

# 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	
<b>Pelikloon anti-C (IgM) monoclonal</b>	<b>REF K1195 K1202</b>	<b>IVD CE 0344</b>
<b>Pelikloon anti-c (IgM) monoclonal</b>	<b>REF K1196 K1203</b>	<b>IVD CE 0344</b>
<b>Pelikloon anti-E (IgM) monoclonal</b>	<b>REF K1191 K1204</b>	<b>IVD CE 0344</b>
<b>Pelikloon anti-e (IgM) monoclonal</b>	<b>REF K1197 K1205</b>	<b>IVD CE 0344</b>
002_v04 07/2019 (cs)		Pouze pro profesionální použití

Krevně skupinová diagnostika pro detekci Rhesus antigenů C, c, E nebo e na lidských červených krvinkách

## Všeobecné informace

Krevně skupinová diagnostika Pelikloon anti-C, c, E a obě e (IgM) monoklonální (číslo klonu je uvedeno na příslušném analytickém certifikátu/propouštěcím dokumentu a na etiketě) se připravují ze supernatantů stabilních hybridomových linií poprvé popsanych Köhler a Milstein (Nature 1975). V nabídce jsou dvě odlišné linie Pelikloon diagnostik (odlišné složením klonů), které je-li to požadováno, mohou být použity pro konfirmaci výsledků testování získaných tou či onou linií diagnostik.

Tato monoklonální diagnostika obsahují IgM protilátky a byla speciálně vybrána a vyvinuta tak, aby byla vhodnou alternativou k polyklonálním diagnostikům. Diagnostika splňují požadavky příslušných standardů a doporučení. Parametry diagnostik jsou uvedeny v propouštěcích dokumentech, které jsou poskytnuty s produktem na vyžádání. Principem testu je aglutinační technika, která je založena na reakci antigen/protilátka. Diagnostika se používají ve zkumavkové metodě nebo na mikrotitračních destičkách. S každou sérií testů se doporučuje se použít pozitivní a negativní kontrolu.

## Upozornění

Diagnostika jsou určena pouze pro použití in vitro. Diagnostika se skladují při 2–8°C. Tekoucí nebo jinak poškozené lahvičky se nesmí použít. Diagnostika (neotevřená nebo otevřená) se nesmí používat po uplynutí expirační doby, která je uvedena na etiketě lahvičky. Jako konzervační přípravek se používá 0,1% (w/v) azid sodný.

U diagnostik nelze zcela vyloučit přítomnost infekčního agens. Pozornost musí být věnována při užití a nakládání s každým obalem a jeho obsahem. Turbidita může být známkou mikrobiální kontaminace. Aby se rozpoznalo poškození diagnostika, doporučuje se testovat diagnostikum jako součást laboratorního programu kontroly kvality s použitím příslušných kontrol. Odstranění odpadu po provedeném testování se provádí v souladu s postupy dané laboratoře.

## Odběr a příprava vzorků

Vzorky krve se odebírají asepticky s nebo bez přidání antikoagulantů. Jestliže je testování vzorků krve odloženo, uchovávají se při 2–8°C.

Příprava vzorků je popsána v postupu testu.

## Postup testu

### Zkumavková metoda

Požadované zkumavky: skleněné zkumavky s kulatým dnem; velikost 75 x 10/12 mm.

1. Připraví se 3–5% suspenze testovaných erytrocytů v izotonickém roztoku chloridu sodného nebo ve vlastní plazmě nebo séru.
2. Do testovací zkumavky se nakape:
  - 1 kapka Pelikloon diagnostika
  - 1 kapka 3–5% erytrocytární suspenzea obsah se dobře promíchá.
3. Zkumavka se centrifuguje 20 sekund při 1000 rcf nebo při jiném vhodném čase dle kalibrace centrifugy.
4. Sediment se jemně protřepe a aglutinace se odečte makroskopicky.
5. V případě negativního nebo nejasného výsledku se zkumavka inkubuje 15–20 minut při pokojové teplotě (18–25°C) a postup se opakuje podle bodů 3 a 4.

