

Anty-A Linia komórkowa: BIRMA-1
Kod produktu: TL

Anty-B Linia komórkowa: LB-2
Kod produktu: TN

Anty-A,B Linie komórkowe: ES-4/ES-15
Kod produktu: TM

Odczynniki monoklonalne IgM pochodzenia mysiego do oznaczania grup krwi

Do stosowania w metodzie szkiełkowej, próbówkowej i mikroplótkowej



PRZEZNACZENIE

Odczynniki monoklonalne BIOSCOT na bazie mysich przeciwciał IgM do oznaczania grup krwi służą do wykrywania następujących antygenów:

Anty-A (linia komórkowa BIRMA-1) służy do wykrywania antygeny A.
Anty-B (linia komórkowa LB-2) służy do wykrywania antygeny B.
Anty-A,B (linie komórkowe ES-4/ES-15) służą do wykrywania antygenów A, A_x lub B.

Odczynniki przeznaczone do stosowania w metodach szkiełkowej, próbówkowej i mikroplótkowej przez personel przeszkolony w zakresie technik serologicznych.

WPROWADZENIE

Układ grupowy ABO

W 1900 r. Landsteiner odkrył, że surowica pochodząca od pewnych osobników powoduje aglutynację krwinek czerwonych pobranych od innych osobników. Na tej podstawie można dokonać podziału poszczególnych osobników w zależności od posiadanych fenotypów w układzie grupowym krwi. Rozróżnia się cztery podstawowe fenotypy – O, A, B i AB. Zidentyfikowano również podklasy antygenów A i B.

Fenotyp ABO danej osoby zwykle ustala się, wykonując reakcje aglutynacji krwinek czerwonych z antysurowicą Anty-A, Anty-B i Anty-A,B (oznaczanie grupy krwi na podstawie krwinek czerwonych). Badając próbki krwi pobrane od osób dorosłych, potwierdzenie wyniku oznaczenia grupy w układzie ABO można uzyskać, wykonując reakcję badanej surowicy z zawiesinami wzorcowych krwinek A i B (oznaczanie grupy krwi na podstawie surowicy krwi).

ZASADA OZNACZENIA

Po zastosowaniu zalecanych technik analitycznych odczynniki wywołują aglutynację (zlepianie) erytrocytów wykazujących ekspresję antygeny swoistego (reakcja dodatnia). Brak aglutynacji erytrocytów jest równoznaczny z nieobecnością antygeny swoistego (reakcja ujemna).

Odczynniki zoptymalizowano do stosowania w rekomendowanych technikach analitycznych, bez konieczności wykonywania dalszych rozcieńczeń ani dodawania innych substancji.

Produkty są dostarczane w postaci przefiltrowanej na filtrze 0,22 µm.

MATERIAŁY

Kod produktu TL Anty-A zawiera przeciwciała z linii komórkowej BIRMA-1. Kod produktu TN Anty-B zawiera przeciwciała z linii komórkowej LB-2. Kod produktu TM Anty-A,B zawiera przeciwciała z linii komórkowych ES-15 oraz ES-4. W skład odczynników wchodzi przeciwciała monoklonalne klasy IgM pochodzenia mysiego w roztworze buforowym zawierającym makrocząsteczkowe reaktywne związki chemiczne. Odczynniki zawierają azydek sodu 0,1% (w/v), materiał pochodzenia wołowego oraz świńskiego. Zawartość każdej fiołki o pojemności 10 ml wystarcza do wykonania około 250 oznaczeń.

