sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | T: +49 30 700 144-0 | F: +49 30 700 144-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Anty-A, Anty-B, Anty-AB

Odczynniki monoklonalne do oznaczania grup krwi

INFORMACJE DLA UŻYTKOWNIKÓW PROFESJONALNYCH

CE 0483 IVD

pl

Przeznaczenie

Odczynniki monoklonalne anty-A, anty-B i anty-AB służą do diagnostyki in vitro i są stosowane w zakresie oznaczania grup krwi. Są one stosowane przez wyspecjalizowany personel do jakościowego oznaczania antygenów układu grupowego AB0 poprzez aglutynację ludzkich krwinek czerwonych [z antykoagulantami (EDTA, cytrynianem lub PAGGS-M) lub bez nich] w manualnych testach płytkowych i probówkowych.

Zasada testu

Ludzki układ grupowy krwi AB0 definiuje się na podstawie obecności lub braku antygenów A i/lub B na krwinkach czerwonych. Cechą szczególną układu grupowego AB0 jest to, że osoby pozbawione antygenów A i/lub B na krwinkach czerwonych zazwyczaj wytwarzają w surowicy przeciwciała skierowane przeciwko brakującemu antygenowi lub antygenom. Poniższa tabela przedstawia główne antygeny i przeciwciała układu AB0:

Grupa krwi	Antygeny obecne na krwinkach	Przeciwciała obecne w surowicy
0	brak A i B	Anty-A i Anty-B
A	A	Anty-B
B	B	Anty-A
AB	A i B	brak

Specyficzne przeciwciała monoklonalne IgM zawarte w odczynnikach testowych aglutynują krwinki czerwone posiadające odpowiedni antygen lub antygeny. Brak aglutynacji oznacza brak odpowiedniego antygenu. Badanie grupy krwi AB0 jest kompletne dopiero po potwierdzeniu go również oznaczeniem izoaglutynin w surowicy (Wytyczne dotyczące hematoterapii, patrz również „Interpretacja wyników"). Wszelkie rozbieżności między oznaczeniem antygenów krwinek czerwonych i oznaczeniem alloaglutynin muszą zostać bezwzględnie wyjaśnione.

Skład

Odczynniki do oznaczania są wytwarzane z supernatantu hodowli linii komórkowych hybrydoma. Linie komórkowe hybrydoma uzyskano poprzez fuzję komórek śledziony immunizowanych myszy z komórkami szpiczaka mysiego. Przeciwciała należą do izotypu IgM. Monoklonalne odczynniki zawierają przeciwciała następujących linii komórkowych hybrydoma: Odczynnik anty-A: klon sifin A-11H5, odczynnik anty-B: klon sifin B-6F9, odczynnik anty-AB: klon sifin A-5E10 i klon sifin B-2D7. Odczynniki anty-A i anty-B są zabarwione, aby uniknąć pomyłki i umożliwić kontrolę mieszaniny reakcyjnej dzięki ich niebieskiemu i żółtemu zabarwieniu. Konserwant: azydek sodu (≤0,99 mg/ml).

Okres trwałości i przechowywanie

Przechowywane w temperaturze 2–8°C odczynniki nadają się do użycia do daty podanej na etykiecie. Po otwarciu należy je przechowywać szczelnie zamknięte w temperaturze 2–8°C. Podczas wykonywania testu odczynnik można przechowywać przez 2–3 godziny w temperaturze 18–26°C. Unikać skażenia bakteryjnego. Nie używać w przypadku wyraźnego zmętnienia.

Materiał do badań

Do badania można użyć pełnej krwi z antykoagulantem lub 3–5% zawiesiny krwinek czerwonych[2a,b] z osadu erytrocytów.
Krew należy pobrać aseptycznie, z antykoagulantem (EDTA, cytrynianem lub PAGGS-M) lub bez niego. Próbkę należy zbadać jak najszybciej po pobraniu. W przypadku opóźnienia badania, próbkę należy przechowywać w temperaturze 2–8°C. Zanieczyszczenie bakteryjne próbki może spowodować zafałszowanie wyników. Krew pobraną na EDTA, a także krew skrzepniętą, można badać do 14 dni po pobraniu, a krew dawcy – do upływu terminu ważności. Należy jednak pamiętać, że przechowywanie może skutkować słabszymi niż zwykle reakcjami (patrz „Źródła błędów i ograniczenia" poniżej).

Inne wymagane odczynniki i materiały

Probówki (75 × 12 mm lub 70 × 8 mm), płytki, pipety (objętość kropli 40–50 µl), szkiełka mikroskopowe, bagietki laboratoryjne, fizjologiczny roztwór chlorku sodu (154 mmol/l), wirówka laboratoryjna, minutnik.

