

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-A (IgM) monoclonal	REF K 1188	IVD C€ 0344
Pelikloon anti-B (IgM) monoclonal	REF K 1189	IVD C€ 0344
Pelikloon anti-A,B (IgM) monoclonal	REF K 1190	IVD C€ 0344
001_v04 07/2019 (bg)	<i>Само за професионална употреба</i>	

Реагент за определяне на кръвната група за откриване на антиген А и/или В в човешки еритроцити

Обща информация

Pelikloon Моноклоналните реагенти анти-А, анти-В и анти-А,В (IgM) за определяне на кръвната група (номерата на клоновете са указани в съответния сертификат за анализ/документ за издаване) са приготвени от супернатантите на култури от стабилни хибридомни клетъчни линии, както е описано за пръв път от Köhler и Milstein (Nature 1975). Тези моноклонални реагенти съдържат миши антитела IgM и са избрани и приготвени специално като надеждна алтернатива на поликлоналните реагенти. Тези реагенти отговарят на изискванията на приложимите стандарти и указания. Работните характеристики се описват в документите на изданието, които се предоставят с продукта при поискване. В принципа на теста заляга техниката на аглутиниране, основана на реакцията антиген-антитяло. Реагентите могат да се използват с метода в центрофужна епруветка или микротитрационна плака. Тези реагенти са подходящи също за използване в автоматизирани тестови системи и трябва да се стандартизират и потвърждават от потребителя. Силно се препоръчва използване на положителна и отрицателна контрола за всяка серия на определяне на кръвната група. Както при определянето на кръвната група А, В или О на еритроцитите, серумът на пациента трябва да се тества за наличие на съответни алоантитела анти-А и/или анти-В с помощта на реагентни еритроцити А₁ и В (вижте съответната листовка).

Предпазни мерки

За използване само при *in vitro* диагностика. Реагентите трябва да се съхраняват при 2–8 °С. Не могат да се използват протекли или повредени ампули. Реагентите (затворени или отворени) не трябва да се използват след изтичане на срока им на годност, който е отпечатан върху етикета им. NaN₃ 0,1% (w/v) като консервант. Реагентите анти-А и анти-В са оцветени за лесно разпознаване. Не може да се приеме, че реагентите не съдържат заразни вещества. Трябва да внимавате при използването и изхвърлянето на всеки контейнер и съдържанието му. Помътняването може да указва микробиологично замърсяване. За да разпознаете дали реагентът е влошен, е препоръчително да го тествате като част от програмата за лабораторен качествен контрол, използвайки подходящи контроли. Изхвърлянето на отпадъците след завършване на изследването трябва да се извършва според правилата на лабораторията.

Събиране и подготовка на проби

Кръвните проби трябва да се вземат асептично със или без добавяне на антикоагуланти. Ако тестването на пробите не се извършва веднага, те трябва да се съхраняват при 2–8 °С.

Приготвянето на проба е описано в съответните тестови процедури.

Тестови процедури

Метод в центрофужна епруветка

Изисквания за епруветката: стъклени епруветки със заоблено дъно; размер 75 x 10/12 mm.

1. Пригответе 3 – 5% клетъчна суспензия на еритроцитите в изотоничен физиологичен разтвор или в собствените им плазма или серум.
2. Добавете в тестовата епруветка:
 - 1 капка реагент Pelikloon
 - 1 капка от клетъчната суспензия 3–5% и разбъркайте добре.
3. Центрофугирайте 20 секунди при 1000 gcf (релативна центрофугална сила) или за подходящо време съобразно калибрирането на центрофугата.
4. Ресуспендирайте клетките чрез внимателно разклащане и отчетете наличието на аглутиниране под микроскоп.

Метод в микротитрационна плака

Изисквания за микротитрационната плака: полистиролови микротитрационни плаки с облодънни кладенчета.

1. Пригответе 2 – 3% клетъчна суспензия на еритроцитите, които ще се изследват, в изотоничен физиологичен разтвор или в собствените им плазма или серум.
2. Добавете в кладенчето:
 - 1 капка реагент Pelikloon
 - 1 капка от клетъчната суспензия 2-3%
3. Разбъркайте добре съдържанието в продължение на 5 секунди, като използвате ротационна клатачка при 600–700 rpm (оборотна в минута).
4. Инкубирайте в продължение на 10–15 минути при стайна температура (18–25 °С) без разклащане.
5. Центрофугирайте в продължение на 10-20 секунди при 700 gcf или за подходящо време съобразно калибрирането на центрофугата.
6. Разклатете повторно микротитрационните плаки в продължение на 1–4 минути на ротационна клатачка при 600–700 rpm, или толкова дълго, колкото е необходимо за пълно ресуспендиране на клетките в кладенчетата с отрицателни реакции.

7. Оставете микротитрационната плака 1 минута в покой, за да може да се утаят и по-малките по размер аглутинати.
8. След това реакциите вече може да се отчетат или под микроскоп, или с помощта на автоматичен четец.

Интерпретиране

Положителна реакция (т.е. аглутиниране) указва наличие на съответния антиген. Отрицателна реакция (т.е. без видимо аглутиниране) указва отсъствие на съответния антиген. Кръвната група А, В или О се определя чрез реакционния модел, получен с предишните антисеруми (вижте таблицата на обратната страна). Ако реакционният модел не съответства на една от долупосочените 4 комбинации, трябва да се намери причината за противоречивите резултати, преди да бъде отнесена кръвна група А, В или О към въпросния пациент/донор.

Реакции на аглутиниране при рутинно определяне АВО

еритроцити + реагент за определяне на кръвната група			серум/плазма + реагентни еритроцити		
анти-А	анти-В	анти-А,В	клетки А1	клетки В	кръвна група (честота)
0	0	0	+	+	О (46,7%) ⁴⁾
+	0	+	0	+	А (41,7%) ⁴⁾
0	+	+	+	0	В (8,6%) ⁴⁾
+	+	+	0	0	АВ (3,0%) ⁴⁾

Ограничения

Неочаквани положителни резултати поради: полиаглутиниране, псевдоаглутиниране, автоаглутиниране, смесена полева реакция, наличие на слуз на Уортън едновременно с клетки от пъпна връв.

Неочаквано отрицателни или слабо проявени резултати поради: слаби антигени, смесена полева реакция, намалена активност на реагента. Антиген вариантни клетки могат да доведат до неочаквани положителни или отрицателни реакции с проби, които преди това са типизирани с реагенти за определяне на кръвната група от поликлонални или други моноклонални, извлечени от клетъчна линия, източници. Фалшиво положителни или фалшиво отрицателни резултати могат да възникнат при замърсяване на тестовите материали или отклонение от препоръчителната техника.

Източници

1. Widmann F.K. ed; AABB Technical Manual, 11th ed. 1993, Bethesda (MD).
2. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6th ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
3. Issit P.D.; Applied Blood Group Serology, 3rd ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985.
4. Daniels G.; Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd. 1995.
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service H.M.S.O. 2nd ed. 1993.
6. Reid M.E., et al. The Blood Group Antigen FactsBook, FactsBook Series, 3rd ed. 2012

Гарантира се ефективност на продуктите Sanquin като тази, описана в инструкциите за употреба на първоначалния производител. От съществено значение е строгото спазване на процедурите, тестовите постановки и препоръчителните реагенти и оборудване. Sanquin не поема никаква отговорност при отклонение от горепосоченото.