

 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. 002/02-2022		
Popis	REF	
Klon anti-P1: 650 2 ml	26102	
Klon anti-P1: 650 5 ml	26105	

IN VITRO DIAGNOSTIKUM

SOUHRN

V roce 1947 Landsteiner a Levine objevili anti-P protilátku a pojmenovali související antigen P. Následně Race a Sanger popsali jeho výskyt i u plodů. Výskyt antigenu P1 je 70 %. Antigen P se vyskytuje u 95 % černošské populace. Protilátky proti znaku krevní skupiny P1 mohou existovat jako přirozené nebo imunitní protilátky.

POUŽITÍ

Monoklonální anti-P1 (myší IgM, klon 650) činidlo se používá ke specifické kvalitativní detekci příslušného antigenu na erythrocytech a je vhodné pro sklíčkové, bodové, mikrotitrační a zkušavkové testy. Uvedené testovací metody jsou založeny na principu hemaglutinace. Po přidání erythrocytů k testovacím činidlům dojde ke specifické reakci antigen-proti látka, pokud je na erythrocytech přítomen odpovídající antigen. Tuto reakci lze vizuálně rozpoznat podle aglutinace erythrocytů. Pokud k aglutinaci nedojde, znamená to negativní výsledek a s ohledem na omezení testovacích metod to znamená nepřítomnost příslušného antigenu.

INFORMACE O PRODUKTU

Monoklonální testovací činidlo anti-P1 se získává z myších hybridomových buněčných linií. Protilátky jsou naředěny v pufovaném 0,9% roztoku NaCl, který obsahuje hovězí albumin (bez stabilizátoru), EDTA a činidla, která umožňují snadnější resuspendaci sedimentu krvinek po odstředění. Konzervační látka: Na azid (<0,1 %).

Všechna testovací činidla se používají bez dalšího ředění / aditiv. Šarže a datum expirace jsou uvedeny na štítku lahvičky.

SKLADOVÁNÍ

Testovací činidla lze používat až do data použitelnosti uvedeného na štítku, pokud jsou skladována při teplotě 2 °C - 8 °C. Po prvním otevření lahvičky s testovacími činidly je skladujte těsně uzavřené při teplotě 2 °C - 8 °C.

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ

Vzorky krve by měly být odebírány do zkumavek s EDTA nebo citrátem sodným podle standardních lékařských postupů. Vyhodnocení by mělo být provedeno co nejdříve po odběru krve. Pokud krev nemá být použita okamžitě, měly by být zkumavky skladovány při teplotě 2 °C - 8 °C. Vzorky krve vykazující hemolýzu nebo mikrobiální kontaminaci by neměly být pro test použity. Takové krevní testy mohou poskytnout nesprávné výsledky.

Všechny vzorky krve se před použitím dvakrát promyjí v 0,9% roztoku NaCl pro test ve zkumavkách a mikrotitračních destičkách. Pro sklíčkový test se používá plná krev (35-45% suspenze erythrocytů), pro test na mikrotitračních destičkách plná krev nebo 10% suspenze erythrocytů v 0,9% roztoku NaCl.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Reagencie jsou určeny pouze pro použití v diagnostických laboratořích in vitro.
2. Tato činidla jsou určena pro použití autorizovanými pracovníky vyškolenými v sérologických technikách.
3. Tato činidla nejsou určena pro sebetestování.
4. Nepoužívejte tato činidla po uplynutí doby použitelnosti.
5. Obsah poškozených lahviček zlikvidujte.
6. Mírný zákal nemá vliv na reaktivitu produktu.

7. Testovací séra obsahují <0,1 % azidu sodného jako konzervační látku.
8. Při manipulaci s činidly je třeba nosit ochranné prostředky, například jednorázové rukavice a laboratorní plášť.
9. Testovací séra byla filtrována přes 0,2µm membránovou kapsli, aby se snížila biologická zátěž.
10. Po otevření by měl být obsah spotřebován do data expirace. Pokud by se po otevření obsah zakalil nebo kontaminoval, měl by být zlikvidován.
11. Společnost CE-Immundiagnostika GmbH nemůže zaručit, že lidské a živočišné suroviny neobsahují infekční agens, proto by se výrobky měly používat s opatrností.

LIKVIDACE A DEKONTAMINACE

Informace o likvidaci činidla a dekontaminaci místa rozlité naleznete v bezpečnostním listu, který je k dispozici na vyžádání u společnosti CE-Immundiagnostika GmbH.

KONTROLY A DOPORUČENÍ

1. Pozitivní a negativní kontrolní erythrocyty se testují souběžně s každou šarží testů. Testy se považují za neplatné, pokud kontroly nevykazují očekávané reakce.
2. Protože tato činidla neobsahují makromolekulární potenciátory, je velmi nepravděpodobné, že by u krvinek potažených IgG docházelo k falešně pozitivním nebo falešně negativním reakcím.
3. 1 objem je přibližně 35-45 µl při použití dodaného kapátka.
4. Odečítání a interpretaci výsledků musí provádět řádně vyškolený a kvalifikovaný personál v souladu s požadavky země, kde se činidla používají.
5. Tato činidla by se měla používat pouze podle tohoto návodu k použití.

