

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 C€ 0344
Pelikloon anti-B (IgM) monoclonal	REF K 1189	IVD C€ 0344
Pelikloon anti-A,B (IgM) monoclonal	REF K 1190	IVD C€ 0344
001_v04 07/2019 (hr)	Samo za profesionalnu uporabu	

Reagensi za određivanje krvne grupe za otkrivanje A i/ili B antigena na ljudskim eritrocitima

Opće informacije

Pelikloon anti-A, anti-B, and anti-A,B (IgM) monoclonal reagensi za određivanje krvne grupe (brojevi klonova navedeni su na odgovarajućoj potvrdi o analizi / dokumentu o stavljanju u uporabu) pripremljeni su od supernatanta kulture iz staničnih linija hibridoma, kao što su prvi put opisali Köhler i Milstein (Nature 1975). Ovi monoklonski reagensi sadrže mišja IgM antitijela i posebno su odabrani i razvijeni kao pouzdana alternativa poliklonskim reagensima. Ti reagensi udovoljavaju 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. Reagensima se može služiti u metodama rotirajuće epruvete ili pločice s mikroeprevetama. Ovi su reagensi prikladni za uporabu u automatiziranim ispitnim sustavima te ih korisnik treba standardizirati i provjeriti. Izričito se preporučuje uključanje pozitivnih i negativnih kontrola sa svakom serijom određivanja krvne grupe. Uz određivanje ABO krvne grupe eritrocita, potrebno je testirati serum bolesnika na prisutnost odgovarajućih anti-A i/ili anti-B aloantitijela, uporabom testnih eritrocita A₁ i B (pogledajte dotične upute za uporabu).

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. Anti-A i anti-B reagensi obojeni su zbog lakšeg prepoznavanja. 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.

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 mikroeprevetu:
 - 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 mikropruветama 1 – 4 minute na rotacijskoj miješalici pri 600–700 1/min ili koliko je potrebno da se stanice u mikropruветama u potpunosti ponovno otope s negativnim reakcijama.
7. Neka pločica s mikropruветama 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 odgovarajućeg antigena. Negativna reakcija (tj. bez vidljive aglutinacije) ukazuje na nedostatak odgovarajućeg antigena. ABO krvna grupa određuje se prema uzorku reakcije koji je dobiven različitim antiserumima (pogledajte tablicu na poledini). Ako uzorak reakcije ne odgovara jednoj od 4 kombinacije u nastavku, razlog odstupanja rezultata odrediti prije dodjeljivanja ABO krvne grupe dotičnom bolesniku/darivatelju.

Reakcije aglutinacije u rutini određivanja krvne grupe ABO

eritrociti + reagens za određivanje krvne grupe			serum/plazma + testni eritrociti		
anti-A	anti-B	anti-A,B	A1 stanice	B stanice	krvna grupa (učestalost)
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⁾

Ograničenja

Neočekivani pozitivni rezultati zbog: poliaglutinacije, 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 poliklonalnih ili drugih monoklonalnih 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.

Literatura

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. Issitt 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

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.