

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 (sr)

Samo za profesionalnu upotrebu

Reagens za određivanje krvnih grupa za detekciju D antigena u humanim eritrocitima

Opšte informacije

Pelikloon anti-D mix (IgG/IgM), monoklonski reagens za određivanje krvnih grupa (broj klonova je naveden u odgovarajućem certifikatu o analizi/dokumentu o puštanju u promet i na etiketi proizvoda) pripremljen je iz bistrata kulture iz stabilnih linija ćelija hibridoma kao što su prvobitno opisali Köhler i Milstein (Nature 1975). Ovaj monoklonski reagens sadrži humana IgG/IgM antitela i posebno je izabran i razvijen da obezbedi pouzdanu alternativu poliklonskim reagensima. Ovaj reagens zadovoljava zahteve odgovarajućih standarda i smernica. Karakteristike performansi navedene su u dokumentima o puštanju u promet koji se na zahtev dostavljaju sa proizvodom. Princip testa je tehnika aglutinacije koja se zasniva na reakciji antigen/antitelo. Reagens se može koristiti sa metodom rotirajuće epruvete, pločice sa mikroeprevetama ili razmaza. Ovaj reagens detektuje sve normalne i najslabije D antigene. Varijanta D antigena kategorije VI detektuje se samo testom epruveta nakon dodavanja polispecifičnog antihumanog seruma. Osetljivost metode razmaza inferiorna je u odnosu na metode rotirajuće epruvete i pločice sa mikroeprevetama. Prema tome, neki uzorci slabog D antigena neće biti klasifikovani kao Rhesus D pozitivni kada se koristi ovaj metod, iako bi bili klasifikovani kao pozitivni kada se koristi metod rotirajuće epruvete ili pločice sa mikroeprevetama. Snažno se preporučuje uključivanje pozitivnih i negativnih kontrola sa svakom serijom utvrđivanja krvnih grupa.

Mere predostrožnosti

Isključivo za in vitro dijagnostiku. Reagense treba skladištiti na 2-8 °C. Ampule koje su oštećene ili cure ne smeju se koristiti. Reagensi (neotvoreni ili otvoreni) ne smeju se koristiti nakon isteka roka upotrebe koji je odštampan na etiketi ampule. NaN₃ 0,1% (w/v) koristi se kao konzervans. Ne sme se pretpostavljati da reagens ne sadrži infektivne agense. Mora se voditi računa pri korišćenju i odlaganju svake posude i njenog sadržaja. Zamućenost može da naznačava mikrobnu kontaminaciju. Kako bi se prepoznalo propadanje reagensa, preporučuje se testiranje reagensa korišćenjem odgovarajućih kontrola, kao deo programa kontrole kvaliteta u laboratoriji. Nakon dovršenja testa otpad treba odlagati u skladu sa propisima u vašoj laboratoriji.

Uzimanje i priprema uzoraka

Uzorke krvi treba uzimati aseptično uz dodavanje antikoagulanasa ili bez njega. Ukoliko se testiranje uzoraka krvi odlaže, treba ih skladištiti na 2-8 °C.

Priprema uzoraka opisana je u odgovarajućim procedurama testiranja.

Procedure testiranja

Metod rotirajuće epruvete

Zahtevi za epruvetu: staklene epruvete zaobljenog dna, veličine 75 x 10/12 mm.

1. Pripremite 3-5% ćelijsku suspenziju eritrocita koja će se testirati u izotoničnom fiziološkom rastvoru ili u sopstvenoj plazmi ili serumu.
2. Dodajte u test epruvetu:
 - 1 kap Pelikloon reagensa
 - 1 kap 3-5% ćelijske suspenzijei dobro promešajte.
3. Centrifugirajte 20 sekundi pri 1000 rcf (relativna centrifugalna sila) ili u trajanju prikladnom kalibraciji centrifuge.
4. Resuspendujte ćelije blagim mućkanjem i makroskopski očitajte aglutinaciju.

Ako nema vidljive aglutinacije, test treba nastaviti na sledeći način:

5. Dobro promešajte i inkubirajte epruvete u vodenoj kupki 15-20 minuta na 37 °C.
6. Ispirite ćelije jednom u dosta izotoničnog fiziološkog rastvora. Ocedite u potpunosti (jedno ispiranje je dovoljno, ne postoji šteta od ispiranja 3-4 puta kao kod konvencionalnih testova).
7. Dodajte 2 kapi polispecifičnog antihumanog seruma i dobro promešajte.
8. Centrifugirajte 20 sekundi pri 1000 rcf (relativna centrifugalna sila) ili u trajanju prikladnom kalibraciji centrifuge.
9. Resuspendujte ćelije blagim mućkanjem i makroskopski očitajte aglutinaciju.
10. Ako nema vidljive aglutinacije, dodajte 1 kap Coombs kontrolnih ćelija i ponovite korake 8 i 9. Reakcija bi sada trebala biti pozitivna. Ako je test i dalje negativan, rezultat je nevažeci i test treba ponoviti.

