

Định tính kháng nguyên A và/hoặc B trong tế bào máu (IVD)

Lưu trữ 2 - 8°C.

NGUYÊN LÝ

Hóa chất sẽ làm ngưng kết (vón cục) các mẫu máu được kiểm tra nếu có mang kháng nguyên ABO tương ứng. Mẫu máu không ngưng kết thường không có kháng nguyên ABO tương ứng (xem giới hạn).

DẤU HIỆU LÂM SÀNG

Năm 1900, Landsteiner phát hiện ra huyết tương của một số người sẽ ngưng kết các hồng cầu của người khác. Bốn kiểu hình phổ biến hiện nay được công nhận: O, A, B và AB. Phân nhóm A và B được xác định từ đó.

Forward Group			Reverse Group				ABO Phenotype	Caucasians %
A	B	A,B	A ₁	A ₂	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

HÓA CHẤT

Hóa chất xác định nhóm máu đơn dòng IgM ABO chứa các kháng thể đơn dòng chuột được pha loãng với dung dịch đệm phosphate có chứa natri clorua, EDTA và albumin bò. Mỗi hóa chất được pha loãng tối ưu để sử dụng với tất cả các kỹ thuật để nghị được nêu dưới đây mà không cần pha loãng hoặc bổ sung thêm.

Product	Cell Line/Clone	Colour	Dye Used
Anti-A	9113D10	Blue	Patent Blue
Anti-B	9621A8	Yellow	Tartrazine
Anti-A,B	152D12 + 9113D10	Colourless	None

THẬN TRỌNG

- Chỉ sử dụng trong chẩn đoán IVD.
- Nếu lọ hóa chất bị nứt hoặc bị rò rỉ, loại bỏ ngay lập tức.
- Không sử dụng hóa chất đã quá hạn dùng (xem nhãn ghi trên lọ).
- Không sử dụng hóa chất nếu kết tủa.
- Mang găng tay dùng một lần và một chiếc áo khoác phòng thí nghiệm.
- Hóa chất đã được lọc qua một bộ lọc 0,2 mm để giảm gánh nặng sinh học. Khi một lọ đã được mở được sử dụng cho đến ngày hết hạn miễn là không thấy xuất hiện độ đục, hoặc nhiễm bẩn.
- Hóa chất chứa natri azit <0,1%. Natri azit có thể gây độc nếu ăn phải và có thể phản ứng với chì và hệ thống ống nước bằng đồng để tạo thành kim loại azides nổ. Xử lý xả thải với lượng lớn nước.
- Việc kiểm tra không đảm bảo rằng các sản phẩm có nguồn gốc từ con người hoặc động vật không chứa các chất nhiễm trùng. Cần phải cẩn thận trong việc sử dụng và xử lý.
- Đề biết thông tin về việc xử lý của các chất phản ứng và khử nhiễm của vial lỏng xem hướng dẫn sử dụng.

LƯU Ý

- Chúng tôi đề nghị phải có 1 chuẩn âm và 1 chuẩn dương kiểm tra song song với mỗi đợt kiểm tra. Các xét nghiệm phải được coi là hợp lệ nếu các mẫu chuẩn này hiển thị kết quả đúng.
- Khi xác định các tế bào máu đó từ một bệnh nhân điều quan trọng là phải có 1 thuốc thử chuẩn âm bao gồm từ các potentiators phân tử trong chất phản ứng có thể gây ra phản ứng dương tính giả với các tế bào kháng thể IgG trắng.
- Mẫu máu của các phân nhóm A hoặc B yếu (ví dụ Ax) có thể dẫn đến những phản ứng âm tính âm hoặc phản ứng yếu khi xét nghiệm với các slide, đĩa vi hiệu hoặc thẻ gel. Nên kiểm tra lại các phân nhóm yếu sử dụng các kỹ thuật Tube.
- Những người trên sáu tháng tuổi nên có kết quả nhóm máu ABO của họ được xác định bằng xét nghiệm huyết thanh học huyết tương của họ không lại nhóm được biết đến các tế bào A1 và B trước khi nhóm máu ABO của họ có thể được xác định.
- Trong quy trình thực hiện xét nghiệm, thể tích là khoảng 40µl khi sử dụng ống nhỏ giọt lọ cung cấp.
- Việc sử dụng hóa chất và giải thích kết quả phải được thực hiện bởi nhân viên được đào tạo và có trình độ phù hợp với các yêu cầu của quốc gia mà hóa chất được sử dụng.
- Người sử dụng phải xác định sự phù hợp của các chất phản ứng để sử dụng trong các kỹ thuật khác.

LƯU TRỮ

Không đông đá. Hóa chất cần được bảo quản ở 2 - 8°C khi thi được, bảo quản lâu dài ở nhiệt độ bên ngoài phạm vi này có thể dẫn đến việc mất nhanh chóng thuốc thử phản ứng.

