

# Instructions for use



|  |   |                    |
|--|---|--------------------|
| Sanquin Reagents B.V.<br>Plesmanlaan 125<br>1066 CX Amsterdam<br>The Netherlands | Phone: +31 20 5123599<br>Fax: +31 20 5123570<br>Reagents@sanquin.nl<br>www.sanquin.org/reagents |                    |
| <b>Pelikloon anti-A (IgM) monoclonal</b>   | <b>REF K 1188</b>   | <b>IVD C€ 0344</b> |
| <b>Pelikloon anti-B (IgM) monoclonal</b>   | <b>REF K 1189</b>   | <b>IVD C€ 0344</b> |
| <b>Pelikloon anti-A,B (IgM) monoclonal</b>                                       | <b>REF K 1190</b>   | <b>IVD C€ 0344</b> |
| 001_v04 07/2019 (sk)   | Len na profesionalne použitie   |                    |

Krvno skupinové diagnostika na detekciu A a/alebo B antigénu na ľudských erythrocytoch.

## Všeobecné informácie

Diagnostika Pelikloon anti-A, anti-B a anti-A,B (IgM) monoklonálne (čísla klonov sú uvedené v príslušnom analytickom certifikáte/ prepúšťacom dokumente) sa pripravujú zo supernatantov stabilných hybridomových línií prvýkrát popísaných Köhler a Milstein (Nature 1975). Tieto monoklonálne diagnostika obsahujú myšie IgM protilátky a boli špeciálne vyvinuté tak, aby boli vhodnou alternatívou voči polyklonálnym diagnostikám. Diagnostika spĺňajú požiadavky príslušných štandardov a odporúčaní. Parametre diagnostík sú uvedené v prepúšťacích protokoloch, ktoré sú poskytnuté s produktom na vyžiadanie. Princípom testu je aglutinačná technika, ktorá je založená na reakcii antigén/protilátka. Diagnostika sa používajú v skúmkavkovej metóde alebo na mikrodoštičkách. Diagnostika sú tiež vhodné pri použití v automatizovaných testovacích systémoch, ktorých štandardizáciu a validáciu prevádza sám užívateľ. S každou sériou testov sa odporúča použiť pozitívnu a negatívnu kontrolu. Stanovenie krvnej skupiny ABO na erythrocytoch by malo byť doplnené testovaním prítomnosti anti-A a/alebo anti-B alloprotilátok v sére pacienta s použitím A1 a B diagnostických erythrocytov (viď príslušný príbalový leták).

## Upozornenie

Diagnostika sú určené len na použitie in vitro. Diagnostika sa uskladňujú pri 2–8°C. Pretekajúce alebo inak poškodené fľaštičky sa nesmú použiť. Diagnostika (neotvorené alebo otvorené) sa nesmú použiť po uplynutí času použiteľnosti uvedenom na etikete. Ako konzervačný prípravok sa používa 0,1% (w/v) azid sodný. Pre ľahké rozpoznanie sú diagnostika anti-A a anti-B zafarbené. V diagnostikách nie je celkom možné vylúčiť prítomnosť infekčného agens. Musí byť venovaná pozornosť pri manipulácii s každým obalom a obsahom. Turbidita by mohla byť známkou mikrobiálnej kontaminácie. Aby sa rozpoznalo poškodenie diagnostík, odporúča sa testovať diagnostikum ako súčasť laboratórneho programu kontroly kvality s použitím príslušných kontrol. Odstránenie odpadu po testovaní sa prevádza v súlade s postupmi daného laboratória.

## Odber a príprava vzoriek

Vzorky krvi sa odoberajú asepticky s alebo bez prídania antikoagulantov. Ak je testovanie vzorkov krvi odložené, uskladňujú sa pri 2–8°C.

Príprava vzoriek je uvedená v postupe testu.

## Postup testu

### Skúmkavková metóda

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

1. Pripraví sa 3–5% suspenzia testovaných erythrocytov v izotonickom roztoku chloridu sodného alebo vo vlastnej plazme alebo sére.
2. Do testovacej skúmkavky sa kvapne:
  - 1 kvapka Pelikloon diagnostika
  - 1 kvapka 3–5% erythrocytovej suspenzie a obsah sa dobre premieša.
3. Potom sa skúmkavka centrifúguje 20 sekúnd pri 1000 rcf alebo v inom vhodnom čase podľa kalibrácie centrifúgy.
4. Sediment sa jemne pretrepe a aglutinácia sa vyhodnocuje makroskopicky.

### Mikrodoštičková metóda

Požadované mikrodoštičky: polystyrénové mikrodoštičky s jamkami a guľatým dnom.

