

# 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 (pl)

*Wyłącznie do użyciu  
profesjonalnego*

Odczynnik do serologii grup krwi do wykrywania antygeny D na powierzchni ludzkich krwinek czerwonych

## Informacje ogólne

Odczynnik Pelikloon anti-D mix (IgG/IgM) monoclonal do serologii grup krwi (numery klonów są podane w certyfikacie analizy/dokumentacji dopuszczenia do obrotu oraz na opakowaniu produktu) jest przygotowywany z nasączonych hodowli z hybrydowych linii komórkowych, zgodnie z pierwszym opisem, przedstawionym przez Köhler i Milstein (Nature 1975). Ten monoklonalny odczynnik zawiera ludzkie przeciwciała IgG/IgM. Został specjalnie wyselekcjonowany i poddany dalszej obróbce w celu stworzenia wiarygodnej alternatywy dla odczynników poliklonalnych. Odczynnik ten spełnia wymagania odpowiednich norm i wytycznych. Charakterystyki działania są opisane w dokumentach dopuszczenia do obrotu, które na prośbę klienta mogą być dostarczone wraz z produktem. Zasada testu oparta jest na technice aglutynacji, która polega na reakcji antygen/przeciwciała. Odczynnik ten można stosować w technice wirówkowej lub mikroplytkowej. Niniejszy odczynnik umożliwia wykrycie wszystkich normalnych oraz większości słabych antygenów D. Wariant antygeny D kategorii VI wykrywany jest wyłącznie za pomocą testu próbówkowego po dodaniu wieloswoistej antyludzkiej surowicy. 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 fiolek. Środkiem konserwującym jest 0,1% NaN<sub>3</sub> (stężenie wagowe). Odczynnik jest potencjalnie zakaźny. 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 komórkowej i 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.

Jeżeli brak jest widocznej aglutynacji, należy kontynuować wykonywanie testu w następujący sposób:

5. Dobrze wymieszać i inkubować próbki w łaźni wodnej w temperaturze 37°C przez 15-20 minut.
6. Przepłukać krwinki jeden raz dużą ilością izotonicznego roztworu soli fizjologicznej. Odcedzić całkowicie płyn (jednokrotne płukanie jest wystarczające; płukanie 3-4 razy, jak w przypadku testów konwencjonalnych, nie wywiera niekorzystnego wpływu).
7. Dodać 2 krople wieloswoistej antyludzkiej surowicy i dobrze wymieszać.
8. Wirować przez 20 sekund z prędkością 1000 RCF lub przez czas odpowiedni do kalibracji wirówki.
9. Delikatnie wstrząsając, wytworzyć ponownie zawiesinę komórek i makroskopowo ocenić aglutynację.
10. Jeżeli nie ma widocznej aglutynacji, dodać 1 kroplę Coombs Control Cells i powtórzyć czynności opisane w punktach 8 i 9. Wynik reakcji powinien być teraz dodatni. Jeżeli test nadal jest ujemny, wynik jest nieważny, a test należy powtórzyć.

## Metoda mikroplytkowa

*Wymagania dotyczące mikroplytki: mikroplytki 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 mikroplytkę 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 mikroplytkę 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 antygenu Rh D. Reakcja dodatnia, choć słaba lub ujemna w przypadku zastosowania innych technik, wskazuje na obecność słabego lub częściowego antygenu D i zaleca się wykonanie dalszych badań w celu wyjaśnienia statusu Rh D. Reakcja ujemna (tj. brak widocznej aglutynacji) wskazuje na brak antygenu Rh D.

<b>Występowanie</b>	<b>Rasa biała</b>	<b>Rasa czarna</b>
Antygen D	85%	92%

## **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. Wyniki fałszywie dodatnie lub fałszywie ujemne mogą mieć miejsce w rezultacie skażenia badanych materiałów lub innych odchyłeń od zalecanej techniki. Krwinki czerwone, które są dodatnie w bezpośrednim teście antyglobulinowym (DAT), powodują wyniki fałszywie dodatnie. Zaleca się użycie kontroli monoklonalnej Pelikloon w celu wykrycia nieważnych wyników testu. Nieskuteczne wypłukanie badanych krwinek czerwonych może spowodować wyniki fałszywie ujemne wskutek neutralizacji wieloswoistej antyludzkiej surowicy przez białka (IgG), które nadal znajdują się w próbówce. 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, 6<sup>th</sup> ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
2. Issit P.D.; Applied Blood Group Serology 3<sup>rd</sup> 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, 3<sup>rd</sup> ed. 2012.
5. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion In Clinical Medicine, 9<sup>th</sup> ed. Blackwell, Oxford, 1993.

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