

LORNE LABORATORIES LTD.
GREAT BRITAIN

METODYKA

Anty-A₁ (*Dolichos biflorus*)

Lektyna do oznaczania grup krwi: do testów próbówkowych i szkiełkowych

PODSUMOWANIE

Antygen A₁ jest podtypem antygeny A i został odkryty w 1910 roku. Anty-A₁ zwykle nie reaguje w temperaturze 37°C, jednakże przyznadki reaktywne w 37°C (zwłaszcza IgM) mogą spowodować zniszczenie czerwonych krwinek *In Vivo*. Około 78% ludzi z grupą A posiada podtyp A₁, a 22% A₂. Podobne proporcje występują u ludzi z grupą AB.

ZASADA

Odczynnik spowoduje (po odwirowaniu) aglutynację badanych krwinek, jeżeli posiadają one antygen A₁. Generalnie (patrz OGRANICZENIA), jeśli krwinki nie mają antygeny A₁, aglutynacja nie zajdzie.

ODCZYNNIK

Lektyna do oznaczania grup krwi Lorne Anty-A₁ jest przygotowana z wyciągu z nasion *D. biflorus*, rozcieńczonego roztworem chlorku sodu z dodatkami albuminy bydlęcej. Odczynnik jest dostarczany w optymalnym stężeniu, bez konieczności dodawania jakiegokolwiek substancji. Data przydatności i numer serii są nadrukowane na etykiecie fiołki.

PRZECHOWYWANIE

Nie zamrażać. Przechowywać w 2-8°C. Odczynnik pozostanie stabilny przez 7 dni pod warunkiem przechowywania w temperaturze poniżej 30°C. Przedłużone przechowywanie w wyższej temperaturze może doprowadzić do przyspieszonej utraty reaktywności odczynnika.

PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

Do typowania antygeny można użyć próbki krwi pobrane z antykoagulantem lub bez. Jeśli próbki nie mogą być przebadane natychmiast po pobraniu należy je przechowywać w 2-8°C. Próbkę pobraną na EDTA lub cytrynian należy przebadać w ciągu 48 godzin od pobrania. Próbkę pobraną na ACD, CPD lub CPDA-1 mogą być przebadane w ciągu 35 dni od pobrania. Przed badaniem próbki należy przepłukać dwukrotnie w buforze PBS.

OSTRZEŻENIA

1. Odczynnik przeznaczony jest do diagnostyki *In Vitro*.
2. W wypadku stwierdzenia przecieku z buleczki, odczynnik należy wyrzucić.
3. Nie używać odczynnika przeterminowanego (patrz nalepka na fiołce).
4. Nie używać odczynnika z widocznymi osadami.
5. Przy obchodzeniu się z odczynnikami należy mieć ubranie ochronne zawartość pozostającą zdatną do użycia do daty ważności, pod warunkiem, że nie jest mętna, co może oznaczać, że odczynnik uległ zniszczeniu lub zanieczyszczeniu.
6. Odczynnik zawierający < 0.1% azydki sodu. Azydki sodu może być trujący, może też reagować z ołowiem i miedzianymi instalacjami kanalizacyjnymi, dając w wyniku reakcji wybuchowe azydki metali. Przy usuwaniu odczynnika, zalać go dużą ilością wody.
7. Żadne znane testy nie dają 100% pewności, że produkt odzwierzydził lub ludzi jest wolny od czynników zakaźnych. Zachować ostrożność podczas pracy z odczynnikami.

POZYWANIE SIĘ ODCZYNNIKI I POSTĘPOWANIE W PRZYPADKU ROZLANIA

W celu otrzymania informacji o pożyżowaniu się odczynnika i oczyszczeniu rozlanych substancji niebezpiecznych należy zapoznać się z Kartą Charakterystyki Substancji Niebezpiecznych, która dostępna jest na prośbę zainteresowanego.

KONTROLE

1. Zaleca się jednoczesne badanie w każdej partii kontroli dodatniej (najlepiej krwinek grupy A₁B) i kontroli ujemnej (krwinki grupy A₂). Jeśli kontrole nie wykazują spodziewanych rezultatów, testy należy uznać za nieważne.
2. Jedną objętość oznaczoną około 40µl, jeśli używa się zaleczonego zakraplacza.
3. Odczynnik jest przeznaczony do użytku przez wykwalifikowany personel.
4. Jeśli użytkownik zamierza używać odczynnika do wykonania testu w sposób inny niż opisano w tej instrukcji, w jego gestii spoczywa ustalenie czy odczynnik nadaje się do takiego użycia.

WYMAGANE MATERIAŁY I ODCZYNNIKI

- aplikatory,
- szkiełka mikroskopowe szklane,
- szklane probówki (10x75mm lub 12x75mm),
- podświetlana przegładarka Rh,
- bufor PBS: NaCl 0.9%, pH 7.0±0.2, 22±1°C,
- kontrola dodatnia (grupa A₁B) i kontrola ujemna (grupa O)
- wirówka do probówek
- pipety miareczkowe

ZALECANE METODY BADANIA

A. Technika próbówkowa

1. Przygotować 2-3% zawiesinę czerwonych krwinek przemitych w PBS.
2. Umieścić w oznaczonej probówce: 1 objętość Lorne Anty-A₁, 1 objętość badanej zawiesiny czerwonych krwinek.
3. Dobrze wymieszać i odwirować wszystkie probówki przez 20 sekund w 1000 rcf lub z inną odpowiednią siłą i w innym odpowiednim czasie
4. Delikatnie wstrząsnąć płamkę zbitych krwinek i odczytać makroskopowo aglutynację.