Odczynniki zawierają następujące barwniki:

Anty-A	niebieski	Patent Blue Violet
Anty-B	żółty	Quinoline yellow C.I. 47005
Anty-A,B	brak	

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. W badaniach linii komórkowych pochodzenia mysiego użytych do wyprodukowania odczynników uzyskano wyniki ujemne testów na obecność wirusów obecnych w materiale pochodzenia mysiego (Mouse Antibody Production, MAP). Należy zachować ostrożność podczas stosowania odczynników, niszcząc każdego z użytych opakowań i usuwania ich zawartości.
2. Odczynniki zawierają azydek sodu w stężeniu 0,1% (w/v). Azydek sodu może być trujący po spożyciu. Istnieje również ryzyko powstania silnie wybuchowych soli w reakcji z ołowiem i miedzią, wchodzącymi w skład rur instalacji wodno-kanalizacyjnej. Wylewane odpady należy spłukać dużą ilością wody.
3. Odczynniki powinny być klarowne. Zmętnienie może oznaczać skażenie bakteryjne. Nie należy używać odczynników, jeżeli doszło do wytrącenia osadu, żelu fibrynowego, lub jeżeli w roztworze widoczne są drobiny.
4. Odczynniki są przeznaczone wyłącznie do profesjonalnej diagnostyki *in vitro*.
5. Materiał pochodzenia wołowego i wieprzowego uzyskano ze źródeł zatwierdzonych przez Departament Rolnictwa USA (USDA) lub innych udokumentowanych źródeł. Badanie bydła, od których pobrano materiał, potwierdziło brak zakaźności i niskie ryzyko przenoszenia zakaźnych encefalopatii gąbczastych (TSE).
6. Produkty należy unieszkodliwić przez zanurzenie na całą noc w odpowiednio stężonym roztworze środków odkażających lub przez autoklawowanie.

WSKAZÓWKI DLA UŻYTKOWNIKÓW

Zaleca się równoległe wykonywanie kontroli dodatniej i ujemnej każdej serii odczynnika. Jeżeli wynik kontroli różni się od oczekiwanego, wynik oznaczenia należy uznać za fałszywy.

Stosowanie kontroli odczynnika równoległe ze wszystkimi badaniami z zastosowaniem opisywanego odczynnika nie jest konieczne. Wykorzystanie kontroli odczynnika, takiej jak kontrola z przeciwciałami monoklonalnymi BIOSCOT (kod produktu: TT), jest zalecane tylko podczas typowania erytrocytów u pacjentów z autoprzeciwciałami lub zaburzeniami białkowymi. Kontrolę należy prowadzić równocześnie z oznaczeniem przy użyciu odczynnika.

Przedstawiona charakterystyka odczynników odnosi się do procedur zawartych w niniejszej instrukcji obsługi. Przydatność do metod innych niż opisane musi zostać określona przez użytkownika.

W przypadku zmian w analitycznym działaniu urządzenia lub uszkodzenia opakowania należy skontaktować się z Działem Kontroli Jakości firmy Millipore (UK) Ltd.

SPOSÓB PRZECHOWYWANIA

Otwarte lub zamknięte odczynniki należy przechowywać w temperaturze 2–8°C do daty ważności podanej na etykiecie produktu.

Przechowywanie produktów w niewłaściwej temperaturze (np. zbyt wysoka temperatura przechowywania lub wielokrotne rozmrażanie i zamrażanie) może przyspieszyć utratę reaktywności odczynników.

POBIERANIE MATERIAŁU DO BADAŃ

Pobieranie próbek do badań nie wymaga specjalnego przygotowania pacjenta. Krew należy pobrać zatwierdzoną metodą. Próbkę można pobierać na antykoagulanty EDTA, cytrynian, CPDA lub techniką „na skrzep”. Badanie próbki należy przeprowadzić jak najszybciej po pobraniu krwi. W razie opóźnienia badania, próbki należy przechowywać w temp. 2–8°C. Odczynnik nie nadaje się do oznaczeń próbek wykazujących silną hemolizę lub zanieczyszczenia mikrobiologiczne. Przechowywanie próbek w niewłaściwej temperaturze może prowadzić do uzyskania fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych wyników oznaczeń.

