



**MONOSWOISTY ODCZYNNIK PRZECIWKO GLOBULINIE LUDZKIEJ (KRÓLICZY)
INSTRUKCJA UŻYTKOWANIA**

Odczynnik przeciwko ludzkim przeciwciałom IgG (przezroczysty lub zielony): do oznaczania metodami antyglobulinowymi

PODSUMOWANIE

W 1945 roku Coombs, Mourant i Race opisali zastosowanie surowicy zawierającej antyludzką globulinę do wykrywania niepodlegających aglutynacji przeciwciał związanych z czerwonymi krwinkami.

PRZEZNACZENIE

Niniejsze odczynniki to monoswoiste odczynniki do grupowania krwi przeznaczone do jakościowego wykrywania obecności lub braku uczulających przeciwciał IgG (wszystkich 4 podklas) na ludzkich czerwonych krwinkach, jeżeli badania są wykonywane zgodnie z zalecanymi metodami opisanymi w niniejszej instrukcji użytkowania.

ZASADA DZIAŁANIA

Odczynniki zawierają przeciwciała przeciwko ludzkim przeciwciałom IgG na ludzkich czerwonych krwinkach i powodują bezpośrednią aglutynację (zlepianie) czerwonych krwinek, które zostały uczulone przez ludzkie przeciwciała IgG. Brak aglutynacji oznacza zwykle brak uczulających ludzkich przeciwciał IgG na ludzkich czerwonych krwinkach (patrz **Ograniczenia**).

ODCZYNNIKI

Monoswoisty odczynnik przeciwko ludzkim przeciwciałom IgG, przezroczysty, i odczynnik przeciwko ludzkim przeciwciałom IgG, zielony, firmy Lorne zawierają przeciwciała przeciwko IgG pochodzące od królików. Cała nieswoista aktywność jest usuwana przez adsorpcję. Odczynniki nie zawierają ani nie składają się z substancji CMR, substancji zaburzających funkcjonowanie układu hormonalnego ani substancji, które mogą powodować uczulenie lub reakcję alergiczną u użytkownika. Odczynniki są dostarczane w optymalnym stężeniu dla wszystkich zalecanych metod wymienionych poniżej, bez konieczności dalszego rozcieńczenia lub dodawania. Numer referencyjny partii i data ważności znajdują się na **etykiecie fiołki**.

Odczynnik	Linia komórkowa/klon	Kolor	Użyty barwnik
Przeciwko ludzkiemu IgG, przezroczysty	Królicze przeciwciała przeciwko ludzkiemu IgG	Bezbarwny	Brak
Przeciwko ludzkiemu IgG, zielony	Królicze przeciwciała przeciwko ludzkiemu IgG	Zielony	Błękit patentowy i tartrazyna

PRZECHOWYWANIE

Po otrzymaniu fiołki z odczynnikami należy przechowywać w temperaturze 2-8°C. Długotrwałe przechowywanie w temperaturach poza tym zakresem może spowodować przyspieszony spadek reaktywności odczynnika. Odczynnik został poddany badaniom stabilności podczas transportu w temperaturze 37°C i -25°C, zgodnie z wytycznymi EN13640:2002.

POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBK

Próbki należy pobrać aseptycznie do EDTA i zbadać tak szybko, jak to możliwe. Jeśli EDTA jest niedostępne, próbki pobrane do ACD, CPD lub CPDA-1 są lepsze niż próbki skrzepnięte. Jeśli dostępne są tylko próbki skrzepnięte, nie należy przechowywać ich w lodówce przed badaniem. Wszystkie próbki krwi należy przed badaniem przemyć przynajmniej dwukrotnie roztworem PBS lub izotonicznym roztworem soli fizjologicznej.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Odczynniki są przeznaczone wyłącznie do diagnostycznego użytku *in vitro*.
- Jeśli fiołka z odczynnikami jest pęknięta lub nieszczelna, należy natychmiast wyrzucić zawartość.
- Nie należy używać odczynników po upływie daty ważności (patrz **etykieta fiołki**).
- Nie należy używać odczynników, jeżeli wytrącił się osad.
- Podczas pracy z odczynnikami należy nosić odzież ochronną, taką jak rękawiczki jednorazowe i fartuch laboratoryjny.
- Odczynniki zostały zfiltrowane przez kapsułkę 0,2 µm w celu zmniejszenia obciążenia biologicznego, ale nie są dostarczane w postaci sterylnej. Po otwarciu fiołki zawartość powinna pozostać zdalna do użycia aż do upływu daty ważności, o ile nie doszło do wyraźnego zmętnienia, co może wskazywać na pogorszenie lub zanieczyszczenie odczynnika.
- Odczynniki zawierają <0,1% azydku sodu. Azydek sodu może być toksyczny w przypadku połknięcia i może reagować z ołowiem i miedzią, tworząc wybuchowe azydki metali. Podczas usuwania słupek dużą ilością wody.

