

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 (pl)	<i>Wyłącznie do użytku profesjonalnego</i>	

Odczynniki do serologii grup krwi, służące do wykrywania antygenów Rhesus C, c, E lub e, ludzkich krwinek czerwonych

Informacje ogólne

Odczynniki monoklonalne Pelikloon anti-C, c, E oraz oba anti-e (IgM) do serologii grup krwi (numer klonu jest podany w certyfikacie analizy/dokumentacji dopuszczenia do obrotu oraz na opakowaniu produktu) są przygotowywane z nasączy hodowli z hybrydowych linii komórkowych, zgodnie z pierwszym opisem, przedstawionym przez Köhler i Milstein (Nature 1975). Dostępne są dwie różne linie odczynników Pelikloon (różniące się składem klonów). Na życzenie można je wykorzystać w celu potwierdzenia wyników testu uzyskanych za pomocą każdej z linii odczynników. Odczynniki te zawierają monoklonalne ludzkie przeciwciała IgM i zostały specjalnie wyselekcjonowane oraz poddane dalszej obróbce w celu stworzenia wiarygodnej alternatywy dla odczynników poliklonalnych. Odczynniki te spełniają wymagania odpowiednich norm i wytycznych. Charakterystyki działania są opisane w dokumentach dopuszczenia do obrotu, które na prośbę klienta mogą być dostarczone wraz z produktami. Zasada testu oparta jest na technice aglutynacji, która polega na reakcji antygen/przeciwciało. Odczynniki te można stosować w technice wirówkowej lub mikropłytkowej. Zdecydowanie zaleca się zastosowanie kontroli dodatniej i ujemnej w każdej serii oznaczania grup krwi.

Środki ostrożności

Stosować jedynie w diagnostyce in vitro. Odczynniki należy przechowywać w temperaturze 2–8°C. Nie wolno używać fiolek uszkodzonych ani przeciekających. Nie wolno używać odczynników (ani nieotwartych, ani otwartych) po upływie terminu ważności, który jest wydrukowany na etykiecie fiołki. Środkiem konserwującym jest 0,1% NaN₃ (stężenie wagowe). Odczynniki są potencjalnie zakaźne. Należy zachować szczególną ostrożność podczas stosowania produktu i usuwania jego pozostałości oraz opakowań po produkcie. Zmętnienie może wskazywać na skażenie bakteryjne. W celu sprawdzenia jakości odczynnika zaleca się jego przetestowanie w ramach laboratoryjnego programu kontroli jakości, z zastosowaniem odpowiednich metod kontrolnych. Po zakończeniu testu wszelkie pozostałości niewykorzystanego produktu należy usunąć w sposób zgodny z przepisami laboratorium, w którym test przeprowadzono.

Pobieranie i przygotowywanie materiału

Próbki krwi powinny być pobierane w sposób aseptyczny z/lub bez dodatku antykoagulantów. Jeżeli badanie próbek krwi będzie wykonane z opóźnieniem, próbki należy przechowywać w temperaturze 2–8°C. Przygotowanie próbek zostało opisane w odpowiednich procedurach testu.

Procedury testu

Metoda wirówkowa

Wymagania dotyczące próbek: próbki szklane o okrągłym dnie; rozmiar 75 x 10/12 mm.

1. Przygotować 3–5% zawiesinę komórkową przeznaczonych do testu krwinek czerwonych w izotonicznym roztworze soli fizjologicznej albo własnym osoczu lub surowicy.
2. Do próbki testowej dodać:
 - 1 kroplę odczynnika Pelikloon
 - 1 kroplę 3–5% zawiesiny komórkoweji dobrze wymieszać.
3. Wirować przez 20 sekund z prędkością 1000 RCF lub przez czas odpowiedni do kalibracji wirówki.
4. Delikatnie wstrząsając, wytworzyć ponownie zawiesinę komórek i makroskopowo ocenić aglutynację.
5. W przypadku wyników ujemnych lub wątpliwych inkubować próbkę przez 15–20 minut w temperaturze pokojowej (18–25°C) i powtórzyć czynności opisane w punkcie 3 i 4.