WYMAGANE MATERIAŁY NIEWCHODZĄCE W SKŁAD ZESTAWU

Metoda szkiełkowa:

- Szkiełko podstawowe
- Izotoniczny roztwór soli fizjologicznej lub zgodna grupowo surowica/osocze
- Timer

Metoda probówkowa:

- Probówka
- Izotoniczny roztwór soli fizjologicznej
- Timer
- Wirówka (1000 rcf)

Metoda mikropłytkowa:

- Mikropłytki ze studzienkami „U”
- Izotoniczny roztwór soli fizjologicznej
- Timer
- Wirówka (100 rcf)
- Wyrząsarka mikropłytek
- Czytnik mikropłytek (wyposażenie opcjonalne)

ZALECANE TECHNIKI OZNACZANIA

1. METODA SZKIEŁKOWA

- 1.1 Przygotować 35–50% zawiesinę badanych krwinek czerwonych w autologicznym (lub zgodnym grupowo) osoczu, surowicy lub izotonicznym roztworze soli fizjologicznej.
- 1.2 Na czystym oznakowanym szkiełku umieścić 1 kroplę (40 µl) odczynnika Anty-A, Anty-B lub Anty-A,B.
- 1.3 Dodać 1 kroplę (40 µl) zawiesiny badanych erytrocytów.
- 1.4 Wymieszać antysurowicę z krwinkami na powierzchni o średnicy około 2 cm przez delikatne poruszanie szkiełkiem. Po 2 minutach makroskopowo odczytać wynik testu. Nie mylić wysychającej mieszaniny z aglutynacją.

2. METODA PROBÓWKOWA

- 2.1 Przygotować 3–5% zawiesinę badanych erytrocytów w izotonicznym roztworze soli fizjologicznej.
- 2.2 Do odpowiednio oznakowanej probówki dodać 1 kroplę (40 µl) odczynnika Anty-A, Anty-B lub Anty-A,B.
- 2.3 Dodać 1 kroplę (40 µl) zawiesiny badanych erytrocytów.
- 2.4 Roztwór wymieszać i odwirować z prędkością 1000 rcf przez 20 sekund.
- 2.5 Ostrożnie wstrząsnąć probówką, aby oderwać erytrocyty od ścianek probówki, a następnie makroskopowo ocenić, czy doszło do aglutynacji.
- 2.6 W przypadku wyniku o nasileniu słabszym od oczekiwanego, inkubować przez 1 minutę w temperaturze pokojowej, a następnie ponownie odwirować.

3. METODA MIKROPŁYTKOWA

- 3.1 Przygotować 3–5% zawiesinę badanych erytrocytów w izotonicznym roztworze soli fizjologicznej.
- 3.2 Do właściwych studzienek „U” mikropłytki dodać 1 kroplę (40 µl) odczynnika Anty-A, Anty-B lub Anty-A,B.
- 3.3 Dodać do odpowiednich studzienek taką samą objętość (40 µl) zawiesiny krwinek czerwonych.
- 3.4 Wymieszać zawartość studzienek ręcznie lub przy użyciu wyrząsarki mikropłytek.
- 3.5 Inkubować mikropłytki w temperaturze pokojowej przez 15–20 minut.
- 3.6 Odwirować mikropłytki z prędkością 100 rcf przez 40 sekund.
- 3.7 Ponownie utworzyć zawiesinę krwinek czerwonych przy użyciu wyrząsarki mikropłytek.
- 3.8 Odczytać wynik makroskopowo lub za pomocą automatycznego czytnika. Użytkownik musi zweryfikować wynik uzyskany przy użyciu automatycznego czytnika.

OGRANICZENIA METODY

Wyniki oznaczania grup krwi należy potwierdzić, wykonując kontrolę badanej surowicy ze znanymi krwinkami wzorcowymi A₁ oraz B. Krew grupy AB można przetestować wyłącznie pod warunkiem, że krwinki biorcy dają jednoznacznie dodatnią reakcję z odczynnikami Anty-A i Anty-B, a surowica biorcy daje ujemne reakcje z krwinkami A₁ i B (chyba, że biorca został zakwalifikowany do podgrupy AB wykazującej obecność przeciwciał Anty-A₁ w surowicy).

