

***Len na profesionalne použitie***

No. 002 010112

|                                          |                  |              |                |
|------------------------------------------|------------------|--------------|----------------|
| <b>Pelikloon anti-C (IgM) monoclonal</b> | <b>REF K1195</b> | <b>K1202</b> | <b>CE 0344</b> |
| <b>Pelikloon anti-c (IgM) monoclonal</b> | <b>REF K1196</b> | <b>K1203</b> | <b>CE 0344</b> |
| <b>Pelikloon anti-E (IgM) monoclonal</b> | <b>REF K1191</b> | <b>K1204</b> | <b>CE 0344</b> |
| <b>Pelikloon anti-e (IgM) monoclonal</b> | <b>REF K1197</b> | <b>K1205</b> | <b>CE 0344</b> |

Krvno skupinové diagnostika na detekciu Rhesus antigénov C, c, E alebo e na ľudských erytrocytoch

**Všeobecné informácie**

Krvno skupinové diagnostika Pelikloon anti-C, c, E a oboje e (IgM) monoklonálne (číslo klonu je uvedené na príslušnom analytickom certifikáte/prepúšťacom dokumente a na etikete) sa pripravujú zo supernatantov stabilných hybridomových línii prvýkrát popísaných Köhler a Milstein (Nature 1975). V ponuke sú dve rozličné línie Pelikloon diagnostík (odlišné zložením klónov), ktoré ak je to požadované, sú vhodné na confirmáciu výsledkov testovania získaných niektorou z línie diagnostík. Tieto monoklonálne diagnostika obsahujú IgM protilátky a boli špeciálne vybrané a vyvinuté tak, aby boli vhodnou alternatívou voči polyklonálnym diagnostikám. Diagnostika splňujú požiadavky daných štandardov a odporúčaní. Parametre diagnostík sú uvedené v prepúšťacích protokoloch, ktoré sú s produktom na vyžiadanie poskytnuté. Princípom testu je aglutinačná technika založená na reakcii antigén/protilátka. Diagnostika sa používajú ako v skúmvkovej metóde, tak aj na mikrotitračných doskách a sklíčkach. S každou sériou testu sa odporúča použiť pozitívnu a negatívnu kontrolu.

**Upozornenie**

Diagnostika sú určené výhradne na in vitro. Uskladňujú sa pri 2–8°C. Pretekajúce alebo inak poškodené fľaštičky sa nesmú použiť. Diagnostika (otvorené alebo neotvorené) sa nesmú používať po uplynutí času použiteľnosti vyznačeného na etikete.

Ako konzervačný prídavok sa používa 0,1 % (w/v) azid sodný.

Nie je možné celkom vylúčiť prítomnosť infekčného agens, venujte preto pozornosť pri manipulácii s každým obalom a obsahom.

Turbidita by mohla byť známkou mikrobiálnej kontaminácie. Na rozpoznanie poškodenia diagnostika sa odporúča ho testovať ako súčasť laboratórneho programu kvality s použitím príslušných kontrol. Odstránenie odpadu po testovaní sa vykonáva v súlade s predpismi daného laboratória.

**Odber a príprava vzoriek**

Vzorky krvi sa odoberajú asepticky s/bez pridania antikoagulantov. Pri neskoršom testovaní po odbere sa vzorky uskladňujú pri 2–8°C.

Príprava vzoriek je uvedená v postupe testu.

**Postup testu**

Skúmvková metóda

*Požadované skúmvky: sklenené s guľatým dnom, veľkosť 75 x 10/12 mm.*

1. Pripraví sa 3–5% suspenzie testovaných erytrocytov v izotonickom roztoku chloridu sodného alebo vo vlastnej plazme alebo sére.
2. Do testovacej skúmvky sa kvapne
  - 1 kvapka Pelikloon diagnostika
  - 1 kvapka 3–5% erytrocytovej suspenziea obsah sa dobre premieša.
3. Skúmvka sa centrifuguje 20 sekúnd pri 1000 rcf alebo po dobu iného vhodného času podľa kalibrácie centrifúgy.
4. Sediment sa jemne pretrepe a aglutinácia sa odčíta makroskopicky.
5. V prípade negatívneho alebo nejasného výsledku sa skúmvka inkubuje 15–20 min pri izbovej teplote (18–25°C) a postup sa opakuje podľa bodu 3.a 4.

