

Anti-Fy<sup>b</sup> Linia komórkowa: SpA264LBg1  
Kod produktu: NV

Odczynnik monoklonalny IgM pochodzenia ludzkiego do oznaczania grupy krwi  
Do technik probówkowych, żelowych i kolumnowych



0123

### PRZEZNACZENIE

BIOSCOT Anti-Fy<sup>b</sup> to odczynnik monoklonalny IgM pochodzenia ludzkiego do oznaczania grupy krwi (linia komórkowa SpA264LBg1) przeznaczony do wykrywania antygenu Fy<sup>b</sup> w metodzie probówkowej, żelowej i kolumnowej. Odczynnik powinien być stosowany przez personel przeszkolony w zakresie technik serologicznych.

### WPROWADZENIE

Antygen Fy<sup>a</sup> odkrył w 1950 roku Cutbush i inni. Antygen przeciwny Fy<sup>b</sup> odkrył rok później Ikin i inni. Geny Fy<sup>a</sup> oraz Fy<sup>b</sup> dają 3 fenotypy: 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	Częstość występowania		
	Biała	Czarna	Azjatycka
Fy(a+b-)	17%	9%	91%
Fy(a+b+)	49%	1%	9%
Fy(a-b+)	34%	22%	<1%
Fy(a-b-)	0%	68%	0%

### ZASADA OZNACZENIA

Po zastosowaniu zalecanej techniki analitycznej 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.

Produkt jest dostarczany w postaci przefiltrowanej na filtrze 0,22 µm.

### MATERIAŁY

Kod produktu NV Anti-Fy<sup>b</sup> zawiera przeciwciała z linii komórkowej SpA264LBg1. Odczynnik składa się z monoklonalnych przeciwciał IgM pochodzenia ludzkiego w roztworze buforującym. Odczynnik zawiera azydek sodu 0,1% (w/v) i materiał pochodzenia wołowego. Zawartość każdej fiołki o pojemności 2 ml wystarcza do wykonania około 40–80 oznaczeń.

### ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Wszystkie produkty krwiopochodne należy traktować jako potencjalnie zakaźne. Ludzkiego dawcę lub linię komórkową wykorzystane do produkcji odczynnika Anti-Fy<sup>b</sup> zbadano pod kątem obecności HIV 1+2, zapalenia wątroby typu B i zapalenia wątroby typu C i uzyskano wynik ujemny. Żaden ze znanych testów nie gwarantuje, że dowolny produkt pochodzący z krwi ludzkiej jest wolny od czynników zakaźnych. 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 lub miedzią, wchodzącymi w skład rur instalacji wodno-kanalizacyjnej. Wylewane odpady należy splukać dużą ilością wody.
3. Odczynnik powinien być klarowny. Zmętnienie może oznaczać skażenie bakteryjne. Nie należy używać odczynnika, jeżeli doszło do wytrącenia osadu, że
4. lu fibrynowego, lub jeżeli w roztworze widoczne są drobiny.
5. Odczynnik jest przeznaczony wyłącznie do profesjonalnej diagnostyki *in vitro*.

6. Materiał pochodzenia wołowego uzyskano ze źródeł zatwierdzonych przez Departament Rolnictwa USA (USDA) lub z innych źródeł, dla których dostępne są informacje o pochodzeniu zwierząt. Badanie zwierząt, od których pobrano materiał, potwierdziło brak zakaźności i niskie ryzyko przenoszenia zakaźnych encefalopatii gąbczastych.
7. 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 odczynnika kontrolnego, 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 zalecanych 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. Próbkę można pobierać na EDTA lub płyn konserwujący ACD-A. Próbkę należy oznaczyć najszybciej jak to możliwe po pobraniu. 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 probówkowa:

- Probówka
- Izotoniczny roztwór soli fizjologicznej
- Wirówka (1500 rcf)

#### Metoda z użyciem żelu Bio-Rad:

- Karta ID Bio-Rad „NaCl, enzyme test and cold agglutinins” (NaCl, oznaczenie enzymatyczne i zimne aglutyniny)
- Izotoniczny roztwór soli fizjologicznej, roztwór soli fizjologicznej buforowany fosforanem (PBS) lub ID-Diluent 2
- Mikropipety umożliwiające odmierzenie objętości 10, 25 i 50 µl
- Inkubator 37°C
- Timer
- Wirówka kompatybilna z kartami ID Bio-Rad
- Czytnik (wyposażenie opcjonalne)

#### Metoda z użyciem żelu Grifols:

- Karta neutralna DG Gel
- Izotoniczny roztwór soli fizjologicznej, roztwór soli fizjologicznej buforowany fosforanem (PBS) lub roztwór DG Gel Sol

- Mikropipety umożliwiające odmierzenie objętości 10, 25 i 50 µl

- Timer
- Inkubator 37°C Wirówka (kompatybilna z kartami Grifols Gel)

- Czytnik (wyposażenie opcjonalne)

#### Metoda kolumnowa BioVue:

- Kasety neutralne systemu Ortho BioVue®
- Izotoniczny roztwór soli fizjologicznej, roztwór soli fizjologicznej buforowany fosforanem (PBS) lub rozpuszczalnik do erytrocytów Ortho® 0,8%
- Mikropipety umożliwiające odmierzenie objętości 10, 40 i 50 µl
- Timer
- Wirówka kompatybilna z kasetami Ortho BioVue
- Czytnik (wyposażenie opcjonalne)

