

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_v04 07/2019 (lv)

Tikai profesionālai lietošanai

Asins grupas noteikšanas reaģents D antigēna klātbūtnes noteikšanai cilvēka eritrocītos

Vispārīga informācija

Pelikloon anti-D mix (IgM) monoclonal asins grupas noteikšanas reaģents (klona numuri ir minēti attiecīgajā analīžu sertifikātā/izlaiduma dokumentā un uz produkta etiķetes) ir pagatavots no kultūras supernatanta, kas iegūts no stabilām hibridomas šūnu līnijām, kā to pirmo reizi aprakstīja Kehlers un Milšteins (Nature 1975). Šis monoklonālais reaģents satur cilvēka IgG/IgM antivielas un ir īpaši izvēlēts un izstrādāts, lai nodrošinātu uzticamu alternatīvu poliklonāliem reaģentiem. Šis reaģents atbilst attiecīgo standartu un vadlīniju prasībām. Efektivitātes raksturlielumi ir minēti izlaiduma dokumentos, kuri tiek izsniegti kopā ar produktu pēc pieprasījuma. Testa princips ir aglutinācijas metode, kas balstīta uz antigēnu/antivielu reakciju. Reaģentu var izmantot stobriņu centrifugēšanas vai mikroplašu metodē. Šis reaģents atklās visus normālos D un visvājākos D antigēnus. D varianta kategorija VI tiek atklāta tikai stobriņa testa laikā pēc polispecifiska seruma pret cilvēku imunoglobulīnu pievienošanas. Ir stingri ieteicams iekļaut pozitīvas un negatīvas kontroles elementus katrā asins grupas sērijas noteikšanā.

Piesardzības pasākumi

Tikai lietošanai in vitro diagnostikā. Reaģenti jāglabā 2-8 °C temperatūrā. Nedrīkst izmantot flakonus, no kuriem notiek noplūde vai kuri ir bojāti. Reaģentus (neatvērtus vai atvērtus) nedrīkst lietot pēc derīguma termiņa beigām, kas ir norādīts uz flakona etiķetes. NaN₃ 0,1% (tilpuma masa) izmanto kā konservantu. Netiek pieņemts, ka reaģentā nav infekcijas aģentu. Lietojot un utilizējot katru konteineru un tā saturu, ir jārikojas piesardzīgi. Duļķainums var liecināt par mikrobu piesārņojumu. Lai atpazītu reaģenta pasliktināšanos, ir ieteicama reaģenta testēšana kā daļa no laboratorijas kvalitātes kontroles programmas, izmantojot atbilstošas kontroles. Atkritumu likvidēšana pēc testa pabeigšanas ir jāveic atbilstoši laboratorijas noteikumiem.

Paraugu ņemšana un sagatavošana

Asins paraugi jāizved aseptiski ar antikoagulantu pievienošanu vai bez tās. Ja asins paraugi netiek testēti uzreiz, tie ir jāuzglabā 2-8 °C temperatūrā.

Parauga pagatavošana ir aprakstīta attiecīgās testa procedūrās.

Testa procedūras

Stobriņu centrifugēšanas metode

Prasības attiecībā uz stobriņu: stikla stobriņi ar apaļu dibenu; izmērs 75 x 10/12 mm.

1. Pagatavojiet 3-5% testējamo eritrocītu šūnu suspensijas izotoniskā fizioloģiskajā šķīdumā vai savā plazmā vai serumā.
2. Pievienojiet testa stobriņā:
 - 1 pilienus Pelikloon reaģenta
 - 1 pilienus 3-5% šūnu suspensijasun labi samaisiet.
3. Centrifugējiet 20 sekundes ar 1000 apgr./min. ātrumu vai tik ilgi, cik pieprasa centrifūgas kalibrēšana.
4. Atkārtoti suspendējiet šūnas, tās viegli sakratot, un nolasi makroskopiskos rādītājus, lai noteiktu, vai notiek aglutinācija.

Ja nav redzama aglutinācija, tests ir jāturpina šādi:

5. Labi samaisiet un inkubējiet stobriņus ūdens vannā 15-20 minūtes 37 °C temperatūrā.
6. Vienreiz noskalojiet šūnas pāri palikušajā izotoniskajā fizioloģiskajā šķīdumā. Pilnībā izlejiet šķīdumu (pietiek ar vienu skalošanu; var skalot arī 3-4 reizes kā tradicionālo testu laikā).
7. Pievienojiet 2 pilienus polispecifiskā seruma pret cilvēku imunoglobulīnu un labi samaisiet.
8. Centrifugējiet 20 sekundes ar 1000 apgr./min. ātrumu vai tik ilgi, cik pieprasa centrifūgas kalibrēšana.
9. Atkārtoti suspendējiet šūnas, tās viegli sakratot, un nolasi makroskopiskos rādītājus, lai noteiktu, vai notiek aglutinācija.
10. Ja nav redzama aglutinācija, pievienojiet 1 pilienus Coombs kontroles šūnu un atkārtojiet 8. un 9. darbību. Tagad reakcijai ir jābūt pozitīvai. Ja tests paliek negatīvs, rezultāts ir nelietojams un tests ir jāatkārto.

