

Anty-C+D+E

Linia komórkowa: MS-24/MS-201/MS-26/MS-80

Kod produktu: BW

Odczynnik monoklonalny IgM/IgG pochodzenia ludzkiego do oznaczania grup krwi

Do stosowania w metodzie szkiełkowej, próbówkowej, mikropłytkowej i pośredniej z użyciem antyglobuliny



IVD

PRZEZNACZENIE

BIOSCOT Anty-C+D+E to monoklonalny odczynnik IgM/IgG pochodzenia ludzkiego do oznaczania grup krwi (linie komórkowe MS-24/MS-201/MS-26/MS-80), który jest wykorzystywany do potwierdzenia braku antygenów C, D i E podczas badań metodą szkiełkową, próbówkową, mikropłytkową i pośrednią z użyciem antyglobuliny. Odczynnik powinien być stosowany przez personel przeszkolony w zakresie technik serologicznych.

WPROWADZENIE

Układ grupowy Rh

Układ grupowy Rh zawiera ponad 40 antygenów lub kompleksów antygenów poddawanych ekspresji w ludzkich erytrocytach. Pięć podstawowych antygenów Rh i specyficzne dla nich przeciwciała są najważniejsze w badaniach prowadzonych przed transfuzją krwi i w przewidywaniu choroby hemolitycznej u noworodków.

Częstotliwość występowania antygenów Rh różni się dla różnych populacji. Na ogół w populacji białej częstość występowania antygenów jest następująca:

ANTYGEN	CZĘSTOŚĆ
D	85%
C	70%
E	30%
c	80%
e	98%

Oslabiona ekspresja antygeny RhD

Termin „słaby antygen D” określa osoby z obniżoną liczbą pełnych miejsc antygeny D na krwinkę czerwoną. Termin „częściowy antygen D” oznacza osoby z brakiem epitopów D. D kategorii VI (D^{VI}) to kategoria częściowego antygeny D, gdzie brakuje większości epitopów D. Ten odczynnik wykryje erytrocyty z częściowym antygenem D, w tym także komórki D^{VI}. Odczynnik doskonale nadaje się do badania pacjentów i dawców.

ZASADA OZNACZENIA

Po zastosowaniu zalecanych technik analitycznych odczynnik wywołuje aglutynację (zlepianie) erytrocytów wykazujących ekspresję jednego lub wszystkich antygenów swoistych (reakcja dodatnia). Brak aglutynacji erytrocytów jest równoznaczny z nieobecnością antygenów swoistych (reakcja ujemna).

Odczynniki zoptymalizowano do stosowania w rekomendowanej technice analitycznej w postaci dostarczonej, bez konieczności wykonywania dalszych rozcieńczeń ani dodawania innych substancji.

Produkty są dostarczane w postaci przefiltrowanej na filtrze 0,22 µm.

MATERIAŁY

Odczynnik do oznaczania grup krwi Anty-C+D+E (linie komórkowe MS-24/MS-201/MS-26/MS-80) składa się z monoklonalnych przeciwciał IgM/IgG pochodzenia ludzkiego w buforze zawierającym makrocząsteczkowe potencjatory chemiczne. Odczynnik zawiera azydek sodu 0,1% (w/v) i materiał pochodzenia wołowego. Zawartość każdej fiolki o pojemności 5 ml wystarcza do wykonania około 125 oznaczeń.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Wszystkie produkty krwiopochodne należy traktować jako potencjalnie zakaźne. W badaniach materiału dawcy pochodzenia ludzkiego lub linii komórkowej wykorzystywanych do produkcji odczynnika uzyskano wyniki ujemne testów na obecność ludzkiego wirusa nabytego upośledzenia odporności (HIV), wirusowego zapalenia wątroby typu C (HCV), wirusowego zapalenia wątroby typu B

(HBsAg), wirusa Epsteina-Barr (EBV) oraz wirusów obecnych w materiale pochodzenia mysiego (Mouse Antibody Production, MAP). Żaden z znanych testów nie gwarantuje, że produkt krwiopochodny pochodzenia ludzkiego będzie wolny od czynników zakaźnych. Należy zachować ostrożność podczas stosowania odczynników, niszczenia każdego z zużytych opakowań i usuwania ich zawartości.

