



LORNE LABORATORIES LTD.
WIELKA BRYTANIA



0843

ODCZYNNIKI DO OZNACZANIA GRUP KRWI LUDZKIEJ

METODYKA

anti-Fy^a i anti-Fy^b: Do pośrednich technik antyglobulinowych

Podsumowanie

Antygeny Fy^a i Fy^b zostały odkryte odpowiednio w 1950 i 1951 roku. Wywołują one bezpośrednio i opóźnione reakcje potransfuzyjne oraz Hemolityczną Chorobę Noworodków.

Anti-Fy ^a	Anti-Fy ^b	Fenotyp	Rasa kaukaska %	Afro-Amerykanie %
+	0	Fy(a+b-)	17	9
0	+	Fy(a-b+)	34	22
+	+	Fy(a+b+)	49	1
0	0	Fy(a-b-)	bardzo rzadki	68

Zasada

Odczynnik spowodują w antyglobulinowej fazie badania, pośrednią aglutynację badanych krwinek posiadających odpowiedni antygen Duffy.

Brak aglutynacji zazwyczaj wskazuje na nieobecność odpowiedniego antygeny Duffy (Patrz ograniczenia).

Odczynniki

Odczynnik Lorne ludzki anti-Fy^a i anti-Fy^b są przygotowywane z ludzkiej surowicy rozcieńczonej w roztworze chlorku sodu zawierającym wielkocząsteczkowe substancje wzmacniające i albuminę bydlęcą. Odczynnik jest dostarczany w optymalnym stężeniu do użytku we wszystkich zalecanych metodach badanych opisanych niżej, bez konieczności dodawania jakichkolwiek substancji. Seria i data ważności są nadrukowane na nalepce folki.

Przechowywanie

Nie zamrażać. Fiolki z odczynnikami powinny być przechowywane w temp. 2 - 8°C. Przedłużone przechowywanie w innej temperaturze może wywołać przyspieszoną utratę reakcyjności odczynnika.

Pobieranie i przygotowywanie 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. Probki pobrane na EDTA lub cytrynian należy przebadać w ciągu 48 godzin od pobrania. Probki pobrane na ACD, CPD lub CPDA-1 mogą być przebadane w ciągu 35 dni od pobrania. Przed badaniem próbki należy przepłukać co najmniej dwukrotnie w buforze PBS.

Ostrzeżenia

- Odczynnik jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki in vitro
- Jeśli folka jest pęknięta lub przeciekająca należy ją niezwłocznie wyrzucić
- Nie używać odczynnika po wygaśnięciu daty ważności
- Nie używać odczynnika jeżeli widoczne są osady
- Przy obchodzeniu się z odczynnikami należy założyć fartuch oraz jednorazowe rękawice ochronne
- Odczynnik został przefiltrowany przez kapsułkę 0,2 µm w celu zredukowania bio-osadu. Po otwarciu folki, zawartość pozostaje zdana do użycia do daty ważności, pod warunkiem, że nie jest mętna, co może oznaczać, że odczynnik uległ zniszczeniu lub zanieczyszczeniu.
- Odczynnik zawierają < 0,1% azydku sodu. Azydki sodu może być trujący, może też reagować z ołowiem i niektórymi instalacjami kanalizacyjnymi, dając w wyniku reakcji wybuchowe azydki metalu. Przy usuwaniu odczynnika, zaleca się dużą ilość wody.

- Żaden test nie gwarantuje, że produkty otrzymane z ludzi lub zwierząt nie będą zawierać zainfekowanych substancji. Z folkami należy się obchodzić ostrożnie.
- Materiały do produkcji odczynników zostały przebadane przy pomocy testów mikrobiologicznych; nie stwierdzono obecności HBsAg ani przeciwciał HIV 1+2 i HCV.

Pozbywanie się odczynnika i postępowanie w przypadku rozlania

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

Kontrola

- Zaleca się badać równoległe kontrole dodatnią (najlepiej heterozygotyczną) i kontrolę ujemną w każdej partii testów. W przypadku nie pojawienia się oczekiwanych wyników, badania powinny być uznane za nieważne.
- Techniki antyglobulinowe mogą być uznane za ważne jeśli wszystkie ujemne testy reagują dodatnio z czerwonymi krwinkami uwrażliwionymi IgG
- Odczynnik zawiera wzmacniacze wielkocząsteczkowe, które mogą dać fałszywe dodatnie reakcje z krwinkami uwrażliwionymi IgG. Dlatego zaleca się badać krwinki pacjenta z jego osoczem w celu wykluczenia fałszywych dodatnich reakcji
- Większość proteolitycznych enzymów niszczy reaktywność Fy^a i Fy^b
- W "zalecanych metodach badania" 1 objętość to ok. 40 µl (dostarczany w zestawie aplikator)
- Badanie odczynników i interpretacja wyników muszą być przeprowadzone przez wykwalifikowany personel medyczny zgodne z wymogami kraju, gdzie przeprowadzane jest badanie.
- Użytkownik sam określa przydatność odczynnika do zastosowania w innych technikach badania.

