

**INSTRUKCJA UŻYCIA TESTU DO WYKRYWANIA PRZECIWCIAŁ BIOSAVE®**

Wykrywanie w ludzkiej surowicy przeciwciał przez aglutynację lateksu

Całkowity czas testu: około 5 minut

**PRZEZNACZENIE**

Test na przeciwciała Biosave® jest szybkim testem pozwalającym na jakościowe oznaczenie aglutynujących przeciwciał w ludzkiej surowicy, przez aglutynację lateksu. Test na przeciwciała Biosave® jest przeznaczony tylko do diagnostyki *in vitro*.

**ZASADA DZIAŁANIA TESTU**

Test bazuje na metodzie aglutynacji lateksu (pośrednia aglutynacja). Cząsteczki lateksu, które są pokryte antygenem, są dostarczone jako ustabilizowana zawiesina. Surowica pacjenta i reagent lateksowy są umieszczone, w miejscach do nakładania, na płytce aglutynacyjnej. Obie cieczki są mieszane delikatnie. Jakakolwiek aglutynacja przeciwciał do antygenów na cząsteczkach lateksu, obecna w próbce, zwiąże i spowoduje widoczną reakcję aglutynacji. Jeżeli nie ma przeciwciał do antygenów, na cząsteczkach lateksu obecnych w rozpatrywanej próbce pacjenta, aglutynacja nie może być obserwowana, a mieszanina reakcyjna pozostaje zmętniona.

**OGRANICZENIA PROCEDURY**

Testy aglutynacyjne lateksu Biosave® są testami do jakościowej detekcji przeciwciał aglutynacyjnych dla odpowiedniego antygeny. Rozróżnienie klas przeciwciał (np. IgG) nie jest możliwe tą metodą. Dla dodatkowej specyfikacji klasy albo ilościowego oznaczenia, powinny być stosowane testy Bios® z linii Biognost® (IFA) i Biolisa® (ELISA).

Interpretacja kliniczna nie powinna bazować tylko na rezultatach testu. W każdym, przypadku rezultaty powinny być zawsze interpretowane w kontekście całego obrazu klinicznego, czasu pobrania próbki i innych laboratoryjnych spostrzeżeń. Do potwierdzenia negatywnych rezultatów testu lub wykrycia serokonwersji, sugeruje się powtórzenie testu w ciągu 10-14 dni z użyciem świeżej próbki surowicy.

**ODCZYNNIKI BIOSAVE®**

Testy Biosave® są dostępne jako komplety odczynników jak i zestawy.

Komplet odczynników zawiera: reagent lateksowy, próbki do kontroli pozytywnej i kontroli negatywnej, jedna płytkę aglutynacyjną, plastikowe patyczki do dozowania i instrukcje użycia Biosave®. Zestawy zawierają te same elementy, co komplety odczynników, poza płytkę aglutynacyjną. Wszystkie wymienione elementy są również dostępne pojedynczo.

Reagent lateksowy: ustabilizowana zawiesina cząstek lateksu pokrytych antygenem, w gotowym do użycia kroplomierzu.

Kontrola pozytywna: ustabilizowana ludzka surowica, zawierająca aglutynujące z odpowiednim antygenem przeciwciała, gotowa do użycia.

Kontrola Negatywna: ustabilizowana ludzka surowica negatywna dla aglutynujących przeciwciał, gotowa do użycia.

Płytkę aglutynacyjną: 12 miejsc do użycia (możliwość ponownego użycia po oczyszczeniu).

Plastikowe aplikatory

Instrukcja użycia

**MATERIAŁY I WYPOSAŻENIE WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE**

Pipety do nanoszenia próbek surowicy i kontroli

Mechaniczna płytka do mieszania (opcjonalna)

Stoper z Timerem

Lampa o wysokiej intensywności żarzenia (opcjonalna)

**PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ**

Należy przechowywać reagenty lateks i reagenty kontrolne Biosave® w temperaturze 5-10°C. W tych warunkach, reagenty są stabilne aż do daty ważności, wskazanej na opakowaniu. Nie używać reagentów po dacie ważności. UWAGA: Nie zamrażać reagentów lateksowych, ponieważ wystąpią nieodwracalne zmiany związane z zgrupowaniem w cząsteczkach lateksu! Płytki aglutynacyjne i patyczki aplikacyjne, mogą być przechowywane bez ograniczeń w temperaturze pokojowej lub niższej. Termin przydatności tych produktów znajduje się na etykiecie i służy tylko celowi łatwej kontroli magazynowej.

**ŚRODKI BEZPIECZEŃSTWA**

1. Wszelkie surowice ludzkie użyte do produkcji próbek pozytywnych i negatywnych zostały zbadane w kierunku HBsAg oraz na przeciwciała HIV (są negatywne). Pomimo to, odczynniki te muszą być uważane za potencjalnie zakaźne i należy się z nimi obchodzić z należytą ostrożnością.

