

|                      | COD   | CLONE             |
|----------------------|-------|-------------------|
| <b>PHENOKIT</b>      | 74911 |                   |
| <b>ANTI-C (RH2)</b>  | 74221 | P3X25513G8 + MS24 |
| <b>ANTI-E (RH3)</b>  | 74311 | 906               |
| <b>ANTI-c (RH4)</b>  | 74011 | 951               |
| <b>ANTI-e (RH5)</b>  | 74611 | P3GD512 + MS63    |
| <b>ANTI-K (KEL1)</b> | 74711 | MS56              |

## INTRODUCERE

Acesti reactivi sunt dispozitive medicale pentru diagnostic in vitro (IVDMD) pentru uz profesional. Acestia sunt conceputi pentru analize de probe biologice umane. Sunt utilizati pentru fenotipare RH-K de celule rosii din sange uman. Ele fac posibila determinarea prezentei antigenelor C (RH2), E (RH3), C (RH4), E (RH5) si K (KEL1) de pe suprafata celulelor rosii din sange.

## PRINCIPIU

Tehnica manuala folosita, pe placa sau in tub, utilizeaza principiul hemaglutinarii. Celule rosii din sangele pentru test care contine un aglutinat antigen, in prezenta reactivului care contine anticorpi corespunzatori.

## COMPOZITIE

Acesti reactivi sunt pregatiti de DIAGAST din anticorpi monoclonali anti-eritrocit Intr-un mediu de conservare. Anticorpii monoclonali de tip IgM sunt derivati din supernatantii de culturi in vitro de hibridoame de origine umana. Toti reactivii contin azitat de sodiu (<0,1%), reactivii ANTI-C (RH2), ANTI-c (RH4) si ANTI-e (RH5) contin arsenit de sodiu (0,02%).

Toti reactivii, cu exceptia ANTI-K (KEL1) contin albumina bovina. ANTI-K (KEL1) contine ser fetal de vitel.

Acesti reactivi sunt ambalati in cutii de 4 sticle de 5 ml, prevazute cu pipeta calibrata.

PHENOKIT este format din 1 flacon de anti-C (RH2), 1 flacon de anti-E (RH3), 1 flacon de anti-C (RH4), 1 flacon de ANTI-e (RH5) si 1 flacon de anti- K (KEL1).

## PRECAUTII

Este recomandat sa purtati manusi si ochelari de protectie, iar manuirea probelor de origine umana sa fie facuta cu prudenta. Toate substraturile care au venit in contact cu probele trebuie sa fie tratate ca produse potential infectioase. Masuri speciale de protectie, conditii pentru eliminarea reziduurilor si dezinfectie ar trebui sa fie implementate in conformitate cu reglementarile locale. Nu folositi reactivi deteriorati sau ce prezinta scurgeri.

## DEPOZITARE

Reactivii trebuie sa fie depozitati la o temperatura intre +2 °C si +8 °C. Performanta lor este garantata in metoda recomandata de la prima utilizare la data expirarii indicata pe eticheta. Nu trebuie utilizat dupa aceasta data. Este recomandabil reducerea timpului in afara frigiderului si sa evitati sa-l lasati la temperatura camerei intre doua utilizari.

## REACTIVI SI MATERIALE NECESARE

- Solutie salina izotonica (0,9% NaCl).
- Epubrete, 10 sau 12 x 75 mm, stativ eprubete.
- Agitator.
- Placa opala.
- Pipete automate reglabile de precizie.
- Centrifuga cu o forta relativa de 100-1200 g.
- Probe de sange de control de fenotipuri cunoscute, cum ar fi HEMA CQI (DIAGAST ref.: a se vedea catalogul).
- Control negativ: NEG CONTROL (DIAGAST ref.: a se vedea catalogul).

## PROBE – CONTROL

### Probele de sange care urmeaza sa fie testate

Sange colectat in anticoagulant: EDTA, heparina sau citrat intr-un tub steril cu dop, depozitat intre 2 si 8°C, trebuie sa fie examinat in termen de 48 de ore, in masura in care nici un semn de hemoliza este vizibil.

La momentul testului, se centrifugheaza proba de sange la 1200 g timp de 3 minute.

### Probele de sange cu fenotipuri cunoscute: HEMA CQI

Utilizarea acestor probe sau HEMA CQI permite detectarea de anomalii (manipulare, reactivi, aparate si mediu) si implementarea actiunilor corective.

Sistemul de analiza trebuie sa fie validat prin utilizarea de probe cu fenotipuri cunoscute:

- o proba care poseda antigenul corespunzator anticorpilor in reactivul folosit,
- o proba lipsita de antigenul corespunzator anticorpilor in reactivul folosit.

Pentru fiecare proba, un reactiv de control se testeaza in aceleasi conditii, prin inlocuirea reactivului cu NEG CONTROL.

