Instructions for use

Sanquin Reagents B.V.
Plesmanlaan 125
1066 CX Amsterdam
The Netherlands

Phone: +31 20 5123599
Fax: +31 20 5123570
Reagents@sanquin.nl
www.sanquin.org/reagents

anti-Fy^a (IgG) monoclonal AGT method

REF K1236 IVD CE 0344

024_v04 07/2019 (el)

Μόνο για επαγγελματική χρήση

Αντιδραστήρια τυποποίησης ομάδων αίματος για την ανίχνευση των αντιγόνων Fy^a σε ανθρώπινα ερυθροκύτταρα.

Γενικές πληροφορίες
Το μονοκλωνικό αντιδραστήριο Sanquin αντι-Fy^a (IgG) ομάδων αίματος (ο αριθμός κλώνου αναφέρεται στο αντίστοιχο πιστοποιητικό ανάλυσης/έντυπο κυκλοφορίας και την ετικέτα του προϊόντος) προετοιμάζεται από τα υπερκείμενα καλλιεργειών από σταθερές κυτταρικές σειρές υβριδώματος, όπως περιγράφεται για πρώτη φορά από τους Kohler και Milstein (Nature 1975). Αυτό το μονοκλωνικό αντιδραστήριο περιέχει ανθρώπινα IgG αντισώματα που έχουν επιλεγεί και έχουν αναπτυχθεί ειδικά ώστε να παρέχουν μια αξιόπιστη εναλλακτική λύση έναντι των πολυκλωνικών αντιδραστηρίων. Το αντιδραστήριο αυτό ανταποκρίνεται στις απαιτήσεις των σχετικών προτύπων και οδηγιών. Τα χαρακτηριστικά επιδόσεων αναφέρονται στα έντυπα κυκλοφορίας, τα οποία παρέχονται με το προϊόν εφόσον ζητηθούν. Η αρχή λειτουργίας της μεθόδου είναι η τεχνική συγκόλλησης, η οποία βασίζεται στην αντίδραση αντιγόνου/αντισώματος. Συνιστάται να συμπεριλαμβάνονται θετικοί ή αρνητικοί μάρτυρες σε κάθε σειρά προσδιορισμών ομάδων αίματος.

Προφυλάξεις
Για in vitro διαγνωστική χρήση μόνο. Τα αντιδραστήρια θα πρέπει να αποθηκεύονται στους 2–8°C. Φιαλίδια που παρουσιάζουν διαρροή ή είναι κατεστραμμένα δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται. Τα αντιδραστήρια (σφραγισμένα ή ανοικτά) δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται μετά το πέρας της ημερομηνίας λήξης, η οποία αναγράφεται επάνω στην ετικέτα του φιαλιδίου. Ως συντηρητικό χρησιμοποιείται 0,1% (w/v) NaN_3. Αν και έχουν εξεταστεί όλα τα προϊόντα αίματος για λοιμώδη νοσήματα και έχουν βρεθεί αρνητικά, δεν θα πρέπει τα αντιδραστήρια να θεωρούνται απαλλαγμένα από λοιμώδεις παράγοντες.
Θα πρέπει να είστε ιδιαίτερα προσεκτικοί κατά τη χρήση και την απόρριψη κάθε περιέκτη και του περιεχομένου του. Η παρουσία θολότητας πιθανόν να υποδεικνύει μικροβιακή επιμόλυνση. Για την αναγνώριση της υποβάθμισης της ποιότητας του αντιδραστηρίου, προτείνεται η εξέταση του αντιδραστηρίου ως μέρος του προγράμματος ποιοτικού ελέγχου του εργαστηρίου με τη χρήση κατάλληλων μαρτύρων. Μετά την ολοκλήρωση της εξέτασης, η διάθεση των αποβλήτων θα πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους κανονισμούς του εργαστηρίου.

Συλλογή και προετοιμασία των δειγμάτων
Τα δείγματα αίματος θα πρέπει να λαμβάνονται υπό άσηπτες συνθήκες, με ή χωρίς την προσθήκη αντιπηκτικών. Εάν υπάρξουν καθυστερήσεις στην εξέταση των δειγμάτων αίματος, η αποθήκευσή τους θα πρέπει να γίνεται στους 2-8°C.
Η προετοιμασία του δείγματος περιγράφεται στις διαδικασίες της αντίστοιχης εξέτασης.

Διαδικασία εξέτασης
Έμμεση εξέταση αντισφαιρίνης (μέθοδος AGT)
Απαιτούμενος τύπος σωλήνα: υάλινοι σωλήνες, στρογγυλού πυθμένα, μεγέθους 75 x 10/12 mm.