HÓA CHẤT VÀ VẬT LIỆU CẦN THIẾT

Tùy theo quy trình xét nghiệm sử dụng mà ta cần có những hóa chất và thiết bị cần thiết. (Chi tiết xem quy trình thực hiện xét nghiệm).

MẪU MÁU

Các mẫu máu được rút ra có hoặc không có thuốc chống đông có thể được sử dụng cho các kháng nguyên. Nếu xét nghiệm này bị trì hoãn, lưu trữ mẫu vật ở 2-8°C. Mẫu EDTA và citrate phải được thực hiện trong vòng 48 giờ. Các mẫu thu được vào ACD, CPD hoặc CPDA-1 có thể được thi nghiệm lên đến 35 ngày, kể từ ngày bị thu hồi. Tất cả các mẫu máu nên được rửa ít nhất hai lần với PBS trước khi được xét nghiệm. Các mẫu máu có dấu hiệu ly giải thì kết quả không đáng tin cậy.

QUY TRÌNH

A. Kỹ thuật Tube

- Chuẩn bị 2-3% của các tế bào máu đỏ kiểm tra rửa trong PBS.
- Đặt trong ống nghiệm có nhãn: 1 lượng hóa chất Anti-ABO và 1 thể tích máu vào hệ thống treo.
- Trộn đều và ủ ở nhiệt độ phòng trong 1 phút.
- Quay ly tâm tất cả các ống trong 10 giây ở tốc độ 1000 vòng/phút hoặc trong một thời gian phù hợp.
- Lắc đều và đọc kết quả.
- Bất kỳ ống nào hiển thị kết quả âm tính hoặc có vẩn đục, nên được ủ trong 15 phút ở nhiệt độ phòng.
- Sau đó lặp lại các bước 4 và 5.

B. Kỹ thuật Slide

- Chuẩn bị 35-45% của các tế bào máu đỏ thử nghiệm trong huyết thanh, huyết tương hoặc PBS.
- Đặt trên một slide kính dán nhãn: 1 lượng hóa chất Anti-ABO và 1 thể tích máu.
- Sử dụng que khuấy sạch, trộn đều hóa chất và máu trong diện tích khoảng 20 x 40 mm.
- Từ từ nghiêng slide kính qua lại trong 30 giây, thỉnh thoảng trộn thêm trong khoảng thời gian 2 phút, duy trì trượt ở nhiệt độ phòng.
- Đọc kết quả sau 2 phút, không nhầm lẫn các sợi fibrin với ngưng kết.
- Bất kỳ phản ứng yếu nào cần được làm lại xét nghiệm bằng kỹ thuật Tube.

C. Kỹ thuật DiaMed-ID Micro

- Chuẩn bị 0,8% của mẫu máu đã được rửa trong dung dịch pha loãng ID.
- Tháo lá nhôm từ nhiều microtubes khi cần thiết.
- Đặt microtube vào vị trí thích hợp: 50µl mẫu máu cần kiểm tra và 25µl của hóa chất Anti-ABO.
- Ly tâm ID-Card (s) trong 10 phút ở tốc độ 90 vòng / phút hoặc trong một thời gian phù hợp
- Đọc kết quả.

D. Kỹ thuật Microplate, sử dụng giếng "U"

- Chuẩn bị 2-3% mẫu máu đã được rửa với PBS.
- Đặt giếng ở vị trí thích hợp: Cho vào 1 lượng hóa chất Anti-ABO và 1 khối lượng mẫu máu.
- Trộn kỹ, tốt nhất sử dụng máy lắc microplate, cẩn thận tránh ô nhiễm chéo giữa các giếng.
- Ủ ở nhiệt độ phòng trong 15 phút (thời gian phụ thuộc vào người sử dụng).
- Ly tâm 1 phút ở 140 vòng / phút hoặc trong một thời gian thích hợp.
- Lắc đều và đọc kết quả
- Bất kỳ phản ứng yếu thì phải được thực hiện lại bằng kỹ thuật Tube.

GIẢI THÍCH KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM

- Dương tính:** ngưng kết của các tế bào nên một kết quả xét nghiệm dương tính và trong giới hạn chấp nhận của kỹ thuật xét nghiệm, chỉ ra sự hiện diện của kháng nguyên ABO thích hợp trên các tế bào máu đã kiểm tra.
- Âm tính:** Không ngưng kết của các tế bào nên một kết quả âm tính và trong giới hạn chấp nhận của kỹ thuật xét nghiệm, chỉ ra sự vắng mặt của các kháng nguyên ABO thích hợp trên các tế bào máu đã kiểm tra.
- Sự khác nhau:** Nếu kết quả thu được của định nhóm ngược lại không giống với nhóm thuận, bắt buộc phải tiếp tục kiểm tra lại.
- Kết quả thử nghiệm của các tế bào được agglutinated sử dụng điều khiển âm thuốc thử phải được loại trừ, như ngưng kết là có thể gây ra bởi các tác động của các phân tử potentiators trong thuốc thử trên tế bào nhạy cảm.