B. Technika szkiełkowa

1. Przygotować 35-45% zawiesinę badanych czerwonych krwinek w surowicy, osoczu lub PBS.
2. Umieścić na oznaczonym szkiełku mikroskopowym: 1 objętość Lorne Anty-A₁ i 1 objętość badanej zawiesiny czerwonych krwinek.
3. Używając czystego aplikatora, zamieszać odczynnik i krwinki na powierzchni ok. 20 x 40 mm.
4. Delikatnie przechylać szkiełko w tę i z powrotem trzymając go w temperaturze pokojowej
5. Obserwować makroskopowo aglutynację przez nie więcej niż 30 sekund, ponieważ po 30 sekundach niektóre krwinki grupy A₂ i A₃B mogą wykazać słabą aglutynację
6. Jakakolwiek słaba reakcja powinna być potwierdzona metodą próbówkową

INTERPRETACJA WYNIKÓW

1. Wymik dodatni: Aglutynacja czerwonych krwinek oznacza wynik dodatni badania; przynajmniej ograniczenia procedury testu, wskazuje na obecność antygeny A₁ na badanych czerwonych krwinkach.
2. Wymik ujemny: Brak aglutynacji czerwonych krwinek oznacza ujemny wynik badania; przynajmniej ograniczenia procedury testu, wskazuje na nieobecność antygeny A₁ na badanych czerwonych krwinkach.

STABILNOŚĆ REAKCJI

1. Wyniki z probówek należy odczytać tuż po odwirowaniu. Opóźnienia mogą spowodować dysocjację związków antygen-przeciwcielo dając fałszywe dodatnie lub ujemne wyniki
2. Testy szkiełkowe powinny być przeprowadzone w przeciągu 30 sekund w celu zapewnienia właściwej specyficzności oraz w celu uniknięcia interpretacji wyników ujemnych jako dodatnie, co może być wynikiem wyschnięcia odczynnika.
3. Należy ostrożnie interpretować wyniki badań przeprowadzonych w innej temperaturze niż zalecana.

OGRANICZENIA BADANIA

1. Anty-A₁ może reagować z Tn-polyagglutinable lub z komórkami zawierającymi kad
2. Krew pepwinowa i próbki pobrane od niemowląt nie mogą być skutecznie typowane z użyciem Lektyny Anty-A₁, ponieważ antygen A₁ nie jest w pełni rozwinięty na czerwonych krwinkach u dzieci poniżej 6 miesiąca życia.
3. U osób powyżej 6 miesiąca życia powinno się potwierdzić wyniki oznaczania grupy krwi ABO badaniami surowicy lub osocza na obecność komórek grupy A₁B przed stwierdzeniem grupy krwi ABO.
4. Krew przechowywana może dać słabsze reakcje niż krew świeżo pobrana.
5. Fałszywe dodatnie lub ujemne wyniki mogą wystąpić wskutek:
 - Niewłaściwego stężenia krwinek
 - Niewłaściwego czasu inkubacji lub niewłaściwej temperatury
 - Niewłaściwego lub nadmiernego odwirowywania
 - Niewłaściwego przechowywania badanych materiałów
 - Odchyleń od zalecanych metod badania

INFORMACJE SZCZEGÓŁOWE

1. Odczynnik został scharakteryzowany poprzez procedury wymione w zalecanej metodzie badania
2. Przed wypuszczeniem na rynek każda seria Lektyny Anty-A₁ Lorne jest badana wg. zalecanych metod badania na panelu krwinek zawierających antygen w celu zapewnienia odpowiedniej reaktywności
3. Odczynniki są zgodne z rekomendacjami zawartymi w ostatnim wydaniu Wytycznych UK Blood Transfusion Services.
4. Kontrola jakości odczynnika została przeprowadzona przy użyciu czerwonych krwinek 2-krotnie przemitych w PBS przed badaniem

ZRZECZENIE SIĘ ODPOWIEDZIALNOŚCI

1. Producent nie ponosi odpowiedzialności za wyniki uzyskane przy zastosowaniu innych technik badania niż zalecane.
2. Przed zastosowaniem innych metod niż zalecane, należy potwierdzić ich skuteczność.

BIBLIOGRAFIA

1. Widman FK. Technical Manual, 9th Edition. American Association of Blood Banks, Arlington, VA, 1985; Chapter 8
2. Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, 6th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1975; Chapter 2
3. Molison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1987; Chapter 7
4. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 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.

DOŚTĘPNE ROZMIARY ODCZYNNIKA

Rozmiar folki	Numer katalogowy
5 ml	116005
1000 ml	116000

W celu uzyskania innych objętości należy się skontaktować z Lorne Laboratories Ltd.:

Lorne Laboratories Limited
Unit 7 Tavistock Estate
Ruscombe Business Park
Ruscombe Lane
Twyford
Reading RG10 9NJ
England
Tel: +44 (0) 118 934 2400
Fax: +44 (0) 118 934 2788
E-mail: info@lornelabs.com