

# ODCZYNNIKI DO BADANIA GRUP KRWI

## INSTRUKCJA UŻYCIA

### Odczynniki monoklonalne Anty-A, Anty-B i Anty-A,B

Do metody probówkowej, DiaMed-ID, Ortho BioVue, mikropłytkowej oraz szkiełkowej.

### STRESZCZENIE

W 1900 roku Landsteiner odkrył, że surowica pewnych ludzi aglutynuje krwinki czerwone innych. Aktualnie są rozpoznawane cztery powszechne fenotypy: O, A, B i AB. Od tego czasu zidentyfikowano podgrupy A i B.

Ozn. na podst. krwi			Ozn. na podst. surowicy			ABO R. Kaukaska		
A	B	A,B	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	B	O		
+	0	+	0	0	+	0	A	42
0	+	+	+	+	0	0	B	10
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

### ZASADA DZIAŁANIA

Odczynnik będą powodować bezpośrednią aglutynację (zlepianie) krwinek badanych posiadających odpowiedni antygen ABO. Brak aglutynacji oznacza zazwyczaj brak odpowiedniego antygenu ABO (patrz Ograniczenia metody).

### ODCZYNNIK

Odczynniki monoklonalne ABO do badania grup krwi zawierają myśle przeciwciała monoklonalne rozpuszczone w buforze fosforanowym zawierającym chlorek sodu, EDTA oraz albuminę wołową. Odczynniki dostarczane są w optymalnym rozcieńczeniu do użycia z próbkami pacjenta w we wszystkich zalecanych technikach wymienionych poniżej bez potrzeby dalszych rozcieńczeń bądź dodatków. W celu określenia serii i daty ważności należy zapoznać się z etykietą na buteleczce.

### PRZECZYSZCZANIE

Odczynnik powinien być przechowywany w temperaturze 2 - 8°C. Wydłużone przechowywanie w temperaturach poza tym zakresem może skutkować przyspieszoną utratą reaktywności odczynnika. Odczynnik został poddany badaniom transportowym w temperaturze +37°C oraz -25°C jak opisano w dokumencie EN13640:2002.

### POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBK

Próbki krwi powinny być pobrane przy użyciu antykoagulantów lub bez ich użycia. Jeśli badanie się opóźnia, próbki należy przechowywać w temperaturze 2-8°C. Próbk z EDTA lub cytrynianem powinny być przebadane w ciągu 7 dni. Próbk pobrane na ACD, CPD lub CPDA-1 mogą być przebadane do 35 dni od daty pobrania. Wszystkie próbki krwi powinny zostać przemyte przynajmniej dwukrotnie PBS lub izotonicznym roztworem soli przed użyciem. Próbk wykazujące lizę mogą powodować niewiarygodne wyniki.

### ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Odczynnik przeznaczony jest wyłącznie do diagnostyki in vitro.
- Jeśli buteleczka z odczynnikiem jest uszkodzona bądź przecieka należy niezwłocznie odrzucić jej zawartość.
- Nie należy używać odczynnika po dacie ważności (patrz etykieta na buteleczce).
- Nie używać odczynnika jeśli widoczny jest osad.
- Podczas pracy z odczynnikami należy uwzględnić ubranie ochronne takie jak jednorazowe rękawiczki oraz fartuch laboratoryjny.
- W celu ograniczenia obciążenia biologicznego odczynnik został przefiltrowany przez sączki 0.2 µm. Zawartość fiolek po otwarciu będzie przydatna do użycia do daty określonej na etykiecie do momentu kiedy widoczne będzie znaczne zmętnienie, które może oznaczać zanieczyszczenie bądź osłabienie odczynnika.
- Odczynnik zawiera < 0.1% azydki sodu. Azydki sodu może być toksyczny po spożyciu oraz może reagować z tlenem i miedzią tworząc wybuchowe azydki metali. Podczas utylizacji przepłukać znaczną ilością wody.
- Żadna ze znanych procedur nie gwarantuje, że produkty pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego są wolne od czynników zakaźnych. Należy zachować szczególną ostrożność podczas użycia i utylizacji każdej buteleczki oraz jej zawartości.

### UTYLIZACJA ODCZYNNIKA

W celu uzyskania informacji na temat utylizacji odczynnika oraz odkażania powierzchni należy zapoznać się z Kartą Charakterystyki Substancji Niebezpiecznych dostępną na życzenie.

