

# 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\_v02 01/2017 (hu)

*Kizárólag professzionális  
használatra*

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 termékcímkén 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, mikroplate-ben vagy csempés technikával 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. A csempés módszer érzékenysége kisebb a spin-cső és a mikroplate-s technikáénál. Ezáltal néhány D weak mintát nem Rhesus pozitívnak tipizál ezen módszer használata esetén, míg pozitívnak tipizál a spin-cső vagy a mikroplate módszer használatakor. 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 lejárati időn túl nem szabad használni. Tartósítószerként 0,1% (w/v) NaN<sub>3</sub>-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, antikoagulánsal 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 sejtsuszpenzióját izotóniás sóoldatban vagy saját plazmában vagy szérumban.
2. Adjon a teszt csőhöz
  - 1 csepp Pelikloon reagenst
  - 1 csepp 3-5%-os sejtsuszpenziótés keverje meg jól az elegyet.
3. Centrifugáljon 20 másodpercig 1000 rcf-n, vagy a centrifuga kalibrációjának megfelelő ideig.
4. Reszuszpendálja 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 teszteknel).
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. Reszuszpendálja 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 pozitívnak kell lennie. Ha a teszt negatív marad az eredmény rvénytelen és a tesztet meg kell ismétlni.

### Mikroplate módszer

*Mikroplate követelmények: polisztrén mikroplate-k kerek aljú lyukakkal*

1. Készítse el a vizsgálandó vörösvértestek 2-3%-os sejtsuszpenzióját izotóniás sóoldatban vagy saját plazmában vagy szérumban.
2. Adjon a lyukhoz
  - 1 csepp Pelikloon reagenst,
  - csepp 2-3%-os sejtsuszpenziót.
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.

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

#### Csempés technika

- Place 1 drop of Pelikloon reagent on a clean warm (37-45 °C) glass slide on a lighted view box. Tegyen 1 csepp Pelikloon reagenst egy tiszta csempére.
- Adjon 2 cseppet a vizsgálandó vörösvértestek izotóniás sóoldatban vagy saját plazmájukban/szérumokban készített 35-45%-os szuszpenziójából.
- Keverje össze jól az elegyet tiszta keverővel egy kb. 20 mm átmérőjű körkörös területen.
- Mozgassa a lemezt lassan és vizsgálja a vörösvértestek agglutinációját 2 percet nem meghaladó időtartam alatt.
- Olvassa le az agglutinációt makroszkóposan.

#### Értékelés

Pozitív 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.

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-reagensek ezen csomagolási előíratban javasolt eljáráshoz optimalizáltak. Más technikákhoz való megfelelést a felhasználónak kell meghatározni.

#### Referenciák

- Race R.R. and Sanger R.: Blood Groups in Man, 6<sup>th</sup> ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
- Issit P.D.: Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985.
- Daniels G.: Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd. 1995.
- Reid M.E. and Lomas Francis C.: The Blood Group Antigen Facts Book, facts Book Series, 1997.
- Mollison P.L. et al.: Blood transfusion in Clinical Medicine, 9<sup>th</sup> ed. Blackwell, Oxford, 1993.

*A Sanquin termékek garانتáltan az eredeti gyártó használati utasításában megadottaknak megfelelő teljesítményt nyújthatnak. 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.*