## ZALECANE TECHNIKI OZNACZANIA

### 1. Metoda probówkowa

- 1.1 Przygotować 3–5% zawiesinę badanych erytrocytów w izotonicznym roztworze soli fizjologicznej lub roztworze soli fizjologicznej buforowanej fosforanem PBS.
- 1.2 Do odpowiednio oznakowanej próbówki dodać jedną kroplę (50 µL) odczynnika Anti-Fy<sup>b</sup>.
- 1.3 Dodać jedną kroplę (50 µL) zawiesiny badanych erytrocytów.
- 1.4 Wymieszać i odwirować przy prędkości 1500 g przez 60 sekund.
- 1.5 Ostrożnie wstrząsnąć próbówką, aby oderwać erytrocyty od ścianek próbówki, a następnie makroskopowo ocenić, czy doszło do aglutynacji.

### 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 mikropróbówki karty ID Bio-Rad.
- 2.3 Do odpowiedniej mikropróbówki dodać 25 µl odczynnika Anti-Fy<sup>b</sup>.
- 2.4 Roztwór ostrożnie wymieszać i inkubować w temperaturze 37°C przez 15 minut.
- 2.5 Odwirować kartę, 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% 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 mikropróbówki karty Grifols DG Gel Neutral.
- 3.3 Do odpowiedniej mikropróbówki dodać 25 µl odczynnika Anti-Fy<sup>b</sup>.
- 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 Odczytać wynik makroskopowo lub za pomocą czytnika. Użytkownik musi zweryfikować wynik uzyskany przy użyciu czytnika.

### 4. Metoda kolumnowa BioVue

- 4.1 Przygotować 3–5% zawiesinę badanych erytrocytów w izotonicznej soli fizjologicznej lub roztworze soli fizjologicznej buforowanej fosforanem PBS albo 0,8% zawiesinę w roztworze Ortho 0,8% Red Cell Diluent.
- 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 mikropróbówki dodać 40 µl odczynnika Anti-Fy<sup>b</sup>.
- 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

Komórki wykazujące osłabioną ekspresję antygenu Fy<sup>b</sup>, jak na przykład komórki od osób z genem Fy<sup>x</sup>, mogą nie być wykrywane, zwłaszcza jeśli wykorzystane zostaną metody żelowa lub kolumnowa.

Wyniki oznaczenia mogą być fałszywie dodatnie w przypadku krwinek czerwonych dających dodatni wynik bezpośredniego testu antyglobulinowego (DAT). W celu wykrycia wyników fałszywie dodatnich zaleca się stosowanie kontroli z przeciwciałami monoklonalnymi BIOSCOT (kod produktu TT).

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 oznaczenia mogą prowadzić do uzyskania wyników fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych.

## CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW

Odczynnik monoklonalny Anti-Fy<sup>b</sup> (linia komórkowa SpA264LBg1) do oznaczania grupy krwi, NV, był badany metodą probówkową i z użyciem żelu Bio-Rad z wykorzystaniem próbek od dawców, próbek klinicznych i neonatologicznych oraz metodami żelową z użyciem Grifols Gel i kolumnową BioVue z wykorzystaniem próbek od dawców. Zestaw próbek był reprezentatywny dla wszystkich głównych fenotypów. Całkowitą liczbę testów (n) oraz czułość i swoistość dla każdej z metod przedstawiono w tabeli poniżej.

METODA	Anti-Fy <sup>b</sup> kod produktu NV			
	CZUŁOŚĆ		SWOISTOŚĆ	
	n	%	n	%
Probówkowa	964	99,9	207	100
Metoda żelowa Bio-Rad	964	98,3	207	100
Metoda żelowa Grifols	96	100	54	100
Metoda kolumnowa BioVue	96	100	54	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. Race, R.R. and Sanger, R. Blood Groups in Man, 6<sup>th</sup> ed. 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 Group Serology 4<sup>th</sup> ed, Miami (FL): Montgomery Scientific Publications, 1998.
4. Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom, 5<sup>th</sup> Edition. The Stationary Office, 2001.
5. Beattie, K.M. (1988) Blood Group Systems: Duffy, Kidd and Lutheran *Pierce S.R. and Macpherson C.R. eds.: str. 1-25*
6. Chown B., Lewis M. and Kaita H. (1965): the Duffy blood system in Caucasians: evidence of new allele. *Am. J. Hum. Genet.* 17 : 384-389
7. Meny GM (2010), The Duffy blood group system: a review, *Immunohematology* 26(2): 51-56.
8. Tournamille C., Le Van Kim C., Gane P., Le Pennec P.Y., Roubinet F., Babinet J., Cartron J.P., Colin Y. (1998), Arg89Cys Substitution Results in Very Low Membrane Expression of the Duffy Antigen/Receptor for Chemokines in Fyx Individuals, *Blood* 92: 2147-2156



Millipore (UK) Ltd  
Fleming Road  
Kirkton Campus  
Livingston, EH54 7BN  
Wielka Brytania  
Tel.: +44 1506 404000  
Faks: +44 1506 404001