### KONTROLE I ZALECENIA

- Zaleca się stosowanie kontroli dodatniej oraz kontroli ujemnej równoległe z każdą partią. Test należy uznać za nieważny jeśli kontrole nie wykazują spodziewanych wyników.
- Jako, że niniejsze odczynniki nie posiadają wzmacniaczy makromolekularnych istnieje bardzo małe prawdopodobieństwo wystąpienia fałszywie dodatnich reakcje z krwinkami pokrytymi IgG.
- Próbki krwi słabych podgrup A lub B (np. Ax) mogą powodować fałszywie ujemne lub słabe wyniki podczas badania metodą szkiełkową, mikropłytkową lub na kartach żelowych. Zaleca się testowanie słabych podgrup przy użyciu metody probówkowej.
- Osoby starsze niż 6 miesięcy powinny potwierdzić swoją grupę krwi poprzez badanie surowicy lub osocza przeciwko znanym krwinkom grupy A1 lub B zanim ich grupa krwi zostanie ostatecznie potwierdzona.
- W rekomendowanych technikach 1 objętość kropli wynosi około 50µl jeśli używa się zakraplacza dostarczonego do zestawu.
- Użycie odczynnika oraz interpretacja wyników musi zostać przeprowadzona przez przeszkolony i wykwalifikowany personel zgodnie z wytycznymi kraju w którym odczynnik jest stosowany.
- Użycie odczynnika w innych technikach musi zostać uprzednio potwierdzone przez użytkownika.



1434



### ODCZYNNIKI ORAZ MATERIAŁY DODATKOWE

- ❖ Mieszała.
- ❖ Automatyczny czytnik mikropłytek.
- ❖ Karty żelowe DiaMed (Neutral).
- ❖ Wirówka DiaMed ID-Centrifuge.
- ❖ DiaMed ID-CellStab lub ID-Diluent 2.
- ❖ Szkiełka mikroskopowe.
- ❖ Szklane probówki (10 x 75 mm lub 12 x 75 mm).
- ❖ Wirówka do mikropłytek.
- ❖ Kasety Ortho BioVue System Cassettes (Neutral).
- ❖ Wirówka Ortho BioVue System Centrifuge.
- ❖ Ortho 0.8% Red Cell Diluent.
- ❖ Wytrząsarka do płytek.
- ❖ PBS (pH 6.8–7.2) lub Izotoniczny Roztwór Soli (pH 6.5–7.5).
- ❖ Dodatnia oraz ujemna kontrola:
  - Anty-A: grupa A2B (dodatnia) i grupa 0 (ujemna), Anty-B: grupa A1B (dodatnia) i grupa 0 (ujemna), Anty-A,B: grupa A1B (dodatnia) i grupa 0 (ujemna)
- ❖ Wirówka do probówek.
- ❖ Mikropłytki.
- ❖ Pipety objętościowe.

### REKOMENDOWANE TECHNIKI

#### A. Technika probówkowa

- Przygotować 2-3% zawiesinę krwinek czerwonych przemytych w PBS lub izotonicznym roztworze soli.
- Umieścić w oznaczonej probówce: 1 objętość odczynnika Anty-ABO firmy Rapid Labs oraz 1 objętość testowanej zawiesiny krwinek.
- Dokładnie wymieszać i inkubować w temperaturze pokojowej przez 1 minutę.
- Odwirować wszystkie probówki przez 10 sekund przy 1000 rcf lub przy alternatywnym czasie i sile wirowania.
- Delikatnie wstrząsnąć krwinki i odczytać aglutynację makroskopowo.
- Jakakolwiek probówka wykazująca ujemny bądź wątpliwy wynik powinna zostać inkubowana przez 15 minut w temperaturze pokojowej.
- Po inkubacji należy powtórzyć kroki 4 oraz 5.

#### B. Metoda DiaMed-ID Micro

- Przygotować 0,8% zawiesinę krwinek przemytych w ID-CellStab lub ID-Diluent 2.
- Usunąć folię zabezpieczającą z tyłu kolumny ile potrzebnych jest do badania.
- Umieścić w odpowiedniej mikrokolumnie: 50µl zawiesiny krwinek oraz 25µl odczynnika Rapid Labs anty-ABO.
- Odwirować karty ID-Card w wirówce DiaMed gel card centrifuge.
- Odczytać wynik makroskopowo.

