

## CONTINUT

	3420010	Anti A	10 ml
REF	3430010	Anti B	10 ml
	3450010	Anti A+B	10 ml

Doar pentru diagnosticul profesional *in vitro*.

## Grup sangvin ABO

### Anti A, anti B, anti A+B monoclonal

Test calitativ al antigenilor A si/sau B pe eritrocite umane.  
TEST PE PLACI SAU IN TUBURI

## PRINCIPIU

Grupa de sange in sistem ABO este determinata prin testarea reactiei celulelor necunoscute cu anticorpi cunoscuti anti A, anti B si anti A+B.

Prezenta sau absenta aglutinarii eritrocitelor indica prezenta sau absenta antigenului corespunzator.

Reactivii pentru deetrmnarea grupelor de ange cu anticorpi monoclonali au adus avantajul unei identitati constante si absolute a reproductibilitatii si specificitatii.

Grupul DIRECT			Grupul INVERS				Fenotip ABO	% caucazieni
A	B	A,B	A1	A2	B	O		
+	0	+	0	0	+	0	A	42
0	+	+	+	+	0	0	B	10
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

## COMPOZITIA REACTIVULUI

Anticorpi monoclonali IgM de soarece

**ANTI A** Linia celulara 9113D10. Buffer fosfat. Azida de sodiu <0.1%. Albastru. Colorant: Patent Blue

**ANTI B** Linia celulara 9621A8. Buffer fosfat. Azida de sodiu <0.1%. Galben. Colorant: Tartazine

**ANTI A+B** Linia celulara 152D12+9113D10. Azida de sodiu <0.1%. Albastru. Incolor

## CONSERVARE SI STABILITATE

1. Reactivii raman stabili pana la data de expirare imprimata pe flacon, daca sunt stocati la frigider (2-8°C) cu capacul bine strans. Evitati contaminarea reactivilor in timpul folosirii. Nu folositi reactivii dupa data expirarii.
2. Nu inghetati si nu expuneti la temperaturi ridicate. Stocarea indelungata a reactivilor la temperaturi mai mari decat domeniul indicat poate duce la pierderea accentuata a reactivitatii acestora.
3. Solutiile trebuie sa fie clare, limpezi. Turbiditatea poate indica o contaminare microbiana. Nu folositi reactivii daca observati precipitati in solutie.
4. Daca o sticluta este crapata sau curge aruncati continutul imediat. Respectati normele de transport si depozitare a deseurilor biologice.

## PREPARAREA REACTIVILOR

Reactivii sunt gata preparati, pentru folosirea imediata.

## PROBELE

Probele de sange pot fi recoltate cu sau fara anticoagulant. Ar trebui testate cat mai repede cu putinta.

Probele recoltate pe EDTA sau heparina pot fi testate in 48 de ore de la recoltare.

Sangele recoltat in ACD, CPD, CPDA-1 poate fi folosit in maxim 35 zile de la data recoltarii.

Pastrati probele la frigider, 2<sup>o</sup>-8<sup>o</sup>C.

## MATERIALE NECESARE

- Eprubete (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
- Pipete Pasteur.
- Centrifuga Sero-fuge sau similara.
- Lame sticla.
- Aplicatoare de unica folosinta.

## MATERIALE SUPLIMENTARE

- Phosphate Buffered Saline (PBS): 8.5 - 9.0 g/L NaCl (0.145-0.154 mol/L) pH 7.0±0.2 la 22 ±1°C.
- Eritrocite de testare. Pozitive (ideal grupul A<sub>2</sub>B) si negative (grup O).

## PROCEDURA

## I Testarea pe lamela

1. Puneti pe lamela o picatura (approx. 40 uL) de sange integral resuspendat.
2. Adaugati o picatura (approx. 40 uL) de reactiv langa picatura de sange.
3. Amestecati reactivul cu sangele cu ajutorul unui aplicator, pe o suprafata de aprox. 2 cm diametru.
4. Rotiti usor lamela continuu timp de 2 minute.

## Citirea

Observati aglutinarea macroscopic.

*Reactie negativa:*

Nu apare aglutinarea dupa cele 2 minute.

*Reactie pozitiva:*

Apare reactie de aglutinare a celulelor rosii in cateva secunde. Se recomanda uneori ca sa se faca citirea finala la sfarsitul celor 2 minute.

## II Testarea in tub

1. Preparati o suspensie 2-3% de eritrocite spalate (de doua ori cu PBS) in PBS.
2. Adaugati o picatura (approx. 40 uL) de reactiv in eprubeta.



CS/00/034

3. Adaugati o picatura (approx. 40 uL) de eritrocite spalate.
4. Amestecati bine, incubati la 18-25°C pentru cel puțin 1 minut, si centrifugati pentru 20 de secunde cu o forta de 1000 r.c.f. sau pentru o forta si un timp echivalente.

