

ODCZYNNIKI MONOKLONALNE DO BADAŃ GRUPOWYCH KRWI INSTRUKCJA UŻYTKOWANIA

Odczynnik monoklonalny Anty-Fy^a: do oznaczania pośrednimi metodami antyglobulinowymi

PODSUMOWANIE

Antygeny Fy^a i Fy^b opisano po raz pierwszy kolejno w 1950 i 1951 r. Zarówno przeciwciała anty-Fy^a, jak i anty-Fy^b uczestniczą w natychmiastowych i opóźnionych poprzeczeniowych reakcjach hemolitycznych oraz chorobie hemolitycznej noworodka.

Anty-Fy ^a	Anty-Fy ^b	Fenotyp	% rasy białej	% Afroamerykanów
+	0	Fy(a+b-)	17	9
0	+	Fy(a-b+)	34	22
+	+	Fy(a+b+)	49	1
0	0	Fy(a-b-)	Bardzo rzadko	68

PRZEZNACZENIE

Niniejszy odczynnik to odczynnik do grupowania krwi przeznaczony do jakościowego określania obecności lub braku antygenu Fy(a) (FY001) na czerwonych krwinkach dawców krwi lub pacjentów wymagających transfuzji krwi, jeżeli badania są wykonywane zgodnie z zalecanymi metodami opisanymi w niniejszej instrukcji użytkowania.

ZASADA DZIAŁANIA

Odczynnik powoduje pośrednią aglutynację (zlepianie) czerwonych krwinek, które zawierają antygen Fy(a), w fazie antyglobulinowej badania. Brak aglutynacji oznacza zwykle brak antygenu Fy(a) (patrz **Ograniczenia**).

ODCZYNNIKI

Niniejszy odczynnik monoklonalny IgG do badań grupowych krwi zawiera ludzkie przeciwciała monoklonalne rozcieńczone w buforze fosforanowym zawierającym chlorek sodu i albuminę bydlęcą. Odczynnik nie zawiera ani nie składa się z substancji CMR, substancji zaburzających funkcjonowanie układu hormonalnego ani substancji, które mogą powodować uczulenie lub reakcję alergiczną u użytkownika. Odczynnik jest dostarczany 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**.

Produkt	Linia komórkowa/klon
Anty-Fya	DG-FYA-02

PRZECZYSZCZANIE

Nie zamrażać. Po otrzymaniu fiołki z odczynnikiem 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 BS EN ISO 23640:2015.

POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBK

Próbki krwi mogą być konserwowane w antykoagulantach EDTA lub jako próbka skrzepnięta. Probki należy przebadać jak najszybciej po pobraniu. Jeśli wystąpi opóźnienie w badaniu, próbki należy przechowywać w temperaturze 2-8°C. Probki wykazujące znaczny stopień hemolizy lub zanieczyszczenie mikrobiologiczne nie powinny być wykorzystywane do badań. Probki krwi wykazujące oznaki lizy mogą dawać niewiarygodne wyniki. Przed badaniem zaleca się (ale nie jest to konieczne) przemywanie wszystkich próbek krwi roztworem PBS lub izotonicznym roztworem soli.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Odczynnik jest przeznaczony wyłącznie do diagnostycznego użytku *in vitro*.
- Jeśli fiołka z odczynnikiem 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.
- Odczynnik został przefiltrowany 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.
- Odczynnik zawiera <0,1% azotku sodu. Azotek sodu może być toksyczny w przypadku połknięcia i może reagować z ołowiem i miedzią, tworząc wybuchowe azydki metali. Podczas usuwania splukać dużą ilością wody.
- Materiały użyte do wytworzenia odczynników 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

- Badanie dodatnich (najlepiej komórek heterozygotycznych) i ujemnych prób kontrolnych powinno być wykonane równolegle 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 **metodzie próbówkowej** 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 odczynnik jest używany.
- Użytkownik końcowy musi określić przydatność odczynników do zastosowania w innych metodach.

WYMAGANE ODCZYNNIKI I MATERIAŁY

- Odczynnik przeciwko globulinie ludzkiej, tj. Lorne AHG Elite (nr kat. 435010 lub 415010), lub przeciwko IgG, tj. Lorne Anti-Human IgG (nr kat. 402010 lub 401010).
- Myjka do komórek Coombsa
- Karty Bio-Rad ID (LISS/Coombs lub Coombs Anti-IgG)
- Wirówka Bio-Rad ID
- Roztwór Bio-Rad ID-CellStab lub ID-Diluent 2
- Inkubator Bio-Rad ID zrównoważony do 37°C ± 2°C
- Szklane próbki (10 x 75 mm lub 12 x 75 mm)
- Czerwone krwinki uczulone przez IgG, tj. komórki kontrolne Coombsa firmy Lorne (nr kat. 970010)
- Kasety systemu Ortho BioVue (AHG Polyspecific lub AHG Anti-IgG)
- Wirówka systemu Ortho BioVue.
- Blok cieplny systemu Ortho BioVue zrównoważony do 37°C ± 2°C
- Płyn rozcieńczający Ortho 0,8% Red Cell Diluent
- Roztwór PBS (pH 6,8-7,2) lub izotoniczny roztwór soli fizjologicznej (pH 6,5-7,5)
- Dodatnie (najlepiej heterozygotyczne) i ujemne próby kontrolne czerwonych krwinek
- Pipety wolumetryczne
- Inkubator z kąpielą wodną lub inkubator z suchym ciepłem zrównoważony do 37°C ± 2°C