### Mikrodestičková metoda

Požadované mikrodestičky: polystyrenové mikrodestičky s jamkami s kulatým dnem.

1. Připraví se 2–3% suspenze testovaných erytrocytů v zotonickém roztoku chloridu sodného nebo ve vlastní plazmě nebo séru.
2. Do jamky mikrodestičky se kápne:
  - 1 kapka Pelikloon diagnostika
  - 1 kapka 2–3% suspenze testovaných erytrocytů.
3. Obsah se promíchá 5 sekund na rotační třepačce při 600–700 ot./min.
4. Destička se inkubuje 10–15 minut při pokojové teplotě (18–25°C) bez míchání.
5. Poté se centrifuguje 10–20 sekund při 700 rcf nebo při jiném vhodném čase dle kalibrace centrifugy.
6. Destička se protřepe 1–4 minuty na rotační třepačce při 600–700 ot./min. nebo při jiném vhodném čase tak, aby bylo dosaženo resuspendace krviček v případě negativních reakcí.
7. Poté se destička ponechá v klidu po dobu 1 minuty, aby se shlukly menší aglutináty.
8. Reakce se může odečítat jak makroskopicky, tak pomocí automatického readru.

## Hodnocení

Pozitivní reakce (tj. aglutinace) indikuje přítomnost příslušného antigenu na erythrocytech. V případě rozdílu mezi diagnostiky první a druhé linie, kontaktujte distributora firmy Sanquin.

Negativní reakce (tj. bez viditelné aglutinace) ukazuje na chybění příslušného antigenu na erythrocytech.

Výskyt	Kavkazská populace	Negroidní populace
C antigen	68%	27%
c antigen	80%	96%
E antigen	29%	22%
e antigen	98%	98%

## Omezení

Neočekávané pozitivní výsledky mohou být způsobeny: pseudoaglutinací, autoaglutinací, smíšeným reakčním polem, přítomností Whartonova rosolu společně s pupečníkovými krvinkami.

Neočekávané negativní nebo slabé reakce mohou být způsobeny: slabými antigeny, smíšeným reakčním polem, sníženou aktivitou diagnostika.

Krvinky s variantami antigenů mohou vést k neočekávaným pozitivním či negativním reakcím se vzorky již určenými pomocí diagnostik pro stanovení krevních skupin z polyklonálních nebo jiných monoklonálních zdrojů odvozených z buněčných linií.

Falešně pozitivní nebo falešně negativní výsledky mohou být způsobeny kontaminací testovaného materiálu, nebo odchylkou od doporučené techniky.

Erythrocyty s pozitivním přímým antiglobulinovým testem (DAT) mohou vykazovat falešně pozitivní výsledky. Doporučuje se použít Pelikloon monoklonální kontrolu pro detekci takto neplatných výsledků testů.

Pelikloon monoklonální krevně skupinová diagnostika byla optimalizována pro použití technikou doporučenou v tomto příbalovém letáku. Použití v iných technikách musí být ověřeno uživatelem.

## Reference

1. Race R.R. and Sanger R; Blood Groups in Man, 6<sup>th</sup> ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 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. et al.; The Blood Group Antigen Facts Book. Facts Book Series, 3<sup>rd</sup> ed. 2012.
5. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion In Clinical Medicine, 9<sup>th</sup> ed. Blackwell, Oxford, 1993.

*Sanquin zaručuje, že funkční charakteristiky jejích produktů budou takové, jaké jsou popsány v původních návodech k použití od výrobce. Je nezbytné přesně dodržovat postupy, rozvržení testů a doporučení k činidlům a vybavení. Nadace Sanquin se zříká veškeré zodpovědnosti v případě jakýchkoli odchylek od těchto postupů, rozvržení a doporučení.*