

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 (ro)

Doar pentru uz profesional

Reactivi pentru stabilirea grupei sanguine pentru detectarea antigenului D în celulele roșii umane

Informații generale

Pelikloon Reactivii monoclonali anti-D (IgG/IgM) pentru determinarea grupei sanguine (numărul de copii este menționat în certificatul corespunzător analizei/documentul eliberat și pe eticheta produsului) sunt preparați din supernatanți de cultură din linii celulare stabile de tip hibridoma, așa cum au fost descriși prima dată de Köhler și Milstein (Nature 1975). Acest reactiv monoclonal conține anticorpi umani IgG/IgM și a fost selectat și dezvoltat special pentru a furniza o alternativă de încredere la reactivii policlonali. Acest reactiv corespunde cerințelor privind standardele și instrucțiunile respective. Caracteristicile de performanță sunt menționate în documentele de punere pe piață, care sunt furnizate la cerere împreună cu produsul. Principiul testului este tehnica de aglutinare, care se bazează pe reacția antigen/anticorpi. Reactivul poate fi utilizat fie pentru metoda în eprubetă pentru centrifugare fie pentru microplăci. Acest reactiv va detecta toate antigenele D normale și majoritatea antigenelor D slabe. Varianta D categoria IV este detectată doar în testul în eprubetă după adăugarea unui ser polispecific anti-uman. Se recomandă insistent includerea unor substanțe de control pozitive și negative cu fiecare serie de stabilire a grupei sanguine.

Atenție

Doar pentru utilizare pentru diagnosticare in vitro. Reactivii vor fi depozitați la 2–8 °C. Fiolele deteriorate sau care prezintă scurgeri nu vor fi utilizate. Reactivii (deschiși sau nedeschși) nu vor fi utilizați după data de expirare, care este tipărită pe eticheta fiolei. NaN₃ 0,1% (masă raportată la unitatea de volum) este utilizat ca rol de conservant. Reactivul nu poate fi considerat lipsit de agenți infecțioși. Trebuie manifestată precauție în ce privește utilizarea și eliminarea fiecărui recipient și a conținutului acestuia. Turbiditatea poate indica o contaminare microbiană. Pentru a recunoaște deteriorarea reactivului, se recomandă testarea reactivului ca parte din programul laboratorului de control al calității, utilizând substanțe de control corespunzătoare. Eliminarea deșeurilor, după încheierea testului, se va realiza conform reglementărilor laboratorului dumneavoastră.

Recoltarea și pregătirea specimenului

Probele de sânge trebuie recoltate în mod aseptice, cu sau fără adăugarea de anticoagulate. În cazul în care testarea probelor de sânge este amânată, acestea vor fi depozitate la 2–8 °C.

Pregătirea specimenului este descrisă în procedurile testului respectiv.

Procedurile testului

Metoda cu eprubete pentru centrifugare

Cerințe referitoare la eprubete: eprubete din sticlă, cu fund rotund; dimensiune 75 x 10/12 mm.

1. Preparați o suspensie celulară 3-5% din celulele roșii care trebuie testate în soluție salină izotonă sau în plasma sau serul propriu.
2. Adăugați într-o eprubetă pentru testare:
 - 1 picătură de Pelikloon reactiv
 - 1 picătură de suspensie celulară 3-5% și amestecați energic.
3. Centrifugați la 1000 rcf timp de 20 de secunde sau pentru o durată adecvată cu calibrarea centrifugii.
4. Resuspendați celulele agitând ușor și citiți aglutinarea în mod macroscopic.

Dacă aglutinarea nu este vizibilă, testul trebuie continuat astfel:

5. Amestecați bine și incubați în eprubete în baie de apă timp de 15-20 minute la 37 °C.
6. Spălați celulele o dată în soluție salină izotonă în exces. Decantați complet (o spălare este suficientă; spălarea de 3-4 ori ca în testele convenționale nu prezintă dezavantaje).
7. Adăugați 2 picături de ser polispecific anti-uman și amestecați bine.
8. Centrifugați la 1000 rcf timp de 20 de secunde sau pentru o durată adecvată cu calibrarea centrifugii.
9. Resuspendați celulele agitând ușor și citiți aglutinarea în mod macroscopic.
10. Dacă nu există aglutinare vizibilă, adăugați 1 picătură de Coombs Control Cells și repetați etapele 8 și 9. Reacția ar trebui să fie acum pozitivă. Dacă testul rămâne negativ, rezultatul este invalid și testul trebuie repetat.

