



REACTIVI MONOCLONALI PENTRU DETERMINAREA GRUPEI SANGUINE
INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

Anti-Fy^a Monoclonal: Pentru tehnici indirecte cu antiglobulină.

REZUMAT

Antigenele Fy^a și Fy^b au fost descoperite în 1950 și 1951 respectiv. Atât Anti-Fy^a, cât și Anti-Fy^b au 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 %	Afro-americani %
+	0	Fy(a+b-)	17	9
0	+	Fy(a-b+)	34	22
+	+	Fy(a+b+)	49	1
0	0	Fy(a-b-)	Foarte rar	68

SCOPUL PROPUȘ

Este un reactiv pentru determinarea grupei sanguine destinat a fi folosit pentru a determina calitativ prezența sau absența antigenului Fy(a) (FY001) 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 va provoca aglutinarea (aglomerarea) indirectă a globulelor roșii, care transportă antigenul Fy(a), în fața testului antiglobulinic. Neaglutinarea indică, în general, absența antigenului Fy(a) (consultați **Limitări**).

REACTIVI

Acest reactiv monoclonal IgG pentru determinarea grupei sanguine conține anticorpi monoclonali umani diluați într-un tampon fosfat care conține clorură de sodiu și albumină bovină. Reactivul nu conține sau nu este compus din substanțe CMR, substanțe perturbatoare pentru sistemul endocrin sau care ar putea provoca sensibilizare sau o reacție alergică în cazul utilizatorului. Reactivul 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**.

Produs	Linie celulară/Clonă
Anti-Fy ^a	DG-FYA-02

DEPOZITARE

A nu se congela. 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, reactivul poate fi folosit până la data de expirare dacă nu se observă o turbiditate marcată, care ar putea indica deteriorarea sau contaminarea reactivului.
7. 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.
8. 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.
9. 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 a unui loc în caz de stropire, consultați **Fișele cu date de securitate ale materialului**, 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. 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.
4. În **Tehnica cu eprubetă**, un volum reprezintă aproximativ 50 μl cu pipeta flaconului furnizată.
5. 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.
6. Utilizatorul trebuie să stabilească în ce măsură se pot utiliza reactivii în alte tehnici.

REACTIVI ȘI MATERIALE NECESARE

- 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.
- 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.
- Eprubete de sticlă (10 x 75 mm sau 12 x 75 mm).
- Globule roșii sensibilizate cu IgG, adică celule de control Coombs Lorne (Cat # 970010).
- Casete sistem Ortho BioVue (Polispecifice 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.
- Soluție PBS (pH 6,8-7,2) sau soluție salină izotonă (pH 6,5-7,5).
- Globule roșii martor pozitiv (ideal heterozigote) și negativ.
- Pipete volumetrice.
- Baie de apă sau incubator cu căldură uscată echilibrată la 37 °C ± 2 °C.

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 o dată cu PBS sau soluție salină izotonă, având grijă să decantați soluția salină după spălare.
5. Adăugați 2 volume de antiglobulină umană sau anti-IgG 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 (cartele 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 microeprubete de la cartela(e) ID LISS/Coombs sau Coombs Anti-IgG, după cum este necesar.
3. Puneți în microeprubeta corespunzătoare: 50 μl de suspensie de globule roșii și 25 μl de reactiv Lorne.
4. Incubați cartela(e) ID LISS/Coombs timp de 15 minute la 37 °C.
5. Centrifugați cartela(e) ID LISS/Coombs în centrifuga pentru cartele ID Bio-Rad.
6. Efectuați citirea macroscopică pentru aglutinare.

C. Tehnica Ortho BioVue (Casete 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 corespunzător pe globulele roșii.
2. **Negativ:** Neaglutinarea globulelor roșii constituie un rezultat negativ și, în limitele acceptate ale procedurii de testare, indică absența antigenului corespunzător pe globulele roșii.

STABILITATEA REACȚIILOR

1. Etapele de spălare trebuie finalizate fără întreruperi, 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. În schimb, expresia suprimată sau slăbită a anumitor antigene de grup sanguin poate să genereze reacții fals negative deci trebuie să fiți întotdeauna atenți când atribuiți genotipuri pe baza rezultatelor testului.
3. 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. Specificitatea anticorpilor monoclonali este demonstrată cu ajutorul unui panou de celule cu antigen negativ
3. 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 utilizare⁶.

BIBLIOGRAFIE

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

DIMENSIUNI REACTIV DISPONIBILE

	Mărime flacon	Număr de catalog	Teste per flacon
Anti-Fy ^a	2 ml	774002	40
Monoclonal	1000 ml	774000*	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