

Anty-C	Linia komórkowa: MS-273	Kod: TW
Anty-E	Linie komórkowe: MS-12/MS-260	Kod: GI
Anty-c	Linia komórkowa: MS-35	Kod: TV
Anty-e	Linie komórkowe: MS-62/MS-69	Kod: GK

Odczynniki monoklonalne IgM pochodzenia ludzkiego do oznaczeń grup krwi.

Do stosowania w oznaczeniach na szkiełkach mikroskopowych, w probówkach, mikroplątkach oraz w mikrometodzie kolumnowej i żelowej.



IVD

### PRZEZNACZENIE

Odczynniki monoklonalne BIOSCOT Rh-Hr pochodzenia ludzkiego służą do oznaczeń następujących antygenów grup krwi:

Produkt Anty-C (linia komórkowa MS-273, kod produktu TW): oznaczenia antygeny grupowego C.

Produkt Anty-E (linie komórkowe MS-12/MS-260, kod produktu GI): oznaczenia antygeny grupowego E.

Produkt Anty-c (linia komórkowa MS-35, kod produktu TV): oznaczenia antygeny grupowego c

Produkt Anty-e (linie komórkowe MS-62/MS-69, kod produktu GK): oznaczenia antygeny grupowego e.

Odczynniki są przeznaczone do stosowania w oznaczeniach na szkiełkach mikroskopowych, w probówkach, mikroplątkach oraz w mikrometodzie kolumnowej i żelowej przez pracowników przeszkolonych w zakresie badań serologicznych.

### WPROWADZENIE

#### Układ grupowy krwi Rh

Układ grupowy krwi Rh obejmuje ponad 40 antygenów lub kompleksów antygenowych zlokalizowanych na powierzchni ludzkich erytrocytów. Pięć podstawowych antygenów układu Rh oraz jednoimienne przeciwciała odgrywa istotną rolę w badaniach krwi przed przetoczeniami oraz szacowaniu ryzyka choroby hemolitycznej noworodków.

W różnych populacjach obserwuje się odmienną częstość występowania antygenów Rh; przybliżona częstość występowania antygenów grupowych Rh w populacji białej:

ANTYGEN	C	E	c	e
CZĘST. WYSTĘPOW.	70%	30%	80%	98%

### ZASADA DZIAŁANIA ODCZYNNIKA

Podczas stosowania zgodnie z zaleceniami dodatni wynik testu polega na aglutynacji (zlepianiu) krwinek czerwonych wykazujących ekspresję odnośnego antygeny po dodaniu odczynnika. Ujemny wynik testu w postaci braku aglutynacji erytrocytów oznacza, że dany antygen nie występuje w próbce.

Odczynniki zoptymalizowano do użycia w zalecanych technikach analitycznych bez konieczności dodatkowych rozcieńczeń ani dodawania innych substancji.

Dostarczane są odczynniki po filtracji (0,22 µm).

### MATERIAŁY

Produkt Anty-C (kod TW) zawiera przeciwciała uzyskane z linii komórkowej MS-273; produkt Anty-E (kod GI) zawiera przeciwciała uzyskane z linii komórkowych MS-12 i MS-260; produkt Anty-c (kod TV) zawiera przeciwciała uzyskane z linii komórkowej MS-35 a produkt Anty-e (kod GK) zawiera przeciwciała uzyskane z linii komórkowych MS-62 i MS-69. Odczynniki zawierają przeciwciała monoklonalne IgM pochodzenia ludzkiego w roztworze buforu zawierającego wielkocząsteczkowe potencjatory chemiczne, 0,1% (w/v) roztwór azydru sodu oraz materiał pochodzenia bydłowego. Jedna fiołka 5 ml umożliwia przeprowadzenie ok. 125-200 oznaczeń.

### ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Wszystkie produkty krwiopochodne należy traktować jako potencjalnie zakaźne. W badaniach dawców linii komórkowych z których uzyskano opisywane odczynniki potwierdzono ujemne wyniki testów na obecność przeciwciał przeciwko ludzkiemu wirusowi nabytego upośledzenia odporności (HIV), wirusowi zapalenia wątroby typu C (HCV), antygenów powierzchniowych wirusa zapalenia wątroby typu B (HbsAg), wirusa Epstein-Barra (EBV) oraz wirusów obecnych w materiale pochodzenia mysiego (Mouse Antibody Production, MAP). Żaden znany test nie daje całkowitej