#### C. Metoda Ortho BioVue Typing Technique

- Przygotować 0,8% zawiesinę krwinek przemytych w 0,8% Ortho Red Cell Diluent.
- Usunąć folię zabezpieczającą z tyłu komór ile potrzebnych jest do badania.
- Umieścić w odpowiedniej komorze: 50µl zawiesiny krwinek oraz 40µl odczynnika Rapid Labs anty-ABO.
- Odwirować kasety w wirówce Ortho BioVue System Centrifuge.
- Odczytać wynik makroskopowo.

#### D. Technika mikropłytkowa

- Przygotować 2-3% zawiesinę krwinek czerwonych przemytych w PBS lub izotonicznym roztworze soli.
- Umieścić w odpowiednim dołku: 1 objętość odczynnika Rapid Labs anty-ABO oraz 1 objętość testowanej zawiesiny krwinek.
- Dokładnie wymieszać, najlepiej używając wytrząsarki uważając aby unikać zanieczyszczenia między dołkami.
- Inkubować w temperaturze pokojowej przez 15 minut (czas uzależniony od użytkownika).
- Odwirować mikropłytkę przez 1 minutę przy 140 rcf lub przy alternatywnym czasie i sile wirowania.
- Delikatnie wstrząsnąć krwinki przy użyciu wytrząsarki.
- Odczytać makroskopowo lub przy użyciu zwalidowanego czytnika automatycznego.
- Jakiekolwiek słabe reakcje powinny być powtórzone metodą probówkową.

#### E. Metoda szkiełkowa

- Przygotować 35-45% zawiesinę testowanych krwinek w surowicy, osoczu, PBS lub izotonicznym roztworze soli.
- Umieścić na oznaczonym szkiełku: 1 objętość odczynnika Rapid Labs anty-ABO oraz 1 objętość zawiesiny testowanych krwinek.
- Przy użyciu mieszała wymieszać odczynnik i krwinki na obszarze ok. 20x40mm
- Powoli obracać szkiełko w różnych kierunkach przez 30 sekund od czasu do czasu mieszając przez 2 minuty utrzymując szkiełko w temperaturze pokojowej.
- Po 2 minutach odczytać wynik makroskopowo przy rozproszonym świetle nie myląc włókien fibrynowych z aglutynacją.
- Jakiekolwiek słabe reakcje powinny być powtórzone metodą probówkową.

## INTERPRETACJA WYNIKÓW

1. Dodatni: aglutynacja krwinek badanych stanowi dodatni wynik badania i przy akceptowalnych ograniczeniach procedury testu wskazuje na obecność odpowiedniego antygenu AB0 w badanych krwinkach.
2. Ujemny: Brak aglutynacji stanowi ujemny wynik badania i przy akceptowalnych ograniczeniach procedury testu wskazuje na brak odpowiedniego antygenu AB0 w badanych krwinkach.
3. Rozbieżności: Jeśli wyniki otrzymane podczas badania na podstawie surowicy nie odpowiadają wynikowi badań na podstawie krwi niezbędne są dalsze badania.

## STABILNOŚĆ REAKCJI

1. Odczytać wyniki z wszystkich próbek oraz mikropłytek zaraz po odwirowaniu.
2. Wyniki testów w metodzie szkiełkowej powinny zostać poddane interpretacji w ciągu 2 minut, aby zapewnić specyficzność i uniknąć sytuacji kiedy wynik ujemny może zostać mylnie odczytany jako dodatni z powodu wysychania odczynnika.
3. Należy zachować szczególną ostrożność w interpretacji wyników testów przeprowadzanych w temperaturach innych niż zalecane.

