

 CE-Immundiagnostika GmbH Karl-Landsteiner-Str. 6, D-69151 Neckargemünd Tel: Tel.: +49 6223-80094 00 Fax: +49 6223-80094 99 www.ce-immundiagnostika.com		
Návod k použití		
Rev. 002/09-2021		
Popis	REF	
Lektin anti-A ₁ 5 ml	30405	
Lektin anti-A ₁ 10 ml	30410	

ZDRAVOTNICKÝ PROSTŘEDEK - IN VITRO DIAGNOSTIKUM

SHRNUTÍ

Antigen A₁ je podskupinou antigenu A který byl objeven v roce 1910. Rozdělení na podskupiny A₁ a A₂ znamená, že nejsou detekovatelné pouze čtyři fenotypy, a to A, B, AB a 0, avšak šest: A₁, A₂, B, A₁B, A₂B a 0. Podskupina A₁ se vyskytuje častěji než A₂.

Rozdělení krevních skupin

Fenotyp	Genotyp	Frekvence fenotypů v %
0	00	40,78
A ₁	A ₁ A ₁ A ₁ 0 A ₁ A ₂	36,04
A ₂	A ₂ A ₂ A ₂ 0	10,13
B	BB B0	9,22
A ₁ B	A ₁ B	2,99
A ₂ B	A ₂ B	0,84

Tabulka 1: Frekvence antigenů

POUŽITÍ

Uvedené zkušební metody jsou založeny na principu přímé hemaglutinace. Po přidání erytrocytů k lektinu anti-A₁ dojde ke specifické aglutinační reakci, pokud je na erytrocytech přítomen odpovídající antigen A₁. Pokud k aglutinaci nedojde, znamená to negativní výsledek a s ohledem na případné omezení testovací metody to svědčí o nepřítomnosti příslušného antigenu.

INFORMACE O PRODUKTU

Lektin anti-A₁ je stabilní rostlinný hemaglutinin (fytohemaglutinin) purifikovaný z rostliny Dolichos biflorus pro specifickou detekci antigenu A₁ na erytrocytech v aglutinační reakci. Lektin se váže na N-acetyl-D-galaktosaminové skupiny receptoru krevní podskupiny A₁. Velmi slabé reakce mohou nastat s erytrocyty A₂.

Tento výrobek se používá bez dalšího ředění / přísad.

Číslo šarže a datum použitelnosti jsou uvedeny na štítku lahvičky.

SKLADOVÁNÍ

Testovací reagentie skladujte při teplotě 2 °C až 8 °C do data použitelnosti uvedeného na štítku výrobku. Po prvním otevření přípravku jej opět těsně uzavřete a skladujte při teplotě 2°C-8°C.

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ

Vzorky krve pro stanovení krevní skupiny AB0 by měly být odebírány asepticky do zkumavek s EDTA nebo citrátem sodným. Vzorek by měl být testován co nejdříve po odběru. Pokud dojde ke zpoždění testování, uchovávejte vzorek při teplotě 2 °C až 8 °C. Vzorky vykazující hemolýzu nebo mikrobiální kontaminaci by neměly být touto reagentií testovány, protože to může vést k falešně pozitivním nebo falešně negativním výsledkům.

Všechny vzorky krve by měly být před testováním ve zkumavce, na spotové destičce nebo mikrodestičce dvakrát promyty 0,9% roztokem NaCl. Při použití skličkové metody připravte 35-45% suspenzi

testovaných erytrocytů (plnou krev); při použití techniky na spotové destičce použijte buď plnou krev, nebo připravte 10% suspenzi testovaných erytrocytů v 0,9% roztoku NaCl.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Reagentie jsou určeny pouze pro diagnostické použití in vitro.
2. Reagentie mohou používat pouze autorizovaný odborný personál.
3. Testovací séra nejsou určena pro osobní použití.
4. Po uplynutí doby použitelnosti se testovací séra již nesmí používat.
5. Poškozené lahvičky se nesmí používat
6. Testovací séra obsahují <0,1 % azidu sodného. Ve vysokých koncentracích může azid sodný reagovat s olovem a mědí za vzniku výbušné sloučeniny azidu.
7. Při používání výrobků používejte ochranný oděv, například plášť a jednorázové rukavice.
8. Testovaná séra byla filtrována přes 0,2 µm membránu, aby se snížila možnost bakteriální kontaminace.
9. Po otevření by měl být obsah spotřebován do data spotřeby. Pokud se po otevření obsah zakalí nebo znečistí, je třeba jej zlikvidovat.
10. Společnost CE-Immundiagnostika GmbH nemůže zaručit, že lidské a živočišné suroviny neobsahují infekční agens, a proto by se výrobky měly používat s opatrností.