1. Παρασκευάστε ένα κυτταρικό εναιώρημα με 3–5% των ερυθροκυττάρων που προορίζονται για εξέταση, με την προσθήκη ισότονου αλατούχου διαλύματος.
2. Σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα προσθέστε:
   - 1 σταγόνα αντιδραστηρίου AGT
   - 1 σταγόνα του κυτταρικού εναιωρήματος 3–5%

   και αναμίξτε καλά.
3. Επωάστε σε υδατόλουτρο για 15 λεπτά στους 37°C.
4. Πλύνετε το σωλήνα 3 φορές με περίσσεια ισότονου αλατούχου διαλύματος. Απομακρύνετε πλήρως την τελευταία πλύση.
5. Προσθέστε 2 σταγόνες του πολυειδικού ορού αντι-ανθρώπινης σφαιρίνης και αναμίξτε καλά.
6. Φυγοκεντρήστε για 20 δευτερόλεπτα στις 1000 rcf ή επί διάστημα κατάλληλο με τη βαθμονόμηση της φυγόκεντρου.
7. Αιωρήστε και πάλι τα κύτταρα με ήπια ανακίνηση και εξετάστε μακροσκοπικά για την ύπαρξη συγκόλλησης.
8. Εάν δεν υπάρχει ορατή συγκόλληση, προσθέστε 1 σταγόνα Coombs Control Cells και επαναλάβετε τα βήματα 6 και 7· θα πρέπει τώρα να γίνει θετική. Εάν η εξέταση παραμείνει αρνητική, το αποτέλεσμα είναι άκυρο και η εξέταση θα πρέπει να επαναληφθεί.

Ερμηνεία
Μια θετική αντίδραση (δηλαδή συγκόλληση) υποδηλώνει την παρουσία του αντίστοιχου αντιγόνου. Μια αρνητική αντίδραση (δηλαδή καμία ορατή συγκόλληση) υποδηλώνει την απουσία του αντίστοιχου αντιγόνου.

Παρουσία	**Λευκοί**	**Μαύροι**
Fy^a	66%	10%

Περιορισμοί
Μη αναμενόμενα θετικά αποτελέσματα οφείλονται σε: ψευδοσυγκόλληση, πολυσυγκόλληση, αυτοσυγκόλληση, αντίδραση μικτού πεδίου.
Μη αναμενόμενα αρνητικά ή ασθενή αποτελέσματα οφείλονται σε: ασθενή αντιγόνα, αντίδραση μικτού πεδίου, μειωμένη ενεργότητα του αντιδραστηρίου.
Τα παραλλαγμένα κύτταρα αντιγόνου μπορούν να παράγουν απροσδόκητες θετικές ή αρνητικές αντιδράσεις με δείγματα που προηγουμένως είχαν προσδιοριστεί με αντιδραστήρια ομαδων αίματος πολυκλωνικών ή άλλων μονοκλωνικών πηγών προερχόμενων από κυτταρική σειρά.
Μπορεί να υπάρξουν ψευδώς θετικά ή ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα λόγω επιμόλυνσης των υλικών της εξέτασης ή λόγω απόκλισης από την προτεινόμενη τεχνική.

Ερυθροκύτταρα που έχουν επικαλυφθεί in vivo με αντισώματα IgG ή/και συστατικά συμπληρώματος θα συγκολλώνται από τον πολυειδικό ορό αντι-ανθρώπινης σφαιρίνης και ως εκ τούτου θα προκαλούν ψευδώς θετικό προσδιορισμό αντιγόνων ομάδων αίματος. Για να εξαλειφθεί αυτή η πιθανότητα, θα πρέπει να πραγματοποιείται άμεση εξέταση αντισφαιρίνης (DAT) στο δείγμα πριν από τον προσδιορισμό των αντιγόνων ομάδων αίματος.
Το ανεπαρκές πλύσιμο των ερυθροκυττάρων της εξέτασης μπορεί να οδηγήσει σε ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα εξαιτίας της εξουδετέρωσης του πολυειδικού αντι-ανθρώπινου ορού από πρωτεΐνες (IgG) που συνεχίζουν να υπάρχουν στο σωλήνα.
Τα Sanquin αντιδραστήρια των ομάδων αίματος έχουν βελτιστοποιηθεί για χρήση με την τεχνική που προτείνεται στο ένθετο της παρούσας συσκευασίας. Εκτός εάν αναφέρεται διαφορετικά, η καταλληλότητά της χρήσης τους από άλλες τεχνικές πρέπει να καθορίζεται από τον χρήστη.

Παραπομπές

1. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6th ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
2. Issitt P.D.; Applied Blood Group Serology, 3rd ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985.
3. Daniels G.; Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd. 1995.
4. Reid M.E. and Lomas-Francis C.; The Blood Group Antigen Facts Book. Facts Book Series, 1997.
5. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion In Clinical Medicine, 9th ed. Blackwell, Oxford, 1993.

Τα προϊόντα Sanquin είναι εγγυημένα να αποδίδουν όπως περιγράφεται στις αρχικές οδηγίες χρήσης του κατασκευαστή. Η αυστηρή συμμόρφωση με τις διαδικασίες, τις διατάξεις δοκιμών και τα συνιστώμενα αντιδραστήρια και εξοπλισμό είναι ουσιώδης. Η Sanquin αποποιείται κάθε ευθύνη που οφείλεται σε τυχόν παρέκκλιση από τα παραπάνω.