Potrzebne odczynniki i materiały

- Globulina anti-ludzka, tj. Lorne Polyspecific AHG Elite (Cat # 435010) lub anti-IgG, tj. Lorne Monospecific anti-IgG (Cat # 401010)
- Myjnia Coombs
- Karty ID DiaMed (LISS/Coombs)
- Wirówka-ID DiaMed
- Rozcieńczalnik-ID DiaMed, np. ID-CellStab
- Inkubator-ID DiaMed nastawiony na 37°C +/- 2°C
- Szklane probówki (10 x 75 mm lub 12 x 75 mm)
- Czerwone krwinki uwrażliwione IgG, tj. Lorne Coombs Control Wells (Cat # 970010)
- PBS: NaCl 0,9%, pH 7,0 +/- 0,2 w temp. 22°C +/- 1°C
- Kontrola dodatnia (najlepiej heterozygotyczna) i kontrola ujemna
- Pipety miareczkowe
- Łaznia wodna lub suchy inkubator nastawiony na temp. 37 +/- 2°C

Zalecane metody badania

A. Pośrednia Technika Antyglobulinowa (IAT)

- Przygotować 2-3% zawiesinę przemitych czerwonych krwinek w PBS
- Umieścić w oznaczonej probówce: 1 objętość odczynnika Lorne Duffy i 1 objętość badanej zawiesiny czerwonych krwinek
- Dobrze wymieszać i inkubować przez 15 minut w 37°C
- Przemyc czterokrotnie czerwone krwinki w PBS, dekantować solankę pomiędzy płukankami oraz zawiesić ponownie plankę zbitych czerwonych krwinek po każdym płukaniu. Dekantować całkowicie solankę po ostatnim płukaniu
- Dodać 2 objętości globuliny anti-ludzkiej lub anti-IgG do każdej suchej planki zbitych krwinek
- Wymieszać dokładnie i odwirować wszystkie probówki przez 20 sekund w 1000 ref/lub z inną odpowiednią siłą i w innym odpowiednim czasie
- Delikatnie wstrząsnąć plankę zbitych krwinek i odczytać makroskopowo aglutynację
- Potwierdzić ważność wszystkich ujemnych reakcji za pomocą czerwonych krwinek uwrażliwionych IgG

B. Technika DiaMed-ID

- Przygotować 0,8% zawiesinę przepłukanych czerwonych krwinek w rozcieńczalniku ID
- Wziąć Kartę ID LISS/Coombs i usunąć folię aluminiową z wymaganej ilości probówek

- Umieścić w odpowiedniej probówce: 50 µl 0,8% zawiesiny badanych czerwonych krwinek i 25 µl odczynnika Duffy Lorne
- Odwirować Karęfy ID LISS/Coombs przez 15 minut w 37°C
- Odwirować Karęfy ID LISS/Coombs przez 10 minut w 90 rcf lub z inną odpowiednią siłą i w innym odpowiednim czasie
- Odczytać makroskopowo aglutynację

Interpretacja wyników

- Wynik dodatni: Aglutynacja czerwonych krwinek oznacza wynik dodatni badania; przyjaźniejszy ograniczenia procedury testu, wskazuje na obecność odpowiedniego antygenu Duffy na badanych czerwonych krwinkach.
- Wynik ujemny: Brak aglutynacji czerwonych krwinek oznacza ujemny wynik badania; przyjaźniejszy ograniczenia procedury testu, wskazuje na nieobecność odpowiedniego antygenu Duffy na badanych czerwonych krwinkach

Stabilność reakcji

- Cykle plukania powinny być przeprowadzone zaraz po sobie, próbki odwirowane, a wyniki odczytane natychmiast po dodaniu odczynnika. Wszelkie opóźnienia mogą spowodować dysocjacje związków antygen-przeciwciała, dając fałszywie zaniżone lub zawyżone wyniki.
- Należy ostrożnie interpretować wyniki badań przeprowadzonych w innej temperaturze niż zalecana