Metody

1. Test szkiełkowy lub płytkowy

1.1. Nanieść 1 kroplę (40–50 µl) odczynników testowych odpowiednio Anty-A, Anty-B i Anty-AB na odpowiednio oznakowaną płytkę. Zamiast płytki można użyć szkiełek (technika Lauera).
1.2. Do każdej kropli odczynnika dodać 1 kroplę (40–50 µl) 5% zawiesiny krwinek czerwonych[2b)] badanej próbki krwi w fizjologicznym roztworze chlorku sodu. Dokładnie wymieszać czystą szklaną lub plastikową bagietką.
1.3. Odczytać aglutynację po 5, maksymalnie 20 minutach inkubacji w temperaturze 18–26°C, powoli obracając lub kołysząc płytkę lub szkiełko. W przypadku stosowania krwi pełnej z antykoagulantem, czas reakcji należy ograniczyć do 5 minut, aby uniknąć wyników fałszywie dodatnich spowodowanych wysychaniem.
1.4. Zanotować wyniki testu. Wyniki testu należy odczytać natychmiast po zakończeniu testu, ponieważ produkt reakcji nie jest stabilny.

2. Test probówkowy

2.1. Przygotować 3–5% zawiesinę badanych krwinek czerwonych (przemytych lub nieprzemytych) w fizjologicznym roztworze chlorku sodu.[2a,b)]
2.2. Umieścić po 1 kropli (40-50 µl) odczynników Anty-A, Anty-B i Anty-AB w trzech małych (np. 70 × 8 mm), odpowiednio opisanych probówkach.
2.3. Dodać 1 kroplę (40-50 µl) zawiesiny krwinek czerwonych do każdej probówki i wstrząsając dokładnie wymieszać.
2.4. Wirować natychmiast przez 1 do 2 minut przy RCF 180 do 270 × g.
2.5. Sprawdzić supernatant pod kątem braku hemolizy. Hemoliza może być konsekwencją zanieczyszczenia bakteryjnego.
2.6. Delikatnie potrząsnąć probówką, aby rozluźnić osad na dnie probówki i sprawdzić, czy nie występuje aglutynacja.
2.7. Zanotować wyniki testu. Wyniki testu należy zinterpretować natychmiast po zakończeniu testu, ponieważ produkt reakcji nie jest stabilny.

Interpretacja wyników testu

Wyniki oznaczania antygenów grupowych i wykrywania alloprzeciwciał grupowych w próbce krwi muszą być zgodne. Poniższa tabela przedstawia wzorce reakcji najczęstszych fenotypów układu AB0 i ich częstość występowania:

Oznaczenie antygenów przy użyciu odczynników			Oznaczenie przeciwciał za pomocą krwinek testowych				Grupa krwi AB0	Częstość %
Anty-A	Anty-B	Anty-AB	A_1	A_2	B	0		
+	-	+	-	-	+	-	A	40
-	+	+	+	+	-	-	B	11
-	-	-	+	+	+	-	0	45
+	+	+	-	-	-	-	AB	4

Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Zastosowanie produkcji biotechnologicznej praktycznie wyklucza ryzyko zanieczyszczenia odczynników testowych czynnikami zakaźnymi. Ponieważ odczynniki zawierają materiały pochodzenia zwierzęcego (surowica cielęca płodowa, stabilizator), należy je traktować jako potencjalnie zakaźne.
- Odczynniki testowe zawierają azydek sodu; należy unikać kontaktu ze skórą i błonami śluzowymi.
- Odpady po wykonanych testach należy utylizować zgodnie z odpowiednimi wytycznymi krajowymi, np. w Niemczech jako odpady grupy AVV 18 01 (AS 18 01 03) (z Wytycznych dotyczących stosowania Rozporządzenia w sprawie Katalogu Odpadów) zgodnie z „Wytycznymi dotyczącymi prawidłowej utylizacji odpadów z zakładów opieki zdrowotnej" (wytyczne LAGA, wersja aktualna)

Uwagi i ograniczenia procedury

Ocena działania zgodnie z rozporządzeniem wykonawczym Komisji (UE) 2022/1107 ustanawiającym wspólne specyfikacje (CS) dała następujące obliczone wartości diagnostyczne:

odczynnik	dodatni	fałszywie ujemny	czułość	ujemny	fałszywie dodatni	swoistość
Anty-A	12.359	0	100%	13.326	0	100%
Anty-B	5.535	0	100%	20.150	0	100%
Anty-AB	1.215	0	100%	462	0	100%

- Odczynniki monoklonalne wykrywają antygeny o słabej ekspresji z prawidłową lub osłabioną siłą aglutynacji (A3, Bweak) lub osłabioną lub ujemną reakcją (Ax). Do oznaczania antygenów o słabej ekspresji należy użyć testu probówkowego ze względu na jego wyższą czułość, w razie potrzeby przedłużyć inkubację do 30 minut.
- Odczynnik monoklonalny anty-B daje prawidłowo ujemny wynik w przypadku nabytej cechy B.
- Odczynnik monoklonalny anty-A reaguje z Tn. Osoby z dodatnim wynikiem testu Tn muszą być wykluczone z krwiodawstwa, ponieważ wystąpienie Tn jest uważane za objaw stanu przedbiałaczkowego, a czerwone krwinki ulegają poliaglutynacji.
- Oznaczanie miana: Do rozcieńczania monoklonalnych odczynników testowych w celu oznaczania miana należy stosować fizjologiczny roztwór chlorku sodu z dodatkiem ok. 2% białka (surowica AB, albumina surowicy bydlęcej), aby ułatwić resuspensję produktów reakcji z płytki lub dna probówki.

