

Anty-C<sup>w</sup> Linia komórkowa: MS-110  
Kod produktu: TX

Odczynnik monoklonalny IgM pochodzenia ludzkiego do oznaczeń grup krwi.

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



## PRZEZNACZENIE

Odczynnik monoklonalny BIOSCOT Anty-C<sup>w</sup> (linia komórkowa MS-110) IgM pochodzenia ludzkiego służy do oznaczeń antygenu grupowego krwi C<sup>w</sup> na szkiełkach mikroskopowych, w probówkach, mikroplątkach oraz w mikrometodzie kolumnowej i żelowej przez pracowników przeszkolonych w zakresie badań serologicznych.

## WPROWADZENIE

### Antygen C<sup>w</sup>

Antygen C<sup>w</sup> wchodzi w skład układu grupowego krwi Rh obejmującego ponad 40 antygenów lub kompleksów antygenowych. W różnych populacjach obserwuje się odmienną częstość występowania antygenu C<sup>w</sup>. Średnia częstość występowania w populacji białej wynosi 2,6% jednak w niektórych populacjach w Europie częstość występowania może sięgać 8%. Antygen występuje bardzo rzadko w populacjach azjatyckich i afrykańskich. Erytrocyty z ekspresją antygenu C<sup>w</sup> niemal zawsze wykazują ekspresję antygenu C aczkolwiek w rzadkich przypadkach może występować antygen c. Uważa się, że przeciwciała Anty-C<sup>w</sup> odgrywają rolę w chorobie hemolitycznej i w reakcjach potransfuzyjnych.

## ZASADA DZIAŁANIA ODCZYNNIKA

Podczas stosowania zgodnie z zaleceniami w przypadku testu dodatniego odczynnik wywołuje aglutynację (zlepianie) krwinek czerwonych wykazujących ekspresję odpowiedniego antygenu. Ujemny wynik testu w postaci braku aglutynacji erytrocytów oznacza, że dany antygen nie występuje w próbce.

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

Dostarczany jest odczynnik po filtracji (0,22 µm).

## MATERIAŁY

Odczynnik do oznaczeń grup krwi Anty-C<sup>w</sup> (kod produktu TX) zawiera przeciwciała uzyskane z linii komórkowej MS-110. Odczynnik zawiera 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 2 ml umożliwia przeprowadzenie ok. 50-80 oznaczeń.

## ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Wszystkie produkty krwiopochodne należy traktować jako potencjalnie zakaźne. W badaniach dawców linii komórkowych z których uzyskano opisywany odczynnik 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 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. Odczynnik zawiera środek konserwujący — roztwór azydru sodu o 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. Wylwane odpady należy splukać dużą ilością wody.
3. Odczynnik powinien być klarowny; zmętnienie może oznaczać skażenie bakteryjne. Nie należy używać odczynnika, jeśli zawiera widoczne drobin, osad lub żel fibrynowy (osad włóknika).
4. Odczynnik jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki in vitro.

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. Produkt 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 odczynnika odnosi się do procedur opisanych w niniejszej instrukcji. Przydatność odczynnika 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

Zamknięty lub otwarty odczynnik należy przechowywać w temperaturze 2-8 °C do daty ważności oznaczonej na etykiecie produktu.

Przechowywanie odczynnika w niewłaściwej temperaturze (np. w warunkach podwyższonej temperatury lub wielokrotne rozmrażanie i zamrażanie) może przyspieszyć utratę 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 NIEWCHODZĄCE W SKŁAD ZESTAWU

### Metoda na szkiełku mikroskopowym

- Szkiełko podstawowe
- Sól fizjologiczna lub zgodna surowica (osocze)
- 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 SZKIEŁKOWA**

- 1.1. Przygotować 35-50% zawiesinę badanych krwinek czerwonych w autologicznym (lub zgodnym grupowo) osoczu, surowicy lub soli fizjologicznej.
- 1.2. Na czyste, oznakowane szkiełko mikroskopowe nanieść 1 kroplę (40 µl) odczynnika Anty-C<sup>w</sup>.
- 1.3. Dodać 1 kroplę (40 µl) zawiesiny badanych krwinek czerwonych.
- 1.4. Wymieszać antysurowicę z krwinkami na powierzchni o średnicy około 2 cm przez delikatne poruszanie szkiełkiem. 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 oznakowanej probówki wprowadzić 1 kroplę (40 µl) odczynnika Anty-C<sup>w</sup>.
- 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. Próbkę 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 MIKROPŁYTKOWA**

- 3.1. Przygotować zawiesinę 3-5% roztworu badanych erytrocytów w izotonicznej soli fizjologicznej.
- 3.2. Do odpowiednich studzienek mikro płytki wprowadzić 1 kroplę (40 µl) odczynnika Anty-C<sup>w</sup>.
- 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<sup>w</sup>.
- 4.4. 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 komory reakcyjnej dodać 40 µl odczynnika Anty-C<sup>w</sup>.
- 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 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 Orthop 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 (pobranych na EDTA lub cytrynian bądź bez użycia koagulantu) od zdrowych dawców, pacjentów leczonych w warunkach klinicznych oraz noworodków z odczynnikiem Anty-C<sup>w</sup> (linia komórkowa: MS-110). 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 <sup>w</sup> (kod produktu TX)			
	CZUŁOŚĆ		SWOISTOŚĆ	
	n	%	n	%
Probówkowa	18	100	482	100
Mikropłytkowa	35	100	465	100
Na szkiełku mikrosk.	26	100	474	100
Żelowa	12	100	88	100
Kolumnowa	12	100	88	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.

## PIŚMIENNICTWO

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

PI130/f  
2013-01