

# 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 K1157

IVD CE 0344

006\_v02 01/2017 (sk)

Len na profesionalne použitie

Krvno skupinové diagnostikum na detekciu D antigénu na ľudských erytrocytoch

## Všeobecné informácie

Krvno skupinové diagnostikum Pelikloon anti-D mix (IgG/IgM) monoclonal (čísla klonov sú uvedené na príslušnom analytickom certifikáte/prepúšťacom dokumente a na etikete) sa pripravuje zo supernatantov stabilných hybridómových línií, prvýkrát popísaných Köhler a Milstein (Nature 1975). Toto monoklonálne diagnostikum obsahuje IgG/IgM protilátky a bolo vyvinuté tak, aby bolo vhodnou alternatívou voči polyklonálnym diagnostikám. Diagnostikum spĺňa požiadavky príslušných štandardov a odporúčaní. Parametre sú uvedené v prepúšťacích dokumentoch, ktoré sú s produktom poskytnuté na vyžiadanie.

Princípom testu je aglutinačná technika založená na reakcii antigén/protilátka. Diagnostikum sa používa v skúmvkovej metóde, na mikrodoštičkách i na sklíčkach. Detekuje všetky normálne D a väčšinu slabých D antigénov.

D variantu kategórie VI detekuje iba v skúmvkovom teste po pridaní polyšpecifického antiglobulínového séra (AGH). Citlivosť sklíčkovej metódy je slabšia ako v skúmvkovej alebo mikrodoštičkovej metóde. Preto pri použití sklíčkovej metódy sa niektoré slabé D vzorky nedetekujú ako D pozitívne, avšak v skúmvkovej alebo mikrodoštičkovej metóde sú pozitívne.

S každou sériou testov sa odporúča použiť pozitívnu aj negatívnu kontrolu.

## Bezpečnostné opatrenia

Diagnostikum je určené len na in vitro. Uskladňuje sa pri 2-8 °C. Pretekajúce alebo inak poškodené fľaštičky sa nesmú používať. Diagnostikum ( neotvorené alebo otvorené) sa nesmie používať po uplynutí času použiteľnosti vyznačeného na etikete. Ako konzervačná látka sa používa 0,1% (w/v) azid sodný.

V diagnostiku nie je celkom možné vylúčiť prítomnosť infekčného agens. Venujte pozornosť pri manipulácii s každým obalom a jeho obsahom. Turbidita by mohla byť známkou mikrobiálnej kontaminácie. Aby sa rozpoznalo poškodenie diagnostika, odporúča sa ho testovať ako súčasť laboratórneho programu kontroly kvality a použitím príslušných kontrol. Odstránenie odpadu po testovaní prevádza laboratórium v súlade s vlastnými postupmi.

## Odoberanie a príprava vzoriek

Vzorky krvi sa odoberajú asepticky s alebo bez pridaní antikoagulantov. Ak je testovanie opozdené, vzorky sa uskladňujú pri 2-8 °C. Príprava vzoriek je uvedená v postupe testu

## Postup pri testovaní

### Skúmvková metóda:

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

1. Pripraví sa 3-5% suspenzia testovaných erytrocytov v izotonickom roztoku NaCl alebo vlastnej plazme alebo sére.
2. Do testovacej skúmvky sa pridá
  - 1 kvapka Pelikloon diagnostika
  - 1 kvapka 3-5% erytrocytovej suspenziea obsah skúmvky sa dobre premieša
3. Skúmvka sa centrifúguje 20 sekúnd pri 1000 rcf alebo počas iného vhodného času podľa kalibrácie centrifúgy.
4. Sediment sa jemne pretrepe a aglutinácia sa vyhodnotí makroskopicky

Pokiaľ nie je viditeľná žiadna aglutinácia, pokračuje sa následovne:

5. Obsah skúmvky sa dobre premieša a tá sa inkubuje vo vodnom kúpeli 15-20 min. pri 37 °C.
6. Krvinky sa 1x premyjú v nadbytku izotonického roztoku NaCl. Premývacia tekutina sa dostatočne odstráni.  
(Jedno premytie je dostatočné, nie je tu nevýhoda nutného 3-4 násobného premytia ako v konvenčných testoch).
7. Do skúmvky sa pridajú 2 kvapky polyšpecifického antiglobulínového séra (AGH) a obsah sa dobre premieša.
8. Potom sa skúmvka centrifúguje 20 sekúnd pri 1000 rcf alebo v inej vhodnej dobe podľa kalibrácie centrifúgy.
9. Sediment sa jemne pretrepe a aglutinácia sa vyhodnotí makroskopicky.
10. V prípade že nie je viditeľná aglutinácia, pridá sa do každej skúmvky 1 kvapka Coombs kontrolných erytrocytov a postup sa opakuje podľa bodov 8. a 9. Reakcia by mala byť pozitívna. Ak je naďalej negatívna, test je neplatný a musí sa opakovať.

### Mikrodoštičková metóda

Požadované mikrodoštičky: polystyrénové s jamkami a guľatým dnom.

1. Pripraví sa 2-3% suspenzia testovaných erytrocytov v izotonickom roztoku NaCl alebo vlastnej plazme alebo sére.
2. Do jamky 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 centrifúguje 10-20 sekúnd pri 700 rcf alebo počas inej vhodnej doby podľa kalibrácie centrifúgy.
6. Doštička sa pretrepe 1-4 min. na rotačnej trepačke 600-700 ot./min. alebo počas inej vhodnej doby tak aby sa dosiahlo resuspendácie k rviniek v prípade negatívnych reakcií.
7. Potom sa doštička ponechá v kľude 1 min. aby sa zhlukli malé aglutináty.
8. Reakcia sa vyhodnocuje makroskopicky alebo v automatickom ready.

#### Sklíčková metóda

1. Na predhriaté a čisté podložné sklíčko (37-45 °C) na prehliadacom boxe sa pridá 1 kvapka Pelikloon diagnostika.
2. Ďalej sa pridajú 2 kvapky 35-45% suspenzie testovaných erytrocytov v izotonickom roztoku NaCl vo vlastnej plazme alebo sére.
3. Kvapky sa dobre premiešajú tyčinkou v kruhu s priemerom asi 20 mm.
4. Aglutinácia sa vyhodnocuje pri kývavom pohybe sklíčkom nie dlhšie ako 2 min.
5. Výsledok aglutinácie sa vyhodnotí makroskopicky.

#### Interpretácia

Pozitívne reakcie (aglutinácie) indikujú prítomnosť Rh D antigénu na erytrocytoch. Pozitívna reakcia, keď je slabá alebo negatívna pri iných technikách, indikuje prítomnosť slabého alebo čiastočného D antigénu a odporúča sa ďalšie skúmanie za účelom objasnenia stavu Rh D. Negatívne (bez aglutinácie) indikujú neprítomnosť Rh D antigénu na erytrocytoch.

#### Výskyt

D antigén

#### Kaukazská populácia

85%

#### Černosi

92%

#### Obmedzenie

Neočakávane pozitívne výsledky by mohli byť zapríčinené: pseudoaglutináciou, autoaglutináciou, zmiešaným reakčným poľom, zníženou aktivitou diagnostika, prítomnosťou Whartonovho rôsolu s pupočníkovými krvinkami.

Neočakávane negatívne výsledky alebo slabé reakcie by mohli byť zapríčinené: slabými antigénmi, zmiešaným reakčným poľom, zníženou aktivitou diagnostika.

Falošne pozitívne alebo negatívne výsledky by mohli byť zapríčinené kontamináciou testovaného materiálu alebo odchýlkou od odporúčanej techniky.

Erytrocyty s pozitívnym priamym antiglobulíновým testom (DAT) by mohli vykazovať falošne pozitívne výsledky. Odporúča sa použiť Pelikloon monoklonálnu kontrolu na detekciu takto neplatných výsledkov testov.

Nedostatočné premytie testovaných erytrocytov zapríčiňuje negatívne výsledky pre neutralizáciu polyšpecifického (AGH) séra IgG proteínmi stále prítomných v skúmavke.

Pelikloon monoklonálne krvno skupinové diagnostikum bolo optimalizované pre použitie techniky odporúčanej v tomto príbalovom letáku. Použitie v iných technikách musí byť overené užívateľom.

#### Referencie

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>rd</sup> ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985.
3. Daniels G.: Human Blood Groups. 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.

*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.*