## OGRANICZENIA METODY

1. Antygeny AB0 nie są w pełni rozwinięte podczas porodu, dlatego mogą wystąpić słabsze reakcje z próbkami krwi pępowinowej lub noworodka.
2. Podczas użycia odczynnika monoklonalnego anty-A,B, próbki krwi słabych podgrup A lub B (np. Ax) mogą wykazywać fałszywie ujemne lub słabe reakcje przy zastosowaniu metody szkiełkowej, mikropłytkowej lub mikrokolumnowej. Zaleca się ponowne przetestowanie słabych podgrup metodą probówkową.
3. Odczynniki monoklonalne Rapid Labs anty-A i anty-B nie są zwalidowane do wykrywania antygenów Ax i A3 oraz B3 dlatego nie jest znana ich reaktywność przeciwko tym słabym podgrupom A i B.
4. Stara krew może wykazywać słabsze reakcje niż świeża.
5. Fałszywie dodatnie lub ujemne wyniki mogą wystąpić także z powodu:
  - Zanieczyszczenia materiału badanego
  - Niewłaściwego przechowywania, stężenia krwinek, czasu inkubacji i temperatury
  - Niewłaściwego lub nadmiernego odwirowania
  - Odchylenia od rekomendowanych technik
  - Zanieczyszczenia krwi pępowinowej Galaretą Whartona

## CHARAKTERYSTYKA

1. Odczynniki zostały przebadane przy użyciu wszystkich wymienionych procedur.
2. Przed zwolnieniem, każda seria odczynnika monoklonalnego Rapid Labs Anty-A, Anty-B i Anty-A,B jest badana przy użyciu rekomendowanych technik i panelu antygenowo dodatnich krwinek, aby zapewnić odpowiednią reaktywność.
3. Specyficzność źródła przeciwciał monoklonalnych wykazano przy użyciu panelu ujemnego krwinek.
4. Siła odczynników została przebadana w oparciu o następującą minimalną standardową wartość potencji otrzymaną przez Narodowy Instytut Standardów Biologicznych i Kontroli (NIBSC): Anty-A odnośnik 03/188 i/lub Anty-B odnośnik 03/164.
5. Odczynnik Anty-B nie reaguje z „nabytym-B”.
6. Odczynniki monoklonalne Rapid Labs AB0 nie wykrywają antygenów takich jak T, Tn lub Cad.
7. Kontrola jakości odczynników została przeprowadzona przy użyciu krwinek przemitych dwukrotnie w PBS lub izotonicznym roztworze soli przed użyciem.
8. Odczynniki spełniają rekomendacje zawarte w najnowszym wydaniu Guidelines for the UK Blood Transfusion Services.

## ODPOWIEDZIALNOŚĆ

1. Użytkownik jest odpowiedzialny za wydajność odczynników przy stosowaniu w jakiegokolwiek innej metodzie niż te zawarte w instrukcji.
2. Jakiegokolwiek odchylenia od rekomendowanych technik muszą być zwalidowane przed użyciem.








## PIŚMIENICTWO

1. Kohler G, Milstein C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 1975; 256, 495-497.
2. Messeter L et al. Mouse monoclonal antibodies with Anti-A, Anti-B and Anti-A,B specificities, some superior to human polyclonal AB0 reagents. Vox Sang 1984; 46, 185-194
3. Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, Wydanie 6, Oxford, Blackwell Scientific Publishers 1975, Rozdział 2.
4. Mollison PL. Blood Transfusion Clinical Medicine, Wydanie 8, Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1987, Rozdział 7.
5. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, Wydanie 3, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Rozdział 6.
6. BSCH Blood Transfusion Task Force. Guidelines for microplate techniques in liquid-phase blood grouping and antibody screening, Clinical Laboratory Haematology 1990;12,437-460.
7. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Bieżące wydanie.
8. 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. Transfusion Medicine, 1995, 5, 145-150.

## KODY PRODUKTU

Odczynnik monoklonalny Anty-A	BC-A10
Odczynnik monoklonalny Anty-B	BC-B10
Odczynnik monoklonalny Anty-A,B	BC-AB10

## TABELA SYMBOLI

	Zapoznać się z instrukcją użycia		Wyrób do diagnostyki in vitro
	Numer katalogowy		Numer serii
	Temperatura przechowywania		Data ważności
	Wytwórca		Data produkcji



Wyprodukowano przez: Rapid Labs Ltd

Unit 2 & 2A Hall Farm Business Centre, Church Road,  
Little Bentley, Colchester, Essex, CO7 8SD, Wielka Brytania

Email: [medical@rapidlabs.co.uk](mailto:medical@rapidlabs.co.uk)  
Strona internetowa: [www.rapidlabs.co.uk](http://www.rapidlabs.co.uk)