

# Instructions for use



Sanquin Reagents B.V. Plesmanlaan 125 1066 CX Amsterdam The Netherlands	Phone: +31 20 5123599 Fax: +31 20 5123570 Reagents@sanquin.nl www.sanquin.org/reagents	
<b>Pelikloon anti-A (IgM) monoclonal</b>	<b>REF K 1188</b>	<b>IVD CE 0344</b>
<b>Pelikloon anti-B (IgM) monoclonal</b>	<b>REF K 1189</b>	<b>IVD CE 0344</b>
<b>Pelikloon anti-A,B (IgM) monoclonal</b>	<b>REF K 1190</b>	<b>IVD CE 0344</b>
001_v04 07/2019 (pl)	<i>Wyłącznie do użytku profesjonalnego</i>	

Odczynniki do serologii grup krwi do wykrywania antygenu A i/lub B na powierzchni ludzkich krwinek czerwonych

## Informacje ogólne

Odczynniki monoklonalne Pelikloon anti-A, anti-B i anti-A,B (IgM) do serologii grup krwi (numery klonów są podane w certyfikacie analizy/dokumentacji dopuszczenia do obrotu) są przygotowywane z nasady hodowli z hybrydowych linii komórkowych, zgodnie z pierwszym opisem, przedstawionym przez Köhler i Milstein (Nature 1975). Wymienione monoklonalne odczynniki zawierają mysie przeciwciała IgM i zostały specjalnie wyselekcjonowane oraz poddane dalszej obróbce w celu stworzenia wiarygodnej alternatywy dla odczynników poliklonalnych. Odczynniki te spełniają wymagania odpowiednich norm i wytycznych. Charakterystyki działania są opisane w dokumentach dopuszczenia do obrotu, które na prośbę klienta mogą być dostarczone wraz z produktem. Zasada testu oparta jest na technice aglutynacji, która polega na reakcji antygen/przeciwciała. Odczynniki te można stosować w technice wirówkowej lub mikroplytkowej. Można je również stosować w automatycznych systemach testujących. Ich standaryzację i walidację powinien przeprowadzić użytkownik. Zdecydowanie zaleca się zastosowanie kontroli dodatniej i ujemnej w każdej serii oznaczania grup krwi. Oprócz określenia grupy układu ABO krwinek czerwonych należy zbadać surowicę pacjenta w kierunku obecności odpowiednich alloprzeciwciał anti-A i/lub anti-B za pomocą wzorcowych krwinek czerwonych A1 i B (zgodnie z odpowiednią ulotką dołączoną do opakowania).

## Środki ostrożności

Stosować jedynie w diagnostyce in vitro. Odczynniki należy przechowywać w temperaturze 2–8°C. Nie wolno używać fiolek uszkodzonych ani przeciekających. Nie wolno używać odczynników (ani nieotwartych, ani otwartych) po upływie terminu ważności, który jest wydrukowany na etykiecie fiołki. Środkiem konserwującym jest 0,1% NaN<sub>3</sub> (stężenie wagowe). Odczynniki anti-A i anti-B zostały oznaczone kolorami w celu ich łatwiejszego rozpoznawania. Odczynniki są potencjalnie zakaźne. Należy zachować szczególną ostrożność podczas stosowania produktu i usuwania jego pozostałości oraz opakowań po produkcie. Zmętnienie może wskazywać na skażenie bakteryjne. W celu sprawdzenia jakości odczynnika zaleca się jego przetestowanie w ramach laboratoryjnego programu kontroli jakości, z zastosowaniem odpowiednich metod kontrolnych. Po zakończeniu testu wszelkie pozostałości niewykorzystanego produktu należy usunąć w sposób zgodny z przepisami laboratorium, w którym test przeprowadzono.

## Pobieranie i przygotowywanie materiału

Próbki krwi powinny być pobierane w sposób aseptyczny z/lub bez dodatku antykoagulantów. Jeżeli badanie próbek krwi będzie wykonane z opóźnieniem, próbki należy przechowywać w temperaturze 2–8°C. Przygotowanie próbek zostało opisane w odpowiednich procedurach testu.

## Procedury testu

### Metoda wirówkowa

*Wymagania dotyczące próbek: próbki szklane o okrągłym dnie; rozmiar 75 x 10/12 mm.*

1. Przygotować 3–5% zawiesinę komórkową przeznaczonych do testu krwinek czerwonych w izotonicznym roztworze soli fizjologicznej albo własnym osoczu lub surowicy.
2. Do próbki testowej dodać:
  - 1 kroplę odczynnika Pelikloon
  - 1 kroplę 3–5% zawiesiny komórkoweji dobrze wymieszać.
3. Wirować przez 20 sekund z prędkością 1000 RCF lub przez czas odpowiedni do kalibracji wirówki.
4. Delikatnie wstrząsając, wytworzyć ponownie zawiesinę komórek i makroskopowo ocenić aglutynację.

