

## Anty-A, Anty-B, Anty-AB (monoklonalne)

Do metody szkiełkowej, probówkowej, mikrokolumnowej i płytkowej  
WYŁĄCZNIE DO DIAGNOSTYKI IN VITRO

### PRZEZNACZENIE

Odczynniki monoklonalne anty-A, anty-B oraz anty-AB – produkowane są z nasączonej hodowli mysich linii komórkowych. Komórki zawierają przeciwciała klasy IgM, które reaguje z odpowiednim antygenem. Przeciwciała jest białkiem ludzkim. Odczynniki używane są do określania czy krwinki czerwone zawierają odpowiednie antygeny A lub B lub ich nie zawierają. Odczynniki przeznaczone są do stosowania wyłącznie przez wykwalifikowany personel techniczny.

### ZASADA DZIAŁANIA

Procedury użycia odczynników opierają się na zasadzie aglutynacji. Normalne ludzkie erythrocyty zawierające odpowiedni antygen będą wchodzić w aglutynację w obecności przeciwciała skierowanego przeciw temu antygenowi.

### ODCZYNNIKI

Odczynniki wymienione poniżej zawierają przeciwciała następujących klonów:

Anty-A      monoklonalne, mysie (klon Birma-1)  
Anty-B      monoklonalne, mysie (klon LB-2)  
Anty-AB    monoklonalne, mysie (klon ES-4, ES-15)

Wszystkie odczynniki zawierają <0.1% (w/v) azdyku sodu pełniącego rolę konserwantu. Dodatkowo, odczynniki przygotowane są z aktywnych przeciwciał, chlorku sodu, makromolekuł oraz albumin wołowej.

### UWAGA

Odczynniki zostały przygotowane z nasączonej linii komórkowych. Jako produkt biologiczny powinny być uznawane jako potencjalnie zakaźne, ponieważ nigdy nie można wykluczyć występowania groźnych czynników chorobotwórczych. Odczynniki zawierają azot sodu, który może być toksyczny i może reagować z ołowiem lub miedzią tworząc łatwopalne sole. W momencie utylizacji przepłukać dużą ilością wody. Z wyżej wymienionych powodów odczynniki powinny być używane z należytą starannością.

### WARUNKI PRZECZOWYWANIA

Przechowywać otwarte lub zamknięte produkty w temperaturze od 2 do 8°C. Dopuszcza się przechowywanie w temperaturze pokojowej (15 do 30°C) na czas trwania badania. Odczynniki należy używać i przechowywać do daty ważności określonej na etykiecie.

### UWAGI

1. Siła dodatnich reakcji zależy także od wieku użytej krwi.
2. Podczas przeprowadzania badania należy uwzględnić badanie kontrolne z surowicą. Wyniki badań nie mogą się wykluczać.
3. Niewłaściwie przechowywanie osłabia skuteczność odczynnika.
4. Wirowanie w warunkach znacznie różniących się od wyznaczonej względnej siły odśrodkowej może prowadzić do uzyskania fałszywych wyników.
5. Próbkę krwi do badania należy użyć możliwie najszybciej. Jeśli badanie się opóźnia, próbki należy przechowywać w temperaturze od 2 do 8°C. Próbkę pobraną przy zastosowaniu cytrynianu lub EDTA należy zużyć w ciągu 14 dni.
6. Procedury opisane poniżej przeznaczone są do stosowania manualnego. Podczas stosowania w urządzeniach automatycznych lub półautomatycznych należy przestrzegać procedur zawartych w instrukcji używania urządzenia dostarczonego przez wytwórcę. Aby wykazać zgodność produktu w systemach automatycznych laboratorium muszą przestrzegać zatwierdzonych procedur walidacji.
7. Podczas użycia odczynników należy uwzględnić wszelkie przepisy krajowe, dyrektywy oraz wytyczne, w Niemczech szczególnie „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)”.

### PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKA

Nie ma potrzeby specjalnego przygotowania odczynników. Produkty należy używać bezpośrednio z fiolki.

### PROCEDURA

Wymagane materiały dodatkowe niezawarte w opakowaniu

Badanie metodą szkiełkową:      szkiełko; pipeta Pasteura; mieszałdo  
Badanie metodą probówkową:    probówki, 10 x 75 mm lub 12 x 75 mm; pipeta;  
wirówka; roztwór NaCl (0,85 - 0,9%)

Badanie metodą mikrokolumnową:    karty (DiaMed ID-Card "NaCl, enzym test and cold agglutinins", BIO-RAD „Scangel neutral” lub Grifols „DG Gel Neutral”); pipeta; wirówka do kart; modyfikowany odczynnik Liss.

Badanie metodą mikropłytkową:    Mikropłytki z 96 dołkami typu U, pipeta, wirówka; wstrząsarka, roztwór NaCl (0,85-0,9%)

### Procedura badania

#### Metoda szkiełkowa

1. Używać wyłącznie osadu krwinek lub krwi pełnej.
2. Umieścić na szkiełku jedną kroplę (około 50 µL) odpowiedniego odczynnika.
3. Przy użyciu pipety Pasteura nanieść na szkiełko jedną kroplę (około 50 µL) osadu krwinek lub krwi pełnej.
4. Dokładnie wymieszać krwinki i odczynniki za pomocą mieszałki i rozprzestrzenić na kształt koła (średnica 2 cm).
5. Poprzez delikatne obracanie szkiełkiem odczytać aglutynację w ciągu 1 minuty (reakcja rozpoczyna się w ciągu kilku sekund). Zanotować wyniki. Mogą wystąpić niespecyficzne reakcje w wyniku schnięcia pola reakcyjnego lub jeśli szkiełko jest podgrzane.