- Materiały użyte do wytworzenia produktów zbadano u źródła i stwierdzono ujemne wyniki badań na obecność przeciwciał przeciwko HIV 1+2 i HCV oraz HBsAg przy użyciu zatwierdzonych testów mikrobiologicznych.
- Żadne znane badania nie mogą zagwarantować, że produkty pochodzące od ludzi lub zwierząt są wolne od czynników zakaźnych. Podczas używania i utylizacji każdej fiołki i jej zawartości należy zachować ostrożność.

UTYLIZACJA ODCZYNNIKA I POSTĘPOWANIE W PRZYPADKU ROZLANIA

Informacje na temat utylizacji odczynników i odkażania miejsca rozlania znajdują się w dostępnych na żądanie **kartach charakterystyki materiału**.

PRÓBY KONTROLNE I PORADY

- Zaleca się badanie dodatnich (słaby odczynnik anti-D <0,1 IU/ml) i ujemnych (surowica obojętna) prób kontrolnych równoległe z każdą serią badań. Badania należy uznać za nieważne, jeśli próby kontrolne nie dostarczają oczekiwanych wyników.
- Metody antyglobulinowe można uznać za ważne tylko wtedy, gdy wszystkie ujemne testy reagują dodatnio z czerwonymi krwinkami uczulonymi przez IgG.
- Przed użyciem należy odczekać, aż odczynnik ogrzeje się do temperatury pokojowej. Natychmiast po użyciu odczynnika należy ponownie umieścić go w temperaturze 2-8°C.
- W **zalecanych metodach** jedna część wynosi około 50 µl przy użyciu kroplomierza dołączonego do fiołki.
- Wykorzystanie odczynników i interpretacja wyników muszą zostać przeprowadzone przez odpowiednio przeszkolony i wykwalifikowany personel zgodnie z wymogami obowiązującymi w kraju, w którym odczynniki są używane.
- Użytkownik musi określić przydatność odczynników do zastosowania w innych metodach.

WYMAGANE ODCZYNNIKI I MATERIAŁY, KTÓRE NIE STANOWIĄ CZĘŚCI ZESTAWU

- Myjka do komórek Coombsa
- Szklane probówki (10 x 75 mm lub 12 x 75 mm)
- Czerwone krwinki uczulone przez IgG, tj. komórki kontrolne Coombsa firmy Lorne (nr kat. 970010)
- Obojętne przeciwciała, tj. obojętna surowica AB firmy Lorne (nr kat. 110010).
- Roztwór o niskiej sile jonowej (LISS): zawierający 0,03M NaCl, 0,003M Na₂HPO₄; bufor NaH₂PO₄, pH 6,7 przy 22°C ± 1°C oraz 0,24M glicyny
- Roztwór PBS (pH 6,8-7,2) lub izotoniczny roztwór soli fizjologicznej (pH 6,5-7,5)
- Pipety wolumetryczne
- Inkubator z kąpielą wodną lub inkubator z suchym ciepłem zrównoważony do 37°C ± 2°C
- Słaby odczynnik anti-D, tj. Lorne Precise Weak Anti-D (nr kat. 209005)

ZALECANE METODY

A. Bezpośrednia metoda antyglobulinowa (DAT)

- Przeplukać badane czerwone krwinki 4 razy za pomocą roztworu PBS lub izotonicznego roztworu soli fizjologicznej, zwracając uwagę, aby zlać roztwór soli fizjologicznej pomiędzy płukaniem, a następnie odtworzyć zawiesinę z każdej próbki krwinek po każdym płukaniu. Całkowicie zlać roztwór soli fizjologicznej po ostatnim płukaniu.
- Dodać 2 części odczynnika przeciwko ludzkiemu IgG firmy Lorne do każdej suchej próbki krwinek.
- Dokładnie wymieszać i odwirować wszystkie probówki przez 20 sekund z siłą 1000 rcf lub przez stosowny inny czas z odpowiednią siłą.
- Delikatnie odtworzyć zawiesinę czerwonych krwinek i zbadać makroskopowo w kierunku aglutynacji.