1. pewności, że odczynniki wytwarzane z ludzkiej krwi są wolne od czynników zakaźnych. Należy zachować ostrożność podczas stosowania odczynników, niszczenia zużytych opakowań i usuwania ich zawartości.
2. Odczynniki zawierają środek konserwujący — roztwór azydru sodu o stężeniu 0,1% (w/v). Azydok 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. Wylwane odpady należy splukać dużą ilością wody.
3. Odczynniki powinny być klarowne; zmętnienie może oznaczać skażenie bakteryjne. Nie należy używać odczynników, jeżeli zawierają widoczne drobinę, osad lub żel fibrynowy (osad włóknika).
4. Odczynniki są przeznaczone wyłącznie do diagnostyki in vitro prowadzonej przez wykwalifikowany personel.
5. Materiał pochodzenia wołowego wykorzystany w tym produkcie uzyskano metodami zatwierdzonymi przez USDA lub z udokumentowanych źródeł. Uzyskano ujemne wyniki badań zwierząt, od których pobrano materiał, w kierunku zakaźności i ryzyka przenoszenia zakaźnych encefalopatii gąbczastych.
6. Produkty należy utylizować przez autoklawowanie lub zanurzenie w odpowiednio stężonym roztworze środków odkażających do rana następnego dnia.

### UWAGI DLA UŻYTKOWNIKÓW

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

Nie ma konieczności stosowania kontroli do każdego oznaczenia. Stosowanie odczynników kontrolnych (np. BIOSCOT Monoclonal Control (kod produktu: TT) zaleca się jedynie w przypadku oznaczeń grup krwi pacjentów z autoprzeciwciałami lub zaburzeniami białkowymi. W takich przypadkach kontrole należy wykonywać równoległe z każdym oznaczeniem przy użyciu odczynnika.

Przedstawiona charakterystyka odczynników odnosi się do procedur opisanych w niniejszej instrukcji. Przydatność odczynników w metodach innych niż opisane użytkownik musi określić samodzielnie.

W przypadku zmian charakterystyki analitycznej lub uszkodzenia opakowania należy się skontaktować z Działem Kontroli Jakości firmy Millipore (UK).

### WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Zamknięte lub otwarte odczynniki należy przechowywać w temperaturze 2-8 °C do daty ważności oznaczonej na etykiecie produktu.

Przechowywanie odczynników w niewłaściwej temperaturze (np. w warunkach podwyższonej temperatury lub wielokrotne rozmrażanie i zamrażanie) może przyspieszyć utratę ich reaktywności.

### POBIERANIE MATERIAŁU DO BADAŃ

Nie ma potrzeby przygotowania pacjenta przed pobraniem próbki. Próbki krwi żyłnej należy pobierać w typowy sposób a badanie należy wykonać 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 makroskopową hemolizę lub zanieczyszczenia mikrobiologiczne. Przechowywanie próbek w temperaturze innej od zalecanej może skutkować uzyskaniem fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych wyników oznaczeń.

### WYMAGANE MATERIAŁY NIEMCHODZĄCE W SKŁAD ZESTAWU

#### Metoda na szkiełku mikroskopowym

- Szkiełko podstawowe
- Minutnik laboratoryjny

#### Metoda mikroplątkowa

- Mikroplątka ze studzienkami „U”
- Sól fizjologiczna (roztwór izotoniczny)
- Minutnik laboratoryjny
- Wirówka (RCF 100)
- Mieszadło do mikroplątek
- Automatyczny czytnik mikroplątek (wyposażenie opcjonalne)

#### Mikrometoda kolumnowa

- Kasyety systemu Ortho BioVue® Neutral
- Sól fizjologiczna (roztwór izotoniczny), sól fizjologiczna buforowana fosforanem (PBS) lub rozpuszczalnik do erytrocytów Ortho® (0,8%)
- Mikropipety o objętości dozowania 10, 40 i 50 µl
- Minutnik laboratoryjny
- Wirówka kompatybilna z kasetami systemu Ortho BioVue
- Czytnik (opcjonalny)

#### Metoda probówkowa

- Probówka
- Sól fizjologiczna (roztwór izotoniczny)
- Inkubator (temp. inkubacji 37 °C)
- Minutnik laboratoryjny
- Wirówka (RCF 1000)

#### Mikrometoda żelowa

- Karta „NaCl, enzyme test and cold agglutinins” DiaMed ID
- Sól fizjologiczna (roztwór izotoniczny), Sól fizjologiczna buforowana fosforanem (PBS) lub rozpuszczalnik Diluent 2 DiaMed ID
- Mikropipety o objętości dozowania 10, 25 i 50 µl
- Minutnik laboratoryjny
- Wirówka kompatybilna z kartami DiaMed ID
- Czytnik (opcjonalny)

