

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 (el)	Μόνο για επαγγελματική χρήση	

Αντιδραστήριο ομάδων αίματος για την ανίχνευση του αντιγόνου A ή/και B σε ανθρώπινα ερυθροκύτταρα

Γενικές πληροφορίες

Τα μονοκλωνικά αντιδραστήρια Pelikloon αντι-A, αντι-B, και αντι-A,B (IgM) ομάδων αίματος (οι αριθμοί κλώνων αναφέρονται στο αντίστοιχο πιστοποιητικό ανάλυσης/έντυπο κυκλοφορίας) παρασκευάζονται από υπερκείμενα καλλιιεργειών σταθερών κυτταρικών σειρών υβριδώματος, με βάση την τεχνική των Köhler και Milstein (Nature 1975). Πρόκειται για μονοκλωνικά αντιδραστήρια ανοσοσφαιρινών ποντικού τύπου IgM που έχουν επιλεγεί και αναπτυχθεί ώστε να παρέχουν αξιόπιστη εναλλακτική λύση έναντι των πολυκλωνικών αντιδραστηρίων. Τα αντιδραστήρια αυτά ανταποκρίνονται στις απαιτήσεις των σχετικών προτύπων και οδηγιών. Τα χαρακτηριστικά των επιδόσεών τους αναφέρονται στα έντυπα κυκλοφορίας, τα οποία κοινοποιούνται εφόσον ζητηθεί. Η αρχή λειτουργίας της μεθόδου είναι η τεχνική συγκόλλησης, η οποία βασίζεται στην αντίδραση αντιγόνου/αντισώματος. Τα αντιδραστήρια μπορούν να χρησιμοποιηθούν με τη μέθοδο του σωληναρίου φυγοκέντρησης ή μικροπλάκας. Είναι επίσης κατάλληλα για χρήση σε αυτόματα συστήματα εξετάσεων αν και θα πρέπει σ' αυτή την περίπτωση να γίνεται βαθμονόμηση από τον χρήστη. Συνιστάται να συμπεριλαμβάνονται θετικοί ή αρνητικοί μάρτυρες σε κάθε σειρά προσδιορισμών ομάδων αίματος. Πέραν από τον προσδιορισμό των ομάδων αίματος του συστήματος ABO, ο ορός του ασθενούς πρέπει να ελέγχεται για την παρουσία των αντίστοιχων αντι-A ή/και αντι-B αντισωμάτων, χρησιμοποιώντας αντιδραστήρια A1 και B ερυθρών κυττάρων (βλέπε σχετικό ένθετο συσκευασίας).

Προφυλάξεις

Για in vitro διαγνωστική χρήση μόνον. Τα αντιδραστήρια πρέπει να αποθηκεύονται σε θερμοκρασία 2–8°C. Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται φιαλίδια με διαρροή ή κατεστραμμένα. Επίσης δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται μετά την ημερ/νία λήξης, η οποία είναι τυπωμένη στην ετικέτα του φιαλιδίου. NaN₃ 0,1% (w/v) χρησιμοποιείται ως συντηρητικό. Τα αντιδραστήρια αντι-A και αντι-B έχουν χρωματισμό για ευκολότερη αναγνώριση. Δεδομένου ότι πρόκειται για βιολογικά υλικά δεν πρέπει να θεωρηθούν ελεύθερα λοιμογόνων παραγόντων. Τα απαιτούμενα μέτρα υγιεινής πρέπει σποωδώς να λαμβάνονται κατά την χρήση και απόρριψη κάθε φιαλιδίου και του περιεχομένου του. Η θολότητα ενδέχεται να υποδεικνύει μικροβιακή μόλυνση. Για να επιβεβαιώσετε την ποιότητα κάθε αντιδραστηρίου, συνίσταται ο έλεγχός τους ως μέρος του προγράμματος ποιοτικού ελέγχου χρησιμοποιώντας τους κατάλληλους μάρτυρες. Η απόρριψη των υπολειμμάτων, μετά την ολοκλήρωση του ελέγχου, πρέπει να διεξάγεται σύμφωνα με τους εργαστηριακούς κανονισμούς.

Συλλογή και προετοιμασία δειγμάτων

Οι αιμοληψίες πρέπει να διεξάγονται υπό άσηπτες συνθήκες με ή χωρίς την προσθήκη αντιπηκτικών παραγόντων.

Αν ο έλεγχος των δειγμάτων αίματος καθυστερεί, πρέπει να αποθηκεύονται στους 2–8°C.

Η προετοιμασία των δειγμάτων περιγράφεται στις διαδικασίες των αντίστοιχων ελέγχων

Οδηγίες εκτέλεσης των τεστ

Μέθοδος σωληναρίου

Απαιτούμενα υλικά: γυάλινα σωληνάρια με στρογγυλεμένο πυθμένα, μέγεθος 75 x 10/12 mm.

1. Προετοιμάζουμε αιώρημα 3–5% των υπό έλεγχο ερυθροκυττάρων σε ισοτονικό διάλυμα φυσιολογικού ορού ή στο ίδιο τους το πλάσμα ή τον ορό.
2. Σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα, προσθέτουμε:
 - 1 σταγόνα αντιδραστηρίου Pelikloon
 - 1 σταγόνα του αιωρήματος ερυθροκυττάρων 3–5% και αναμιγνύουμε καλά
3. Φυγοκεντρούμε επί 20 δευτερόλεπτα στις 1000 rcf ή επί χρονικό διάστημα κατάλληλο σε σχέση με τη βαθμονόμηση της φυγοκέντρου.
4. Επαναδημιουργούμε εναιώρημα κυττάρων με ελαφρά ανακίνηση και αρατηρούμε μακροσκοπικά για συγκόλληση.

