

“伽瑪”單株抗體抗 A 血型鑑定診斷試劑 “GAMMA-Clone” Anti-A

衛署醫器輸字第 012067 號

使用說明：適用於玻片、試管、微量盤法以測試 A 型血液分型

使用類別：本藥限由醫師或醫檢師使用

型號：
4-102-01 10ml x 1
4-102-10 10ml x 10
4-102-50 10ml x 50

簡介：人的 ABO 血型是非常獨特的，若於紅血球缺乏 A 或 B 抗原則血清中出現抗體，如下表：

血型	存於紅血球上的抗原	存於血清的抗體
O	H (neither A or B)	anti-A and anti-B
A	A	anti-B
B	B	anti-A
AB	A and B	None

表一：ABO 系統之主要抗原及抗體

因此，人血型是直接由測試紅血球和抗 A 血型鑑定試劑及抗 B 血型鑑定試劑來鑑定（細胞或順反應）。其結果由測試血清和 group A, group B 紅血球作確認（血清或逆反應）。另額外試驗紅血球和 Anti-A, B 以幫助認定某些罕見的亞型（例如 A_x ），有時也用來由確認 Anti-A 和 Anti-B 之測試結果。

有進一步興趣讀者可參考 Blood Group in Man By Race and Sanger 有關章節之完整 ABO 血型系統，包括亞型之形成。

測試原理：人的血型可由紅血球和抗 A 血型鑑定試劑及抗 B 血型鑑定試劑來鑑定，如血球產生凝集，則知此人具有該抗原。如血球產無凝集則知此人沒有該抗原。必須再以此人血清和 A_1 及 B 血球混合來確認，並與血球試驗之反應結果比較。見 Table 2。血球試驗 (Cell Grouping) 和血清試驗 (Serum Grouping) 如有任何 (discrepancy) 不匹配，必需再予檢查才可記錄血型選擇性的可繼續以檢體紅血球和抗 A, B 血清來測定，如有凝集產生，可知此檢體紅血球含有 A 及 / 或 B 抗原，或可能為亞型 (A_x)。

試劑：Anti-A 是由 Murine hybridoma cell lines Birma-1 在液體培養基中培養分泌出 Anti-A，試劑可能包括由其他有執照製造廠生產之抗體。最後的配方包含適當緩衝液，以促使凝集，視情況加入或不加入 bovine albumin。Anti-A 含 Patent Blue 做為色素。任何用於製造此產品之 Bovine Albumin 或 Fetal Calf Serum 排除美國來源之無疾病牲畜並由 USDA Veterinary Service 檢驗合格。如動物來源為美國，美國為可能有牛海綿狀腦病 (Bovine Spongiform Encephalopathy) 發生之國家。此產品含 0.1% sodium azide 為防腐劑。

預防事項：

此為體外診斷試劑。儲存溫度：1-8℃，不可冷凍，禁止稀釋使用。禁止在末效期之後使用，應盡量減低污染。如混濁，禁止使用。注意事項：絕不能以口來吸試劑，因尚未確認試劑不含 murine virus

含 0.1% sodium azide，其分類為 Harmful (X_n)。如吞嚥為 R22 傷害

警告：sodium azide 可能會和鉛水管及銅水管反應，產生高爆炸性 Metal azide。如欲由水槽丟棄，須以大量清水沖洗以避免 azide 聚積。

以可能有感染性來處理和丟棄此產品

有效期限以 CCYY-MM-DD (年-月-日) 表示

使用方法：

檢體收集和準備：病人於抽檢體前無需特別準備。血液必需經由無菌操作技術抽取，有無加抗凝劑均可，收集後，檢體需盡快測試，如無法馬上測試，檢體需保存在 1-8℃。檢體如加 EDTA 做為抗凝劑，其儲存不得超過七天。檢體如加 oxalate 或 heparin 最好能於 2 天內測試，沒加抗凝劑檢體，14 天內可測試。捐血者血液亦可保留至血液未效期內測試。檢體儲存條件可能導致弱反應。

測試步驟：

試劑：“GAMMA-Clone” Anti-A (Murine Monoclonal)

額外物品：試管 (12 x 75 mm or x 10 x 75 mm)，U 型微量盤 (軟式或硬式均可)，吸管，玻片，攪拌木棒，生理食鹽水，計時器，離心機，微量盤離心座，微量盤搖動裝置放大鏡。已知 A 和 B 陽性抗原紅血球為對照。

測試方法：

Slide Test Method (玻片法)

