

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-C (IgM) monoclonal	REF K1195 K1202	IVD CE 0344
Pelikloon anti-c (IgM) monoclonal	REF K1196 K1203	IVD CE 0344
Pelikloon anti-E (IgM) monoclonal	REF K1191 K1204	IVD CE 0344
Pelikloon anti-e (IgM) monoclonal	REF K1197 K1205	IVD CE 0344

002_v04 07/2019 (hr)

Samo za profesionalnu uporabu

Reagensi za određivanje krvne grupe za otkrivanje Rh antigena C, c, E ili e na ljudskim eritrocitima

Opće informacije

Pelikloon anti-C, c, E, and both e (IgM) monoclonal reagens za određivanje krvne grupe (broj klonova naveden je na odgovarajućoj potvrdi o analizi / dokumentu o stavljanju u uporabu i naljepnici proizvoda) pripremljeni su od supernatanata kulture iz staničnih linija hibridoma, kao što su prvi put opisali Köhler i Milstein (Nature 1975). Dostupne su dvije različite linije reagensa Pelikloon (s različitim sastavom klonova) te se po želji mogu upotrebljavati za potvrđivanje rezultata testa dobivenih bilo kojom linijom reagensa. Ovi monoklonalni reagensi sadrže humana IgM antitijela i posebno su odabrani i razvijeni kao pouzdana alternativa poliklonalnim 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. Ovim se reagensima može služiti u metodama rotirajuće epruvete ili pločice s mikroeprevetama. Izričito se preporučuje uključivanje pozitivnih i negativnih kontrola sa svakom serijom određivanja krvne grupe.

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. 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.
5. Ako su rezultati testa negativni ili upitni, inkubirajte 15 – 20 minuta na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C) i ponovite 3. i 4. korak.

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 mikroeprevetetu:
 - 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 mikroeprevetama 1 – 4 minute na rotacijskoj miješalici pri 600 – 700 1/min ili koliko je potrebno da se stanice u mikroeprevetama u potpunosti ponovno otope s negativnim reakcijama.
7. Neka pločica s mikroeprevetama odstoji 1 minutu kako bi se manji aglutinirani slegli.
8. Reakcije se sada mogu očitati ili makroskopski ili pomoću automatskoga čitača.

Tumačenje

Pozitivna reakcija (tj. aglutinacija) ukazuje na prisutnost odgovarajućeg antigena. U slučaju ostalih neslaganja između prve i druge linije reagensa, stupite u kontakt s vašim Sanquin distributerom.

Negativna reakcija (tj. bez vidljive aglutinacije) ukazuje na nedostatak odgovarajućeg antigena.

Pojavljivanje	Pripadnici bijele rase	Pripadnici crne rase
C antigen	68 %	27 %
c antigen	80 %	96 %
E antigen	29 %	22 %
e antigen	98 %	98 %

Ograničenja

Neočekivani pozitivni rezultati zbog: 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.

Crvene krvne stanice koje imaju pozitivan direktni antiglobulinski test (DAT) mogu imati lažno pozitivan rezultat testa. Za otkrivanje takvih nevaljanih rezultata testa preporučuje se uporaba monoklonske kontrole Pelikloon.

Pelikloon monoklonalno reagensi za određivanje krvne grupe optimizirani su za uporabu s pomoću tehnike (ili više njih) preporučene u ovim uputama za uporabu. Osim ako nije navedeno drugačije, korisnik mora odrediti njihovu prikladnost za uporabu s pomoću drugih tehnika.

Literatura

1. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6th ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
2. Issitt 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. et al.; The Blood Group Antigen FactsBook. FactsBook Series, 3rd ed. 2012.
5. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion In Clinical Medicine, 9th ed. Blackwell, Oxford, 1993.

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.