LIKVIDACE REAGENCIÍ A POSTUP PŘI ROZLÍTÍ

Informace o likvidaci činidla a dekontaminaci místa rozliti naleznete v bezpečnostním listu, který je k dispozici na vyžádání u společnosti EXBIO Olomouc s.r.o.

KONTROLA A DOPORUČENÍ

1. Souběžně s každou šarží testů se testují pozitivní a negativní kontrolní erytrocyty. Pokud kontroly nevykazují očekávané reakce, musí být testy považovány za neplatné.
2. Protože tyto reagentie neobsahují makromolekulární potenciátory, je velmi nepravděpodobné, že by u krveinek s navázaným IgG docházelo k falešně pozitivním nebo falešně negativním reakcím.
3. Slabé antigeny (A_x nebo B_{weak}) nemusí být identifikovány. Nejednoznačné výsledky je vhodné znovu otestovat zkumavkovou technikou.
4. Jeden objem je přibližně 35-45 µl při použití dodaného kapátka.
5. Odečítání a interpretaci výsledků musí provádět řádně vyškolený a kvalifikovaný personál v souladu s požadavky země, kde se činidla používají.
6. Tato činidla by se měla používat pouze podle tohoto návodu k použití.

POŽADOVANÝ MATERIÁL A REAGENCE

- 0,9% roztok NaCl
- Skleněné zkumavky
- Stojan na zkumavky
- Odstředivka na zkumavky
- Odměrné pipety
- Mikrotitrační destičky, třepačka na destičky
- Spotová destička
- Skleněné mikroskopické sklíčko
- Míchací tyčinka
- Pozitivní a negativní kontrolní erytrocyty



CE-Immundiagnostika GmbH

Karl-Landsteiner-Str. 6, D-69151 Neckargemünd
Tel: Tel.: +49 6223-80094 00 Fax: +49 6223-80094 99
www.ce-immundiagnostika.com



Návod k použití

Rev. 002/09-2021

Lektin anti-A₁

- Stopky

DOPORUČENÉ TECHNIKY

A. ZKUMAVKOVÁ METODA

1. Připravte 2-4% suspenzi erytrocytů v 0,9% roztoku NaCl.
2. Do označené zkumavky umístěte 1 objem antiséra a 1 objem suspenze testovaných erytrocytů.
3. Důkladně promíchejte a ihned odstředějte při 400 g po dobu 1 minuty (při 1500 otáčkách za minutu nebo při vhodném jiném čase a síle).
4. Ihned odečtěte výsledek: Jemně promíchejte zkumavku, aby se sediment erytrocytů uvolnil ze dna zkumavky, a makroskopicky odečtěte aglutinaci; výsledek zaznamenejte.

B. METODA NA MIKROTIČNÍCH DESTIČKÁCH- PŘÍPRAVA MIKRODESTIČEK

Mikrodestičky různých výrobců/dodavatelů mají různé statické vlastnosti, které mohou vést k nespecifickým reakcím červených krvinek a proteinů. Před použitím je vhodné nepoužité mikrodestičky předem ošetřit, aby se snížila nespecifická adheze červených krvinek na minimum. Doporučujeme používat jamky tvaru "U" z plastového materiálu.

