

## LORNE LABORATORIES LTD.

Wielka Brytania

### Monoklonalne odczynniki do oznaczeń grupowych krwi

Wskazówki dotyczące stosowania

### Anti-S i Anti-s: do pośrednich metod antyglobulinowych

#### STRESZCZENIE

Antygeny S i s opisano, odpowiednio, w roku 1947 i 1951; stanowią one część układu grupowego MNS. Anti-S i anti-s odgrywają rolę w hemolitycznych odczynach poprzetoczeniowych i w hemolitycznej chorobie noworodków.

Anti-S	Anti-s	Fenotyp	Biali %	Afro-Amerykanie %
+	0	S+s-	11	3
+	+	S+s+	44	28
0	+	S-s+	45	69
0	0	S-s-	0	<1

#### ZASADA OZNACZANIA

Odczynniki powodują pośrednią aglutynację (zlepianie) badanych krwinek czerwonych, niosących specyficzny antygen docelowy w antyglobulinowej fazie testu. Brak aglutynacji zasadniczo oznacza nieobecność specyficznego antygeny docelowego (patrz: Ograniczenia).

#### ODCZYNNIKI

W skład odczynników monoklonalnych IgG do oznaczeń grupowych krwi wchodzi ludzkie przeciwciała monoklonalne w roztworze buforowym zawierającym chlorek sodu i albuminę pochodzenia wołowego. Każdy odczynnik dostarczany jest w rozcieńczeniu optymalnym do użycia za pomocą wszystkich zalecanych metod opisanych poniżej, bez konieczności dalszego rozcieńczania lub uzupełniania. Numer referencyjny partii oraz datę ważności umieszczono na etykiecie fiołki.

Produkt	Linia komórkowa / klon
Anti-S	P3S13JS123
Anti-s	P3YAN3

#### PRZECHOWYWANIE

Nie zamrażać. Fiolki z odczynnikami powinny być przechowywane w temperaturze 2-8°C. Długotrwałe przechowywanie w temperaturach spoza tego zakresu może doprowadzić do przyspieszonej utraty reaktywności odczynnika. Odczynnik poddany był badaniom stabilności transportowej w temp. 37°C i -25°C, opisanym w dokumencie EN 13640:2002.

#### POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

Do oznaczeń antygeny używać można próbek krwi pobranych z antykoagulantem lub bez niego. Jeżeli próbki badane będą w późniejszym terminie, należy przechowywać je w temperaturze 2-8°C. Próbki pobrane na EDTA lub cytrynian powinny zostać zbadane w ciągu 48 godzin. Próbki pobrane na ACD, CPD lub CPDA-1 mogą być badane w terminie do 35 dni od daty pobrania. Wszystkie próbki krwi powinny zostać przed badaniem przemyte przynajmniej dwukrotnie roztworem PBS (zbuforowanym fizjologicznym roztworem soli) lub roztworem izotonicznym soli fizjologicznej.

#### ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Odczynniki przeznaczone są wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.
2. Jeżeli fiolka z odczynnikiem jest pęknięta lub nieszczelna, należy natychmiast usunąć jej zawartość.
3. Nie używać odczynników po upływie terminu ważności (patrz: etykieta fiolki).
4. Nie używać odczynników, jeśli doszło do wytrącenia osadu.
5. Podczas używania odczynników należy nosić odzież ochronną, taką jak jednorazowe rękawiczki i płaszcz laboratoryjny.
6. Odczynniki przefiltrowano przez filtr kapsułowy 0,2 µm w celu zmniejszenia ich obciążenia biologicznego. Po otwarciu fiolki jej zawartość powinna zachować żywotność aż do upływu terminu ważności, o ile nie pojawi się wyraźne zmętnienie, które może wskazywać na rozkład lub skażenie odczynnika.
7. Odczynniki zawierają roztwór azydku sodu o stężeniu 0,1%. Azydek sodu może być trujący po spożyciu. Może również tworzyć wybuchowe azydki metali w reakcji z ołowiem i miedzią wchodzącymi w skład rur instalacji wodno-kanalizacyjnej. Wylewane odpady należy spłukać dużą ilością wody.
8. Materiał użyty do produkcji odczynników był badany źródłowo, dając wynik negatywny na obecność przeciwciał HIV 1+2 i HCV oraz HBsAg, przy zastosowaniu uznanych testów mikrobiologicznych.
9. Żadne znane testy nie mogą zagwarantować, że produkty pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego są wolne od czynników zakaźnych. Należy zachować ostrożność podczas stosowania i usuwania każdej fiolki i jej zawartości.

