

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 K 1157

IVD CE 0344

006_v04 07/2019 (hu)

*Kizárólag professzionális
használásra*

Vércsoportreagens D antigén emberi vörösvértesteken történő detektálására

Általános információk

A Pelikloon anti-D mix (IgG/IgM) monoclonal vércsoportreagens (a klónszám a hozzátartozó analízisbizonylatban / felszabadítási dokumentumban és a termék címkén van megemlítve), amely stabil hibridoma sejtvonalak felülűszójából készül, mint ahogy azt először Köhler és Milstein leírta (Nature 1975). Ez a monoklonális reagens humán IgG/IgM antitesteket tartalmaz, és a poliklonális reagens megbízható alternatíváját biztosítandó speciálisan szelektált és fejlesztett. Ez a reagens kielégíti a hivatkozott szabványok és irányvonalak követelményeit. A kivitelezési jellemzőket a felszabadítási dokumentumok említik, amelyek a termékkel együtt kérés esetén szállításra kerülnek. A teszt elve agglutinációs technika, amely antigén-antitest reakción alapul. A reagenst spin-cső módszerrel vagy mikroplate-ben lehet használni. A reagens detektálja az összes normál D és a legtöbb gyenge D antigéneket. A D variant VI kategóriája csak csőtesztben detektálható polispecifikus anti-human globulin hozzáadását követően. Javasolt a pozitív és negatív kontrolloknak minden vércsoport-meghatározási szériába történő bevonása.

Óvintézkedések

Diagnosztikai reagens, csak in vitro használatra. A reagenst 2-8 °C-on kell tárolni. Csöpögő vagy sérült üvegeket nem szabad használni. A bontott vagy bontatlan reagenst az üveg címkéjén megtalálható lejáratási időn túl nem szabad használni. Tartósítószerként 0,1% (w/v) NaN₃-t tartalmaz. A reagensről nem biztos, hogy fertőző ágensektől mentes. Óvatosan kell eljárni a használat során és minden tartójuknak és tartalmának megsemmisítésekor. A zavarosság mikrobiológiai kontaminációt jelenthet. A reagens károsodásának felismerése szempontjából javasolt a reagenst a laboratóriumi minőség-ellenőrzési program részeként megfelelő kontrollok használatával tesztelni. A hulladék-megsemmisítést, a teszt befejezését követően a saját laboratóriumi szabályzók szerint kell elvégezni.

Mintavétel és előkészítés

A vért aseptikusan kell levenni, antikoagulánssal vagy anélkül. Ha a vérminta feldolgozása késik, azt 2-8 °C-on kell tárolni. A minta előkészítése az adott teszt leírásánál található.

Vizsgálati eljárás

Spin-cső módszer

Cső követelmények: kerek aljú üvegcső, 75 x 10/12 mm méretű.

1. Készítse el a vizsgálandó vörösvértestek 3-5%-os sejtszuspenzióját izotóniás sóoldatban vagy saját plazmában vagy szérumban.
2. Adjon a teszt csőhöz
 - 1 csepp Pelikloon reagenst
 - 1 csepp 3-5%-os sejtszuspenziótés keverje meg jól az elegyet.
3. Centrifugáljon 20 másodpercig 1000 rcf-n, vagy a centrifuga kalibrációjának megfelelő ideig.
4. Reszuszpéndálja a sejteket enyhe rázással és olvassa le makroszkóposan az agglutinációt.

Amennyiben nem látható agglutináció, a tesztet a következőképpen kell folytatni:

5. Keverje össze és inkubálja a csöveket vízfürdőben 15-20 percig 37 °C-on.
6. Mossa a sejteket egyszer izotóniás sóoldat feleslegében. Öntse le teljesen (egy mosás elegendő, nincs hátránya a 3-4-szeri mosásnak, mint a konvencionális teszteknél).
7. Adjon 2 csepp polispecifikus anti-human szérumot az elegyhez és keverje meg jól.
8. Centrifugáljon 20 másodpercig 1000 rcf-n vagy a centrifuga kalibrációjának megfelelő ideig.
9. Reszuszpéndálja a sejteket enyhe rázással és olvassa le makroszkóposan az agglutinációt.
10. Amennyiben nincs látható agglutináció, adjon 1 csepp Coombs Controll Cells-t az elegyhez és ismétlje meg a 8. és 9. lépést. A reakciónak most pozitívnek kell lennie. Ha a teszt negatív marad az eredményrvénytelen és a tesztet meg kell ismételni.