Metod pločice sa mikroeprevetama

Zahtevi za pločice sa mikroeprevetama: polistirenske pločice sa mikroeprevetama sa zaobljenim dnom.

1. Pripremite 2-3% ćelijsku suspenziju eritrocita koja će se testirati u izotoničnom fiziološkom rastvoru ili u sopstvenoj plazmi ili serumu.
2. Dodajte u jednu mikroeprevetetu:
 - 1 kap Pelikloon reagensa
 - 1 kap 2-3% ćelijske suspenzije

3. Temeljno mešajte sadržaj 5 sekundi koristeći rotacioni mešač pri brzini od 600-700 o/min.
4. Inkubirajte 10-15 minuta na sobnoj temperaturi (18-25 °C) bez mućkanja.
5. Centrifugirajte 10-20 sekundi pri 700 rcf ili u trajanju prikladnom kalibraciji centrifuge.
6. Ponovo mešajte pločicu sa mikroepruvetama 1-4 minuta na rotacionom mešaču pri brzini od 600-700 o/min ili koliko je potrebno da bi se ćelije u potpunosti resuspendovale u mikroepruvetama sa negativnim reakcijama.
7. Pustite da pločica sa mikroepruvetama miruje 1 minut kako biste dopustili manjim aglutinativnim da se slegnu.
8. Reakcije se sada mogu očitati makroskopski ili automatskim čitačem.

Metod razmaza

1. Postavite 1 kap Pelikloon reagensa na čistu, toplu (37-45 °C) staklenu pločicu na osvetljenom okviru.
2. Dodajte 2 kapi 35-45% ćelijske suspenzije eritrocita koja će se testirati u izotoničnom fiziološkom rastvoru ili u sopstvenoj plazmi ili serumu.
3. Dobro promešajte čistim aplikatorskim štapićem preko kružne površine prečnika otprilike 20 mm.
4. Polako pomerite pločicu i posmatrajte aglutinaciju eritrocita ne duže od 2 minuta.
5. Očitajte aglutinaciju makroskopski.

Tumačenje

Pozitivna reakcija (tj. aglutinacija) naznačava prisustvo Rh D antigena. Pozitivna reakcija, iako je slaba ili negativna kod drugih tehnika, naznačava prisustvo slabog ili parcijalnog D antigena i preporučuje se dalje istraživanje kako bi se razjasnio Rh D status. Negativna reakcija (tj. bez vidljive aglutinacije) naznačava odsustvo Rh D antigena.

Pojava	Belci	Ljudi afričkog porekla
D antigen	85%	92%

Ograničenja

Neočekivani pozitivni rezultati usled: pseudoaglutinacije, autoaglutinacije, reakcije mešovitog polja, prisustva Vartonovog gela zajedno sa ćelijama pupčane vrpce.

Neočekivani negativni ili slabi rezultati usled: slabih antigena, reakcije mešovitog polja, smanjene aktivnosti reagensa.

Do lažnih pozitivnih ili lažnih negativnih rezultata može doći zbog kontaminacije test materijala ili odstupanja od preporučene tehnike.

Eritrociti sa pozitivnim direktnim antiglobulinskim testom (DAT) daju lažne pozitivne rezultate testa. Upotreba reagensa Pelikloon control monoclonal preporučuje se za detekciju takvih nevažjećih rezultata testa.

Nedelotvorno ispiranje testiranih eritrocita može da dovede do lažnih negativnih rezultata zbog neutralizacije polispecifičnog antihumanog seruma proteinima (IgG) koji su i dalje prisutni u epruveti.

Pelikloon monoklonski reagensi za određivanje krvnih grupa optimizovani su za korišćenje sa tehnikama preporučenim u ovom umetku u pakovanju. Ukoliko nije drugačije navedeno, njihovu podobnost za upotrebu sa drugim tehnikama mora da utvrdi korisnik.

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. and 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.

Sanquin proizvodi imaju garantovane performanse kao što je opisano u uputstvima za upotrebu originalnog proizvođača. Strogo pridržavanje ovih procedura, izgleda testa i preporučenih reagensa i opreme je od suštinskog značaja. Sanquin odriče svaku odgovornost koja dolazi iz odstupanja od ovoga.