## **USUWANIE ODCZYNNIKA I POSTĘPOWANIE Z WYCIEKAMI**

Informacje na temat usuwania odczynników i odkażania miejsc ich rozlania zawarte są w kartach charakterystyki substancji niebezpiecznych, dostępnych na życzenie.

## **KONTROLA I UWAGI DLA UŻYTKOWNIKÓW**

1. Zaleca się wykonywanie równoległe kontroli dodatniej (w sytuacji idealnej - na komórkach heterozygotycznych) i ujemnej przy każdej partii testów. Jeżeli wynik kontroli różni się od oczekiwanego, testy należy uznać za niewiarygodne.
2. Metody antyglobulinowe mogą być uznane za ważne jedynie wtedy, gdy wszystkie testy negatywne reagują dodatnio z krwinkami czerwonymi uczulonymi IgG.
3. W metodzie próbówkowej, przy zastosowaniu dołączonego wkraplacza, jedna objętość wynosi ok. 40 µl.
4. Użycie odczynników i interpretacja wyników musi być prowadzona przez odpowiednio przeszkolony i wykwalifikowany personel, zgodnie z wymogami kraju, w którym odczynniki są stosowane.
5. Użytkownik musi określić przydatność odczynników do zastosowania w innych metodach.

## **WYMAGANE ODCZYNNIKI I MATERIAŁY**

- ▲ Odczynnik antyglobulinowy (przeciwko ludzkiej globulinie), np. Lorne Polyspecific AHG Elite (nr kat. 435010) lub Anti-IgG, np. Lorne Monospecific Anti-IgG (nr kat. 402010).
- ▲ Roztwór do przemywania krwinek do testu Coombsa.
- ▲ Karty DiaMed ID (LISS/Coombs).
- ▲ Wirówka DiaMed ID
- ▲ Buforowana sól fizjologiczna Diamed ID CellStab.
- ▲ Inkubator DiaMed ID zrównoważony na temp. 37°C ± 2°C.
- ▲ Probówki szklane (10 x 75 mm lub 12 x 75 mm).
- ▲ Krwinki czerwone uczulone IgG, tj. Lorne Coombs Control Cells (nr kat. 970010).
- ▲ Kasety Ortho BioVue System (AHG/Coombs).
- ▲ Wirówka Ortho BioVue System.
- ▲ Blok grzejny Ortho BioVue System, zrównoważony na temp. 37°C ± 2°C.

- ▲ Rozcieńczalnik krwinek czerwonych Ortho 0,8%.
- ▲ Roztwór PBS (sól fizjologiczna buforowana fosforanami) (pH 6,8-7,2) lub izotoniczny roztwór soli fizjologicznej (pH 6,5-7,5).
- ▲ Krwinki czerwone do kontroli dodatniej (w sytuacji idealnej - heterozygotyczne) i ujemnej.
- ▲ Pipety miarowe.
- ▲ Kąpiel wodna lub suchy inkubator zrównoważony na temp.  $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

