

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 (cs)

Pouze pro profesionální použití

Krevně skupinové diagnostikum pro detekci D antigenu na lidských červených krvinkách

Všeobecné informace

Krevně skupinové diagnostikum Pelikloon anti-D mix (IgG/IgM) monoclonal (čísla klonů jsou uvedena na příslušném analytickém certifikátu/propouštěcím dokumentu a na etiketě) se připravuje ze supernatantů stabilních hybridomových linií, poprvé popsanych Köhler a Milstein (Nature 1975). Toto monoklonální diagnostikum obsahuje IgG/IgM protilátky a bylo speciálně vybráno a vyvinuto tak, aby bylo vhodnou alternativou k polyklonálním diagnostikům. Diagnostikum splňuje požadavky příslušných standardů a doporučení. Parametry diagnostika jsou uvedeny v propouštěcích dokumentech, které jsou poskytnuty s produktem na vyžádání. Principem testu je aglutinační technika, která je založena na reakci antigen / protilátka. Diagnostikum se používá ve zkumavkové metodě nebo na mikrotitračních destičkách. Diagnostikum detekuje všechny normální D a většinu slabých D antigenů. D variantu kategorie VI detekuje pouze ve zkumavkovém testu po přidání polyspecifického antiglobulinového séra (AGH). S každou sérií testů se doporučuje se použít pozitivní a negativní kontrolu.

Upozornění

Diagnostikum je určeno pouze pro použití in vitro. Diagnostikum se skladuje při 2-8 °C. Tekoucí nebo jinak poškozené lahvičky se nesmí použít. Diagnostikum (neotevřené nebo otevřené) se nesmí používat po uplynutí expirační doby, která je uvedena na etiketě lahvičky. Jako konzervační přípravek se používá 0,1% (w/v) azid sodný (NaN₃). U diagnostika nelze zcela vyloučit přítomnost infekčního agens. Pozornost musí být věnována při užití a nakládání s každým obalem a jeho obsahem. Turbidita může být známkou mikrobiální kontaminace. Aby se rozpoznalo poškození diagnostika, doporučuje se testovat diagnostikum jako součást laboratorního programu kontroly kvality s použitím příslušných kontrol. Odstranění odpadu po provedeném testování se provádí v souladu s postupy dané laboratoře.

Odběr a příprava vzorků

Vzorky krve se odebírají asepticky s nebo bez přidání antikoagulancií. Jestliže je testování vzorků krve odloženo, uchovávají se při 2-8 °C.

Příprava vzorků je popsána v postupu testu.

Postup testu

Zkumavková metoda:

Požadované zkumavky: skleněné zkumavky s kulatým dnem; velikost 75 x 10/12 mm.

1. Připraví se 3-5% suspenze testovaných erytrocytů v izotonickém roztoku chloridu sodného nebo ve vlastní plazmě nebo séru.
2. Do testovací zkumavky se přidá:
 - 1 kapka Pelikloon diagnostika
 - 1 kapka 3-5% erytrocytární suspenzea obsah zkumavky se dobře promíchá.
3. Zkumavka se centrifuguje 20 sekund při 1000 rcf nebo při jiném vhodném čase dle kalibrace centrifugy.
4. Sediment se jemně protřepe a aglutinace se odečte makroskopicky.

Pokud není viditelná žádná aglutinace, pokračuje se následovně:

5. Obsah zkumavky se dobře promíchá a zkumavka se inkubuje na vodní lázni 15-20 minut při 37 °C.
6. Krvinky se 1 x promyjí v nadbytku izotonického roztoku chloridu sodného. Po promytí se důkladně odstraní promývací tekutina. (Jedno promytí je dostatečné, není zde nevýhoda nutnosti 3-4 násobného promytí jako u konvenčních testů.)
7. Do zkumavky se přidají 2 kapky polyspecifického antiglobulinového séra (AGH) a obsah se dobře promíchá.
8. Poté se zkumavka centrifuguje 20 sekund při 1000 rcf nebo při jiném vhodném čase dle kalibrace centrifugy.
9. Sediment se jemně protřepe a aglutinace se odečte makroskopicky.
10. V případě že není viditelná aglutinace, přidá se ke každé zkumavce 1 kapka Coombs kontrolních erytrocytů a postup se opakuje podle bodů 8 a 9. Nyní by reakce měla být pozitivní. Jestliže test je i nadále negativní, je test neplatný a musí se opakovat.

