

REACTIVI UMANI PENTRU DETERMINAREA GRUPELOR SANGUINE
INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

Anti-Fy^b policlonal: Pentru tehnici indirecte cu antiglobulină.

REZUMAT

Antigenele Fy^a și Fy^b au fost descoperite în 1950 și 1951 respectiv. Anti-Fy^b a avut legătură cu reacții hemolitice imediate și întârziate la transfuzii și cu boala hemolitică a nou-născutului.

Anti-Fy ^a	Anti-Fy ^b	Fenotip	Caucazieni ¹	Afro-americani ¹
+	0	Fy(a+b-)	17%	9%
0	+	Fy(a-b+)	34%	22%
+	+	Fy(a+b+)	49%	1%
0	0	Fy(a-b-)	Rar	68

SCOPUL PROPUȘ

Este un reactiv pentru determinarea grupei sanguine destinat a fi folosit pentru a determina calitativ prezența sau absența antigenului Fy^b (FY2) pe globulele roșii ale donatorilor de sânge sau ale pacienților care au nevoie de o transfuzie sanguină în cazul testării conform tehnicilor recomandate și prezentate în aceste instrucțiuni de utilizare.

PRINCIPIUL

Reactivul conține anticorpii la antigenul Fy^b de pe globulele roșii umane și va provoca aglutinarea (aglomerarea) indirectă a globulelor roșii umane purtătoare ale antigenului Duffy b corespunzător, în faza testului antiglobulinic. Neaglutinarea (neaglomerarea) indică, în general, absența antigenului Duffy b corespunzător (consultați **Limitări**).

REACTIVI

Reactivul pentru determinarea grupei sanguine Human Anti-Fy^b a lui Lorne este preparat din ser uman diluat într-o soluție de clorură de sodiu care conține potențiatori macromoleculari (1,9 g%) și albumină bovină. Reactivii nu conțin sau nu sunt compuși din substanțe CMR, substanțe perturbatoare pentru sistemul endocrin sau care ar putea provoca sensibilizare sau o reacție alergică în cazul utilizatorului. Fiecare reactiv este furnizat la diluarea optimă pentru utilizare cu toate tehnicile recomandate prezentate mai jos, fără să mai fie necesară diluarea sau adăugarea suplimentară. Pentru numărul de referință al lotului și data de expirare, consultați **Eticheta flaconului**.

DEPOZITARE

Flacoanele cu reactiv trebuie depozitate la temperaturi cuprinse între 2 și 8 °C după primire. Depozitarea prelungită la temperaturi în afara acestui interval poate duce la pierderea accelerată a reactivității. Acest reactiv a fost supus unor studii de stabilitate la transport la 37 °C și -25 °C, conform precizărilor din documentul BS EN ISO 23640:2015.

RECOLTAREA ȘI PREGĂTIREA PROBEI

Probele de sânge pot fi recoltate în EDTA, citrat, anticoagulanți CPDA sau ca probă coagulată. Probele trebuie testate cât mai curând posibil după recoltare. Dacă survine o întârziere în ce privește testarea, păstrați probele la 2-8 °C. Probele care prezintă o hemoliză intensă sau o contaminare microbiană nu trebuie utilizate pentru testare. Probele de sânge care prezintă semne de liză pot conduce la rezultate neconcludente. Este de preferat (dar nu esențial) să spălați toate probele de sânge cu PBS sau soluție salină izotonă înainte de testare.