Mikroplašu metode

Prasības attiecībā uz mikroplati: polistirēna mikroplates ar apaļu dibenu bedrītēm.

1. Pagatavojiet 2-3% testējamo eritrocītu šūnu suspensijas izotoniskā fizioloģiskajā šķīdumā vai savā plazmā vai serumā.
2. Pievienojiet bedrītē:
 - 1 pilienus Pelikloon reaģenta
 - 1 pilienus 2-3% šūnu suspensijas
3. Labi samaisiet saturu 5 sekundes, izmantojot rotācijas šeikeri, ar ātrumu 600-700 apgr./min.
4. Inkubējiet 10-15 minūtes istabas temperatūrā (18-25 °C) nesakratot.
5. Centrifugējiet 10-20 sekundes ar 700 apgr./min. ātrumu vai tik ilgi, cik pieprasa centrifūgas kalibrēšana.

6. Kratiet mikroplati 1-4 minūtes rotācijas šeikerī ar ātrumu 600-700 apgr./min. vai tik ilgi, cik nepieciešams, lai pilnībā atkārtoti suspendētu šūnas bedrītēs ar negatīvām reakcijām.
7. Ļaujiet mikroplatei pastāvēt 1 minūti, lai ļautu nogulsnēties mazākiem aglutinātiem.
8. Tagad reakcijas var nolasīt makroskopiski vai ar automātiskā lasītāja starpniecību.

Interpretācija

Pozitīva reakcija (t.i. aglutinācija) liecina par Rh D antigēna klātbūtni. Pozitīva reakcija, ja tā ir vāja vai negatīva, izmantojot citu metodi, liecina par vāju vai daļēju D antigēna klātbūtni, un ir ieteicams turpmāks pētījums, lai izskaidrotu Rh D statusu. Negatīva reakcija (t.i., kad nav redzama aglutinācija) liecina par to, ka nav Rh D antigēna.

Sastopamība	Baltā rase	Negroīdi
D antigēns	85%	92%

Ierobežojumi

Negaidīti pozitīvi rezultāti, ko izraisa: pseidoaglutinācija, autoaglutinācija, jaukto lauku reakcija, Vartona želeja kopā ar nabassaites šūnām.

Negaidīti negatīvi vai vāji rezultāti, ko izraisa: vāji antigēni, jaukto lauku reakcija, reaģenta samazināta aktivitāte.

Antivielu variantu šūnas var izraisīt negaidīti pozitīvas vai negatīvas reakcijas ar paraugiem, kas iepriekš tipizēti ar poliklonālu vai citu šūnu rindu monoklonālu avotu asins grupēšanas reaģentiem.

Kļūdaini pozitīvi vai kļūdaini negatīvi rezultāti var parādīties testa materiālu kontaminācijas vai novirzes no ieteiktās metodes dēļ.

Eritrocīti, kuru tiešā antiglobulīna tests (DAT) ir pozitīvs, veido aplami pozitīvus testa rezultātus. Šādu nederīgu testa rezultātu atklāšanai ieteicams izmantot Pelikloon control monoclonal.

Neefektīva testējamo eritrocītu skalošana var sniegt aplami negatīvus rezultātus, jo polispecifisku serumu pret cilvēku imunoglobulīnu neitralizē olbaltumvielas (IgG), kuras joprojām atrodas stobriņā.

Pelikloon monoclonal asins grupas noteikšanas reaģenti ir optimizēti izmantošanai metodē(-s), kas ieteicama(-s) šajā lietošanas instrukcijā. Ja nav norādīts citādi, to atbilstība lietošanai citās metodēs jānosaka lietotājam.

Atsauces

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.

Tiek garantēts, ka Sanguin izstrādājumi darbosies atbilstoši oriģinālajās ražotāja instrukcijās aprakstītajam. Ir svarīga stingra procedūru, testa izkārtojumu ievērošana, ieteikto reaģentu un aprīkojuma izmantošana. Sanguin neuzņemas atbildību gadījumos, kad šie noteikumi netiek ievēroti.