B. Pośrednia metoda antyglobulinowa (NISS IAT)

- Przygotować 2-3% zawiesinę przepłukanych badanych krwinek czerwonych w roztworze PBS lub izotonicznym roztworze soli fizjologicznej.
- Umieścić w oznakowanej probówce: 2 części surowicy testowej i 1 część zawiesiny czerwonych krwinek.
- Dokładnie wymieszać i inkubować w temperaturze 37°C przez 15 minut.
- Przeplukać badane czerwone krwinki 4 razy za pomocą roztworu PBS lub izotonicznego roztworu soli fizjologicznej, zwracając uwagę, aby zlać roztwór soli fizjologicznej pomiędzy płukaniem, a następnie odtworzyć zawiesinę z każdej próbki czerwonych krwinek po każdym płukaniu. Całkowicie zlać roztwór soli fizjologicznej po ostatnim płukaniu.

5. Dodać 2 części odczynnika przeciwko ludzkiemu IgG firmy Lorne do każdej suchej próbki krwinek.
6. Dokładnie wymieszać i odwirować wszystkie próbki przez 20 sekund z siłą 1000 rcf lub przez stosowny inny czas z odpowiednią siłą.
7. Delikatnie odtworzyć zawiesinę czerwonych krwinek i zbadać makroskopowo w kierunku aglutynacji.

C. Pośrednia metoda antyglobulinowa LISS (LISS IAT)

1. Przygotować 1,5-2% zawiesinę przepłukanych krwinek czerwonych w roztworze LISS.
2. Umieścić w oznakowanej próbówce: 2 części surowicy testowej i 2 części zawiesiny czerwonych krwinek.
3. Dokładnie wymieszać i inkubować w temperaturze 37°C przez 15 minut.
4. Wykonać czynności od 4 do 7 dla metody NISS IAT powyżej.

INTERPRETACJA WYNIKÓW BADAŃ

1. **Wynik dodatni:** Aglutynacja czerwonych krwinek stanowi dodatni wynik badania, a przy zaakceptowanych ograniczeniach procedury testowej wskazuje na obecność przeciwciał IgG na badanych czerwonych krwinkach.
2. **Wynik ujemny:** Brak aglutynacji czerwonych krwinek stanowi ujemny wynik badania, a przy zaakceptowanych ograniczeniach procedury testowej wskazuje na brak przeciwciał IgG na badanych czerwonych krwinkach.

STABILNOŚĆ REAKCJI

1. Czynności płukania należy wykonywać bez przerywania; próbki należy odwirować i odczytać wyniki natychmiast po dodaniu odczynnika. Opóźnienia mogą powodować dysocjację kompleksów antygen-przeciwciało, prowadząc do fałszywie ujemnych lub słabo pozytywnych wyników.
2. Należy zachować ostrożność podczas interpretacji wyników badań przeprowadzonych w temperaturach innych niż **zalecane**.

OGRANICZENIA

1. Czerwone krwinki, które mają dodatni wynik DAT z powodu powłoki IgG, nie mogą być poddane badaniu grupowemu za pomocą **pośrednich metod antyglobulinowych**.
2. Nieodpowiednie przepłukanie czerwonych krwinek w pośredniej metodzie antyglobulinowej może spowodować neutralizację odczynnika przeciwko ludzkiej globulinie.
3. Dodatni wynik DAT spowodowany uczuleniem dopełniacza może nie odzwierciedlać utrwalenia dopełniacza *in vivo*, jeśli badane komórki pochodzą ze schłodzonej skrzepniętej próbki.
4. Ujemny wynik bezpośredniego testu antyglobulinowego niekoniecznie wyklucza kliniczne rozpoznanie choroby hemolitycznej ABO noworodka lub autoimmunologicznej niedokrwistości hemolitycznej. Ponadto niekoniecznie wyklucza HDN, zwłaszcza jeśli podejrzewa się niezgodność ABO.
5. Wyniki fałszywie dodatnie lub fałszywie ujemne mogą również wystąpić z następujących przyczyn:
 - zanieczyszczenie materiałów testowych;
 - niewłaściwe przechowywanie, stężenie komórek, czas inkubacji lub temperatura;
 - niewłaściwe lub nadmierne odwirowanie;
 - odstępstwo od zalecanych metod;