1. 於乾淨已標明檢體名之玻片一端上滴一滴 Gamma Anti-A。
2. 再滴一滴 35-45% 以 saline 或自身血清或血漿當稀釋液之血球懸浮液或以攪拌木棒取適當量之全血。
3. 以木質試驗棒 (不可重複使用) 循 20mm 直徑混合均勻。慢慢搖動玻片，不得超過 2 分鐘。注意：超過 2 分鐘可能會蒸發而導致假陽性。
4. 以肉眼判定是否凝集，並紀錄結果。

Tube Test Method (試管法)

1. 加入一滴 Gamma Anti-A 至 75x10mm 或 75x12mm 已標明檢體名之小試管。
2. 再滴一滴以 saline 或自身血清或血漿當稀釋液之 3-4% 血球懸浮液 (洗滌過或未洗滌過) 或直接由血凝塊以攪拌木棒移轉做懸浮液。
3. 搖盪使其混合均勻，離心：
 - (a) 1000 rpm (rcf 100 to 125) 離心 1 分
 - (b) 3400 rpm (rcf 900 to 1000) 離心 15 秒
 - (c) 由校正離心機之合適時間
4. 檢查是否溶血，註：如溶血表示此試驗可能已受細菌感染，不可解釋結果為陽性。
5. 輕搖試管 (resuspend)，以肉眼判定是否凝集，並紀錄結果 (可以放大鏡幫助判讀)。
6. 大部份 A_x 亞型血球可預料和抗 A, B 試劑於試管法之 immediate-spin 期即產生凝集。觀察弱亞型之微凝集必需在室溫 (23℃ ± 3℃) 孵育 5 分鐘以加強反應。孵育時間不得超過 30 分。

最終反應穩定度：試驗結果必需在完成實驗後立刻判讀

Micro-Well Test Method (微量盤法)-傳統微量盤

注意：某些情況，塑膠微量盤可能在使用前作前處理，如以蒸餾水沖洗，或須置於潮濕布上以消除靜電。如有需要，實驗室有責任發展自有前處理微量盤之方法。

1. 加入一滴 Gamma Anti-A 至 U 型底微量盤標明檢體名之孔 (well)，如反應要以 red cell streaming pattern 判讀，建議以 Gamma-clone Control 做對照。
2. 各加入一滴先行準備以 saline 當稀釋液之等量 3-4% 血球懸浮液，為求最佳 streaming pattern 判讀結果，血球懸浮液和所加之抗血清需等量。紅血球可洗滌過或未洗滌過。
3. 以手動或機械式混合。
4. 以適當時間、速度離心，如 Sorvall GLC-2B 離心機建議以 1000 rpm (rcf 280-300) 離心 15 秒。

註：離心對適當結果判定很重要，每個實驗室必須校正離心機以決定最適宜的速度和時間來達到微量盤法中已知顯型紅血球懸浮液可接受之反應 pattern。軟質與硬質微量盤在不同離心

機其離心速度會有不同。正確判讀取決於適當的離心力產生具清澈之背景之 cell button，陰性結果應於 15-60 秒，把微量盤和

桌面傾斜 60-90 度觀察，應該於 2-4 分鐘內完成。

5. 檢查是否溶血，註：如溶血表示此試驗可能已受細菌感染，不可解釋為陽性結果。
 6. 把微量盤和桌面傾斜 60-90 度，觀察孔(well)內血球流動情形，雖然血球流動情形開始形成於 15-60 秒，但應該於 2-4 分鐘內完成。若傾斜時血球從底部開始流下為陰性反應，若血球均勻分佈在孔中且傾斜時不太流動，有時形成“半月狀”則為陽性反應(可以放大鏡幫助判讀)，如對結果有存疑，可以手工或機械式輕輕搖盪，直到觀看到弱反應。每個實驗室必須決定機械式懸浮最佳速度和時間。通常只有足夠力量才可使底部血球混合均勻，重新懸浮，陽性反應判讀根據傳統試管正常凝集血球外觀，陰性反應出現柔順懸浮。可以放大鏡幫助判讀。
 7. 記錄結果
 8. 大多數 Ax 型血球可能預料和抗 A,B 血清 immediately-spin phase 由肉眼觀察呈凝集。但亞型微凝集必需在室溫(23°C±3°C) 孵育(5 分鐘)以加強反應。孵育時間不得超過 30 分。
- 最後反應穩定度：試驗結果必需在完成實驗後立刻判讀

品質對照組：

血球試驗 Cell forward Grouping 必須以血清試驗 Serum reverse Grouping 確認結果。建議以已知 group A₁ and B 抗體紅血球加入血清或血漿做確認試驗。Gamma Reagent Red Blood Cells for ABO blood group 為合適之產品。此外。所有血型分類試劑之反應性需每天以已知陽性紅血球測試。