### Metoda mikroplytkowa

*Wymagania dotyczące mikroplytki: mikroplytki polistyrenowe z dołkami o okrągłych denkach.*

1. Przygotować 2–3% zawiesinę komórkową przeznaczonych do testu krwinek czerwonych w izotonicznym roztworze soli fizjologicznej albo własnym osoczu lub surowicy.
2. Do dołka dodać:
  - 1 kroplę odczynnika Pelikloon
  - 1 kroplę 2–3% zawiesiny komórkowej
3. Starannie mieszać zawartość przez 5 sekund za pomocą wytrząsarki rotacyjnej z prędkością 600–700 obrotów/min.
4. Inkubować przez 10–15 minut w temperaturze pokojowej (18–25°C) bez wytrząsania.
5. Wirować przez 10–20 sekund z prędkością 700 RCF lub przez czas odpowiedni do kalibracji wirówki.

6. Ponownie wytrząsać mikroplótkę za pomocą wytrząsarki rotacyjnej z prędkością 600–700 obrotów/min przez 1-4 minut albo przez czas konieczny do całkowitego ponownego wytworzenia zawiesiny krwinek w dołkach z reakcją ujemną.
7. Odstawić mikroplótkę na 1 minutę, aby umożliwić osadzenie się drobnych aglutynatów.
8. Wówczas można odczytać wyniki reakcji, zarówno makroskopowo, jak i za pomocą automatycznego czytnika.

#### Interpretacja

Reakcja dodatnia (tj. aglutynacja) wskazuje na obecność odpowiedniego antygenu. Reakcja ujemna (tj. brak widocznej aglutynacji) wskazuje na brak odpowiedniego antygenu. Grupę krwi ABO określa się na podstawie wzorca reakcji uzyskanego za pomocą różnych surowic odpornościowych (patrz tabela na odwrocie). Jeżeli wzorzec reakcji nie odpowiada jednej z 4 poniższych kombinacji, wówczas przed przypisaniem danemu pacjentowi/dawcy grupy krwi układu ABO należy określić przyczynę sprzecznych wyników.

Reakcje aglutynacji w rutynowym określaniu grup układu ABO

krwinki czerwone + odczynnik do serologii grup			surowica/osocze + krwi wzorcowe krwinki czerwone		
anti-A	anti-B	anti-A,B	krwinki A1	krwinki B	grupa krwi (częstotliwość) <sup>4)</sup>
0	0	0	+	+	O (46,7%) <sup>4)</sup>
+	0	+	0	+	A (41,7%) <sup>4)</sup>
0	+	+	+	0	B (8,6%) <sup>4)</sup>
+	+	+	0	0	AB (3,0%) <sup>4)</sup>

#### Ograniczenia

Niespodziewane wyniki dodatnie z powodu: poliaglutynacji, pseudoaglutynacji, autoaglutynacji, mieszanej reakcji pola, obecności galaretki Whartona razem z komórkami pępowiny.

Niespodziewane wyniki ujemne lub wyniki słabo wyrażone z powodu: słabych antygenów, mieszanej reakcji pola, zmniejszonej aktywności odczynnika.

Komórki zawierające wariant antygenu mogą dać nieoczekiwane reakcje dodatnie lub ujemne z próbkami typowanymi wcześniej z użyciem odczynników do ustalania grup krwi ze źródeł poliklonalnych lub innych źródeł monoklonalnych pochodzących z linii komórkowych.

Wyniki fałszywie dodatnie lub fałszywie ujemne mogą wystąpić w wyniku zanieczyszczenia materiałów testowych lub odstępstw od zalecanej techniki.

#### Literatura

1. Widmann F.K. ed; AABB Technical Manual, 11<sup>th</sup> ed. 1993, Bethesda (MD).
2. Race R.R., Sanger R.; Blood Groups in Man, 6<sup>th</sup> ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
3. Issitt P.D.; Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985.
4. Daniels G.; Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd. 1995.
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service H.M.S.O. 2<sup>nd</sup> ed. 1993.
6. Reid M.E., et al. The Blood Group Antigen FactsBook, FactsBook Series, 3<sup>rd</sup> ed. 2012

#### Gwarantujemy działanie prod

uktów Sanquin w sposób opisany w oryginalnej instrukcji obsługi dostarczonej przez producenta. Istotne znaczenie ma ściśle przestrzeganie procedur, układów testowych i używanie zalecanych odczynników oraz sprzętu. Fundacja Sanquin nie przyjmuje żadnej odpowiedzialności za jakiegokolwiek odchylenia od powyższych wymagań.