## ZALECANE METODY

### 1. METODA SZKIELKOWA

- 1.1. Na czyste, oznakowane szkiełko mikroskopowe nanieść 1 kroplę (40 µl) odczynnika Anty-C, Anty-E, Anty-c lub Anty-e.
- 1.2. Dodać taką samą objętość (40 µl) koncentratu krwinek czerwonych.
- 1.3. Wymieszać antysurowicę i krwinki na powierzchni o średnicy około 2 cm. Inkubować przez 30 s w temperaturze pokojowej.
- 1.4. Ostrożnie wahadłowo poruszać szkiełkiem mikroskopowym. Po 2 minutach makroskopowo odczytać wynik testu. Należy zwrócić uwagę, by nie interpretować wysychania mieszaniny jako aglutynacji.

### 2. METODA PROBÓWKOWA

- 2.1. Przygotować zawiesinę 3-5% roztworu badanych erytrocytów w izotonicznej soli fizjologicznej.
- 2.2. Do czystszej, oznakowanej probówki wprowadzić 1 kroplę (40 µl) odczynnika Anty-C, Anty-E, Anty-c lub Anty-e.
- 2.3. Dodać 1 kroplę (40 µl) zawiesiny badanych krwinek czerwonych.
- 2.4. Roztwór wymieszać i odwirować z przyspieszeniem 1000 RCF przez 20 sekund.
- 2.5. Ostrożnie wstrząsnąć probówką, aby oderwać erytrocyty od ścianek probówki, a następnie makroskopowo skontrolować obecność aglutynacji.
- 2.6. Probki z wynikiem ujemnym lub słabo dodatnim należy inkubować w temp. 37 °C przez 5 min, a następnie powtórzyć etapy 2.4 oraz 2.5. Celem inkubacji jest wzmocnienie reakcji w przypadku erytrocytów o słabych lub rzadkich fenotypach.

### 3. TECHNIKA MIKROPLYTKOWA

- 3.1. Przygotować zawiesinę 3-5% roztworu badanych erytrocytów w izotonicznej soli fizjologicznej.
- 3.2. Do studzienki mikro płytki wprowadzić 1 kroplę (40 µl) odczynnika Anty-C, Anty-E, Anty-c lub Anty-e.
- 3.3. Dodać do odpowiednich studzienek równą objętość (40 µl) zawiesiny erytrocytów.
- 3.4. Wymieszać zawartość studzienek ręcznie lub mieszadłem do mikro płytek.
- 3.5. Inkubować mikro płytkę w temp. pokojowej przez 15-20 minut.
- 3.6. Wirować z przyspieszeniem 100 RCF przez 40 sekund.
- 3.7. Odtworzyć zawiesinę erytrocytów ręcznie lub za pomocą wytrząsarki do mikro płytek.
- 3.8. Odczytać wynik makroskopowo lub za pomocą czytnika. Wynik uzyskany w czytniku mikro płytek wymaga weryfikacji przez użytkownika.

### 4. MIKROMETODA ŻELOWA

- 4.1. Przygotować 3-5% zawiesinę badanych erytrocytów w izotonicznej soli fizjologicznej lub PBS albo 0,8% zawiesinę w roztworze Diluent 2 DiaMed ID.
- 4.2. Dodać 10 µl 3-5% zawiesiny (lub 50 µl 0,8% zawiesiny) erytrocytów do mikro probówki lub karty systemu DiaMed ID.
- 4.3. Do odpowiedniej mikro probówki dodać 25 µl odczynnika Anty-C, Anty-E, Anty-c lub Anty-e.
- 4.4. Ostrożnie wymieszać i odwirować kartę systemu ID, przestrzegając czasu oraz prędkości podanych przez producenta karty systemu ID.
- 4.5. Odczytać wynik makroskopowo lub za pomocą czytnika. Wynik uzyskany w czytniku mikro płytek wymaga weryfikacji przez użytkownika.

### 5. MIKROMETODA KOLUMNOWA

- 5.1. Przygotować 3-5% zawiesinę badanych erytrocytów w izotonicznej soli fizjologicznej lub PBS albo 0,8% zawiesinę w roztworze Ortho 0.8% Red Cell Diluent.
- 5.2. Dodać 10 µl zawiesiny 3-5% (lub 50 µl zawiesiny 0,8%) erytrocytów do komory reakcyjnej kasety Ortho BioVue.
- 5.3. Do odpowiedniej mikrokomory dodać 40 µl odczynnika Anty-C, Anty-E, Anty-c lub Anty-e.
- 5.4. Ostrożnie wymieszać i odwirować kartę, przestrzegając czasu oraz prędkości podanych przez producenta kasety.
- 5.5. Odczytać wynik makroskopowo lub za pomocą czytnika. Wynik uzyskany w czytniku mikro płytek wymaga weryfikacji przez użytkownika.