Odczynnik Anty-A, kod produktu: TL, nie pozwala na wykrycie wszystkich odmian krwinek A_x. Dla wykrycia słabych odmian A_x może być konieczna mikroskopowa ocena aglutynacji i/lub wydłużenie czasu inkubacji do 15 minut.

Szytywne mikropłytki z polistyrenu są bardziej odpowiednie niż mikropłytki z PCV. Przed przyjęciem do rutynowego stosowania, przydatność każdej partii mikropłytek należy poddać ocenie w warunkach stosowanych przez użytkownika.

Wyniki oznaczenia mogą być fałszywie dodatnie w przypadku krwinek czerwonych dających dodatni wynik testu antyglobulinowego (DAT). W celu wykrycia takich wyników dodatnich zaleca się stosowanie kontroli z przeciwciałami monoklonalnymi BIOSCOT (kod produktu TT).

Zanieczyszczenie badanego materiału lub odchylenia od zalecanych technik oznaczania mogą prowadzić do uzyskania wyników fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych.

CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW

Odczynniki monoklonalne do oznaczania grup krwi Anty-A (linia komórkowa BIRMA-1; kod: TL), Anty-B (linia komórkowa: LB-2; kod: TN) oraz Anty-A,B (linie komórkowe ES-4/ES-15; kod: TM) zostały przetestowane przy użyciu wszystkich rekomendowanych technik na próbkach krwi dawców, pacjentów i noworodków pobranych na EDTA, cytrynian, CPDA lub techniką „na skrzep”. Zestaw próbek był reprezentatywny dla wszystkich głównych fenotypów układu ABO. Całkowitą liczbę testów (n) oraz czułość i swoistość obliczoną dla każdej z metod przedstawiono w tabeli poniżej:

METODA	Anty-A kod produktu TL			
	Czułość		Swoistość	
	n	%	n	%
Probówkowa	617	100	708	100
Mikropłytkowa	4201	100	5844	100
Szkiełkowa	546	99,5	531	100

METODA	Anty-B kod produktu TN			
	Czułość		Swoistość	
	n	%	n	%
Probówkowa	244	100	1083	100
Mikropłytkowa	1209	100	8838	100
Szkiełkowa	377	100	703	100

METODA	Anty-A,B kod produktu TM			
	Czułość		Swoistość	
	n	%	n	%
Probówkowa	748	100	579	100
Mikropłytkowa	5112	100	4935	100
Szkiełkowa	736	100	343	100

Definicje pochodzą z wspólnych specyfikacji technicznych (WST):

Czułość diagnostyczna: Prawdopodobieństwo, że wyrób daje wynik pozytywny w obecności diagnozowanego markera.

Specyficzność diagnostyczna: Prawdopodobieństwo, że wyrób daje wynik negatywny przy braku diagnozowanego markera.

PIŚMIENNICTWO

1. Moore, S. et al. Vox Sang 47: 427-434 (1984). A Mouse Monoclonal Antibody with Anti-A,(B) Specificity which Agglutinates A₁ Cells.
2. McDonald, D.F. and Thompson, J.M. Vox Sang 1991;61:53-58. A New Monoclonal Anti-A Antibody BIRMA-1.
3. Issitt, P.D. and Anstee, D.J. Applied Blood Group Serology, 4th Edition, Montgomery Scientific Publications, 1998.
4. Race, R.R. and Sanger, R. Blood Groups in Man 6th Edition, Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1975.
5. Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom. 5th Edition. The Stationary Office, 2001.



Millipore (UK) Ltd
Fleming Road
Kirkton Campus
Livingston, EH54 7BN
Wielka Brytania

Tel.: +44 (0)1506 404000
Faks: +44 (0)1506 404001

PI135/d
2013-02