## Mikrodoštičková metóda

*Požadované mikrodoštičky: polystyrénové s jamkami a guľatým dnom.*

1. Pripraví sa 2–3% suspenzia testovaných erytrocytov v izotonickom roztoku chloridu sódného alebo vo vlastnej plazme alebo sére.
2. Do jamky mikrodoštičky sa kvapne:
  - 1 kvapka Pelikloon diagnostika
  - 1 kvapka 2–3% suspenzie testovaných erytrocytov
3. Obsah sa premieša 5 sekúnd na rotačnej trepačke pri 600–700 ot./min.
4. Doštička sa inkubuje 10–15 min. pri izbovej teplote (18–25°C) bez miešania.
5. Potom sa centrifuguje 10–20 sekúnd pri 700 rcf alebo inej vhodnej dobe podľa kalibrácie centrifúgy.
6. Doštička sa pretrepe 1–4 min. na rotačnej trepačke pri 600–700 ot./min., alebo počas inej vhodnej doby tak, aby bola dosiahnutá resuspendácia krviniek v prípade negatívnych reakcií.
7. Potom sa doštička nechá v pokoji 1 min. aby sa zoskupili menšie aglutináty.
8. Reakciu je možné vyhodnotiť makroskopicky alebo pomocou automatického readeru.

## Sklíčková metóda

1. Na čisté a predhriaté sklíčko (37–45°C) sa na prehliadacom boxu kvapne 1 kvapka Pelikloon diagnostika.
2. Ďalej sa pridajú 2 kvapky 35–45% suspenzie testovaných erytrocytov v izotonickom roztoku chloridu sodného alebo v ich vlastnej plazme alebo sére.
3. Kvapky sa tyčinkou dobre premiešajú v kruhu s priemerom asi 20 mm.
4. Aglutinácia sa pozoruje pri kývavom pohybe sklíčkom do doby najviac 2 min.
5. Výsledok aglutinácie sa vyhodnocuje makroskopicky.

## **Hodnotenie**

Pozitívne reakcie (t.j. aglutinácie) indikujú prítomnosť príslušného antigénu na erytrocytoch. V prípade rozdielu medzi diagnostikami prvej a druhej línie kontaktujte distribútora firmy Sanquin.

Negatívne reakcie (t.j. bez viditeľnej aglutinácie) upozorňujú na neprítomnosť príslušného antigénu na erytrocytoch.

| <b>Výskyt</b> | <b>Kaukazská populácia</b> | <b>Černosi</b> |
|---------------|----------------------------|----------------|
| C antigén     | 68%                        | 27%            |
| c antigén     | 80%                        | 96%            |
| E antigén     | 29%                        | 22%            |
| e antigén     | 98%                        | 98%            |

## **Obmedzenia**

Neočakávané pozitívne výsledky by mohli byť zapríčinené: pseudoaglutináciou, autoaglutináciou, reakciou zmiešaného poľa, prítomnosťou Whartonovho rôsolu spoločne s pupočníkovými krvinkami.

Neočakávané negatívne alebo slabé reakcie by mohli byť zapríčinené: slabými antigénmi, reakciou zmiešaného poľa, zníženou aktivitou diagnostika.

Falošné pozitívne alebo negatívne výsledky sú zapríčinené aj kontamináciou testovaného materiálu alebo odchýlkou od odporúčanej techniky.

Erytrocyty s pozitívnym priamym antiglobulínovým testom (DAT) by mohli ukázať falošnú pozitivitu výsledku. Na detekciu takto neplatných výsledkov odporúčame použiť Pelikloon monoklonálnu kontrolu.

Pelikloon monoklonálna krvno skupinová diagnostika bola optimalizovaná na použitie odporúčanou technikou v tomto príbalovom letáku. Použitie v iných technikách musí byť overené užívateľom.

## **Refrencie**

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