

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_v02 01/2017 (pt)

Wyłącznie do użytku profesjonalnego

Odczynnik do serologii grup krwi do wykrywania antygenu D na powierzchni ludzkich krwinek czerwonych

Informacje ogólne

Odczynnik Pelikloon anti-D mix (IgG/IgM) monoclonal do serologii grup krwi (numery klonów są podane w certyfikacie analizy/dokumentacji dopuszczenia do obrotu oraz na opakowaniu produktu) jest przygotowywany z nasączonej hodowli z hybrydowych linii komórkowych, zgodnie z pierwszym opisem, przedstawionym przez Köhler i Milstein (Nature 1975). Ten monoclonalny odczynnik zawiera ludzkie przeciwciała IgG/IgM. Został specjalnie wyselekcjonowany i poddany dalszej obróbce w celu stworzenia wiarygodnej alternatywy dla odczynników poliklonalnych. Odczynnik ten spełnia 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. Odczynnik ten można stosować w technice wirówkowej, mikroplytkowej lub szkiełkowej. Niniejszy odczynnik umożliwia wykrycie wszystkich normalnych oraz większości słabych antygenów D. Wariant antygenu D kategorii VI wykrywany jest wyłącznie za pomocą testu próbówkowego po dodaniu wieloswoistej antyludzkiej surowicy. Czulość techniki szkiełkowej jest gorsza w porównaniu z techniką wirówkową i mikroplytkową. Zatem niektóre próbki zawierające słaby antygen D nie zostaną za pomocą tej metody określone jako Rhesus D dodatnie, podczas gdy byłyby one określone jako dodatnie za pomocą zarówno techniki wirówkowej, jak i mikroplytkowej. Zdecydowanie zaleca się zastosowanie kontroli dodatniej i ujemnej w każdej serii oznaczania grup krwi.

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 fiolek. Środkiem konserwującym jest 0,1% NaN₃ (stężenie wagowe). Odczynnik jest potencjalnie zakaźny. 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 komórkowej i 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.

Jeżeli brak jest widocznej aglutynacji, należy kontynuować wykonywanie testu w następujący sposób:

5. Dobrze wymieszać i inkubować próbki w łaźni wodnej w temperaturze 37 °C przez 15-20 minut.
6. Przepłukać krwinki jeden raz dużą ilością izotonicznego roztworu soli fizjologicznej. Odcedzić całkowicie płyn (jednokrotne płukanie jest wystarczające; płukanie 3-4 razy, jak w przypadku testów konwencjonalnych, nie wywiera niekorzystnego wpływu).
7. Dodać 2 krople wieloswoistej antyludzkiej surowicy i dobrze wymieszać.
8. Wirować przez 20 sekund z prędkością 1000 RCF lub przez czas odpowiedni do kalibracji wirówki.
9. Delikatnie wstrząsając, wytworzyć ponownie zawiesinę komórek i makroskopowo ocenić aglutynację.
10. Jeżeli nie ma widocznej aglutynacji, dodać 1 kroplę Coombs Control Cells i powtórzyć czynności opisane w punktach 8 i 9. Wynik reakcji powinien być teraz dodatni. Jeżeli test nadal jest ujemny, wynik jest nieważny, a test należy powtórzyć.

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 mikroptytkę 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 mikroptytkę na 1 minutę, aby umożliwić osadzenie się drobnych aglutynatów.
 8. Wówczas można odczytać wyniki reakcji, zarówno makroskopowo, jak i za pomocą automatycznego czytnika.

Metoda szkiełkowa

1. Umieścić 1 kroplę odczynnika Pelikloon na czystym, ogrzanym (37-45 °C) szkiełku podstawowym na podświetlonej przegładarce.
2. Dodać 2 krople 35-45% zawiesiny komórkowej przeznaczonych do testu krwinek czerwonych w izotonicznym roztworze soli fizjologicznej albo własnym osoczu lub surowicy.
3. Za pomocą czystego aplikatora dobrze wymieszać próbkę w kolistym obszarze o średnicy około 20 mm.
4. Wolno poruszając szkiełkiem, obserwować próbkę w poszukiwaniu aglutynacji krwinek czerwonych (nie dłużej niż 2 minuty).
5. Odczytać wynik, oceniając aglutynację makroskopowo.

Interpretacja

Reakcja dodatnia (tj. aglutynacja) wskazuje na obecność antygeny Rh D. Reakcja dodatnia, choć słaba lub ujemna w przypadku zastosowania innych technik, wskazuje obecność słabego lub częściowego antygeny D i zaleca się wykonanie dalszych badań w celu wyjaśnienia statusu Rh D. Reakcja ujemna (tj. brak widocznej aglutynacji) wskazuje na brak antygeny Rh D.

Występowanie

Antygen D	Rasa biała	Rasa czarna
	85%	92%

Ograniczenia

Niespodziewane wyniki dodatnie z powodu: 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. Wyniki fałszywie dodatnie lub fałszywie ujemne mogą mieć miejsce w rezultacie skażenia badanych materiałów lub innych odchyłań od zalecanej techniki. Krwinki czerwone, które są dodatnie w bezpośrednim teście antyglobulinowym (DAT), powodują wyniki fałszywie dodatnie. Zaleca się użycie kontroli monoklonalnej Pelikloon w celu wykrycia nieważnych wyników testu. Nieskuteczne wypłukanie badanych krwinek czerwonych może spowodować wyniki fałszywie ujemne wskutek neutralizacji wieloswoistej antyludzkiej surowicy przez białka (IgG), które nadal znajdują się w próbówce. Odczynniki monoklonalne Pelikloon do serologii grup krwi zostały zoptymalizowane do stosowania w technice (technikach) zalecanej (zalecanych) w ulotce dołączonej do opakowania. Jeżeli nie określono inaczej, to ich przydatność do zastosowania w innych technikach musi być ustalona przez użytkownika.

Literatura

1. Race R.R., 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., Lomas-Francis C.; The Blood Group Antigen Facts Book. Facts Book Series, 1997.
5. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion In Clinical Medicine, 9th ed. Blackwell, Oxford, 1993.

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