## OGRANICZENIA METODY

W monoklonalnych odczynnikach zawierających przeciwciała IgM anty-Rh pochodzenia ludzkiego wykazano częste występowanie zimnych aglutynin anty-I/i aktywnych szczególnie wobec krwinek krwi pępowinowej i krwinek poddanych działaniu enzymów. Ten efekt może występować podczas stosowania odczynników w temperaturze niższej niż zalecana.

Wyniki oznaczenia mogą być fałszywie dodatnie w przypadku krwinek z dodatnim wynikiem bezpośredniego testu antyglobulinowego (DAT). W celu wykrycia wyników fałszywie dodatnich zaleca się wykonywanie kontroli z użyciem odczynnika BIOSCOT Monoclonal Control (kod produktu: TT).

Stosowanie twardych mikro płytek polistyrenowych jest korzystniejsze niż stosowanie płytek z PCV. Przydatność każdej partii mikro płytek należy zweryfikować w warunkach stosowanych przez użytkownika.

Nieprawidłowe przechowywanie lub użytkowanie kard DiaMed ID lub kaset Ortho BioVue może być przyczyną błędnych wyników oznaczenia. Karty i kasety należy przechowywać i użytkować zgodnie z zalecanymi instrukcjami producentów.

Kontaminacja badanego materiału lub nieprzestrzeganie zalecanych zasad oznaczenia mogą prowadzić do uzyskania wyników fałszywie dodatnich lub ujemnych.

## CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA

Stosując zalecane techniki przeprowadzono badania próbek (pobrane na EDTA lub cytrynian) od zdrowych dawców, pacjentów leczonych w warunkach klinicznych oraz noworodków z odczynnikami Anty-C (linia komórkowa: MS-273, kod: TW), Anty-E (linie komórkowe: MS-12/MS-260, kod: GI), Anty-c (linia komórkowa: MS-35, kod: TV), Anty-e (linie komórkowe: MS-62/MS-69, kod: GK). Zestaw próbek był reprezentatywny dla wszystkich głównych fenotypów. Całkowitą liczbę testów (n) oraz czułość i swoistość obliczoną dla każdej z metod przedstawiono w tabeli poniżej.

METODA	Anty-C (kod produktu TW)			
	CZUŁOŚĆ		SWOISTOŚĆ	
	n	%	n	%
Probówkowa	265	100	175	100
Mikro płytkowa	330	100	169	100
Na szkiełku mikrosk.	419	100	201	100
Żelowa	47	100	53	100
Kolumnowa	46	100	54	100

METODA	Anty-E (kod produktu GI)			
	CZUŁOŚĆ		SWOISTOŚĆ	
	n	%	n	%
Probówkowa	182	100	380	100
Mikro płytkowa	132	100	368	100
Na szkiełku mikrosk.	332	100	787	100
Żelowa	33	100	67	100
METODA	20	100	80	100

METODA	Anty-c (kod produktu TV)			
	CZUŁOŚĆ		SWOISTOŚĆ	
	n	%	n	%
Probówkowa	366	100	74	100
Mikro płytkowa	414	100	86	100
Na szkiełku mikrosk.	469	100	151	100
Żelowa	79	100	21	100
METODA	81	100	19	100

METODA	Anty-e (kod produktu GK)			
	CZUŁOŚĆ		SWOISTOŚĆ	
	n	%	n	%
Probówkowa	488	100	8	100
Mikro płytkowa	447	100	33	100
Na szkiełku mikrosk.	1101	100	18	100
Żelowa	80	100	20	100
METODA	88	100	12	100

### Definicje zgodnie z Common Technical Specifications (CTS):

**Czułość diagnostyczna:** Prawdopodobieństwo uzyskania dodatniego wyniku badania próbki zawierającej substancję docelową.

**Swoistość diagnostyczna:** Prawdopodobieństwo uzyskania ujemnego wyniku badania próbki niezawierającej substancji docelowej.

## PIŚMIENICTWO

1. Issitt, P.D. and Anstee, D.J. Applied Blood Group Serology, 4th Edition. Montgomery Publication, 1998.
2. Daniels, G. Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd, 1995
3. Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom, 5th Edition. The Stationary Office, 2001.

## PRODUCENT

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

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

PL131/d  
2011-10