Źródła błędów i ograniczenia

- Wewnętrzna kontrola jakości: podczas każdego testu należy równolegle stosować krwinki czerwone kontrolne dodatnie i ujemne.
- Stężenia czerwonych krwinek poniżej 3% mogą powodować słabsze reakcje na płytkach lub szkiełkach.
- Interpretacja wyników u noworodków może być utrudniona przez fakt, że surowica noworodka nie zawsze zawiera przeciwciała dla antygenu nieobecnego na krwinkach, a pasywne przeciwciała anty-A i/lub anty-B z krwiobiegu matki mogą dawać sprzeczne wyniki, gdy badania są wykonywane z próbki krwi pępowinowej. Próbki krwi pępowinowej mogą również dawać słabsze niż normalnie reakcje przy oznaczeniu grupy krwi, ponieważ antygeny ABH nie są w pełni rozwinięte w momencie urodzenia.
- Przechowywane próbki krwi mogą wykazywać słabsze reakcje niż próbki świeżo pobrane.
- Oznaczanie miana: do rozcieńczenia odczynników monoklonalnych należy użyć fizjologicznego roztworu chlorku sodu z dodatkiem około 2% białka (np. albuminy surowicy bydlęcej), aby ułatwić resuspensję produktów reakcji z płytki lub dna probówki.
- W teście płytkowym próbki krwi mogą niekiedy wykazywać zjawisko rulonizacji krwinek czerwonych, które można pomylić ze słabą aglutynacją i błędnie odczytać jako wynik dodatni. To zjawisko ma podłoże nieimmunologiczne. Rulonizacja występuje również we krwi heparynizowanej, krwi pacjentów leczonych heparyną lub środkami zwiększającymi objętość osocza (np. dekstranem lub hydroksyetyloskrobią), a także u pacjentów z plazmocytomą (wysoka zawartość białka, zmieniony skład białek), chorobami nowotworowymi (nieprawidłowy obraz krwi) lub zaburzeniami krzepnięcia. U tych pacjentów należy zastosować test probówkowy, ponieważ w przypadku stosowania zawiesin zjawisko to zazwyczaj nie występuje.
- Odczynnik monoklonalny anty-A wykrywa Tn. Osoby z dodatnim wynikiem testu Tn powinny zostać wykluczone z krwiodawstwa, ponieważ Tn jest uważany za objaw stanu przedbiałaczkowego, a czerwone krwinki ulegają poliaglutynacji.
- Aby uzyskać prawidłowe wyniki, należy przestrzegać stężeń zawiesin krwinek czerwonych oraz czasów i warunków reakcji określonych powyżej.
- Nieprawidłowe przechowywanie niekorzystnie wpływa na skuteczność danego odczynnika.

Czuwanie nad bezpieczeństwem

Wszelkie poważne incydenty związane z produktem należy zgłaszać do firmy sifin diagnostics gmbh jako producenta oraz do właściwego organu państwa członkowskiego, w którym użytkownik i/lub pacjent ma miejsce zamieszkania. Na żądanie można otrzymać aktualne krótkie sprawozdanie dotyczące bezpieczeństwa i działania wyrobu.

Piśmiennictwo

(1) Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Richtlinie Hämotherapie), current version. (2) Technical Manual, 17th ed. Bethesda, American Assoc. of Blood Banks, 2011 (a) method 1.5 b) method 1.6). (3) Messeter L et al: Mouse monoclonal antibodies with Anti-A, Anti-B and Anti-AB specificities, some superior to human polyclonal AB0 reagents. Vox Sang 1984; 46, 185-194

Opakowania

Wielkość	Anty-A	Anty-B	Anty-AB
1 x 10 ml	BG1101	BG1111	BG1131
10 x 10 ml	BG1101-01	BG1111-01	BG1131-01

sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | T: +49 30 700 144-0 | F: +49 30 700 144-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Wyjaśnienia użytych symboli

LOT	Numer serii (Lot)
REF	Numer katalogowy
IVD	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
AB0	Odczynnik do oznaczania grup krwi
ACT	Aktywność/miano minimalne
CLONE	Klon

	Data przydatności RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
	Zakres temperatury
www.sifin.de	Zapoznaj się z instrukcją używania
	Inne wersje językowe instrukcji używania wyrobu można znaleźć tutaj: www.sifin.de

Rewizja 2, Data wersji: 08/07/2024