|  |  |
| --- | --- |
|  | **REGIONALNE CENTRUM****KRWIODAWSTWA I KRWIOLECZNICTWA** **W BIAŁYMSTOKU**ul. M. Skłodowskiej - Curie 23, 15-950 Białystok, skr. poczt. 211Tel. (85) 744 70 02, Fax (85) 744 71 33[www.rckik.bialystok.pl](http://www.rckik.bialystok.pl/) |

***KRWINKI WZORCOWE DO UKŁADU ABO***

**INFORMACJE O WYROBIE**

**Zestaw standaryzowanych krwinek wzorcowych zawiera następujące krwinki**:

* krwinki wzorcowe grupy O RhD +/ RhD -, MM/ MN Ss/ SS, P1, Le(a+)
* krwinki wzorcowe grupy A1 RhD + /RhD-
* krwinki wzorcowe grupy A2 RhD + /RhD-
* krwinki wzorcowe grupy B RhD + /RhD-

Krwinki wzorcowe uzyskuje się z krwi pobranej od zdrowych, wyselekcjonowanych dawców o ujemnych wynikach testów na obecność wirusów HIV typ 1i 2, HCV, HBV oraz bakterii Krętek blady. Krwinki wzorcowe zawieszone są w płynie konserwującym z dodatkiem roztworu wzbogacającego ADSOL/SAGM, zabezpieczającym krwinki przed hemolizą i zapewniającym stałą ekspresję antygenów krwinek czerwonych w okresie ich ważności.

Krwinki wzorcowe nie nadają się do użycia gdy zaobserwujemy strąty, zmętnienie lub wyraźną hemolize. Nieznaczna hemoliza pojawiająca się w trakcie przechowywania krwinek wzorcowych nie dyskwalifikuje odczynnika i można je używać do badań.

Zestaw jest gotowy do użycia po uprzednim przemyciu krwinek roztworem PBS i sporządzeniu odpowiedniej zawiesiny, zgodnej z metodyką wykonywanego testu serologicznego.

**ZASTOSOWANIE**

Zestaw do układu ABO stosuje się w diagnostyce serologicznej in vitro do:

* wykrywania regularnych przeciwciał z układu ABO: anty- A i/lub anty- B
* wykrywania nieregularnych przeciwciał z układu ABO : anty- H, anty- A1
* wykrywania nieregularnych przeciwciał typu zimnego (klasy IgM), np. anty-P1, anty-M, anty- Lea

Obecność lub brak aglutynacji krwinek wzorcowych A1 i/ lub B pod wpływem surowicy badanej świadczy o obecności lub braku w surowicy regularnych przeciwciał o swoistości anty- A i/ lub anty- B.

Krwinki wzorcowe grupy O stanowią kontrolę, a ich aglutynacja świadczy o obecności „naturalnych” nieregularnych przeciwciał, np. anty- H, anty- P1, anty- M, anty- Lea itp. w badanej surowicy.

**ŚRODKI OSTROŻNOŚCI**

**Wszystkie produkty, które pochodzą z krwi, powinny być traktowane jak produkty potencjalnie zakaźne. Dlatego zaleca się zachować wszelkie środki ostrożności podczas stosowania krwinek wzorcowych, niszczenia zużytych opakowań Nie należy pipetować krwinek wzorcowych ustami.**

**DODATKOWE ODCZYNNIKI POTRZEBNE DO WYKONYWANIA BADAŃ**

* buforowany roztwór NaCl o pH 6,85- 7,2 - roztwór PBS
* roztwór NaCl o niskiej sile jonowej – roztwór - LISS do zawieszania krwinek czerwonych stosowany w technikach mikrokolumnowych
* zestaw odczynników diagnostycznych: anty- A, anty- B, lektyna anty-A1
* mikrokarty do oznaczania grup krwi w układzie ABO

