

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	
Pelikloon anti-A (IgM) monoclonal	REF K 1188	IVD CE 0344
Pelikloon anti-B (IgM) monoclonal	REF K 1189	IVD CE 0344
Pelikloon anti-A,B (IgM) monoclonal	REF K 1190	IVD CE 0344
001_v04 07/2019 (ro)	Doar pentru uz profesional	

Reactivi pentru stabilirea grupei sanguine pentru detectarea antigenelor A și/sau B în celulele roșii umane

Informații generale

Pelikloon Reactivii monoclonali anti-A, anti-B, și anti-A,B (IgM) pentru determinarea grupei sanguine (numărul de copii este menționat în certificatul corespunzător analizei/documentul eliberat) sunt preparați din supernatanți de cultură din linii celulare stabile de tip hibridoma, așa cum au fost descriși prima dată de Köhler și Milstein (Nature 1975). Acești reactivi monoclonali conțin anticorpi murini IgM și au fost selectați și dezvoltați special pentru a furniza o alternativă de încredere la reactivii policlonali. Acești reactivi corespund cerințelor privind standardele și instrucțiunile respective. Caracteristicile de performanță sunt menționate în documentele de punere pe piață, care sunt furnizate la cerere împreună cu produsul. Principiul testului este tehnica de aglutinare, care se bazează pe reacția antigenă/anticorpi. Reactivii pot fi utilizați fie pentru metoda în eprubetă pentru centrifugare fie pentru microplăci. Acești reactivi sunt adecvați și pentru utilizarea în sisteme de testare automată și trebuie standardizați și validați de utilizator. Se recomandă insistent includerea unor substanțe de control pozitive și negative cu fiecare serie de stabilire a grupei sanguine. Ca și în cazul determinării grupelor de sânge ABO ale celulelor roșii, serul pacientului trebuie testat pentru prezența anticorpilor respectivi anti-A și/sau anti-B, utilizând celule roșii reactive A₁ și B (a se vedea prospectul corespunzător).

Atenție

Doar pentru utilizare pentru diagnosticare in vitro. Reactivii vor fi depozitați la 2–8°C. Fiolele deteriorate sau care prezintă scurgeri nu vor fi utilizate. Reactivii (deschiși sau nedeschși) nu vor fi utilizați după data de expirare, care este tipărită pe eticheta fiolei. NaN₃ 0,1% (masă raportată la unitatea de volum) este utilizat cu rol de conservant. Reactivii anti-A și anti-B au fost colorați pentru o recunoaștere ușoară. Reactivii nu pot fi considerați lipsiți de agenți infecțioși. Trebuie manifestată precauție în ce privește utilizarea și eliminarea fiecărui recipient și a conținutului acestuia. Turbiditatea poate indica o contaminare microbiană. Pentru a recunoaște deteriorarea reactivului, se recomandă testarea reactivului ca parte din programul laboratorului de control al calității, utilizând substanțe de control corespunzătoare. Eliminarea deșeurilor, după încheierea testului, se va realiza conform reglementărilor laboratorului dumneavoastră.

Recoltarea și pregătirea specimenului

Probele de sânge trebuie recoltate în mod aseptice, cu sau fără adăugarea de anticoagulante. În cazul în care testarea probelor de sânge este amânată, acestea vor fi depozitate la 2–8°C.

Pregătirea specimenului este descrisă în procedurile testului respectiv.

Procedurile testului

Metoda cu eprubete pentru centrifugare

Cerințe referitoare la eprubete: eprubete din sticlă, cu fund rotund; dimensiune 75 x 10/12 mm.

1. Preparați o suspensie celulară 3-5% din celulele roșii care trebuie testate în soluție salină izotonă sau în plasma sau serul propriu.
2. Adăugați într-o eprubetă pentru testare:
 - 1 picătură de Pelikloon reactiv
 - 1 picătură de suspensie celulară 3-5% și amestecați energic.
3. Centrifugați la 1000 rcf timp de 20 de secunde sau pentru o durată adecvată cu calibrarea centrifugii.
4. Resuspendați celulele agitând ușor și citiți aglutinarea în mod macroscopic.

Metoda cu microplăci

Cerințe referitoare la microplăci: microplăci din polistiren cu godeuri cu fund rotund.

1. Preparați o suspensie celulară 2-3% din celulele roșii care trebuie testate în soluție salină izotonă sau în plasma sau serul propriu.
2. Adăugați într-un godeu:
 - 1 picătură de Pelikloon reactiv
 - 1 picătură de suspensie celulară 2-3%
3. Amestecați bine conținutul timp de 5 secunde, folosind un agitator rotativ la 600–700 rpm.
4. Incubați timp de 10-15 minute la temperatura camerei (18–25°C), fără să agitați.
5. Centrifugați la 700 rcf timp de 10-20 de secunde sau pentru o durată adecvată cu calibrarea centrifugii.
6. Agitați din nou microplaca timp de 1-4 minute în agitatorul rotativ la 600-700 rpm sau atâta timp cât este necesar pentru resuspensia completă a celulelor în godeurile cu reacții negative.
7. Lăsați microplaca să se odihnească timp de 1 minut pentru a permite așezarea aglutinelor mai mici.
8. Reacțiile pot fi citite acum fie în mod macroscopic, fie utilizând un cititor automat.

Interpretarea

O reacție pozitivă (ex. aglutinarea) indică prezența anticorpilor respectivi. O reacție negativă (ex. fără aglutinare vizibilă) indică absența anticorpilor respectivi. Grupa sanguină ABO este stabilită în funcție de modelul de reacție observat cu diferitele tipuri de antiser (a se vedea tabelul de pe verso). Dacă modelul de reacție nu corespunde cu una dintre cele 4 combinații de mai jos, atunci motivul pentru aceste rezultate discrepante trebuie stabilit înainte de desemnarea grupei ABO a pacientului/donatorului respectiv.

Reacțiile de aglutinare în stabilirea de rutină a grupelor ABO

celule roșii + reactiv pentru stabilirea grupei sanguine			ser/plasma + celule roșii reactive		
anti-A	anti-B	anti-A,B	celule A1	celule B	grupa sanguină (frecvența)
0	0	0	+	+	O (46,7%) ⁴⁾
+	0	+	0	+	A (41,7%) ⁴⁾
0	+	+	+	0	B (8,6%) ⁴⁾
+	+	+	0	0	AB (3,0%) ⁴⁾

Limitări

Rezultate pozitive neașteptate datorate: poliaglutinării, pseudoaglutinării, autoaglutinării, reacției de câmp mixt, prezenței gelatinei Wharton împreună cu celulele din cordonul ombilical.

Rezultate negative neașteptate sau rezultate slabe datorate: antigenelor slabe, reacției de câmp mixt, activității reduse a reactivului. Celulele cu variantă de antigen pot produce reacții neașteptate pozitive sau negative, cu probe testate anterior cu reactivi pentru clasificarea grupelor de sânge din surse policlonale sau monoclonale derivate din alte linii celulare. Rezultate fals pozitive sau fals negative pot să apară prin contaminarea materialelor testate sau prin orice abatere de la tehnica recomandată.

Referințe

1. Widmann F.K. ed; AABB Technical Manual, 11th ed. 1993, Bethesda (MD).
2. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6th ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
3. Issit P.D.; Applied Blood Group Serology, 3rd 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. 2nd ed. 1993.
6. Reid M.E., et al. The Blood Group Antigen FactsBook, FactsBook Series, 3rd ed. 2012

Produsele Sanquin sunt garantate privind funcționarea conform descrierii din instrucțiunile de utilizare originale ale producătorului. Este esențială respectarea strică a procedurilor, a desfășurării testului și a reactivilor și echipamentelor recomandate. Sanquin nu își asumă nicio responsabilitate pentru nerespectarea acestora.