

No. 001 010112

<b>Pelikloon anti-A (IgM) monoclonal</b>	<b>REF</b>	<b>K1188</b>	<b>€ 0344</b>
<b>Pelikloon anti-B (IgM) monoclonal</b>	<b>REF</b>	<b>K1189</b>	<b>€ 0344</b>
<b>Pelikloon anti-A,B (IgM) monoclonal</b>	<b>REF</b>	<b>K1190</b>	<b>€ 0344</b>

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

#### **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 ako v skúmavkovej metóde, tak na mikrodštičkách a na sklíčkach. 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 erytrocytoch by malo byť doplnené testovaním prítomnosti anti-A a/alebo anti-B alloprotilátok v sére pacienta s použitím A1 a B diagnostických erytrocytov (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 pridania antikoagulantov. Ak je testovanie vzorkov krvi odložené, uskladňujú sa pri 2–8°C.

Príprava vzoriek je uvedená v postupe testu.

#### **Postup testu**

##### Skúmavková metóda

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

1. Pripraví sa 3–5% suspenzia testovaných erytrocytov v izotonickom roztoku chloridu sodného alebo vo vlastnej plazme alebo sére.
2. Do testovacej skúmavky sa kvapne:
  - 1 kvapka Pelikloon diagnostika
  - 1 kvapka 3–5% erytrocytovej suspenziea obsah sa dobre premieša.
3. Potom sa skúmavka 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 600–700ot./min. alebo v inom vhodnom čase tak, aby bolo dosiahnuté resuspendácie krviniek 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.

### Skľíčková metóda

1. Na čisté podložné skľíčko sa kvapne 1 kvapka Pelikloon diagnostika.
2. Ďalej sa pridá 1 kvapka 35–45% suspenzie testovaných erythrocytov v izotonickom roztoku chloridu sodného alebo vo vlastnej plazme alebo v sére.
3. Kvapky sa dobre premiešajú tyčinkou v kruhu s priemerom asi 20 mm.
4. Aglutinácia sa pozoruje pri kývavom pohybe skľíčka počas doby najviac do 2 min.
5. Výsledok aglutinácie sa vyhodnocuje makroskopicky.

### **Hodnotenie**

Pozitívna reakcia ( t.j. aglutinácia) indikuje prítomnosť príslušného antigénu na erythrocytoch. Negatívna reakcia ( bez viditeľnej aglutinácie) indikuje neprítomnosť príslušného antigénu na erythrocytoch. Krvná skupina ABO sa stanovuje na základe charakteru reakcií, ktoré boli získané s rozličnými antisérami ( 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.

Erythrocyty + Krvno skupinové diagnostikum			sérum/plazma + diagnostické erythrocyty		
anti-A	anti-B	anti-A,B	A <sub>1</sub> erythrocyty	B erythrocyty	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.

### **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.