2. Wszystkie odczynniki kontrolne i lateksowe w płynie, zawierają 0.09% Azydek sodu, jako konserwant, który jest trujący. Nie można dopuścić do kontaktu odczynników zawierających azydki z przedmiotami zawierającymi miedź lub ołów, np. określonych rur odpływowych, ponieważ może to doprowadzić do tworzenia się wzbuchowych azydków metali.

3. Należy ściśle przestrzegać przepisów bezpieczeństwa stowarzyszeń zawodowych oraz odpowiednich instytutów (laboratoriów) - (patrz uwagi, wytyczne dla laboratorium, instrukcje bezpieczeństwa, itp.).

4. Wytyczne Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (GLP), powinny być zawsze przestrzegane.

5. Materiały i odczynniki użyte w testach, muszą być usuwane zgodnie z odpowiednimi przepisami prawa.

**MATERIAŁ DO TESTÓW**

Do testów nadaje się zarówno surowica jak i osocze. Próbki surowicy i osocza są stabilne przez okres ok. 1 tygodnia, jeśli przechowywane są w temperaturze 5-10°C. Jeśli potrzebny jest dłuższy okres przechowywania lub potwarzanie testów na próbkach przez dłuższe okresy, próbki powinny być dzielone na małe porcje (50 µl), szybko zamrożone w ciekłym azocie i przechowywane w temperaturze -20°C lub niższej. Większe objętości surowicy lub plazmy nie powinny być poddawane cyklowi zamrażania-rozmrażania, ponieważ może to powodować agregację białek i degradację niektórych składników surowicy i plazmy. Próbki surowicy i plazmy mogą być również stabilizowane za pomocą 0.09% Azydki, jeśli nie będzie to kolidować z testem (azydek kolidowałby np. z testem ELISA opartym o peroksydazę). Próbki takie mogą być przechowywane przez dłuższe okresy czasu (do 1 roku) w temperaturze 5-10°C, bez utraty właściwości analitycznych.

**KONTROLA JAKOŚCI ORAZ USUWANIE PROBLEMÓW**

Dla każdego interpretowanego parametru, do każdej partii badań powinna być dołączana kontrolna próbka pozytywna i negatywna. W celu walidacji testu, każda próbka kontrolna musi wykazywać oczekiwane reakcje.

**PROCEDURA TESTU**

Przed rozpoczęciem testu należy doprowadzić lateks Biosave® i próbki kontrolne Biosave® do temperatury pokojowej. Trwa to około 5 min. Wszystkie odczynniki i reagenty muszą być chronione od światła słonecznego i trzymane daleko od źródeł ciepła (grzejników). Próbki kontrolne i reagenty lateksowe, są gotowe do użycia i nie wymagają dalszego rozcieńczania do testu. Surowice pacjenta są testowane bez rozcieńczania. Należy lekko potrząsnąć reagentem lateksowym przed użyciem.

1. Dodaj 25 µl testu pozytywnego, negatywnego i każdej surowicy pacjenta w formie nierozcieńczonej, w miejsca do nanoszenia na płytce testowej.

2. Dodaj jedną kroplę odczynnika lateksowego do każdego zagłębienia i natychmiast

3. Dokładnie wymieszaj zawartość każdego zagłębienia, używając oddzielnych patyczków aplikacyjnych, dla każdego miejsca naniesienia

4. Poruszać ostrożnie płytkami w temperaturze pokojowej (ręcznie lub przy użyciu mechanicznej wytrząsarki): 2 minut.

5. Przystąpić do oceny testu po około 2 minut. Odczyt musi być zrobiony natychmiast. Inaczej mogą wystąpić niepoprawne wyniki podczas osuszania. Sugeruje się użycie lamp o wysokim żarzeniu, do obserwacji aglutynacji w zagłębieniach testowych.

6. Po zakończeniu testów należy niezwłocznie przenieść pozytywne i negatywne próby kontrolne i reagent lateksowy do lodówki o temperaturze 5-10°C.

7. Przed ponownym użyciem wyczyścić płytki aglutynacyjne. Najpierw należy zdezynfekować i wyczyścić płytki aglutynacyjne, przy pomocy odpowiedniego środka dezynfekującego, w połączeniu ze środkiem myjącym (postępować zgodnie z zaleceniami producenta!). Następnie, zanurzyć dokładnie pod kranem z wodą, wytrzeć

płytkę gładką chusteczka lub zanurzyć w destylowanej lub dejonizowanej wodzie i wysuszyć na powietrzu.

#### **OCENA I INTERPRETACJA WYNIKÓW**

##### **Pozytywny:**

Jeżeli aglutynacja (zlepianie się), może być zaobserwowana w ciągu 2 minut próbka (kontrolna lub od pacjenta) jest zakwalifikowana jako pozytywna na przeciwciała przeciwko antygenowi, na cząsteczkach lateksu.

##### **Negatywny:**

Homogeniczna i mleczna zawiesina, bez widocznego zlepiania się, po 2 min inkubacji, jest zakwalifikowana jako wynik negatywny (kontrolny lub pacjenta).

#### **LITERATURA**

Singer J.M., Plotz C.M.: The Latex Fixation Test. I. Application to the Serologic Diagnosis of Rheumatoid Arthritis. Am. J. Med. 21, 1956, 888-892