- Odczynnik zawiera azydek sodu w stężeniu 0,1% (w/v). Azydek sodu może być trujący po spożyciu. Istnieje również ryzyko powstania silnie wybuchowych soli w reakcji z ołowiem i miedzią, wchodzącymi w skład rur instalacji wodno-kanalizacyjnej. Wylewane odpady należy spłukać dużą ilością wody.
- Odczynnik powinien być klarowny. Zmętnienie może oznaczać skażenie bakteryjne. Nie należy używać odczynnika, jeżeli doszło do wytrącenia osadu, żelu fibrynowego, lub jeżeli w roztworze widoczne są drobin.
- Odczynnik jest przeznaczony wyłącznie do profesjonalnej diagnostyki *in vitro*.
- Materiał pochodzenia wołowego uzyskano ze źródeł zatwierdzonych przez Departament Rolnictwa USA (USDA) lub innych udokumentowanych źródeł. Badanie zwierząt, od których pobrano materiał, potwierdziło brak zakaźności i niskie ryzyko przenoszenia zakaźnych encefalopatii gąbczastych.
- Produkt należy unieszkodliwić przez zanurzenie na całą noc w odpowiednio stężonym roztworze środków odkażających lub przez autoklawowanie.

WSKAZÓWKI DLA UŻYTKOWNIKÓW

Zaleca się równoległe wykonywanie kontroli dodatniej i ujemnej każdej serii odczynnika. Jeżeli wynik kontroli różni się od oczekiwanego, wynik oznaczenia należy uznać za fałszywy.

Stosowanie kontroli odczynnika równoległe ze wszystkimi badaniami z zastosowaniem opisywanego odczynnika nie jest konieczne. Wykorzystanie kontroli odczynnika, takiej jak kontrola z przeciwciałami monoklonalnymi BIOSCOT (kod produktu: TT), jest zalecane tylko podczas typowania erytrocytów u pacjentów z autoprzeciwciałami lub zaburzeniami białkowymi. Kontrolę należy prowadzić równocześnie z oznaczeniem przy użyciu odczynnika.

Przedstawiona charakterystyka odczynnika odnosi się do procedur zawartych w niniejszej instrukcji obsługi. Przydatność do metod innych niż opisane musi zostać określona przez użytkownika.

W przypadku zmian w analitycznym działaniu urządzenia lub uszkodzenia opakowania należy skontaktować się z Działem Kontroli Jakości firmy Millipore (UK) Ltd.

SPOSÓB PRZECHOWYWANIA

Otwarte lub zamknięte odczynniki należy przechowywać w temperaturze 2–8°C do daty ważności podanej na etykiecie produktu.

Przechowywanie produktu w niewłaściwej temperaturze (np. zbyt wysoka temperatura przechowywania lub wielokrotne rozmrażanie i zamrażanie) może przyspieszyć utratę reaktywności odczynników.

POBIERANIE MATERIAŁU DO BADAŃ

Pobieranie próbek do badań nie wymaga specjalnego przygotowania pacjenta. Krew należy pobrać zatwierdzoną metodą na antykoagulant EDTA lub cytrynian. Badanie próbki należy przeprowadzić jak najszybciej po pobraniu krwi. W razie opóźnienia badania, próbki należy przechowywać w temp. 2–8°C. Odczynnik nie nadaje się do oznaczeń próbek wykazujących silną hemolizę lub zanieczyszczenia mikrobiologiczne. Przechowywanie próbek w niewłaściwej temperaturze może prowadzić do uzyskania fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych wyników oznaczeń.

WYMAGANE MATERIAŁY NIEWCHODZĄCE W SKŁAD ZESTAWU

Metoda szkiełkowa:

- Szkiełko podstawowe
- Timer
- Izotoniczny roztwór soli fizjologicznej lub zgodne grupowo osocze/surowica

Metoda próbówkowa:

- Próbówka
- Izotoniczny roztwór soli fizjologicznej
- Inkubator 37°C
- Timer
- Wirówka (1000 rcf)

Pośrednia technika z użyciem antyglobuliny do osłabionej ekspresji antygeny D:

