

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-D mix (IgG/IgM) monoclonal

REF K1157

IVD CE 0344

006_v03 06/2018 (bg)

Само за професионална употреба

Реагент за определяне на кръвната група за откриване на антигена D в човешки еритроцити

Обща информация

Моноклоналният реагент Pelikloon anti-D mix (IgG/IgM) monoclonal за определяне на кръвната група (номерата на клоновете са указани в съответния сертификат за анализ/документ за издаване и етикет на продукта) е приготвен от супернатантите на култури от стабилни хибридомни клетъчни линии, както е описано за пръв път от Köhler и Milstein (Nature 1975). Този моноклонален реагент съдържа човешки IgG/IgM антитела и е избран и приготвен специално като надеждна алтернатива на поликлоналните реагенти. Той отговаря на изискванията на приложимите стандарти и указания. Работните характеристики се описват в документите на изданието, които се предоставят с продукта при поискване. В принципа на теста заляга техниката на аглутиниране, основана на реакцията антиген-антитяло. Реагентът може да се използва с метода в центрифужна епруветка или микротитрационна плака. С този реагент се откриват всички нормални D-антигени и повечето от слабите D-антигени. Вариантите на D от категория VI се откриват само чрез теста в епруветки след добавяне на полиспецифичен анти-човешки серум. Силно се препоръчва използване на положителна и отрицателна контрола за всяка серия на определяне на кръвната група.

Предпазни мерки

За използване само при *in vitro* диагностика. Реагентите трябва да се съхраняват при 2-8 °C. Не могат да се използват протекли или повредени ампули. Реагентите (затворени или отворени) не трябва да се използват след изтичане на срока им на годност, който е отпечатан върху етикета им. Използван е NaN₃ 0,1% (w/v) като консервант. Не може да се приеме, че реагентите не съдържат заразни вещества. Трябва да внимавате при използването и изхвърлянето на всеки контейнер и съдържанието му. Помътняването може да указва микробиологично замърсяване. За да разпознаете дали реагентът е влошен, е препоръчително да го тествате като част от програмата за лабораторен качествен контрол, използвайки подходящи контроли. Изхвърлянето на отпадъците след завършване на изследването трябва да се извършва според правилата на лабораторията.

Събиране и подготовка на проби

Кръвните проби трябва да се вземат асептично със или без добавяне на антикоагуланти. Ако тестването на пробите не се извършва веднага, те трябва да се съхраняват при 2-8 °C.

Приготвянето на проба е описано в съответните тестови процедури.

Тестови процедури

Метод в центрифужна епруветка

Изисквания за епруветката: стъклени епруветки със заоблено дъно; размер 75 x 10/12 mm.

1. Пригответе 3-5% клетъчна суспензия на еритроцитите в изотоничен разтвор на натриев хлорид или в собствените им плазма или серум.
2. Добавете в тестовата епруветка:
 - 1 капка Pelikloon реагент
 - 1 капка от клетъчната суспензия 3-5%и разбъркайте добре.
3. Центрофугирайте 20 секунди при 1000 gcf (релативна центрофугална сила) или за подходящо време съобразно калибрирането на центрофугата.
4. Ресуспендирайте клетките чрез внимателно разклащане и отчетете наличието на аглутиниране под микроскоп.

Ако липсва видимо аглутиниране, тестът трябва да продължи по следния начин:

5. Разбъркайте добре и инкубирайте епруветките във водна баня за 15-20 минути на 37 °C.
6. Промийте клетките веднъж в излишък на изотоничен разтвор на натриев хлорид. Отдеантирайте напълно (достатъчно е еднократно промиване; няма неблагоприятни последици от 3-4кратно промиване, както и при конвенционалните тестове).
7. Добавете 2 капки полиспецифичен античовешки серум и разбъркайте добре.
8. Центрофугирайте 20 секунди при 1000 gcf (релативна центрофугална сила) или за подходящо време съобразно калибрирането на центрофугата.
9. Ресуспендирайте клетките чрез внимателно разклащане и отчетете наличието на аглутиниране под микроскоп.
10. Ако няма видимо аглутиниране, добавете 1 капка контролни клетки на Кумбс (Coombs Control Cells) и повторете стъпки 8 и 9. Така реакцията трябва да стане положителна. Ако тестът остане отрицателен, резултатите са невалидни и изследването трябва да се повтори.

Метод в микротитрационна плака

Изисквания за микротитрационната плака: полистиролови микротитрационни плаки с облодъжни кладенчета.

1. Пригответе 2-3% клетъчна суспензия на еритроцитите, които ще се изследват, в изотоничен разтвор на натриев хлорид или в собствените им плазма или серум.
2. Добавете в кладенчето:
 - 1 капка Pelikloon реагент
 - 1 капка от клетъчната суспензия 2-3%
3. Разбъркайте добре съдържанието в продължение на 5 секунди, като използвате ротационна клатачка при 600-700 rpm (оборота в минута).
4. Инкубирайте в продължение на 10-15 минути при стайна температура (18-25 °C) без разклащане.
5. Центрофугирайте в продължение на 10-20 секунди при 700 gcf или за подходящо време съобразно калибрирането на центрофугата.
6. Разклатете повторно микротитрационните плаки в продължение на 1-4 минути на ротационна клатачка при 600-700 rpm, или толкова дълго, колкото е необходимо за пълно ресуспендиране на клетките в кладенчетата с отрицателни реакции.
7. Оставете микротитрационната плака 1 минута в покой, за да може да се утаят и по-малките по размер аглутинати.
8. След това реакциите вече може да се отчетат или под микроскоп, или с помощта на автоматичен четец.

Интерпретиране

Положителна реакция (т.е. аглутиниране) указва наличието на Rh D антиген. Положителната реакция, независимо че е слаба или отрицателна при използване на други техники, показва наличие на слаб или частичен D-антиген и се препоръчва допълнително изследване за изясняване на Rh D статуса. Отрицателна реакция (т.е. без видимо аглутиниране) указва отсъствието на Rh D антиген.

Честота	Европейска	Негроидна
D антиген	85%	92%

Ограничения

Неочаквани положителни резултати поради: псевдоаглутиниране, автоаглутиниране, смесена полева реакция, наличие на слюз на Уортън едновременно с клетки от пълна връв.

Неочаквано отрицателни или слабо проявени резултати поради: слаби антигени, смесена полева реакция, намалена активност на реагента.

Фалшиво положителни или фалшиво отрицателни резултати могат да възникнат при замърсяване на тестовите материали или отклонение от препоръчителната техника.

Еритроцитите, при които директният антиглобулинов тест (DAT) е положителен, дават фалшиво положителен тестов резултат. За откриване на такива невалидни тестови резултати е препоръчително използването на Pelikloon control monoclonal.

Неефективното промиване на тестваните еритроцити може да доведе до фалшиво отрицателни резултати поради неутрализирането на полиспецифичния античовешки серум от останали в епруветката протеини (IgG).

Реагентите Pelikloon monoclonal за определяне на кръвната група са оптимизирани за използване чрез техниката (техниките), препоръчани в тази листовка. Освен ако не е указано друго, потребителят сам трябва да определи дали са подходящи за използване с друга техника.

Източници

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 Facts-Book. Facts-Book Series, 3rd ed. 2012.
5. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion In Clinical Medicine, 9th ed. Blackwell, Oxford, 1993.

Гарантира се ефективност на продуктите *Sanquin* като тази, описана в инструкциите за употреба на първоначалния производител. От съществено значение е строгото спазване на процедурите, тестовите постановки и препоръчителните реагенти и оборудване. *Sanquin* не поема никаква отговорност при отклонение от горепосоченото.