PRECAUȚII

1. Reactivii sunt destinați exclusiv diagnosticului *in vitro*.
2. Dacă un flacon cu reactiv este crăpat sau curge, aruncați conținutul imediat.
3. Nu folosiți reactivii după data de expirare (consultați **Eticheta flaconului**).
4. Nu folosiți reactivii dacă observați că s-a format un precipitat.
5. Purtați echipament de protecție când manipulați reactivii, cum ar fi mănuși de unică folosință și un halat de laborator.
6. Reactivii au fost filtrați printr-o membrană de 0,2 μm pentru a reduce încărcătura biologică, dar nu este livrat steril. După deschiderea flaconului, conținutul ar trebui să rămână viabil până la data de expirare.
7. Întrucât plasma din care este fabricat acest reactiv nu mai este delipidată, este normal ca reactivul să aibă un aspect tulbure.
8. Reactivii conțin <0,1% de azidă de sodiu. Azida de sodiu poate fi toxică dacă este ingerată și poate reacționa cu conductele din plumb sau cupru formând azide metalice explozive. La eliminare, spălați cu cantități mari de apă.
9. Materialele utilizate pentru producerea reactivilor au fost testate la sursă și au indicat un rezultat negativ pentru anticorpii HIV 1+2 și HCV, și HBsAg în cadrul unor teste microbiologice aprobate.
10. Nu se cunosc teste care să garanteze faptul că produsele derivate din surse umane sau animale nu prezintă agenți infecțioși. Fiți atenți când utilizați și când eliminați un flacon și conținutul acestuia.

ELIMINAREA REACTIVULUI ȘI CUM SE ACȚIONEAZĂ ÎN CAZ DE STROPIRE

Pentru informații privind eliminarea reactivilor și metodele de decontaminare în caz de stropire, consultați **Fișele cu date de securitate**, disponibile la cerere.

MARTORI ȘI RECOMANDĂRI

1. Se recomandă testarea în paralel a unui martor pozitiv (ideal, celule heterozigote) și a unui martor negativ cu fiecare lot de teste. Testele trebuie considerate nevalide dacă probele martor nu prezintă rezultatele prevăzute.
2. Tehnicile antiglobulinice pot fi considerate valide numai dacă toate testele negative reacționează pozitiv cu globulele roșii sensibilizate cu IgG.
3. Reactivii conțin potențiatori macromoleculari care pot provoca reacții fals pozitive cu celulele sensibilizate cu IgG; se recomandă testarea celulelor pacientului cu plasma pacientului pentru testare în scopul detectării reacțiilor fals pozitive.
4. Majoritatea enzimelor proteolitice distrug reactivitatea Fy^b.
5. Înainte de utilizare, lăsați reactivul să ajungă la temperatura camerei. Imediat după utilizare, depozitați reactivul înapoi la o temperatură cuprinsă între 2 și 8 °C.
6. În **Tehnica cu eprubetă**, un volum reprezintă aproximativ 50 μl cu pipeta flaconului furnizată.
7. Utilizarea reactivilor și interpretarea rezultatelor trebuie efectuate de personal calificat și instruit în mod corespunzător în conformitate cu cerințele țării în care se utilizează reactivii.
8. Utilizatorul trebuie să stabilească în ce măsură se pot utiliza reactivii în alte tehnici.

REACTIVI ȘI MATERIALE CARE SUNT NECESARE, DAR NU SUNT FURNIZATE

Tehnica cu eprubetă

- Antiglobulină umană, adică Lorne AHG Elite (Cat # 435010 sau 415010) sau anti-IgG umană, adică Anti-Human IgG Lorne (Cat # 402010 sau 401010).
- Spălător de celule Coombs.
- Eprubete de sticlă (10 x 75 mm sau 12 x 75 mm).
- Soluție PBS (pH 6,8-7,2) sau soluție salină izotonă (pH 6,5-7,5).
- Globule roșii sensibilizate cu IgG, adică celule de control Coombs Lorne (Cat # 970010).
- Globule roșii martor pozitiv (ideal heterozigote) și negativ.
- Baie de apă sau incubator cu căldură uscată echilibrată la 37 °C ± 2 °C.

Tehnica de tipizare ID Bio-Rad Micro Typing

- Cartele ID Bio-Rad (LISS/Coombs sau Coombs Anti-IgG).
- Centrifugă ID Bio-Rad.
- ID-CellStab sau ID-Diluent 2 Bio-Rad.
- Incubator ID Bio-Rad echilibrat la 37 °C ± 2 °C.

Tehnica de tipizare Ortho BioVue

- Casete sistem Ortho BioVue (Polispesifice AHG sau AHG Anti-IgG).
- Centrifugă sistem Ortho BioVue.
- Bloc termic sistem Ortho BioVue echilibrat la 37 °C ± 2 °C.
- Diluant globule roșii 0,8% Ortho.