Metoda cu microplăci

Cerințe referitoare la microplăci: microplăci din polistiren cu godeuri cu fund rotund.

1. Preparați o suspensie celulară 2-3% din celulele roșii care trebuie testate în soluție salină izotonă sau în plasma sau serul propriu.
2. Adăugați într-un godeu:
 - 1 picătură de Pelikloon reactiv
 - 1 picătură de suspensie celulară 2-3%
3. Amestecați bine conținutul timp de 5 secunde, folosind un agitator rotativ la 600-700 rpm.
4. Incubați timp de 10-15 minute la temperatura camerei (18–25 °C), fără să agitați.
5. Centrifugați la 700 rcf timp de 10-20 de secunde sau pentru o durată adecvată cu calibrarea centrifugii.
6. Agitați din nou microplaca timp de 1-4 minute în agitatorul rotativ la 600-700 rpm sau atâta timp cât este necesar pentru resuspensia completă a celulelor în godeurile cu reacții negative.
7. Lăsați microplaca să se odihnească timp de 1 minut pentru a permite așezarea aglutinelor mai mici.
8. Reacțiile pot fi citite acum fie în mod macroscopic, fie utilizând un cititor automat.

Interpretarea

O reacție pozitivă (ex. aglutinarea) indică prezența anticorpilor Rh D. O reacție pozitivă, deși slabă sau negativă conform altor tehnici, indică prezența unei antigene D slabe sau parțiale și se recomandă continuarea investigațiilor pentru a clarifica statusul Rh D. O reacție negativă (ex. fără aglutinare vizibilă) indică absența antigenului Rh D.

Incidența	Cucazieni	Negroizi
Antigena D	85%	92%

Limitări

Rezultate pozitive neașteptate datorate: pseudoaglutinării, autoaglutinării, reacției de câmp mixt, prezenței gelatinei Wharton împreună cu celulele din cordonul ombilical.

Rezultate negative neașteptate sau rezultate slabe datorate: antigenelor slabe, reacției de câmp mixt, activității reduse a reactivului.

Celulele cu variantă de antigen pot produce reacții neașteptate pozitive sau negative, cu probe testate anterior cu reactivi pentru clasificarea grupelor de sânge din surse policlonale sau monoclonale derivate din alte linii celulare. Rezultate fals pozitive sau fals negative pot apărea ca urmare a contaminării materialelor testate sau a oricărei nerespectări a tehnicii recomandate.

Celulele roșii care au un rezultat pozitiv pentru antiglobulină directă (DAT) pot cauza un rezultat fals pozitiv al testului. Este recomandată utilizarea unui Pelikloon control monoclonal pentru detectarea unor asemenea rezultate incorecte ale testului.

Spălarea inefficientă a celulelor roșii testate poate cauza rezultate fals negative, datorită neutralizării serului polispecific anti-uman de către proteinele (IgG) încă prezente în eprubetă.

Pelikloon reactivii monoclonali pentru stabilizarea grupei sanguine au fost optimizați pentru utilizarea prin tehnica (tehnicile) recomandată(e) în acest prospect. În cazul în care nu este specificat altfel, oportunitatea utilizării lor pentru alte tehnici trebuie stabilită de utilizator.

Referințe

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.

Produsele Sanquin sunt garantate privind funcționarea conform descrierii din instrucțiunile de utilizare originale ale producătorului. Este esențială respectarea strică a procedurilor, a desfășurării testului și a reactivilor și echipamentelor recomandate. Sanquin nu își asumă nicio responsabilitate pentru nerespectarea acestora.