SWOISTY CHARAKTER DZIAŁANIA

1. Przed dopuszczeniem do obrotu każdą partię odczynników przebadano przy użyciu zalecanych metod testowych wymienionych w niniejszej instrukcji użytkowania względem czerwonych krwinek pokrytych przeciwciałami anti-D, anti-K i anti-Fy^a w celu zweryfikowania właściwej reaktywności. Badania były zgodne z wymogami testowymi określonymi w aktualnej wersji/wydaniu „Wytycznych dotyczących transfuzji krwi w Wielkiej Brytanii” (Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom).
2. Siła działania przeciwko IgG została przebadana według następującego minimalnego wzorca odniesienia siły działania określonego przez Krajowy Instytut Norm Biologicznych i Kontroli (National Institute of Biological Standards and Controls, NIBSC):
 - norma referencyjna anti-AHG 96/666
3. Reaktywność jakichkolwiek składników anti-IgM, anti-IgA lub przeciwko łańcuchom lekkim, które mogą być obecne, nie została ustalona.
4. Kontrolę jakości odczynników przeprowadzono przy użyciu czerwonych krwinek z fenotypami, które zostały zweryfikowane przez brytyjskie centrum krwiodawstwa i zostały przed użyciem przemycie za pomocą roztworu PBS lub izotonicznego roztworu soli fizjologicznej.

OGRANICZENIE ODPOWIEDZIALNOŚCI

1. Użytkownik ponosi odpowiedzialność za działanie odczynników podczas korzystania z dowolnej metody innej niż wymienione **zalecane metody**.
2. Wszelkie odstępstwa od **zalecanych metod** powinny zostać zweryfikowane przed użyciem⁶.

LITERATURA

1. Voak D, Downie DM, Moore BPL, and Engelfreit CP. Anti-Human Globulin reagent specification. The European and ISBT/ICSH View. Biotest Bulletin 1: 7-22 (1986).
2. The Department of Health and Social Security. Health Services Management Antiglobulin Test. False negative results, HN (Hazard) (83) 625 Nov 1983.

3. Bruce M, Watt AH, Hare W, Blue A, Mitchell R. A serious source of error in antiglobulin testing. *Transfusion* 1986; **26**: 177-181.
4. Voak D, Downie DM, Moore BPL, Ford DS, Engelfreit CP, Case J. Replicate tests for the detection and correction of errors in AHG (AHG) tests: optimum conditions and quality control. *Haematologia* 1988; **21**(1): 3-16.
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
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. *Transfusion Medicine*, 1995, **5**, 145-150.

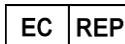
DOSTĘPNE WIELKOŚCI OPAKOWAŃ ODCZYNNIKÓW

	Pojemność fiołki	Numer katalogowy	Badań na fiołkę
Odczynnik Lorne przeciwko ludzkiemu IgG (przezroczysty)	10 ml	401010	100
	1000 ml	401000*	10 000
Odczynnik Lorne przeciwko ludzkiemu IgG (zielony)	10 ml	402010	100
	1000 ml	402000*	10 000

*Fiołki o tej pojemności są przeznaczone wyłącznie do dalszego wykorzystania produkcyjnego (FFMU), dlatego nie są oznaczone znakiem CE.



Lorne Laboratories Limited
 Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate
 Danehill
 Lower Earley
 Berkshire, RG6 4UT
 Wielka Brytania
 Tel.: +44 (0) 118 921 2264
 Faks: +44 (0) 118 986 4518
 E-mail: info@lornelabs.com



Advena Ltd. Tower Business Centre, 2nd Flr.,
 Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta