는 세균오염이나 시약의 품질저하를 나타낸다.
17. 오염된 시약이나 라벨이 부착되지 않은 바이알은 사용하지 않는다.
18. 제품을 동결시키지 않는다.
19. 유효기간이 지난 제품은 사용하지 않는다.
20. 제품을 사용하지 않을 때 1~10℃에 보관한다.
21. 제품을 섭취하지 않는다.
22. 시약을 사용하기 전에 적정 온도에 놓는다.(18~25℃)
23. 해당 제품은 생물학적 유해 물질로 여겨져야 하며, 폐기 시 적용 가능한 생물학적 유해 물질 폐기 요구사항을 준수해야 한다.

8. 저장방법 및 사용기한

용기 등의 기재사항참조.