Metoda mikropłytkowa

Wymagania dotyczące mikropłytki: mikropłytki polistyrenowe z dołkami o okrągłych denkach.

1. Przygotować 2–3% zawiesinę komórkową przeznaczonych do testu krwinek czerwonych w izotonicznym roztworze soli fizjologicznej albo własnym osoczu lub surowicy.
2. Do dołka dodać:
 - 1 kroplę odczynnika Pelikloon
 - 1 kroplę 2–3% zawiesiny komórkowej
3. Starannie mieszać zawartość przez 5 sekund za pomocą wytrząsarki rotacyjnej z prędkością 600–700 obrotów/min.
4. Inkubować przez 10–15 minut w temperaturze pokojowej (18–25°C) bez wytrząsania.
5. Wirować przez 10–20 sekund z prędkością 700 RCF lub przez czas odpowiedni do kalibracji wirówki.
6. Ponownie wytrząsać mikropłytkę za pomocą wytrząsarki rotacyjnej z prędkością 600–700 obrotów/min przez 1–4 minut albo przez czas konieczny do całkowitego ponownego wytworzenia zawiesiny krwinek w dołkach z reakcją ujemną.

7. Odstawić mikropłytkę na 1 minutę, aby umożliwić osadzenie się drobnych aglutynatów.
8. Wówczas można odczytać wyniki reakcji, zarówno makroskopowo, jak i za pomocą automatycznego czytnika.

Interpretacja

Reakcja dodatnia (tj. aglutynacja) wskazuje na obecność odpowiedniego antygeny. W przypadku innych rozbieżności pomiędzy odczynnikami pierwszej i drugiej linii należy skontaktować się z miejscowym przedstawicielem handlowym firmy Sanquin. Reakcja ujemna (tj. brak widocznej aglutynacji) wskazuje na brak odpowiedniego antygeny.

Występowanie	Rasa biała	Rasa czarna
Antygen C	68%	27%
Antygen c	80%	96%
Antygen E	29%	22%
Antygen e	98%	98%

Ograniczenia

Niespodziewane wyniki dodatnie z powodu: pseudoaglutynacji, autoaglutynacji, mieszanej reakcji pola, obecności galaretki Whartona razem z komórkami pępowiny. Niespodziewane wyniki ujemne lub wyniki słabo wyrażone z powodu: słabych antygenów, mieszanej reakcji pola, zmniejszonej aktywności odczynnika.

Komórki zawierające wariant antygeny mogą dać nieoczekiwane reakcje dodatnie lub ujemne z próbkami typowanymi wcześniej z użyciem odczynników do ustalania grup krwi ze źródeł poliklonalnych lub innych źródeł monoklonalnych pochodzących z linii komórkowych.

Wyniki fałszywie dodatnie lub fałszywie ujemne mogą mieć miejsce w rezultacie skażenia badanych materiałów lub innych odchyień od zalecanej techniki. Krwinki czerwone dodatnie w bezpośrednim teście antyglobulinowym (DAT) mogą dawać wyniki fałszywie dodatnie. Zaleca się użycie kontroli monoklonalnej Pelikloon w celu wykrycia nieważnych wyników testu. Odczynniki monoklonalne Pelikloon do serologii grup krwi zostały zoptymalizowane do stosowania w technice (technikach) zalecanej (zalecanych) w ulotce dołączonej do opakowania. Jeżeli nie określono inaczej, to ich przydatność do zastosowania w innych technikach musi być ustalona przez użytkownika.

Literatura

1. Race R.R., 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., et al.; The Blood Group Antigen Facts Book. Facts Book Series, 3rd ed. 2012.
5. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion In Clinical Medicine, 9th ed. Blackwell, Oxford, 1993.

Gwarantujemy działanie produktów Sanquin w sposób opisany w oryginalnej instrukcji obsługi dostarczonej przez producenta. Istotne znaczenie ma ścisłe przestrzeganie procedur, układów testowych i używanie zalecanych odczynników oraz sprzętu. Fundacja Sanquin nie przyjmuje żadnej odpowiedzialności za jakiegokolwiek odchylenia od powyższych wymagań.