#### Metoda probówkowa

1. Używać wyłącznie zawiesiny krwinek czerwonych o stężeniu 2% do 5% w NaCl (krwinki przemyte jeden lub do trzech razy w NaCl).
2. Dodać do każdej probówki 100 µL (alternatywnie: jedną kroplę = około 50 µL) odczynnika.
3. Dodać do każdej probówki 100 µL (alternatywnie: jedną kroplę = około 50 µL) zawiesiny krwinek.
4. Dokładnie wymieszać poprzez delikatne potrząsanie.
5. Inkubować w temperaturze pokojowej (15 do 30 °C) przez 1-15 min.
6. Odwirować przez 1 minutę przy 1.000 obr./min. (około 180-270 x g).
7. Delikatnie wymieszać krwinki oraz sprawdzić makroskopowo aglutynację w ciągu 3 minut. Zanotować wyniki.

#### Metoda mikrokolumnowa

1. Używać 0,8 % zawiesiny krwinek czerwonych w modyfikowanym odczynniku Liss.
2. Do każdej mikrokolumny dodać 50 µL zawiesiny krwinek.
3. Dodać 25 µL odczynnika do każdej mikrokolumny. Przy zastosowaniu technik automatycznych dodać 10 µL odczynnika. Zastosowanie 10 µL odczynnika w metodach manualnych jest również możliwe.
4. Najpóźniej po 30 minutach wirować kartę w odpowiedniej wirówce do kart.
5. Odczytać makroskopowo aglutynację w ciągu 30 minut. Zanotować wyniki.

#### Metoda mikropłytkowa

1. Używać zawiesiny krwinek czerwonych o stężeniu 2-5% w NaCl (krwinki mogą być przemyte jeden lub do trzech razy w NaCl).
2. Do każdego dołka dodać 50 µL zawiesiny krwinek.
3. Do każdego dołka dodać 50 µL odczynnika.
4. Mieszać z maksymalną szybkością przez 30 sekund za pomocą wstrząsarki.
5. Wirować płytkę w odpowiedniej wirówce przez 30 sekund przy 400 x g.
6. Sprawdzić makroskopowo aglutynację przy użyciu wstrząsarki ze średnią prędkością przez 30 sekund. Zanotować wyniki.

#### INTERPRETACJA WYNIKÓW

"Delikatne obracanie / wstrząsanie" metodą szkiełkową/probówkową/mikropłytkową:

Wynik dodatni (+): widoczna aglutynacja krwinek stanowi wynik dodatni i wskazuje na obecność antygenu.

Wynik ujemny (-): Brak widocznej aglutynacji krwinek stanowi wynik ujemny i wskazuje na brak antygenu.

Odczyt oraz interpretację karty żelowej należy przeprowadzić zgodnie z instrukcją używania danej karty.

#### OGRA NICZENIA W DZIAŁANIU

1. Niedokładne stosowanie się do instrukcji podanych w punkcie „Procedura” oraz „Interpretacja wyników” może prowadzić do uzyskania nieprawidłowych wyników.
2. Nie można wysnuć prawidłowych wniosków dotyczących wyników badań, jeśli wyniki kontroli są niepewne lub fałszywe.
3. Erytrocyty traktowane enzymami mogą reagować nieswoiście.
4. Ze względu na zmienność ekspresji antygenów, reaktywność odczynników przeciwko niektórym fenotypom może wykazać słabszą reakcję w porównaniu do krwinek kontrolnych. Anty-A nie będzie reagować ze wszystkimi krwinkami Ax.
5. Krwinki czerwone pokryte alloprzeciwciałami lub autoprzeciwciałami o tej samej lub podobnej specyficzności jak odczynnik (np. krwinki dodatnie w bezpośrednim teście antyglobulinowym BTA) mogą wykazać słabsze reakcje. W skrajnych przypadkach mogą wystąpić fałszywie ujemne wyniki.
6. Krwinki czerwone opłaszczane przeciwciałami (krwinki dodatnie w bezpośrednim teście antyglobulinowym BTA) mogą wykazać fałszywie dodatnie wyniki w metodzie mikrokolumnowej. Krwinki te reagują dodatnio również bez odczynnika.
7. Jeśli produkty zostały wyciągnięte z 1L kolby, materiał z tego pojemnika musi zostać zużyty w ciągu 6 miesięcy.
8. Należy zwrócić uwagę na wszelkie ograniczenia stosowania zawarte w instrukcji używania karty żelowej.
9. Odczynnik anty-B nie będzie reagował z „nabytym B”.

#### CHARAKTERYSTYKA DZIAŁANIA

Zgodnie ze Wspólną Specyfikacją Techniczną (Decyzja Komisji z dnia 3 lutego 2009) przeprowadzono ocenę działania. Użyto różnych próbek (dawców, pacjentów, krwi panelowej) w porównaniu z innymi produktami.

Produkt	Dodatni	Ujemny	Falszywie Dodatni	Falszywie Ujemny
Anty-A	2192	2562	0	0
Anty-B	1087	3631	0	0
Anty-AB	1436	946	0	0

Otrzymane wartości:

Produkt	Czułość	Specyficzność
Anty-A	100%	100%
Anty-B	100%	100%
Anty-AB	100%	100%

ANTITOXIN GmbH  
Industriestraße 88  
69245 Barmmental  
Niemcy

730-13-0110 Wersja 010 / 01. Wrz 2014

CE 0483