1. Pripraví sa 2–3% suspenzia testovaných erythrocytov v izotonickom roztoku chloridu sodného alebo vo vlastnej plazme alebo sére.
2. Do jamky mikrodoštičky sa kvapne:
  - 1 kvapka Pelikloon diagnostika
  - 1 kvapka 2–3% suspenzie testovaných erythrocytov.
3. Obsah sa premieša 5 sekúnd na rotačnej trepačke pri 600–700 ot./min.
4. Obsah sa inkubuje 10–15 min. pri izbovej teplote (18–25°C) bez miešania.
5. Potom sa centrifúguje 10–20 sekúnd pri 700 rcf alebo v inom vhodnom čase podľa kalibrácie centrifúgy.
6. Doštička sa pretrepe 1–4 min na rotačnej trepačke pri 600–700 ot./min. alebo v inom vhodnom čase tak, aby bolo dosiahnuté resuspendácie krvínek v prípade negatívnych reakcií.
7. Potom sa ponechá doštička na mieste po dobu 1 min., aby sa sedimentovali drobnejšie aglutináty.
8. Reakciu je možné vyhodnotiť makroskopicky, alebo pomocou automatického readru.

### Hodnotenie

Pozitívna reakcia ( t.j. aglutinácia) indikuje prítomnosť príslušného antigénu na erytrocytoch. Negatívna reakcia ( bez viditeľnej aglutinácie) indikuje neprítomnosť príslušného antigénu na erytrocytoch. Krvná skupina ABO sa stanovuje na základe charakteru reakcií, ktoré boli získané s rozličnými antiserami ( viz tab.) V prípade, že charakter reakcie nezodpovedá jednej zo 4 nižšie uvedených kombinácií, musí sa zistiť príčina odlišného výsledku pred tým, ako sa označí ABO krvná skupina príslušného pacienta/darcu.

Aglutinačné reakcie v rutinnom ABO typovaní.

| Erytrocyty +<br>Krvno skupinové diagnostikum |        |          | sérum/plazma +<br>diagnostické erytrocyty |              |                         |
|--|--------|----------|---|--------------|-------------------------|
| anti-A                                       | anti-B | anti-A,B | A <sub>1</sub> erytrocyty                 | B erytrocyty | krvná skupina           |
| 0  | 0      | 0        | +   | +            | O (46,7%) <sup>4)</sup> |
| +  | 0      | +        | 0   | +            | A (41,7%) <sup>4)</sup> |
| 0  | +      | +        | +   | 0            | B (8,6%) <sup>4)</sup>  |
| +  | +      | +        | 0   | 0            | AB (3,0%) <sup>4)</sup> |

### Obmedzenia

Neočakávane pozitívne výsledky by mohli byť zapríčinené: polyaglutináciou, pseudoaglutináciou, zmiešaným reakčným poľom, prítomnosťou Whartonovho rôsolu spoločne s pupočníkovými krvinkami.

Neočakávane negatívne alebo slabo pozitívne reakcie by mohli byť zapríčinené slabými antigénmi, zmiešaným reakčným poľom, zníženou aktivitou diagnostika.

Bunky s variantom antigénu môžu vytvárať neočakávané pozitívne alebo negatívne reakcie so vzorkami, ktoré boli predtým natypované krvnoscupinovými diagnostikami polyklonálnych alebo iných monoklonálnych zdrojov odvodených od bunkovej línie.

Falošne pozitívne alebo falošne negatívne výsledky môžu byť zapríčinené kontamináciou testovaného materiálu alebo akoukoľvek odchýlkou od odporúčaného postupu.

### Referencie

1. Widmann F.K. ed.: AABB Technical Manual, 11<sup>th</sup> ed.1993, Bethesda (MD).
2. Race R.R. and Sanger R.: Blood Groups in Man, 6<sup>th</sup> ed. Oxford Blackwell Scientific Publ. 1975.
3. Issit P.D.: Applied Blood Group Serology, 3<sup>th</sup> 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. 2<sup>nd</sup> ed. 1993.
6. Reid M.E., et al. The Blood Group Antigen FactsBook, FactsBook Series, 3<sup>rd</sup> ed. 2012

*Sanquin zaručuje, že funkčné charakteristiky jej výrobkov zodpovedajú popisu v pôvodnom návode na použitie od výrobcu. Je nevyhnutné presne dodržiavať postupy, rozvrhnutie testov a odporúčania ohľadom činidiel a vybavenia. Nadácia Sanquin sa zrieka akejkoľvek zodpovednosti v prípade akýchkoľvek odchýlok od týchto postupov, rozvrhnutí a odporúčaní.*