Toate tehnicile

- Pipete volumetrice.

TEHNICI RECOMANDATE

A. Tehnica indirectă cu antiglobulină (IAT)

1. Pregătiți o suspensie de 2-3% din globulele roșii în PBS sau soluție salină izotonă.
2. Puneți într-o eprubetă etichetată: 1 volum de reactiv Lorne și 1 volum de suspensie de globule roșii.
3. Amestecați bine și incubați la 37 °C timp de 15 minute.
4. Spălați globulele roșii de cel puțin 3 ori cu PBS sau soluție salină izotonă, având grijă să decantați soluția salină între spălări și să resuspendați fiecare buton de globule roșii după fiecare spălare. Decantați complet soluția salină după ultima spălare.
5. Adăugați 2 volume de AHG Elite sau anti-IgG umană la fiecare buton de celule uscate.
6. Amestecați temeinic și centrifugați toate eprubetele timp de 20 de secunde la 1000 rcf sau la un alt raport adecvat între timp și forță.
7. Resuspendați ușor butonul de hematii și efectuați citirea macroscopică pentru aglutinare.
8. Confirmați validitatea tuturor reacțiilor negative cu globulele roșii sensibilizate cu IgG.

B. Tehnica ID Bio-Rad (cartelă LISS/Coombs)

1. Pregătiți o suspensie de 0,8% din globulele roșii în ID-Cellstab sau ID-Diluent 2.
2. Îndepărtați folia de aluminiu de pe cât mai multe microprubete de la cartelele ID LISS/Coombs sau Coombs Anti-IgG, după cum este necesar.
3. Puneți în microprubeta corespunzătoare: 50 µl de suspensie din globule roșii de 0,8% și 25 µl de reactiv Lorne.
4. Incubați cartela(ele) timp de 15 minute la 37 °C.
5. Centrifugați cartela(ele) ID într-o centrifugă pentru ID Bio-Rad.
6. Efectuați citirea macroscopică pentru aglutinare.

C. Tehnica Ortho BioVue (Casetă AHG)

1. Pregătiți o suspensie de 0,8% din globulele roșii în diluant de globule roșii Ortho 0,8%.
2. Îndepărtați folia de aluminiu de pe cât mai multe camere de reacție de la casetele polispecifice AHG sau AHG Anti-IgG, după cum este necesar.
3. Puneți în camera de reacție corespunzătoare: 50 µl de suspensie de globule roșii și 40 µl de reactiv Lorne.
4. Incubați caseta(ele) timp de 15 minute la 37 °C.
5. Centrifugați caseta(ele) într-o centrifugă de sistem Ortho BioVue.
6. Efectuați citirea macroscopică pentru aglutinare.

INTERPRETAREA REZULTATELOR TESTULUI

1. **Pozitiv:** Aglutinarea globulelor roșii constituie un rezultat pozitiv și, în limitele acceptate ale procedurii de testare, indică prezența antigenului Duffy corespunzător pe globulele roșii.
2. **Negativ:** Neaglutinarea globulelor roșii constituie un rezultat negativ și, în limitele acceptate ale procedurii de testare, indică absența antigenului Duffy corespunzător pe globulele roșii.

STABILITATEA REACȚIILOR

1. Etapele de spălare trebuie finalizate fără întrerupere, iar probele trebuie centrifugate și citite imediat după adăugarea reactivului. Orice întârziere poate duce la disocierea complexelor antigen-anticorp, generând rezultate fals negative sau slab pozitive.
2. Aveți grijă la interpretarea rezultatelor testelor efectuate la alte temperaturi decât cele **recomandate**.