## ZALECANE METODY

### A. Pośredni test antyglobulinowy (IAT)

1. Przygotować 2-3% zawiesinę przemytych krwinek czerwonych w roztworze PBS lub izotonicznym roztworze soli fizjologicznej.
2. W oznakowanej probówce umieścić 1 objętość odczynnika Lorne i 1 objętość badanej zawiesiny krwinek czerwonych.
3. Dokładnie wymieszać i poddać inkubacji w temp.  $37^{\circ}\text{C}$  przez 15 minut.
4. Jednokrotnie przemyć badane krwinki czerwone roztworem PBS lub izotonicznym roztworem soli fizjologicznej, a następnie starannie odsączyć roztwór.
5. Dodać 2 objętości odczynnika antyglobulinowego przeciwko ludzkiej globulinie lub anti-IgG do każdego krążka suchych krwinek.
6. Dokładnie wymieszać i odwirować wszystkie próbki przez 20 sekund przy 1000 rcf lub z zastosowaniem innego odpowiedniego czasu i siły.
7. Delikatnie wstrząsnąć probówką, by uwolnić krwinki czerwone i sprawdzić makroskopowo, czy nastąpiła aglutynacja.
8. Potwierdzić wiarygodność wszystkich reakcji ujemnych za pomocą krwinek czerwonych uczulonych IgG.

### B. Metoda oznaczeń Diamed ID Micro

1. Przygotować 0,8% zawiesinę przemytych badanych krwinek czerwonych w rozcieńczalniku ID.
2. Usunąć folię aluminiową z niezbędnej liczby mikroprobówek.
3. W odpowiedniej mikroprobówce umieścić 50  $\mu\text{l}$  zawiesiny badanych krwinek czerwonych i 25  $\mu\text{l}$  odczynnika Lorne.
4. Poddać kartę/y ID LISS/Coombs inkubacji w temp.  $37^{\circ}\text{C}$  przez 15 minut.
5. Odwirować kartę/y ID LISS/Coombs w wirówce do kart ID Diamed.
6. Sprawdzić makroskopowo, czy nastąpiła aglutynacja.

### C. Metoda oznaczeń Ortho BioVue

1. Przygotować 0,8% zawiesinę przemytych badanych krwinek czerwonych w 0,8% rozcieńczalniku krwinek czerwonych Ortho.
2. Usunąć folię aluminiową z niezbędnej liczby studzienek reakcyjnych.
3. W odpowiedniej studziencie reakcyjnej umieścić 50  $\mu\text{l}$  zawiesiny badanych krwinek czerwonych i 40  $\mu\text{l}$  odczynnika Lorne.
4. Poddać kasetę/y inkubacji w temp.  $37^{\circ}\text{C}$  przez 15 minut.
5. Odwirować kasetę/y w wirówce Ortho BioVue System przez 5 minut.
6. Sprawdzić makroskopowo, czy nastąpiła aglutynacja.

## INTERPRETACJA WYNIKÓW TESTÓW

1. **Dodatni:** Aglutynacja badanych krwinek czerwonych stanowi dodatni wynik testu i, przy uwzględnieniu przyjętych ograniczeń metody testowej, wskazuje na obecność odpowiedniego antygeny na badanych krwinkach czerwonych.
2. **Ujemny:** Brak aglutynacji badanych krwinek czerwonych stanowi ujemny wynik testu i, przy uwzględnieniu przyjętych ograniczeń metody testowej, świadczy o braku

odpowiedniego antygeny na badanych krwinkach czerwonych.

### **STABILNOŚĆ REAKCJI**

1. Etapy przemywania powinny następować bez przerw, a wirowanie próbek i odczyt wyników powinny być wykonane natychmiast po dodaniu odczynnika. Opóźnienia mogą doprowadzić do dysocjacji kompleksów antygen-przeciwciała, dając fałszywe wyniki ujemne lub słabe dodatnie.
2. Należy zachować ostrożność podczas interpretowania wyników testów wykonywanych w temperaturach odbiegających od zalecanych.

### **OGRANICZENIA**

1. Krwinki czerwone o dodatnim bezpośrednim teście antyglobulinowym z powodu pokrycia IgG nie mogą być badane metodą pośredniego testu antyglobulinowego.
2. Słumiona lub zmniejszona ekspresja pewnych antygenów grup krwi może, odwrotnie, wywołać fałszywie ujemne reakcje, dlatego też zawsze należy zachowywać ostrożność podczas określania genotypów na podstawie wyników testu.
3. Fałszywie dodatnie lub fałszywie ujemne wyniki mogą również wystąpić z powodu:
  - ▲ skażenia materiałów testowych,
  - ▲ niewłaściwego przechowywania, skupienia komórek, czasu lub temperatury inkubacji,
  - ▲ niewłaściwego lub nadmiernego wirowania,
  - ▲ odchylenia od zalecanych metod.

### **CHARAKTERYSTYKA PRODUKTU**

1. Odczynniki zostały zwalidowane metodami opisanymi w dziale: Zalecane Metody.
2. Przed wypuszczeniem do obrotu każda partia odczynnika Lorne Anti-S i Anti-s testowana jest za pomocą Zalecanych Metod na panelu krwinek czerwonych o dodatnim odczynie antygenów dla zagwarantowania odpowiedniej reaktywności.
3. Specyficzność źródłowych przeciwciał monoklonalnych wykazywana jest przy użyciu panela krwinek o negatywnym odczynie antygenów.
4. Kontrola jakości odczynników prowadzona jest przy użyciu krwinek czerwonych, uprzednio dwukrotnie przemytych roztworem PBS lub izotonicznym roztworem soli fizjologicznej.
5. Odczynniki odpowiadają zaleceniom, zawartym w najnowszym wydaniu wytycznych dla brytyjskich służb transfuzji krwi w Wielkiej Brytanii.

### **WYŁĄCZENIE ODPOWIEDZIALNOŚCI**

1. Przy zastosowaniu metod innych niż opisane w dziale Zalecane Metody, odpowiedzialność za działanie odczynników ponosi użytkownik.
2. Wszelkie odchylenia od Zalecanych Metod powinny być walidowane przez użytkownika<sup>6</sup>.

### **BIBLIOGRAFIA**

1. Widman FK. Technical Manual [Podręcznik techniczny], 9th Edition. American Association of Blood Banks, Arlington, VA, 1985; Chapter 8
2. Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man [Ludzkie grupy krwi], 6th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1975; Chapter 2
3. Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine [Transfuzje krwi w medycynie klinicznej], 8th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1987; Chapter 7
4. Issitt PD. Applied Blood Group Serology [Stosowana serologia grup krwi], 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, [Wytyczne dla służb transfuzji krwi w Wielkiej Brytanii], H.M.S.O. Current Edition.
6. British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for

blood grouping, antibody screening and cross matching. [Brytyjski Komitet Standardów w Hematologii, Personal wykonawczy transfuzji krwi. Zalecenia dot. oceny, walidacji i stosowania nowych metod oznaczania grup krwi, przesiewowych badań przeciwciał i prób krzyżowych], Transfusion Medicine, 1995, 5, 145-150.

## DOŚTĘPNE OBJĘTOŚCI ODCZYNNIKÓW

	Wielkość fiołki	Nr katalogowy
<b>Lorne Monoclonal Anti-S</b>	2 ml	770002
	1000 ml	770000*
<b>Lorne Monoclonal Anti-s</b>	2 ml	771002
	1000 ml	771000*

\* Ta objętość przeznaczona jest wyłącznie do dalszego użytku produkcyjnego, dlatego też nie jest oznaczona symbolem CE.

W sprawie dostępności innych objętości prosimy skontaktować się z:

### Lorne Laboratories Limited

Unit 1 Danehill  
Cutbush Park Industrial Estate  
Lower Earley, Reading,  
Berkshire, RG6 4UT  
England  
Tel: +44 (0) 118 921 2264  
Fax: +44 (0) 118 986 4518  
E-mail: [info@lornelabs.com](mailto:info@lornelabs.com)

## TABELA SYMBOLI

**LOT**

Numer serii

**REF**

Numer katalogowy



Data ważności

**IVD**

Diagnostyka in vitro



Przechowywać w temp.



Producent



Przeczytaj ulotkę informacyjną

Numer referencyjny dokumentu: CEPI770/771

Numer wystawienia dokumentu: 4/03/2012