#### 5. Citirea

Resuspendati usor fiecare solutie si observati aglutinarea macroscopic.

##### Reactie negativa:

O suspensie omogena indica o reactie negativa.

##### Reactie pozitiva:

Aglutinarea celulelor rosii indica o reactie pozitiva.

Orice tub care prezinta o reactie negativa sau in dubiu trebuie incubat pentru 15 minute la 18-25°C. Dupa incubare repetati pasii 4 si 5.

#### Interpretarea

1. **Reactie pozitiva:** Aglutinarea celulelor rosii indica o reactie pozitiva. In limitele acceptate ale procedurii de testare ne indica prezenta antigenilor ABO corespunzatori eritrocitelor testate.

2. **Reactie negativa:** Absenta aglutinarii celulelor rosii indica o reactie negativa. In limitele acceptate ale procedurii de testare ne indica absenta antigenilor ABO corespunzatori eritrocitelor testate.

3. **Discrepante:** Daca rezultatele obtinute cu grupul invers nu corespund rezultatelor obtinute cu grupul direct, avem nevoie de investigatii amanuntite suplimentare.

4. Rezultatele testarii celulelor care au aglutinat folosind serurile de control negative ar trebui excluse pentru ca este posibil ca aglutinarea sa se fi produs din cauza potentiatorilor macromoleculari din reactivul folosit pe celulele sensibilizate.

#### CONTROLUL DE CALITATE SI SFATURI

-Este recomandabil sa lucrati in paralel cu fiecare lot de sange de la pacienti un ser de control pozitiv (ideal grupul A<sub>2</sub>B cells) and si un ser de control negativ (ideal celule din grupul O).

-testele trebuie invalidate daca nu se obtin rezultatele asteptate atunci cand se lucreaza cu serurile de control.

-Cand facem tipizarea celulelor rosii de la un pacient este important ca sa includem in test un control negativ deoarece potentiatorii macromoleculari din reactiv pot cauza reactii fals pozitive cu celulele imbricate cu IgG.

- In cazul pacientilor in varsta de peste 6 luni trebuie sa testam serul acestora prin reactia cu plasma din grupurile A<sub>1</sub> si B inainte de a confirma grupa ABO.

- Folosirea reactivilor si interpretarea rezultatelor trebuie facuta numai de personal calificat, in conformitate cu normele legale in vigoare in tara in care se utilizeaza reactivii.

-Utilizatorul trebuie sa aprecieze daca reactivii sunt potriviti pentru folosirea cu alte tehnici decat cele descrise.

#### PERFORMATE ANALITICE

- Reactivii sunt specifici procedurilor descrise in PROCEDURA

- Reactivitatea a fost testata fata de standardul minim de referinta al National Institute of Biological Standards and Controls (NIBSC):

- Anti-A standard de referinta 88/722 **Si / Sau**

- Anti-B standard de referinta 88/724

- Linear Chemicals Anti-B nu reactioneaza cu liniile celulare "Acquired- B" (B dobandit).

- reactivii Linear Chemicals Monoclonal ABO nu detecteaza criptoantigenii :T, Tn , Cad.

#### LIMITARILE PROCEDURII

- Antigenii ABO nu sunt complet formati la nastere si de aceea pot fi observate reactii slabe la sangele din cordonul ombilical sau la nou nascuti.

- Sangele din subgrupele slabe A sau B pot da reactii negative sau foarte slabe.

- Sangele conservat poate da reactii mai slabe decat sangele proaspat

-Rezultate fals pozitive sau fals pozitive pot aparea si din cauza:

- contaminarii materialelor folosite in testare

- nerespectarii timpului de incubatie sau a temperaturii

- centrifugare necorespunzatoare

- stocare necorespunzatoare a reactivilor sau omiterea unui reactiv.

- abaterea de la tehnica de lucru, sangele ombilical contaminat cu Wharton's jelly

#### REFERENCES

1. Kholer, G. and Milstein, C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature. 256 : 495-497 (1975).

2. Messeter, L. et al. Mouse monoclonal antibodies with Anti-A, Anti-B and Anti-A,B specificities, some superior to human polyclonal ABO reagents. Vox Sang. 46: 185-194 (1984).

3. Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, 6th Edition. Blackwell Scientific, Oxford. Chapter 2. (1975).

4. Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8th Edition, Blackwell Scientific, Oxford. Chapter 7. (1987).

5. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami. Chapter 6. (1985)

6. BSCH Blood Transfusion Task Force. Guidelines for microplate techniques in liquid-phase blood grouping and antibody screening, Clinical Laboratory Haematology. 12: 437-460 (1990).

7. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Fourth Edition, Section 3 (2000).

8. 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. 5: 145-150 (1995).