## PROCEDURA

### Tehnica pe placa la temperatura camerei (+18 ... +25° C)

- Pe o placa curata riguros, folosind pipeta flaconului, se aplica o picatura de reactiv.
- Se iau 25 µL de celule nespalate si se aplica alaturi de fiecare picatura de reactiv, avand grija sa nu creeze contact intre picaturi.
- Se amesteca sangele si reactivul folosind o miscare de spirala, cu sfarsitul agitatorului, astfel incat sa creeze un cerc regulat cu diametrul de 2 - 3 cm.
- Se incubeaza placa la temperatura camerei si fara agitare timp de 30 de secunde.
- Tineti placa si efectuati miscare de rotire timp de 3 minute, urmarind aparitia eventuala a aglutinarii.
- Nota: aglutinarea observata cu anti-K (KEL1) poate fi mai slaba in comparatie cu alti reactivi. Este foarte important sa se roteasca placa foarte lent.
- Cititi reactia imediat.

### Metoda directa in eprubeta, la temperatura camerei

- Se prepara o suspensie de 5% de celule rosii din sange in solutie salina izotona.
- Folosind picuratorul, transferati o picatura de reactiv intr-o eprubeta.
- Se adauga 50 µL de suspensie de celule rosii din sange.
- Se agita amestecul pentru omogenizare, apoi se centrifugheaza la 500 g timp de 1 minut.
- Agitati usor eprubeta, astfel incat sa separati granulele de celule rosii in timp observati macroscopic aparitia aglutinarii.
- Cititi reactia imediat.

## INTERPRETARE

Daca exista aglutinare (celulele rosii din sange sub forma a unul sau mai multe aglomerate), reactia este pozitiva si antigenul corespunzator reactivului folosit este prezent pe celulele rosii din sangele testat.

Daca nu exista aglutinare (celulele rosii din sange reiau forma unei suspensii omogene), reactia este negativa, iar antigenul nu este prezent pe celulele rosii din sange.

Reactia este doar interpretabila in cazul in care:

- controlul reactivului folosind NEG CONTROL este negativ,
- sistemul analitic este validat prin utilizarea de esantioane cu fenotipuri cunoscute.

## LIMITARI ALE METODEI

Numai personal calificat ar trebui sa utilizeze reactivul.

Este imperios necesar de a utiliza pipeta calibrata prevazuta in flaconul IVDMD pentru dispersia unei picaturi de reactiv.

Rezultatele trebuiesc citite imediat dupa centrifugare si resuspendare.

Este imperios necesar sa lucreze cu echipament curat si produse necontaminate (contaminare bacteriana sau de alta natura).

Urmatoarele puncte trebuie sa fie respectate:

- conditiile de depozitare si data expirarii,
- procedura,
- standardizare a echipamentului recomandat.

In anumite cazuri, o imagine de populatie dubla poate fi observata la subiectii transfuzati.

O reactie fals pozitiva poate aparea in cazul in care subiectul testat are aglutin rece.

## PERFORMANCE DATA

În tehnicile recomandate, acești reactivi sunt conformi cu specificațiile tehnice comune ale IVDMD. O evaluare de performanță a fost efectuată pe un grup de 500 - 1400 de probe ce fenotipurile Rhesus cunoscute (donatori de sange, pacienții și nou-născuți). Probele au fost colectate folosind fiecare din anticoagulanțele recomandate (EDTA, heparina, și citrat). Evaluarea a demonstrat specificitatea 100% pentru fiecare dintre reactivi față de rezultatele așteptate.

Testele efectuate pe fenotipuri speciale, deși satisfăcătoare; nu permit ca recunoașterea tuturor probelor slabe sau variate să fie garantată, din cauza variabilității motive antigenice.

## BIBLIOGRAFIE

- MANNESSIER L., HORBEZ C., BROLY H.  
Caractérisation et validation d'un anticorps monoclonal humain anti-C.  
Rev. Fr. Transfus. Hémobiol., 1991, 34, 403-408.



**DIAGAST** BP 9 - 59374 LOOS CEDEX – FRANCE



[www.diagast.com](http://www.diagast.com)  
key-code : DIA00206

Data revizuire: 2013, Februarie

|                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                        |
|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
|                                       | Pour obtenir les notices dans la langue de votre choix :<br>For Instructions For Use in your language :<br>Para las instrucciones de uso en su idioma :<br>Para Instruções de Uso na sua língua :<br>Per le istruzioni di uso nella sua lingua :<br>Für Gebrauchsanleitungen in Ihrer Sprache :<br>För bruksanvisningar på ditt eget språk :<br>For brugsanvisninger på dit sprog : |                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                        |
| <b>http://</b>                        | <a href="http://www.diagast.com">www.diagast.com</a>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                        |
| <br><b>For<br/>European<br/>Union</b> | <br>Free                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | België - Belgique - България - Česká Republika -<br>Danmark - Deutschland - Eesti - España - France -<br>Ireland - Italia - Kypros - Latvija - Luxembourg -<br>Magyarország - Nederland - Norge - Österreich -<br>Polska - Portugal - Schweiz - Suisse - Suomi -<br>Slovenija - Sverige - United Kingdom | +800 135 79 135        |
|                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Ελλάδα                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 00800 161 2205<br>7799 |
|                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Ísland                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 800 8996               |
|                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Lietuva                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 8800 30728             |
|                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | România                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 0800 895 084           |
|                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Slovensko                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 0800 606 287           |
|                                       | <br>Not<br>free                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Liechtenstein                                                                                                                                                                                                                                                                                            | +31 20 796 5692        |
|                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Malta                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | +31 20 796 5693        |