

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 (cs)	Pouze pro profesionální použití	

Krevně skupinová diagnostika pro detekci A a/nebo B antigenu na lidských červených krvinkách.

Všeobecné informace

Diagnostika Pelikloon anti-A, anti-B a A,B (IgM) monoklonální (čísla klonů jsou uvedena na příslušném analytickém certifikátu / propouštěcím dokumentu) se připravují ze supernatantů stabilních hybridomových linií poprvé popsanych Köhler a Milstein (Nature 1975). Tato monoklonální diagnostika obsahují myš IgM protilátky a byla speciálně vybrána a vyvinuta tak, aby byla vhodnou alternativou k polyklonálním diagnostikům. Diagnostika splňují požadavky příslušných standardů a doporučení. Parametry diagnostik jsou uvedeny v propouštěcích dokumentech, které jsou poskytnuty s produktem na vyžádání.

Principem testu je aglutinační technika, která je založena na reakci antigen / protilátka. Diagnostika se používají ve zkumavkové metodě nebo na mikrodestičkách. Diagnostika jsou rovněž vhodná pro použití v automatizovaných testovacích systémech, ve kterých jejich standardizaci a validaci provádí sám uživatel.

S každou sérií testů se doporučuje se použít pozitivní a negativní kontrolu. Stanovení krevní skupiny ABO na erythrocytech by mělo být doplněno testováním přítomnosti odpovídajících anti-A a/nebo anti-B alloprotilátek v séru pacienta s použitím A₁ a B diagnostických erythrocytů (viz příslušný příbalový leták).

Upozornění

Diagnostika jsou určena pouze pro použití in vitro. Diagnostika se skladují při 2–8°C. Tekoucí nebo jinak poškozené lahvičky se nesmí použít. Diagnostika (neotevřená nebo otevřená) se nesmí používat po uplynutí expirační doby, která je uvedena na etiketě lahvičky. Jako konzervační přípravek se používá 0,1% (w/v) azid sodný. Pro snadné rozlišení jsou diagnostika anti-A a anti-B obarvena. U diagnostik 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 diagnostik, doporučuje se testovat diagnostika 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 antikoagulantů. 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 erythrocytů v izotonickém roztoku chloridu sodného nebo ve vlastní plazmě nebo séru.
2. Do testovací zkumavky se nakape:
 - 1 kapka Pelikloon diagnostika
 - 1 kapka 3–5% erythrocytární suspenzea obsah se dobře promíchá.
3. Poté se zkumavka centrifuguje 20 sekund při 1000 rcf nebo při jiném vhodném čase dle kalibrace centrifugy.
4. Sediment se jemně protřepe a aglutinace se odečte makroskopicky.

Mikrodestičková metoda

Požadované mikrodestičky: polystyrenové mikrodestičky s jamkami s kulatým dnem.

1. Připraví se 2–3% suspenze testovaných erythrocytů v izotonickém roztoku chloridu sodného nebo ve vlastní plazmě nebo séru.
2. Do jamky mikrodestičky se nakape:
 - 1 kapka Pelikloon diagnostika
 - 1 kapka 2–3% suspenze testovaných erythrocytů.
3. Obsah se promíchá 5 sekund na rotační třepačce při 600–700 ot./min.
4. Destička se inkubuje 10–15 minuty 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 třepačce 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 1 minuty, aby sedimentovaly drobnější aglutináty.
8. Reakce se může odečítat jak makroskopicky, tak pomocí automatického readru.

Hodnocení

Pozitivní reakce (tj. aglutinace) indikuje přítomnost odpovídajícího antigenu na erythrocytech. Negativní reakce (tj. bez viditelné aglutinace) indikuje chybění odpovídajícího antigenu na erythrocytech. Krevní skupina ABO se stanoví na základě charakterů reakcí, které byly získány s různými antiséry (viz tabulka). V případě, že charakter reakce neodpovídá jedné ze 4 níže uvedených kombinací, musí se zjistit příčina odlišného výsledku před tím, než se označí ABO krevní skupina příslušného pacienta / dárce.

Aglutinační reakce v rutinním ABO typování

Erythrocyty + krevně skupinové diagnostikum			sérum/plazma + diagnostické erythrocyty		
anti-A	anti-B	anti-A,B	A ₁ erythrocyty	B erythrocyty	krevní skupina
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⁾

Omezení

Neočekávané pozitivní výsledky mohou být způsobeny: polyaglutinací, 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.

Krvinky 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.

Reference

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

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.