試驗結果判讀：

於玻片，試管，微量盤法(以重懸浮 resuspension 判讀)之血球凝集，無 streaming 於微量盤法(以 streaming 判讀)為陽性反應(+)表示含有關抗原。無血球凝集於玻片，試管，微量盤法(以重懸浮 resuspension 判讀)，有 streaming 於微量盤法(以 streaming 判讀)為陰性反應(-)表示沒有含有關抗原，通常 ABO 顯型之反應模式如表二：

Cell Grouping			Serum Grouping			ABO Group
Anti-A	Anti-B	Anti-A,B	A cells	B cells	O cells*	
+	0	+	0	+	0	A
0	+	+	+	0	0	B
0	0	0	+	+	0	O
+	+	+	0	0	0	AB

+ 為凝集

0 為無凝集

表二：血球(forward)試驗及血清(reverse)試驗之反應型態

Group	% Frequency		
	Whites	African Americans	Asian
A	40	27	27
B	11	20	25
O	45	49	43
AB	4	4	6

表三：白人,非裔美國人,亞洲人頻率

*O 型血球是作為抗體篩選，抗體篩選現今普遍應用於受血者和捐血者之檢體。血清和一種或多種 O 型血球之反應可作為 Serum Grouping，之對照而能找出一些除抗 A 和抗 B 以外引起之細胞凝集之因子(如：自體凝集; Unexpected antibody 和錢鍊狀凝集 rouleaux...)

嬰兒檢體判讀比較複雜，如檢體為臍帶血，因嬰兒血清沒有完全含血球上缺少抗原的抗體，由母親來的被動產生之 Anti-A 和 Anti-B 會導致矛盾反應。臍帶血檢體因為 ABH 抗原在剛出生時沒完全成熟，也可能在 Cell Grouping 呈弱反應，這樣特別在 Anti-A 試劑可能成假陰性。

如血球試驗(Cell Grouping)和血清試驗(Serum Grouping)不符合，則需另行研究及解決,才能判定血型。

初步研究為先用洗滌過之紅血球重複血球試驗(Cell Grouping)如不符仍存在，另用別種廠牌血型試劑來試驗血球,用其他血球試劑再測試血清，造成血球試驗(Cell Grouping)和血清試驗(Serum Grouping)不符合之原因很多，於美國血庫學會(American Association Of Blood Bank)技術手冊中有詳述。

限制：

下列因素可能引起假性結果：

1. 檢體、試藥、其他輔助器材經細菌感染。
2. 老舊檢體比新鮮檢體較可能引起弱凝集反應。
3. 檢體血球懸浮液過濃或過稀。
4. 不當的孵育時間或溫度處理。
5. 離心機轉速校正很重要。過度離心造成試管試驗法 cell button 再懸浮之困難，離心不足可能造成 cell button 型態不清楚且凝集易散亂。
6. 不正確凝集判讀(通常為太用力搖盪)。試管法重懸浮 resuspension 必須輕搖。太用力搖盪會搖散凝集。
7. 測試步驟誤差。
8. 非常弱亞型血型(both A and B)可能無法用此試劑測出。
9. 玻片法不適於鑑定 A_x 亞型。

特點：

Gamma-clone Anti-A 符合美國藥物食品檢驗局(FDA)力價(Potency)規範,經由FDA提供適當Reference Serum 測試來決定每批試劑之力價至少和Reference Serum 相等每批Gamma-clone Anti-A 均經與 10 個確認為陽性相關抗原紅血球測試以確保使用時有足夠反應度，於手工法測試血球至少包含 3 例 A₂B 紅血球 for Gamma clone Anti-A, A_x 紅血球 for Gamma clone Anti-A, B。所有製造批號均進一步和至少 10 個確認為陰性相關抗原紅血球測試，以確保使用時之特異性此鑑定組具占美國人口頻率 1% 以上抗原之紅血球且確認不含 V、VS、Js^a 抗體、Le^c和 Le^d或一些低發生率-W^r、M^s、Di^a、V_w不須排除。然而如有合適試驗紅血球，可不進行此污染試驗,此產品效能有賴所附說明書之建議操作方法。附加測試方法為製造當時之測試可向 Immucor Gamma 技術部門查詢。

製造廠名稱: Immucor, Inc.

製造廠地址: 3130 Gateway Drive, Norcross, GA 30071, USA

代理銷售商: 醫信有限公司

地址: 台北市大安區羅斯福路3段193號6樓

電話: 02-23657250 傳真: 02-23650628

E-mail: eshinyu@ms31.hinet.net

http://www.eshinyu.com.tw