

Anty-Fy^a Linia komórkowa: P3TIM Kod produktu: NW

Odczynnik monoklonalny IgG pochodzenia ludzkiego do oznaczania grup krwi

Do stosowania w metodzie żelowej, kolumnowej oraz w probówkowym pośrednim teście antyglobulinowym



IVD

PRZEZNACZENIE

BIOSCOT Anty-Fy^a to odczynnik monoklonalny IgG pochodzenia ludzkiego do oznaczania grupy krwi (linia komórkowa P3TIM) przeznaczony do wykrywania antygenu Fy^a w metodzie żelowej, kolumnowej oraz w probówkowym pośrednim teście antyglobulinowym. Odczynnik powinien być stosowany przez personel przeszkolony w zakresie technik serologicznych.

WPROWADZENIE

Antygen Fy^a odkrył w 1950 roku Cutbush i inni. Antygen przeciwny Fy^b odkrył rok później Ikin i inni. Geny Fy^a i Fy^b powodują wytwarzanie 3 fenotypów: Fy(a+b-), Fy(a+b+) i Fy(a-b+). Trzeci gen, Fy, warunkuje czwarty rodzaj fenotypu Fy(a-b-). Przeciwciała układu Duffy mogą powodować opóźnione reakcje na transfuzję krwi oraz żółtaczkę hemolityczną noworodków.

Częstość występowania fenotypów Duffy znacznie się waha w różnych populacjach:

Fenotyp	Rasa biała	Częstość występowania	
		Rasa czarna	Rasa azjatycka
Fy(a+b-)	17%	9%	91%
Fy(a+b+)	49%	1%	9%
Fy(a-b+)	34%	22%	<1%
Fy(a-b-)	0%	67,6%	0%

ZASADA OZNACZENIA

Po zastosowaniu zalecanych technik analitycznych odczynnik wywołuje aglutynację (zlepianie) erytrocytów wykazujących ekspresję antygenu swoistego (reakcja dodatnia). Brak aglutynacji erytrocytów jest równoznaczny z nieobecnością antygenu swoistego (reakcja ujemna).

Odczynnik zoptymalizowano do stosowania w rekomendowanych technikach analitycznych, bez konieczności wykonywania dalszych rozcieńczeń ani dodawania innych substancji.

Odczynnik został przefiltrowany na filtrze 0,22 µm.

MATERIAŁY

W skład odczynnika Anty-Fy^a o kodzie produktu NW wchodzi przeciwciała monoklonalne klasy IgG pochodzenia ludzkiego (linia komórkowa P3TIM) w roztworze buforowym. Odczynnik zawiera azydek sodu 0,1% (w/v) i materiał pochodzenia wołowego. Zawartość każdej fiołki o pojemności 5 ml wystarcza do wykonania około 100 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 Anty-Fy^a uzyskano wyniki ujemne testów na obecność ludzkiego wirusa nabytego upośledzenia odporności (HIV) typu 1 i 2, wirusa zapalenia wątroby typu B (HBV) i wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV). Należy zachować ostrożność podczas stosowania odczynników, niszczenia każdego z zużytych opakowań i usuwania ich zawartości.

2. 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.
3. 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 drobiny.
4. Odczynnik jest przeznaczony wyłącznie do profesjonalnej diagnostyki *in vitro*.
5. Materiał pochodzenia wołowego jest uzyskiwany ze źródeł zatwierdzonych przez Departament Rolnictwa USA (USDA) lub z innych udokumentowanych źródeł. Badanie zwierząt, od których pobrano materiał, potwierdziło brak zakaźności i niskie ryzyko przenoszenia zakaźnych encefalopatii gąbczastych.
6. 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

Pośredni test antyglobulinowy:

- Probówka
- Izotoniczny roztwór soli fizjologicznej lub roztwór soli fizjologicznej buforowany fosforanem (PBS)
- Inkubator 37°C
- Timer
- Wirówka (1000 rcf)
- Odczynnik przeciwciała anty-ludzkiej globuliny
- Uczulone erytrocyty IgG (krwinki kontrolne Coombs)