Mikrodestičková metoda

Požadované mikrodestičky: polystyrenové mikrodestičky s jamkami s kulatým dnem.

1. Připraví se 2-3% suspenze testovaných erytrocytů v izotonickém roztoku chloridu sodného nebo ve vlastní plazmě nebo séru.
2. Do jamky mikrodestičky se kápne:
 - 1 kapka Pelikloon diagnostika
 - 1 kapka 2-3% suspenze testovaných erytrocytů.
3. Obsah se promíchá 5 sekund na rotační třepačce při 600-700 ot./min.
4. Destička se inkubuje 10-15 minut při pokojové teplotě (18-25 °C) bez míchání.
5. Poté se centrifuguje 10-20 sekund při 700 rcf nebo při jiném vhodném čase dle kalibrace centrifugy.

6. Destička se protřepe 1-4 minuty na rotační třepače při 600-700 ot./min. nebo při jiném vhodném čase tak, aby bylo dosaženo resuspendace krvinek v případě negativních reakcí.
7. Poté se destička ponechá v klidu po dobu jedné minuty, aby se shlukly malé aglutináty.
8. Reakce se může odečítat jak makroskopicky, tak pomocí automatického readru.

Hodnocení

Pozitivní reakce (tj. aglutinace) indikuje přítomnost Rh D antigenu na erythrocytech. Pozitivní reakce, která je slabá nebo negativní při detekci jinými technikami, znamená přítomnost slabého nebo neúplného D antigenu a doporučuje se při ní další vyšetření, které objasní stav Rh D. Negativní reakce (tj. bez viditelné aglutinace) indikuje chybění Rh D antigenu na erythrocytech.

Výskyt

D antigen

Kavkazská populace

85%

Negroidní populace

92%

Omezení

Neočekávané pozitivní výsledky mohou být způsobeny: pseudoaglutinací, autoaglutinací, smíšeným reakčním polem, přítomností Whartonova rosolu společně s pupečníkovými krvinkami.

Neočekávané negativní nebo slabé reakce mohou být způsobeny: slabými antigeny, smíšeným reakčním polem, sníženou aktivitou diagnostika.

Kvinky s variantami antigenů mohou vést k neočekávaným pozitivním či negativním reakcím se vzorky již určenými pomocí diagnostik pro stanovení krevních skupin z polyklonálních nebo jiných monoklonálních zdrojů odvozených z buněčných linií. Falešně pozitivní nebo falešně negativní výsledky mohou být způsobeny kontaminací testovaného materiálu nebo odchylkou od doporučené techniky.

Erythrocyty s pozitivním přímým antiglobulinovým testem (DAT) mohou vykazovat falešně pozitivní výsledky. Doporučuje se použít Pelikloon monoklonální kontrolu pro detekci takto neplatných výsledků testů.

Nedostatečné promytí testovaných erythrocytů způsobuje falešně negativní výsledky z důvodu neutralizace polyspecifického antiglobulinového (AGH) séra IgG proteiny stále přítomnými ve zkumavce.

Pelikloon monoklonální krevně skupinové diagnostikum bylo optimalizováno pro použití technikou doporučenou v tomto příbalovém letáku. Použití v jiných technikách musí být ověřeno uživatelem.

Reference

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, USA, 1985.
3. Daniels G.; Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd. 1995.
4. Reid M.E. et al.; The Blood Group Antigen Facts Book. Facts Book Series, 3rd ed. 2012.
5. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion In Clinical Medicine, 9th ed. Blackwell, Oxford, 1993.

Sanquin zaručuje, že funkční charakteristiky jejích produktů budou takové, jaké jsou popsány v původních návodech k použití od výrobce. Je nezbytné přesně dodržovat postupy, rozvržení testů a doporučení k činidlům a vybavení. Nadace Sanquin se zříká veškeré zodpovědnosti v případě jakýchkoli odchylek od těchto postupů, rozvržení a doporučení.