**DODATKOWY SPRZĘT NIEZBĘDNY DO WYKONYWANIA BADAŃ**

* probówki
* jednorazowe polimerowe płyty do oznaczania grup krwi
* wirówka laboratoryjna
* pipety pasteurowskie
* automat do badań serologicznych lub aparatura do testów mikrokolumnowych
* pipeta automatyczna

**MATERIAŁ BIOLOGICZNY POTRZEBNY DO PRZEPROWADZENIA BADANIA**

W celu uzyskania wiarygodnych wyników zaleca się wykonywanie badań z próbek krwi pobranych na skrzep lub na EDTA przechowywanych w zakresie temperatur od +2 0C do + 80C nie dłużej niż przez okres 7 dni. Dopuszcza się przechowywanie próbek w zakresie temperatur od 18ºC do 22ºC nie dłużej niż 2 dni. Badanie jednak powinno być wykonane jak najszybciej by zminimalizować uzyskanie wyników fałszywie ujemnych lub fałszywie dodatnich .

**ZALECANE TECHNIKI STOSOWANIA**

**Zestaw jest gotowy do użycia po uprzednim 2-krotnym przemyciu krwinek wzorcowych roztworem PBS i sporządzeniu odpowiedniej zawiesiny, zgodnej z metodyką wykonywanego testu serologicznego.**

**Metoda szkiełkowa**

1. Przygotować 5-10% zawiesiny krwinek wzorcowych w roztworze PBS.
2. Do odpowiednio opisanych dołków na płycie jednorazowej przenieść po 1 kropli surowicy badanej i dodać po 1 kropli przygotowanej zawiesiny krwinek wzorcowych O, A1 i B. Reagenty wymieszać.
3. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 5 - 10 minut.
4. Makroskopowo odczytać wynik badania.

**Metoda probówkowa**

Stosujemy ją,jeżeli brak jest oczekiwanej reakcji badanej surowicy z odpowiednimi krwinkami wzorcowymi (niski poziom alloaglutynin ABO lub ich nieobecność).

1. Przygotować 3 - 4% zawiesiny krwinek w roztworze PBS
2. Przygotować 3 probówki opisane symbolem O A1 B .
3. W probówce umieścić po 2 krople badanej surowicy oraz 2 krople przygotowanej zawiesiny odpowiednich krwinek wzorcowych .
4. Probówki pozostawić w temperaturze pokojowej przez kilka minut.
5. Probówki odwirować ( 1000 obr/min przez 1 min lub 2500 obr/min przez 20s)
6. Odczytać wyniki makroskopowo, delikatnie potrząsając probówki.

Nie wykrycie alloaglutynin metodą probówkową zobowiązuje do badań w kierunku słabej odmiany antygenu A lub B metodą adsorpcji/ elucji.

**Metoda mikrokolumnowa (manualna)**

1. Przygotować zawiesinę krwinek wzorcowych w roztworze LISS o stężeniu zalecanym przez producenta mikrokart.
2. Opisać karty do badań.
3. Zerwać folię ochronną z wieczka mikrokarty.
4. Do kolumienek mikrokarty nanieść zalecaną przez producenta ilość zawiesiny krwinek wzorcowych
5. Dodać zalecaną przez producenta ilość surowicy lub osocza
6. Inkubować karty w odpowiedniej temperaturze i czasie podanym przez producenta.
7. Wirować karty mikrololumnowe przez czas zalecany przez producenta
8. Odczytać i zinterpretować wynik badania.

**Metoda mikrokolumnowa (półautomatyczna / automatyczna)**

* 1. Przygotować zawiesinę krwinek wzorcowych w roztworze LISS o stężeniu zalecanym przez producenta mikrokart.
	2. Umieścić krwinki wzorcowe do automatu.
	3. Kontrolować proces pipetowania, inkubacji oraz wirowania prowadzony przez automat.
	4. Autoryzować wynik badania zinterpretowany przez automat.