Metoda z użyciem żelu Bio-Rad:

- Karta ID Bio-Rad karta Coombs Anti-IgG lub LISS/Coombs.
- Izotoniczny roztwór soli fizjologicznej, roztwór soli fizjologicznej buforowany fosforanem (PBS) lub ID-Diluent 2
- Mikropipety o objętości dozowania 10, 25 i 50 µl
- Inkubator 37°C
- Timer
- Wirówka kompatybilna z kartami ID Bio-Rad
- Czytnik (wyposażenie opcjonalne)

Metoda z użyciem żelu Grifols:

- DG Gel Anti-IgG lub karty Coombs
- Izotoniczny roztwór soli fizjologicznej, roztwór soli fizjologicznej buforowany fosforanem (PBS) lub roztwór DG Gel Sol
- Mikropipety o objętości dozowania 10, 25 i 50 µl
- Timer
- Inkubator 37°C Wirówka (kompatybilna z kartami Grifols Gel)
- Czytnik (wyposażenie opcjonalne)

Metoda kolumnowa BioVue:

- System Ortho BioVue Anti-IgG lub kasety polispecyficzne anty-ludzkie
- Izotoniczny roztwór soli fizjologicznej, roztwór soli fizjologicznej buforowany fosforanem (PBS) lub rozpuszczalnik do erytrocytów Ortho 0,8%
- Mikropipety o objętości dozowania 10, 40 i 50 µl
- Timer
- Wirówka kompatybilna z kasetami Ortho BioVue
- Czytnik (wyposażenie opcjonalne)

ZALECANE TECHNIKI OZNACZANIA

1. POŚREDNI TEST ANTYGLOBULINOWY

- 1.1 Przemycić erytrocyty co najmniej jednokrotnie i przygotować 3–5% zawiesinę erytrocytów w izotonicznej soli fizjologicznej lub roztworze soli fizjologicznej buforowanej fosforanem (PBS).
- 1.2 Do odpowiednio oznakowanej probówki dodać 1 kroplę (40 µl) odczynnika Anti-Fy^a.
- 1.3 Dodać 1 kroplę (40 µl) zawiesiny badanych erytrocytów.
- 1.4 Roztwór wymieszać i inkubować w temperaturze 37°C przez 15 minut.
- 1.5 Przemycić krwinki jeden raz izotonicznym roztworem soli fizjologicznej, dokładnie dekantując sól fizjologiczną.
- 1.6 Dodać 2 krople (80 µl) odczynnika przeciwciała any-ludzkiej globuliny, wymieszać i odwirowywać badany materiał z prędkością 1000 rcf przez 20 sekund.
- 1.7 Ostrożnie wstrząsnąć probówką, aby oderwać erytrocyty od ścianek probówki, a następnie makroskopowo ocenić, czy doszło do aglutynacji.
- 1.8 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.

2. METODA Z UŻYCIEM ŻELU BIO-RAD

- 2.1 Przygotować 3–5% zawiesinę badanych erytrocytów w izotonicznej soli fizjologicznej lub roztworze soli fizjologicznej buforowanej fosforanem PBS albo 0,8% zawiesinę w roztworze ID- Diluent 2.
- 2.2 Dodać 10 µl 3–5% lub 50 µl 0,8% zawiesiny badanych erytrocytów do odpowiedniej mikroprobówki karty ID Bio-Rad.
- 2.3 Do odpowiedniej mikroprobówki dodać 25 µl odczynnika Anti-Fy^a.
- 2.4 Roztwór ostrożnie wymieszać i inkubować w temperaturze 37°C przez 15 minut.
- 2.5 Odwirować kartę ID, przestrzegając czasu oraz prędkości podanych przez producenta karty.
- 2.6 Odczytać wynik makroskopowo lub za pomocą czytnika. Użytkownik musi zweryfikować wynik uzyskany przy użyciu czytnika.