ZALECANE METODY

A. Pośrednia metoda antyglobulinowa (IAT)

- Przygotować 2-3% zawiesinę krwinek czerwonych w roztworze PBS lub izotonicznym roztworze soli fizjologicznej.
- Umieścić w oznakowanej próbówce: 1 część odczynnika Lorne i 1 część zawiesiny czerwonych krwinek.
- Dokładnie wymieszać i inkubować w temperaturze 37°C przez 15 minut.
- Przepłukać krwinki czerwone 1 raz z użyciem roztworu PBS lub izotonicznego roztworu soli fizjologicznej, zwracając uwagę, aby zlać roztwór soli fizjologicznej po płukaniu.
- Dodać 2 części odczynnika przeciwko globulinie ludzkiej lub przeciwko IgG do każdej suchej próbki krwinek.
- Dokładnie wymieszać i odwirować wszystkie próbki 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.
- Potwierdzić ważność wszystkich ujemnych reakcji za pomocą czerwonych krwinek uczulonych przez IgG.

B. Metoda Bio-Rad-ID (karty LISS/Coombs)

- Przygotować 0,8% zawiesinę krwinek czerwonych w roztworze ID-CellStab lub ID-Diluent 2.
- Usunąć folię aluminiową z wymaganej liczby mikropróbówek na karcie/kartach ID LISS/Coombs lub Coombs Anti-IgG.
- Umieścić w odpowiedniej mikropróbówce: 50 µl zawiesiny czerwonych krwinek i 25 µl odczynnika Lorne.

4. Inkubować kartę/karty ID LISS/Coombs przez 15 minut w temperaturze 37°C.
5. Odwirować kartę/karty ID LISS/Coombs w wirówce na karty Bio-Rad ID.
6. Zbadać makroskopowo w kierunku aglutynacji.

C. Metoda Ortho BioVue (kasety AHG)

1. Przygotować 0,8% zawiesinę krwinek czerwonych w 0,8% roztworze Ortho Red Cell Diluent.
2. Usunąć folię aluminiową z wymaganej liczby komór reakcyjnych na kasetach AHG Polyspecific lub AHG Anti-IgG.
3. Umieścić w odpowiedniej komorze reakcyjnej: 50 µl zawiesiny czerwonych krwinek i 40 µl odczynnika Lorne.
4. Inkubować kasetę/kasety przez 15 minut w temperaturze 37°C.
5. Odwirować kasetę(-y) w wirówce systemu Ortho BioVue.
6. Zbadać makroskopowo w kierunku aglutynacji.

INTERPRETACJA WYNIKÓW BADAŃ

1. **Wynik dodatni:** Aglutynacja czerwonych krwinek stanowi dodatni wynik badania, a przy zaakceptowanych ograniczeniach procedury testowej wskazuje na obecność stosownego antygenu na czerwonych krwinkach.
2. **Wynik ujemny:** Brak aglutynacji czerwonych krwinek stanowi ujemny wynik badania, a przy zaakceptowanych ograniczeniach procedury testowej wskazuje na brak stosownego antygenu na 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-przeciwciała, 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 **pośredniej metody antyglobulinowej**.
2. Stłumiona lub ograniczona ekspresja niektórych antygenów grup krwi może natomiast powodować reakcje fałszywie ujemne – dlatego należy zawsze zachować ostrożność podczas ustalania genotypów na podstawie wyników badań.
3. 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 odczynnika przebadano przy użyciu zalecanych metod testowych wymienionych w niniejszej instrukcji użytkowania. 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. Swoistość źródłowych przeciwciał monoklonalnych wykazano za pomocą panelu komórek antygenowo ujemnych.
3. 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 końcowy 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. Widman FK. Technical Manual, 9th Edition. American Association of Blood Banks, Arlington, VA, 1985; rozdz. 8
2. Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, 6th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1975; rozdz. 2
3. Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1987; rozdz. 7
4. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; rozdz. 6
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
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
Monoklonalne anty-Fya	2 ml	774002	40

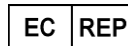
TABELA SYMBOLI

Symbol	Definicja	Symbol	Definicja
	Producent		Numer katalogowy
	Ograniczenie temperatury		Data ważności RRRR-MM-DD
	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro		Sprawdzić w instrukcji użycia
	Upoważniony przedstawiciel		Numer serii
	Oznakowanie CE z weryfikacją przez jednostkę notyfikowaną		



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