Tính ổn định của các phản ứng

- Kỹ thuật Tube và Microplate, nên đọc tất cả các ống và các test microplate ngay sau khi ly tâm.
- Kỹ thuật Slide nên được đọc kết quả trong vòng hai phút để đảm bảo độ đặc và để tránh khả năng một kết quả âm tính có thể được hiểu là sai là dương tính do hóa chất bị khô.
- Cần thận trọng việc giải thích các kết quả xét nghiệm khi thực hiện ở nhiệt độ khác nhau.

GIỚI HẠN

- Kháng nguyên ABO không được phát triển đầy đủ ở trẻ sơ sinh và do đó phản ứng rất yếu hơn có thể xảy ra với mẫu máu của trẻ sơ sinh.
- Khi sử dụng đơn dòng Anti A, B, mẫu máu của các phân nhóm phụ A hoặc B yếu (ví dụ Ax) có thể dẫn đến những phản ứng âm tính sai hay yếu khi thử nghiệm sử dụng kỹ thuật slide, đĩa micro hoặc gel cards. Khuyến khích nên kiểm tra lại các phân nhóm yếu sử dụng các kỹ thuật Tube.
- Hóa chất đơn dòng Anti A và Anti B của Spinreact không phát hiện được Ax và A3 hoặc Bx và B3 kháng nguyên resp và do đó chúng tôi không khẳng định phản ứng của các đơn dòng Anti-A hay Anti-B sẽ xác định được nhóm máu yếu A và B.
- Mẫu lưu trữ có thể cung cấp cho các phản ứng yếu hơn so với mẫu tươi.
- Kết quả âm tính hoặc dương tính giả có thể xảy ra do:
 - Vật liệu kiểm tra bị nhiễm bẩn
 - Lưu trữ không đúng cách, nồng độ tế bào, thời gian ủ bệnh hoặc nhiệt độ
 - Ly tâm không đúng cách hoặc quá nhiều
 - Sai phương pháp kiểm tra.
 - Mẫu bị nhiễm thạch Wharton
- Người sử dụng có thể thực hiện bất kỳ các phương pháp xác định nhóm máu khác với hóa chất này ngoài các phương pháp đã đề cập đến.
- Bất kỳ sai lệch so với các kỹ thuật ở đây đề nghị cần được xác nhận trước khi sử dụng.

ĐẶC ĐIỂM THỰC HIỆN

- Các hóa chất đã được thực hiện với tất cả các kỹ thuật đã đề cập đến.
- Trước khi xuất xưởng, mỗi lọ Spinreact đơn dòng Anti-A, Anti-B và Anti-A,B được thử nghiệm bởi các kỹ thuật ở đây khuyến cáo chống lại một bảng điều khiển của các tế bào máu kháng nguyên dương tính để đảm bảo phản ứng thích hợp.
- Các nguồn kháng thể đơn dòng đặc biệt được thể hiện bằng cách sử dụng bảng điều khiển của các tế bào kháng nguyên âm tính.
- Anti-B không phản ứng với "Acquired-B" các tế bào hồng cầu.
- Các hóa chất đơn dòng ABO của Spinreact không phát hiện kháng nguyên như T, Tn hoặc Cad.
- Hiệu lực của các thuốc thử đã được thử nghiệm chống lại các tiêu chuẩn tham chiếu hiệu lực tối thiểu sau đây được lấy từ Viện Tiêu chuẩn và kiểm soát sinh học (NIBSC):
 - Anti-A tiêu chuẩn tham chiếu 88/722 Và / Hoặc
 - Anti-B tiêu chuẩn tham chiếu 88/724
- Quản lý chất lượng của các hóa chất được thực hiện sử dụng tế bào máu đã được rửa sạch hai lần với PBS trước khi sử dụng.
- Các hóa chất thực hiện theo những gợi ý trong Guidelines for the UK Blod Transfusion Services.

SÁCH CHUYÊN ĐỀ

- Kholer G, Milstein C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 1975; 256, 495-497*
- 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 1984; 46, 185-194*
- 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*
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6*
- BSCB Blood Transfusion Task Force. Guidelines for microplate techniques in liquid-phase blood grouping and antibody screening, Clinical Laboratory Haematology 1990; 12, 437-460.*
- 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.*

ĐÓNG GÓI

Monoclonal Anti-A	Ref: 1700002	10 ml
Monoclonal Anti-B	Ref: 1700004	10 ml
Monoclonal Anti-A+B	Ref: 1700006	10 ml