3. METODA Z UŻYCIEM ŻELU GRIFOLS

- 3.1 Przygotować 3–5% lub 1% zawiesinę badanych erytrocytów w izotonicznej soli fizjologicznej lub roztworze soli fizjologicznej buforowanej fosforanem PBS albo 1% zawiesinę w roztworze DG Gel Sol.
- 3.2 Dodać 10 µl 3–5% lub 50 µl 1% zawiesiny badanych erytrocytów do odpowiedniej mikroprobówki karty Grifols DG Gel.
- 3.3 Dodać 25 µl odczynnika Anti-Fy^a do mikroprobówki kart Grifols DG IgG/Coombs.
- 3.4 Roztwór ostrożnie wymieszać i inkubować w temperaturze 37°C przez 15 minut.
- 3.5 Odwirować kartę, przestrzegając czasu oraz prędkości podanych przez producenta karty.
- 3.6 Po odwirowaniu odczytać makroskopowo wynik testu. Użytkownik musi zweryfikować wynik uzyskany przy użyciu czytnika.

4. METODA KOLUMNOWA BIOVUE

- 4.1 Przygotować 3–5% lub 0,8% zawiesinę badanych erytrocytów w izotonicznej soli fizjologicznej lub roztworze soli fizjologicznej buforowanej fosforanem PBS albo 0,8% zawiesinę w rozpuszczalniku do erytrocytów Ortho 0,8%.
- 4.2 Dodać 10 µl 3–5% lub 50 µl 0,8% zawiesiny badanych erytrocytów do odpowiedniej komory reakcyjnej kasety Ortho BioVue.
- 4.3 Do odpowiedniej komory reakcyjnej dodać 40 µl odczynnika Anti-Fy^a.
- 4.4 Roztwór ostrożnie wymieszać i inkubować w temperaturze 37°C przez 15 minut.
- 4.5 Odwirować kasetę, przestrzegając czasu oraz prędkości podanych przez producenta kasety.
- 4.6 Odczytać wynik makroskopowo lub za pomocą czytnika. Użytkownik musi zweryfikować wynik uzyskany przy użyciu czytnika.

OGRANICZENIA METODY

Uzyskanie wyników fałszywie dodatnich jest możliwe przy oznaczaniu próbki z zastosowaniem bezpośredniego testu antyglobulinowego DAT. W przypadku podejrzenia takich okoliczności zaleca się zastosowanie autotestu.

Nie należy stosować z erytrocytami poddanymi działaniu enzymów, ponieważ antygeny zawarte w układzie Duffy mogą ulec zniszczeniu po wystawieniu na działanie enzymów proteolitycznych.

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

CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW

Odczynnik monoklonalny IgG pochodzenia ludzkiego Anti-Fy^a (linia komórkowa P3TIM) do oznaczeń grupowych krwi (kod produktu NW) badano przy użyciu metody pośredniej z użyciem antyglobuliny, wykonując oznaczenia próbek pobranych na antykoagulant od zdrowych dawców i pacjentów. Zestaw próbek był reprezentatywny dla wszystkich głównych fenotypów. Całkowitą liczbę testów (n) oraz czułość i swoistość obliczoną dla każdej z metod przedstawiono w tabeli poniżej:

METODA	Anti-Fy ^a Kod produktu NW			
	Czułość		Swoistość	
	n	%	n	%
IAT	221	100	89	100
Metoda żelowa Bio-Rad	78	100	39	100
Metoda żelowa Grifols	86	100	31	100
Metoda kolumnowa	87	100	29	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.

PIŚMIENICTWO

1. Race, R.R. and Sanger, R. Blood Groups in Man, 6th edition, Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1975.
2. Daniels, G. Human Blood Groups, Oxford: Blackwell Science Ltd.; 1995.
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.



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

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

Pl192/a
2013-02