# 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 (IgM) monoclonal

REF K1255

IVD CE 0344

005_v04 07/2019 (ro)

*Doar pentru uz profesional*

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

**Informații generale**
Pelikloon Reactivii monoclonali anti-D (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 murini 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 antigenă/anticorpi. Reactivul poate fi utilizat fie pentru metoda în eprubetă pentru centrifugare fie pentru microplăci. Acest reactiv sa detecta toate antigenele D normale și majoritatea antigenelor D slabe, dar nu și varianta D categoria VI. 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 nedeschiși) nu vor fi utilizați după data de expirare, care este tipărită pe eticheta fiolei. $NaN_3$ 0,1% (masă raportată la unitatea de volum) este utilizat cu 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 aseptic, cu sau fără adăugarea de anticoagulante. 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.
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.

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.
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. Dacă este necesar, reacțiile pozitive slabe (2+ sau mai puțin) sau reacțiile negative vor fi verificate pentru prezența slabă sau parțială a anticorpilor D, folosind un reactiv anti-D Pelikloon corespunzător (K1151, K1157).

| Incidența | Caucazieni | 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.
Pelikloon reactivii monoclonali pentru stabilirea 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. Issit 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.*