**INTERPRETACJA WYNIKU**

1. Aglutynacja krwinek wzorcowych A1 i/ lub B świadczy o obecności w badanej surowicy odpowiednich regularnych przeciwciał o swoistości anty- A i/ lub anty-B.
2. Brak aglutynacji krwinek wzorcowych A1 i/ lub B świadczy o braku w badanej surowicy przeciwciał regularnych anty-A i/ lub anty- B.
3. Reakcja dodatnia surowicy badanej z krwinkami wzorcowymi grupy O może wskazywać na obecność przeciwciał nieregularnych klasy IgM, w takim przypadku należy przeprowadzić identyfikację wykrytych przeciwciał
4. Reakcja dodatnia z krwinkami grupy A1 może świadczyć o obecności w badanej surowicy nieregularnych przeciwciał anty- A1. W takim przypadku za pomocą lektyny anty-A1 należy sprawdzić czy badane krwinki należą do A2 lub innej odmiany. Zbadać surowice z większą liczbą krwinek A1 i A2 .

**Badanie grup krwi układu ABO, z uwzględnieniem odmian A1 i A2 wykonuje się zgodnie z schematem.**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Lektyna** **anty –A1** | **Odczynniki wzorcowe** | **Krwinki wzorcowe** | **Wynik badania** |
| **anty-A** | **anty- B** | **O** | **A1** | **B** | **A2** |  |
| / | - | - | - | + | + | / | **0** |
| / | + | - | - | - | + | / | **A** |
| / | - | + | - | + | - | / | **B** |
| / | + | + | - | - | - | / | **AB** |
| + | + | - | + | - | + | + | **A1 (anty-H)** |
| + | + | + | + | - | - | + | **A1B(anty-H)** |
| - | + | - | - | + | + | - | **A2 (anty-A1)** |
| - | + | + | - | + | - | - | **A2B (anty-A1)** |

+ aglutynacja (reakcja dodatnia)

- brak reakcji aglutynacji (reakcja ujemna)

**OGRANICZENIE METODY**

Przyczynami fałszywie dodatnich lub ujemnych wyników badań mogą być:

1. niedokładnie umyte szkło laboratoryjne- zaleca się jednorazowego użytku,
2. niewłaściwa proporcja - odczynnik/krwinki,
3. niedokładne wymieszanie krwinek z odczynnikiem lub rozprowadzenie mieszaniny na zbyt dużej powierzchni- szybkie wysychanie,
4. zanieczyszczenie odczynników lub próbki badanej,
5. nietypowe właściwości badanej surowicy - bardzo słabo reagujące aglutyniny, obecność hemolizyn, obecność nieregularnych przeciwciał klasy IgM.

**WARUNKI PRZECHOWYWANIA**

Zestaw „Krwinki wzorcowe do układu ABO” należy przechowywać w temperaturze od +2 0C do +8oC . Jeżeli warunki przechowywania krwinek wzorcowych są zgodne z zaleceniem producenta to produkt jest stabilny i zachowuje 100% czułość i 100% specyficzność do czasu jego ważności podanej na opakowaniu również po jego otwarciu.

**TERMIN WAŻNOŚCI**

Termin ważności zestawu podany jest na opakowaniu.

**PIŚMIENNICTWO**

1. Aktualne Obwieszczenie Ministra Zdrowia w sprawie wymagań dobrej praktyki pobierania krwi i jej składników, badania, preparatyki, przechowywania, wydawania i transportu dla jednostek organizacyjnych publicznej służby krwi.
2. Immunologia krwinek czerwonych, grupy krwi pod redakcją Jadwigi Fabijańskiej- Mitek, Biblioteka Diagnosty Laboratoryjnego, OINHARMA Sp. zo.o., Warszawa 2007r.

**WYJAŚNIENIE SYMBOLI STOSOWANYCH NA ETYKIETACH**

 - wyrób medyczny do diagnostyki in vitro

 - kod partii/ serii

 - data ważności

 - przestrzegać zakresu temperatur

 - zajrzyj do instrukcji używania

 - wytwórca

**1434-**Produkt zgodny z wymaganiami Dyrektywy 98/79/WE. Ocenę zgodności przeprowadzono przy udziale jednostki notyfikowanej 1434