1. Do příslušných jamek umístěte 1 objem 22% hovězího albuminu (BSA).
2. Důkladně promíchejte nebo použijte třepačku mikrotitračních destiček, abyste zajistili rovnoměrné pokrytí jamek.
3. Inkubujte při pokojové teplotě (18-25 °C) nejméně 10 a nejvýše 15 minut.
4. Odstraňte BSA z jamky a obsah odstraňte do vhodné nádoby na odpad.
5. Mikrotitrační destičku propláchněte alespoň 10krát vodou z vodovodu.
6. Poté mikrodestičku dvakrát opláchněte destilovanou nebo deionizovanou vodou.
7. Nakloňte mikrotitrační destičku, abyste z ní odstranili přebytečnou vodu.
8. Před použitím nechte mikrodestičku zaschnout.

Alternativní techniky lze použít za předpokladu, že byly ověřeny uživatelem.

POSTUP

1. Připravte 2 - 4% suspenzi testovaných erytrocytů v 0,9% roztoku NaCl. (Doporučení: 2% suspenze)
2. Pomocí kapátka nakapejte 30 µl příslušného antiséra do označených jamek mikrotitrační destičky.
3. Přidejte 30 µl předem připravené suspenze testovaných erytrocytů.
4. Míchejte 30 sekund ručně nebo pomocí třepačky.
5. Odstředějte mikrodestičku 1 minutu při 400 g (při 1500 otáčkách za minutu nebo při vhodném jiném čase a síle).
6. V případě potřeby krátce promíchejte mikrodestičku pomocí třepačky.

Zaznamenejte výsledek a intenzitu reakce a testujte paralelně pozitivní a negativní kontrolní erytrocyty. Čtecí zařízení, pokud jsou použita, musí být validována. Použití dalších vizuálních pomůcek, jako jsou například zrcadla nebo lupy, může usnadnit odečítání výsledků.

C. SKLÍČKOVÁ METODA

1. Z plné krve připravte 35-45% suspenzi testovaných erytrocytů.
2. Na sklíčko nakapejte 1 objem antiséra a jeden objem plné krve.

3. Pomocí čisté míchací tyčinky důkladně promíchejte oba objemy na ploše asi 20x40 mm.
4. Pomalu pohybujte sklíčkem dopředu a dozadu.
5. Nejpozději po 2 minutách proveďte makroskopický odečet a záznam.
6. Nesprávná manipulace nebo příliš dlouhá doba inkubace může vést k artefaktům způsobeným vysušením a test musí být považován za neplatný.

D. TECHNIKA NA SPOTOVÝCH DESTIČKÁCH

1. Z plné krve připravte 35-45% suspenzi testovaných erytrocytů nebo 10% suspenzi testovaných erytrocytů v 0,9% roztoku NaCl.
2. Na spotovou destičku nakapejte 1 objem antiséra + 1 objem suspenze testovaných erytrocytů.
3. Pomocí čisté míchací tyčinky směs důkladně promíchejte.
4. Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 5-10 minut.
5. Makroskopicky odečtěte a zaznamenejte.

Nesprávná manipulace nebo příliš dlouhá doba inkubace může vést k artefaktům způsobeným vysušením.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ TESTŮ

1. **Pozitivní:** Aglutinace erytrocytů ukazuje na přítomnost A₁ antigenu na erytrocytech. Vezměte prosím na vědomí limity testovací metody (viz níže).
2. **Negativní:** Žádná aglutinace znamená nepřítomnost A₁ antigenu na erytrocytech. Vezměte prosím na vědomí limity testovací metody (viz níže).