- Probówka
- Odczynnik przeciwciała przeciwko ludzkiej globulinie
- Inkubator 37°C
- Timer
- Wirówka (1000 rcf)
- Izotoniczny roztwór soli fizjologicznej
- Erytrocyty uczulone przeciwciałami IgG (krwinki kontrolne testu Coombsa)

Metoda mikroplytkowa:

- Mikroplytka ze studzienkami „U”
- Izotoniczny roztwór soli fizjologicznej
- Timer
- Wirówka (100 rcf)
- Wyrząsarka mikroplytek
- Czytnik mikroplytek (wyposażenie opcjonalne)

ZALECANE TECHNIKI OZNACZANIA

1. METODA SZKIEŁKOWA

- 1.1 Przygotować 35–50% zawiesinę badanych krwinek czerwonych w autologicznym (lub zgodnym grupowo) osoczu, surowicy lub izotonicznym roztworze soli fizjologicznej.
- 1.2 Na czystym oznakowanym szkiełku umieścić jedną kroplę (40 µl) odczynnika Anty-C+D+E.
- 1.3 Dodać jedną kroplę (40 µl) zawiesiny badanych erytrocytów.
- 1.4 Wymieszać antysurowicę z krwinkami na powierzchni o średnicy około 2 cm przez delikatne poruszanie szkiełkiem. Po 2 minutach makroskopowo odczytać wynik testu. Nie mylić wysychającej mieszaniny z aglutynacją.

2. METODA PROBÓWKOWA

- 2.1 Przygotować 3–5% zawiesinę badanych erytrocytów w izotonicznym roztworze soli fizjologicznej.
- 2.2 W odpowiednio oznakowanej probówce umieścić 1 kroplę (40 µl) odczynnika Anty-C+D+E.
- 2.3 Dodać 1 kroplę (40 µl) zawiesiny badanych erytrocytów.
- 2.4 Roztwór wymieszać i odwirować z prędkością 1000 rcf przez 20 sekund.
- 2.5 Ostrożnie wstrząsnąć probówką, aby oderwać erytrocyty od ścianek probówki, a następnie makroskopowo ocenić, czy doszło do aglutynacji.
- 2.6 Próbkę z wynikiem ujemnym lub słabo dodatnim należy inkubować w temperaturze 37°C przez 5 minut, a następnie powtórzyć kroki 2.4 oraz 2.5. Ma to na celu wzmocnienie reakcji w oznaczaniu krwinek czerwonych rzadkich fenotypów.

3. POŚREDNI TEST ANTYGLOBULINOWY

- 3.1 Przygotować 3–5% zawiesinę erytrocytów w izotonicznym roztworze soli fizjologicznej.
- 3.2 W odpowiednio oznakowanej probówce umieścić jedną kroplę (40 µl) odczynnika Anty-C+D+E.
- 3.3 Dodać jedną kroplę (40 µl) badanych erytrocytów.
- 3.4 Roztwór wymieszać i inkubować w temperaturze 37°C przez 15 minut.
- 3.5 Przemycić krwinki jeden raz izotonicznym roztworem soli fizjologicznej, dokładnie dekantując sól fizjologiczną.
- 3.6 Dodać 2 krople (80 µl) odczynnika przeciwciała przeciwko ludzkiej globulinie, wymieszać i odwirowywać badany materiał z prędkością 1000 rcf przez 20 sekund.
- 3.7 Ostrożnie wstrząsnąć probówką, aby oderwać erytrocyty od ścianek probówki. Makroskopowo ocenić, czy doszło do aglutynacji.
- 3.8 W celu potwierdzenia ujemnego wyniku dodać krwinki czerwone uczulone przeciwciałami IgG (krwinki kontrolne testu Coombsa), powtórzyć odwirowywanie i ocenić czy doszło do aglutynacji. W wypadku braku aglutynacji test należy uznać za nieważny i powtórzyć.