Ograniczenia

- Czerwone krwinki, które mają dodatni DAT, z powodu opłaszczenia IgG, nie mogą być typowane Postępnia Techniką Antyglubulinową
- Odczynnik zawiera wzmacniacze wielkofrakcyjne, które mogą dać fałszywe dodatnie reakcje z krwinkami uwarzliwionymi IgG. Dlatego zaleca się badać krwinki pacjenta z jego osoczem w celu wykluczenia fałszywych dodatnich reakcji
- Przeciwciała skierowane do antygenów niskiej częstotliwości mogą się okazać czynnikami skazującymi w antystrumicy do oznaczania grup krwi. Co więcej, niektóre antygeny (np. Bg, Sd^a) mogą być w stanie wzburzonych na czerwonych krwinkach. Zjawiska te mogą leżeć u źródła rzadkich fałszywych reakcji dodatnich, które mogą występować w więcej niż 1 serii o określonej specyficzności.
- Nie jest możliwe zagwarantowanie braku zanieczyszczeń przeciwciał; czerwone krwinki zawierające antygeny o niskiej częstotliwości lub wzburzone antygeny nie zawsze są dostępne do badań
- Odmieszona ilość niektórych przeciwciał grup krwi może dać fałszywe ujemne reakcje; dlatego należy uważać przy oznaczaniu genotypów na podstawie wyników badania
- Fałszywe dodatnie lub ujemne wyniki mogą również wystąpić wskutek:
 - Niewłaściwego czasu inkubacji lub niewłaściwej temperatury
 - Niewłaściwego lub nadmiernego odwirowywania
 - Niewłaściwego przechowywania badanych materiałów
 - Niezastosowania się do zalecanych technik badania
 - Niewłaściwego sęczenia krwinek

Informacje szczegółowe

- Odczynniki zostały scharakteryzowane poprzez procedury wymienione w zalecanych metodach badania
- Przed wynieszeniem na rynek każda seria Lorne anti-Fy^a1 anti-Fy^b została przechodzona na panelu czerwonych krwinek zawierających antygen wg zalecanych metod badania w celu zapewnienia właściwej reaktywności
- Obecność zanieczyszczeń przeciwciał do antygenów o występowalności w statystycznej próbie $\geq 1\%$ została wykuczona przy pomocy testów, w których zastosowano odpowiednie czerwone krwinki pozabawione antygenu lub przy pomocy testów, w których zastosowano odczynniki uprzednio wchłonięte w celu usunięcia zakłócających swoistości.
- Przeciwciała do Xg^a, Do^a, Yt^a, Co^b, Wt^a, Bg^a i V^w mogą nie być wykluzone w standardowych badaniach swoistości; a wykrycie będzie zależało od dostępności odpowiednich krwinek. To samo można powiedzieć o Yt^b i M^a oraz innych antygenach o niskiej częstotliwości, których obecność może nie być wykuczona w rutynowym badaniu swoistości - wykrycie będzie zależało od dostępności odpowiednich krwinek.
- Kontrola jakości odczynników została przeprowadzona z użyciem czerwonych krwinek przemytych w PBS przed użyciem
- Odczynniki są zgodne z rekomendacjami zawartymi w ostatnim wydaniu Wytycznych UK Blood Transfusion Services.

Zrzeczenie się odpowiedzialności

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

Bibliografia

- Widman FK. Technical Manual, 9th Edition. American Association of Blood Banks, Arlington, VA, 1985; Chapter 8
- Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, 6th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1975; Chapter 2
- Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1987; Chapter 7
- Isitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
- 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 rozmiary odczynników

Ludzkie anti-Fy ^a Lorne	Rozmiar fiołki	Numer katalogowy
	2 ml	316002
	1000 ml	316000
Ludzkie anti-Fy ^b Lorne	2 ml	317002
	1000 ml	317000

Lorne Laboratories Limited
 PO Box 6
 TWYFORD
 Reading, RG10 9NJ
 England
 Tel: +44 (0) 118 934 2400
 Fax: +44 (0) 118 934 2788
 E-mail: info@lorneclabs.com

TABELA SYMBOLI

	Numer serii		diagnostyka in-vitro
	Numer katalogowy		temperatura przechowywania
	data przydatn do użycia		producent
	patrz instrukcja		