Μέθοδος μικροπλάκας

Απαιτούμενα υλικά: μικροπλάκες από πολυστυρένιο με πηγαδάκια με στρογγυλεμένους πυθμένες.

1. Προετοιμάζουμε αιώρημα 2–3% των υπό έλεγχο ερυθροκυττάρων σε ισοτονικό διάλυμα φυσιολογικού ορού ή στο ίδιο τους το πλάσμα ή τον ορό.
2. Στο πηγαδάκι προσθέτουμε:
 - 1 σταγόνα αντιδραστηρίου Pelikloon
 - 1 σταγόνα του αιωρήματος ερυθροκυττάρων 2–3%
3. Αναμιγνύουμε το περιεχόμενο καλά επί 5 δευτερόλεπτα χρησιμοποιώντας περιστροφικό αναδευτή στις 600–700 σ.α.λ.
4. Επιάζουμε επί 10–15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (18–25°C) χωρίς ανάδευση.
5. Φυγοκεντρούμε επί 10–20 δευτερόλεπτα στις 700 rcf ή επί χρονικό διάστημα κατάλληλο με τη βαθμονόμηση της φυγοκέντρου.
6. Ανακινούμε και πάλι τη μικροπλάκα επί 1-4 λεπτά στον περιστροφικό αναδευτή στις 600–700 στροφές ανά λεπτό, ή επί όσο χρόνο απαιτείται για την πλήρη εναιώρηση των κυττάρων στα πηγαδάκια με τις αρνητικές αντιδράσεις.
7. Αφήστε τη μικροπλάκα ακίνητη επί 1 λεπτό ώστε να κατακαθίσουν τα μικρότερα συσσωματώματα.

8. Παρατηρούμε τις αντιδράσεις είτε μακροσκοπικά είτε μέσω φωτομέτρου (automatic reader).

Ερμηνεία

Θετική αντίδραση (δηλ. συγκόλληση) υποδηλώνει την ύπαρξη του αντίστοιχου αντιγόνου. Αρνητική αντίδραση (δηλ. ουδεμία ορατή συγκόλληση) υποδηλώνει την απουσία του αντίστοιχου αντιγόνου. Η ομάδα αίματος ABO προσδιορίζεται από το αποτέλεσμα της αντίδρασης που λαμβάνεται με τους διαφορετικούς αντιορούς (βλ. τον παρακάτω πίνακα). Αν τα αποτελέσματα των αντιδράσεων δεν συγκροτούν κάποιον από τους 4 παρακάτω συνδυασμούς, τότε ο λόγος για τα αποκλίνοντα αποτελέσματα θα πρέπει να προσδιοριστεί πριν το χαρακτηρισμό της ομάδας αίματος ABO του συγκεκριμένου ασθενή/δότη.

Αντιδράσεις συγκόλλησης σε τυπικό χαρακτηρισμό ομάδων αίματος ABO

ερυθροκύτταρα + αντιδραστήριο ομάδας αίματος			ορός/πλάσμα + αντιδρώντα ερυθροκύτταρα		
anti-A	anti-B	anti-A,B	κύτταρα A1	κύτταρα B	ομάδα αίματος (συχνότητα)
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⁾

Περιορισμοί

Απροσδόκητα θετικά αποτελέσματα μπορεί να προκύψουν λόγω: ψευδοσυγκόλλησης, αυτοσυγκόλλησης, αντίδραση μικτού πεδίου, χρήση πηκτώματος Whartons μαζί με κύτταρα ομφάλιου λώρου.

Απροσδόκητα αρνητικά ή ασθενή αποτελέσματα μπορεί να προκύψουν λόγω: ασθενών αντιδραστηρίων, αντίδρασης μικτού πεδίου, μειωμένη δραστηριότητα αντιδραστηρίου.

Τα παραλλαγμένα κύτταρα αντιγόνου μπορούν να παράγουν απροσδόκητες θετικές ή αρνητικές αντιδράσεις με δείγματα που προηγουμένως είχαν προσδιοριστεί με αντιδραστήρια ομάδων αίματος πολυκλωνικών ή άλλων μονοκλωνικών πηγών προερχόμενων από κυτταρική σειρά.

Ενδέχεται να υπάρχουν ψευδή θετικά ή ψευδή αρνητικά αποτελέσματα από μόλυνση των υλικών εξέτασης ή οποιαδήποτε απόκλιση από την συνιστώμενη τεχνική.

Αναφορές

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

Τα προϊόντα *Sanquin* είναι εγγυημένα να αποδίδουν όπως περιγράφεται στις αρχικές οδηγίες χρήσης του κατασκευαστή. Η αυστηρή συμμόρφωση με τις διαδικασίες, τις διατάξεις δοκιμών και τα συνιστώμενα αντιδραστήρια και εξοπλισμό είναι ουσιώδης. Η *Sanquin* αποποιείται κάθε ευθύνη που οφείλεται σε τυχόν παρέκκλιση από τα παραπάνω.