OMEZENÍ

1. Krev která není čerstvě odebraná, může vést ke slabším reakcím.
2. Falešně pozitivní nebo falešně negativní výsledky mohou být způsobeny:
 - Kontaminací testovaného materiálu
 - Nesprávným skladováním, nesprávnou koncentrací erytrocytů, nesprávnou dobou inkubace, nesprávnou teplotou
 - Nesprávnou centrifugací
 - Odchylkou od doporučených metod
3. Vzorky krve mohou občas reagovat v testu na spotových destičkách s plnou krví s tvorbou rouleau, což připomíná slabou aglutinaci a může být vyhodnoceno jako falešně pozitivní. Tento jev má neimunologické příčiny. Penizkovatění erytrocytů je třeba očekávat u heparinového krvácení, u pacientů, kteří byli léčeni plazmatickými expandéry (např. dextranem), a také u pacientů s plasmocytomem (vysoký obsah bílkovin, změněné složení bílkovin), onkologickými onemocněními (abnormální krevní obraz) a poruchami srážlivosti. U těchto pacientů by měl být každém případě použit zkumavkový test, protože při použití suspenze je tento jev obvykle nejistitelný. Pacienti s určitými onemocněními mohou vykazovat falešně pozitivní/negativní reakce. Autoaglutininy jsou často potenciálním zdrojem chyb při stanovení AB0. Přítomnost těchto protilátek nelze předvídat. Pokud jsou takové protilátky přítomny v dostatečné síle, může stanovení izoaglutininu pomocí krvinek A₁ vést k nespecifickým reakcím. Proto se k posouzení krevní skupiny musí vždy použít jak stanovení AB0 antigenu, tak izoaglutininu. Diference mezi stanovením antigenu AB0 a izoaglutininu je třeba vždy objasnit, a to bez ohledu na sílu reakcí v séru pacienta nebo na jeho kvinkách.
4. A₁ krev, která reaguje slabě v testu na destičce, nebo krev, která je problematická, musí být znovu vyšetřena ve zkumavkovém testu. U novorozenců nejsou podskupiny A antigenu ještě dostatečně zvyrazněny.

**CE-Immundiagnostika GmbH**

Karl-Landsteiner-Str. 6, D-69151 Neckargemünd
Tel: Tel.: +49 6223-80094 00 Fax: +49 6223-80094 99
www.ce-immundiagnostika.com

**Návod k použití**

Rev. 002/09-2021

Lektin anti-A₁

5. K určení podskupiny A je třeba vždy použít dvě různá antiséra.

STABILITA REAKCÍ

1. Všechny testy ve zkumavkách a na mikrotitračních destičkách odečítejte ihned po centrifugaci.
2. Testy na sklíčku by měly být interpretovány do 2 minut, pro zajištění specifity a zabránění možnosti, že negativní výsledek bude nesprávně odečten jako pozitivní v důsledku zaschnutí reagensie.
3. Zkoušky je třeba považovat za neplatné, pokud byly provedeny při jiných než doporučených teplotách.

SPECIFICKÉ VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

1. Přípravek Lektin anti- A₁ je před propuštěním testován všemi doporučenými metodami.
2. Každá šarže lektinu anti- A₁ je před propuštěním testována na panelu antigen pozitivních erytrocytů, aby byla zajištěna spolehlivá reaktivita.
3. Specifita lektinu anti- A₁ se prokazuje pomocí panelu antigen negativních erytrocytů.
4. Pro kontrolu kvality se používají erytrocyty nebo plná krev dvakrát promytá v 0,9% fyziologickém roztoku.
5. Diagnostikum bylo testováno na více než 1000 vzorcích s citlivostí a specifitou > 99 %.

VYLOUČENÍ ODPOVĚDNOSTI

1. Uživatel je odpovědný za použití jiných než doporučených metod.
2. Jakékoli odchylky od doporučených technik by měly být před použitím validovány.

LITERATURA

1. Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, 6th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1975; Chapter 2
2. Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1987; Chapter 7
3. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6
4. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie); Aufgestellt vom wissenschaftlichen Beirat der Bundesärztekammer und vom Paul-Ehrlich-Institut, Fassung 2017.
5. Immunhämatologie und Transfusionsmedizin, Reinhold Eckstein, 6. Auflage, Urban & Fischer bei Elsevier, 2010
6. Blutgruppen und Transfusion, M. Metaxas-Bühler, Verlag Hans Huber, 1994.

KATALOGOVÁ ČÍSLA

REF	Balení
30405 Lektin anti- A ₁	1 x 5 ml
30410 Lektin anti- A ₁	1 x 10 ml

Distributor:

EXBIO Olomouc s.r.o.
Ovesná 14, 779 00 Olomouc
Česká republika
Tel.: +420 587 301 011
E-mail: info@exbio.com
www.exbio.com

**INDEX SYMBOLŮ**

	Šarže		Diagnostikum in-vitro
	Kód produktu		Skladování mezi +2°C až +8°C
	Datum expirace		Výrobce
	Návod pro použití		