Mikroplate módszer

Mikroplate követelmények: polisztrén mikroplate-k kerek aljú lyukakkal

1. Készítse el a vizsgálandó vörösvértestek 2-3%-os sejtszuspenzióját izotóniás sóoldatban vagy saját plazmában vagy szérumban.
2. Adjon a lyukhoz
 - 1 csepp Pelikloon reagenst,
 - csepp 2-3%-os sejtszuspenziót.
3. Keverje az elegyet alaposan 5 másodpercig vibrációs keverő használatával 600-700 rpm-en.
4. Inkubáljon 10-15 percig szobahőmérsékleten (18-25 °C) rázás nélkül.
5. Centrifugáljon 10-20 másodpercig 700 rcf-en vagy a centrifuga kalibrációjának megfelelő ideig.
6. Rázza újra a mikroplate-t 1-4 percig a vibrációs keverőn 600-700 rpm-en avagy addig, amíg a negatív reakciójú lyukakban a sejtek teljes reszuszpéndálásához szükséges.

7. Hagyja pihenni a mikroplate-t 1 percig a kisebb agglutinációk leülepedésének elősegítéséhez.
8. A reakció most leolvasható makroszkóposan vagy automatikus leolvasó használatával.

Értékelés

Posztív reakció (agglutináció) az RhD antigén jelenlétét indikálja. Amennyiben más technikákkal gyenge vagy negatív reakció tapasztalható, akkor a pozitív reakció gyenge vagy részleges D-antigén jelenlétére utal, és további vizsgálatok javasoltak az Rh D státusz megállapítására. Negatív reakció (nincs látható agglutináció) az RhD antigén hiányát indikálja.

Előfordulás	Kaukázusiak	Feketék
D antigén	85 %	92 %

Korlátozások

A nem várt pozitív eredmények pszeudoagglutinációknak, autoagglutinációknak, kevertmezős reakcióknak, Whartons jelly köldökzsinór-vér-sejtekkel való együttes jelenlétének tulajdoníthatók.

A nem várt negatív vagy gyenge eredmények gyenge antigéneknek, kevertmezős reakcióknak, a reagens csökkent aktivitásának tulajdoníthatók.

Az antigénvariáns sejtek nem várt pozitív vagy negatív reakciókat eredményezhetnek az olyan mintákkal, amelyeket korábban poliklonális vagy egyéb sejtvonal-eredetű monoklonális forrásból származó vércsoportreagenssel tipizáltak.

Fals pozitív és fals negatív eredmények a tesztanyagok kontaminációja vagy a javasolt módszertől való eltérés miatt jelentkezhetnek.

Azon vörösvértestek, amelyek pozitív direkt agglutinációs teszttel (DAT) rendelkeznek fals pozitív eredményt adhatnak. A Pelikloon monoklonális kontroll használata ilyen érvénytelen teszteredmények detektálásakor javasolt.

A nem hatékony mosása a tesztelendő vörösvértesteknek fals negatív eredményeket okozhat a polispecifikus anti-human szérumnak a csőben még jelenlevő proteinek (IgG) általi neutralizációja miatt.

A Pelikloon monoklonális vércsoport-reagens ezen csomagolási előíratban javasolt eljáráshoz optimalizáltak. Más technikákhoz való megfelelőséget a felhasználónak kell meghatározni.

Referenciák

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.

A Sanquin termékek garantszerűen az eredeti gyártó használati utasításában megadottaknak megfelelő teljesítményt nyújtván. Rendkívül fontos, hogy szigorúan betartsák az adott eljárásokat, a tesztek elrendezését, és ragaszkodjanak az ajánlott reagensek és berendezések használatához. A Sanquin az előzőekben leírtaktól történő bármilyen eltérés esetén minden felelősséget elhárít.