4. METODA MIKROPLYTKOWA

- 4.1 Przygotować 3–5% zawiesinę badanych erytrocytów w izotonicznym roztworze soli fizjologicznej.
- 4.2 We właściwych studzienkach „U” mikroplytki umieścić 1 kroplę (40 µl) odczynnika Anty-C+D+E.
- 4.3 Dodać do odpowiednich studzienek taką samą objętość (40 µl) zawiesiny badanych krwinek czerwonych.
- 4.4 Wymieszać zawartość studzienek ręcznie lub przy użyciu wyrząsarki mikroplytek.
- 4.5 Inkubować mikroplytki w temperaturze pokojowej przez 15–20 minut.
- 4.6 Odwirować mikroplytki z prędkością 100 rcf przez 40 sekund.
- 4.7 Ponownie utworzyć zawiesinę krwinek czerwonych przy użyciu wyrząsarki mikroplytek.
- 4.8 Odczytać wyniki makroskopowo lub za pomocą czytnika. Klient musi zweryfikować wynik uzyskany przy użyciu czytnika płytek.

OGRANICZENIA METODY

Odczynnik nie spowoduje aglutynacji erytrocytów r^c.

Istnieje naukowe doniesienie o reaktywności pewnych odczynników do określania grupy krwi, zawierających antygen Anty-C z klonu MS-24 względem komórek, które zgłoszono jako ujemne względem antygeny C. Ta reaktywność jest związana z nowym allelem RHce oznaczonym jako RHCE*TI. Ten allel wykazuje pewne podobieństwo do częściowego antygeny D, RHD*DV1a-2.

Wyniki oznaczenia mogą być fałszywie dodatnie w przypadku krwinek czerwonych dających dodatni wynik bezpośredniego testu antyglobulinowego (DAT). Stosowanie odczynnika monoklonalnego kontrolnego BIOSCOT (kod produktu: TT) jest zalecane do wykrywania takich potencjalnie fałszywych wyników dodatnich.

Sztynne mikroplytki z polistyrenu są bardziej odpowiednie niż mikroplytki z PCW. Przed przyjęciem do rutynowego stosowania, przydatność każdej partii mikroplytek należy poddać ocenie w warunkach stosowanych przez użytkownika.

Zanieczyszczenie badanego materiału lub odchylenia od zalecanych technik oznaczania mogą prowadzić do uzyskania wyników fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych.

CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW

Odczynnik monoklonalny IgM/IgG Anty-C+D+E pochodzenia ludzkiego (linie komórkowe MS-24/MS-201/MS-26/MS-80) do oznaczania grupy krwi (kod produktu BW) badano przy użyciu każdej z zalecanych technik, wykonując oznaczenia próbek pobranych od dawców, pacjentów oraz noworodków. Próbkę pobrano na antykoagulant EDTA lub cytrynian. Zestaw próbek był reprezentatywny dla wszystkich głównych fenotypów układu Rh. Całkowitą liczbę testów (n) oraz czułość i swoistość obliczoną dla każdej z metod przedstawiono w tabeli poniżej:

METODA	Anty-C+D+E kod produktu BW			
	Czułość		Swoistość	
	n	%	n	%
Probówkowa	868	100	220	99,6
Mikroplytkowa	836	100	208	99,6
Szkiełkowa	452	100	102	100

Definicje pochodzą ze wspólnych specyfikacji technicznych (WST):

Czułość diagnostyczna: Prawdopodobieństwo, że wyrób daje wynik pozytywny w obecności diagnozowanego markera.

Specyficzność diagnostyczna: Prawdopodobieństwo, że wyrób daje wynik negatywny przy braku diagnozowanego markera.

PIŚMIENNICTWO

1. Widmann F.K. ed Technical Manual 10th Ed Washington DC, American Association of Blood Banks; 1990.
2. Race, R.R. and Sanger, R. Blood Groups in Man, 6th edition, Oxford: Blackwell Scientific Publishers; 1975.
3. Issitt, P.D. and Anstee, D.J. Applied Blood Group Serology 4th edition, Montgomery Scientific Publications; 1998.
4. Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom. 5th edition. The Stationary Office; 2001.
5. Vege, S., Meyer, W., Copeland, T. and Westhoff, C.M., A new RHce allele, RHCE*ceTI, is associated with C typing discrepancies and is linked to RHD*DV1[abstract] transfusion 2007; 47 Suppl s3: 159A.



Millipore (UK) Ltd
Fleming Road
Kirkton Campus
Livingston, EH54 7BN
Wielka Brytania

Tel.: +44 (0)1506 404000
Faks: +44 (0)1506 404001

PI133/d
2013-02