LIMITĂRI

1. Globulele roșii care au un test antiglobulinic direct (DAT) pozitiv din cauza acoperirii cu IgG nu pot fi tipizate prin **Tehnica indirectă cu antiglobulină**.
2. Acest reactiv conține potențiatori macromoleculari care pot provoca reacții fals pozitive cu celulele sensibilizate cu IgG. Se recomandă așadar testarea celulelor pacientului cu plasma pacientului pentru testare în scopul detectării reacțiilor fals pozitive.
3. Anticorpii direcționați la antigene de frecvență joasă pot apărea sub forma unor contaminanți nesuspecți în antiseruri pentru grupaj sanguin. În plus, anumite antigene (de ex., Bg, Sd^b) pot fi prezente în stare exaltată pe globulele roșii. Aceste fenomene pot fi sursa unor reacții fals pozitive rare, care pot apărea la mai mult de un lot cu o specificitate dată.
4. Nu este posibil să susținem absența completă a anticorpilor contaminanți, deoarece globulele roșii purtătoare de antigene de frecvență joasă sau antigene exaltate nu sunt întotdeauna disponibile pentru testare.
5. În schimb, expresia suprimată sau slăbită a anumitor antigene de grup sanguin poate să genereze rezultate fals negative și, prin urmare, trebuie să fiți întotdeauna atenți când atribuiți genotipurii pe baza rezultatelor testului.
6. Se poate observa o aglutinare fals pozitivă la testarea celulelor sensibilizate cu IgG.
7. Rezultatele fals pozitive pot apărea din cauza potențiatorilor macromoleculari prezenți în reactiv
8. Rezultatele fals pozitive sau fals negative pot fi generate și de:
 - Contaminarea materialelor folosite în testare
 - Depozitarea, concentrația celulară, timpul sau temperatura de incubație necorespunzătoare
 - Centrifugarea necorespunzătoare sau excesivă
 - Abaterea de la tehnicile recomandate

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ SPECIFICE

1. Înainte de a fi pus pe piață, fiecare lot de reactiv a fost testat conform metodelor de testare recomandate și enumerate în aceste instrucțiuni de utilizare. Testele corespund cerințelor de testare prezentate în numărul/versiunea curentă a „Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom” (Orientări pentru Serviciile de transfuzii sanguine din Regatul Unit).
2. Prezența anticorpilor contaminanți la antigene cu o incidență de 1% sau mai mare în rândul unui eșantion aleatoriu din populație a fost exclusă fie în testele care utilizează globule roșii cu antigen negativ, fie în testele care utilizează reactivii absorbiți anterior pentru a elimina specificitățile de interferență.
3. Este posibil ca anticorpii la Xg^a, Do^a, Yt^a, Co^b, Wr^a, Bg^a și V^w să nu fie excluși în testarea specificității de rutină, iar detectarea va depinde de disponibilitatea celei de testare adecvate. Același lucru se poate spune și despre Yt^b, M⁹ și V^w și alte antigene de frecvență joasă care s-ar putea să nu fie excluse din testarea specificității de rutină, iar detectarea va depinde de disponibilitatea celulelor de testare adecvate
4. Controlul calității reactivilor a fost efectuat cu globule roșii cu fenotipuri care au fost verificate de un centru pentru transfuzii sanguine din Regatul Unit și care au fost spălate cu PBS sau soluție salină izotonă înainte de utilizare.

DECLINAREA RESPONSABILITĂȚII

1. Utilizatorul este singurul responsabil pentru performanța reactivilor în cazul utilizării altor metode decât cele menționate în **Tehnici recomandate**.
2. Orice abatere de la **Tehnicile recomandate** trebuie validată înainte de utilizare⁵.

BIBLIOGRAFIE

1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; pagina 183.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; capitolul 6.
3. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
4. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
5. 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.

DIMENSIUNI REACTIV DISPONIBILE

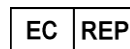
	Mărime flacon	Număr de catalog	Teste per flacon
Anti-Fy ^b policlonal	2 ml	317002	40
	1000 ml	317000*	20.000

*Această mărime este valabilă numai pentru utilizare de fabricație suplimentară (FFMU) și, prin urmare, nu are marcajul CE.



Lorne Laboratories Limited

Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate
Danehill
Lower Earley
Berkshire, RG6 4UT
Regatul Unit
Tel.: +44 (0) 118 921 2264
Fax: +44 (0) 118 986 4518
E-mail: info@lornelabs.com



Advena Ltd. Tower Business Centre, 2nd Flr.,
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta