

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-D mix (IgG/IgM) monoclonal

REF K1157

IVD CE 0344

006_v04 07/2019 (hr)

Samo za profesionalnu uporabu

Reagens za određivanje krvne grupe za otkrivanje D antigena na ljudskim eritrocitima

Opće informacije

Pelikloon anti-D mix (IgG/IgM) monoclonal reagens za određivanje krvne grupe (brojevi klonova navedeni su na odgovarajućoj potvrdi o analizi / dokumentu o stavljanju u uporabu i naljepnici proizvoda) pripremljen je od supernatanta kulture iz staničnih linija hibridoma, kao što su prvi put opisali Köhler i Milstein (Nature 1975). Ovaj monoklonski reagens sadrži humana IgG/IgM antitijela i posebno je odabran i razvijen kao pouzdana alternativa poliklonskim reagensima. Ovaj reagens udovoljava zahtjevima odgovarajućih normi i smjernica. Izvedbena svojstva spominju se u dokumentima o stavljanju u uporabu koji se na zahtjev isporučuju uz proizvod. Načelo testa jest aglutinacijska tehnika koja se temelji na reakciji između antigena i antitijela. Reagensom se može služiti u metodama rotirajuće epruvete ili pločice s mikroeprevetama. Ovaj reagens otkriva sve normalne D i većinu slabih D antigena. Kategorija VI varijante D otkriva se samo u testu u epruveti nakon dodavanja polispecifičnog antihumanog seruma. Izričito se preporučuje uključanje pozitivnih i negativnih kontrola sa svakom serijom određivanja krvne grupe.

Mjere opreza

Samo za in vitro dijagnostičku uporabu. Reagense čuvati na temperaturi 2 – 8 °C. Ne upotrebljavati bočice koje cure ili su oštećene. Ne upotrebljavati reagense (neotvorene ili otvorene) nakon isteka roka trajanja otisnutog na etiketi bočice. NaN₃ 0,1 % (težina po obujmu) koristi se kao konzervans. Ne može se pretpostaviti da u reagensima nema uzročnika zaraza. Paziti tijekom uporabe i zbrinjavanja svakog spremnika i njegovog sadržaja na otpad. Zamućenost može ukazivati na kontaminaciju mikrobima. Za prepoznavanje kvarenja reagensa preporučuje se testiranje reagensa kao dio laboratorijskog programa kontrole kvalitete uporabom odgovarajućih kontrola. Po završetku testa zbrinuti na otpad u skladu s laboratorijskim propisima.

Uzimanje i priprema uzoraka

Uzorke krvi izvaditi aseptički, s ili bez dodavanja antikoagulansa. Ako se testiranje krvnih uzoraka odgodi, uzorke čuvati na temperaturi 2 – 8 °C.

Priprema uzoraka opisana je u dotičnim ispitnim postupcima.

Postupak testiranja

Metoda rotirajuće epruvete

Zahtjevi povezani s epruvetom: staklene epruvete okruglog dna; veličine 75 x 10/12 mm.

1. Pripremite 3 – 5 %-tnu staničnu suspenziju eritrocita za testiranje u fiziološkoj otopini ili u vlastitoj plazmi ili serumu.
2. Dodajte sljedeće u epruvetu:
 - 1 kap reagensa Pelikloon
 - 1 kap 3 – 5 %-tne stanične suspenzijei dobro promiješajte.
3. Centrifugirajte 20 sekundi pri relativnoj centrifugalnoj sili (RCF) 1000 ili u trajanju prikladnom za kalibraciju centrifuge.
4. Ponovno otopite stanice laganim mućkanjem i makroskopski očitajte aglutinaciju.

Ako aglutinacija nije vidljiva, nastaviti test na sljedeći način:

5. Dobro promiješajte i inkubirajte epruvete u vodenoj kupelji tijekom 15 – 20 minuta na temperaturi od 37 °C.
6. Jedanput operite krvne stanice u višku izotonične fiziološke otopine. Potpuno ocijedite (jedno pranje je dovoljno; ali nije na domet oprati i 3 – 4 puta kao u uobičajenim testovima).
7. Dodajte 2 kapi polispecifičnog antihumanog seruma i dobro promiješajte.
8. Centrifugirajte 20 sekundi pri relativnoj centrifugalnoj sili (RCF) 1000 ili u trajanju prikladnom za kalibraciju centrifuge.
9. Ponovno otopite stanice laganim mućkanjem i makroskopski očitajte aglutinaciju.
10. Ako nema vidljive aglutinacije, dodajte 1 kap Coombs Control Cells i ponovite 8. i 9. korak. Reakcija bi sada trebala biti pozitivna. Ako test ostane negativan, rezultat nije valjan i test je potrebno ponoviti.

Metoda pločice s mikroeprevetama

Zahtjevi povezani s pločicom s mikroeprevetama: stiroporne pločice s mikroeprevetama zaobljenoga dna.

1. Pripremite 2 – 3 %-tnu staničnu suspenziju eritrocita za testiranje u fiziološkoj otopini ili u vlastitoj plazmi ili serumu.
2. Dodajte u mikroeprevetetu:
 - 1 kap reagensa Pelikloon
 - 1 kap 2 – 3 %-tne stanične suspenzije
3. Sadržaj temeljito miješajte 5 sekundi u rotacijskoj miješalici pri 600 – 700 1/min.
4. Inkubirajte 10 – 15 minuta na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C) bez trešenja.
5. Centrifugirajte 10 – 20 sekundi na 700 rcf (relativna centrifugalna sila) ili koliko je potrebno za kalibriranje centrifuge.

6. Ponovno protresite pločicu s mikroepruvetama 1 – 4 minute na rotacijskoj miješalici pri 600 – 700 1/min ili koliko je potrebno da se stanice u mikroepruvetama u potpunosti ponovno otope s negativnim reakcijama.
7. Neka pločica s mikroepruvetama odstoji 1 minutu kako bi se manji aglutinanti slegli.
8. Reakcije se sada mogu očitati ili makroskopski ili pomoću automatskoga čitača.

Tumačenje

Pozitivna reakcija (tj. aglutinacija) ukazuje na prisutnost Rh D antigena. Pozitivna reakcija, premda je slaba ili negativna uporabom drugih tehnika, ukazuje na prisutnost slabog ili djelomičnog D antigena pa se preporučuje daljnje ispitivanje u svrhu razjašnjenja Rh D statusa. Negativna reakcija (tj. bez vidljive aglutinacije) ukazuje na nedostatak Rh D antigena.

Pojava	Pripadnici bijele rase	Pripadnici crne rase
D antigen	85 %	92 %

Ograničenja

Neočekivani pozitivni rezultati zbog: pseudoaglutinacije, autoaglutinacije, reakcije mješovitog polja, prisutnosti Whartonove sluzi sa stanicama pupkovine.

Neočekivani negativni ili slabi rezultati zbog: slabih antigena, reakcije mješovitog polja, smanjenoga djelovanja reagensa.

Varijante stanica antigena mogu izazvati neočekivane pozitivne ili negativne reakcije s uzorcima koji su prethodno tipizirani s reagensima za određivanje krvne grupe poliklonskih ili drugih monoklonskih izvora koji su dobiveni iz stanične linije. Lažno pozitivni ili lažno negativni rezultati mogu se pojaviti zbog kontaminacije testnih materijala ili bilo kakvog odstupanja od preporučene metode.

Eritrociti koji imaju pozitivan direktni antiglobulinski test (DAT) imaju lažno pozitivan rezultat testa. Za otkrivanje takvih nevaljanih rezultata testa preporučuje se uporaba monoklonske kontrole Pelikloon.

Neučinkovito pranje eritrocita koje testirate može rezultirati lažno negativnim rezultatima zbog neutralizacije polispecifičnog antihumanog seruma od strane proteina (IgG) koji su još prisutni u epruveti.

Pelikloon monoklonski reagensi za određivanje krvne grupe optimizirani su za uporabu s pomoću tehnike (ili više njih) preporučene u ovim uputama za uporabu. Osim ako nije navedeno drugačije, korisnik mora odrediti njihovu prikladnost za uporabu s pomoću drugih tehnika.

Literatura

1. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6th ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
2. Issit P.D.; Applied Blood Group Serology, 3rd ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, SAD, 1985.
3. Daniels G.; Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd. 1995.
4. Reid M.E. et al.; The Blood Group Antigen FactsBook. FactsBook Series, 3rd ed. 2012.
5. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion In Clinical Medicine, 9th ed. Blackwell, Oxford, 1993.

Proizvodi organizacije Sanquin zajamčeno djeluju kao što je opisano u izvornim proizvođačevim uputama za uporabu. Strogo pridržavanje postupaka, postavki testa te preporučenih reagensa i opreme od ključne je važnosti. Sanquin se odriče svake odgovornosti koja proizlazi iz bilo kakvog nepridržavanja navedenog.