POTŘEBNÉ MATERIÁLY A ČINIDLA

- 0,9% roztok NaCl
- Skleněné zkumavky
- Stojan na zkumavky
- Odstředivka na zkumavky
- Mikrotitrační destička, třepačka na destičky
- Bodová deska
- Skleněná mikroskopická sklíčka
- Aplikační tyčinka
- Pozitivní a negativní kontrolní erythrocyty
- Stopky

DOPORUČENÉ METODY

A. ZKUMAVKOVÝ TEST

1. V 0,9% roztoku NaCl se připraví 2-3% suspenze erythrocytů
2. Do označené zkumavky nakapejte 1 kapku antiséra a 1-2 kapky suspenze erythrocytů.
3. Dobře promíchejte a ihned odstředíte 1 minutu při 400 g (nebo při jiné rychlosti s odpovídajícím časem).
4. Výsledek odečtete okamžitě: uvolněte sediment erythrocytů ze dna zkumavky jemným protřepáním a makroskopicky odečtete a zaznamenejte sílu aglutinace.

B. MIKRODESTIČKOVÝ TEST

Příprava mikrotitračních destiček (MTP):

	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. 002/02-2022		26102 Anti-P1 2 ml 26105 Anti-P1 5 ml

MTP od různých výrobců/dodavatelů vykazují různé statické vlastnosti, což může vést k nespecifickým reakcím červených krvinek a proteinů. Doporučuje se nepoužívat MTP před použitím předem ošetřit, aby se minimalizovala adheze červených krvinek. Doporučují se plastové MTP s U-profillem.

1. Do každé jamky MTP přidejte 1 kapku 22% hovězího albuminu (BSA).
2. Promíchejte jemným mícháním nebo na MTP třepačce tak, aby byly jamky rovnoměrně pokryty.
3. MTP nechte stát nejméně 10 až 15 minut při pokojové teplotě (18-25 °C).
4. Odstraňte BSA z jamek MTP do vhodné nádoby na odpad.
5. MTP alespoň 10krát propláchněte vodou z vodovodu.
6. Poté MTP dvakrát propláchněte destilovanou nebo deionizovanou vodou.
7. MTP nakloněte a vysajte, abyste odstranili přebytečnou vodu.
8. Před použitím nechte MTP vyschnout.

Alternativní metody jsou možné za předpokladu, že byly uživatelem náležitě ověřeny.

POSTUP:

1. Připravte 2 - 3% suspenzi erytrocytů v 0,9% roztoku NaCl. (Doporučení 2% suspenze)
2. Do označených jamek MTP napipetujte 30 µl příslušného testovacího činidla.
3. Přidejte 30 µl připravené suspenze erytrocytů..
4. MTP míchejte ručně nebo na třepačce po dobu 30 sekund.
5. Odstředte MTP po dobu 1 minuty při 400 g (1500 otáček za minutu nebo při jiné rychlosti s přizpůsobenou dobou). MTP krátce protřepejte, v případě potřeby pomocí třepačky.

Zaznamenejte výsledek a sílu reakce, musí být zahrnuta pozitivní a negativní kontrola. Při použití čtecích zařízení musí být tyto validovány. Použití dalších vizuálních pomůcek, jako jsou testovací čtecí zrcátka nebo lupy, může odečítání usnadnit.

C. SKLÍČKOVÝ TEST

1. Pro sklíčkový test se používá plná krev (35-45% suspenze erytrocytů).
2. Na sklíčko naneste 1 kapku testovacího činidla a jednu kapku suspenze červených krvinek.
3. Obě kapky důkladně promíchejte čistou míchací tyčinkou na ploše asi 20x40 mm.
4. Pomalu pohybujte sklíčkem dopředu a dozadu.
5. Maximálně po 2 minutách makroskopicky odečtěte výsledek a zaznamenejte jej.
6. V případě nesprávné manipulace nebo příliš dlouhé inkubační doby může dojít k artefaktům způsobených vyschnutím; test je neplatný.

D. TEST NA BODOVÝCH DESTIČKÁCH

1. Pro test se používá plná krev (35-45% suspenze erytrocytů) nebo 10% suspenze erytrocytů v 0,9% roztoku NaCl.
 2. Na bodovou destičku naneste 1 kapku testovacího činidla + 1 kapku suspenze erytrocytů.
 3. Obě kapky důkladně promíchejte čistou míchací tyčinkou.
 4. Inkubujte 5-10 minut při pokojové teplotě.
 5. Výsledek makroskopicky odečtěte a zaznamenejte.
- Nesprávná manipulace nebo příliš dlouhá doba inkubace může vést k artefaktům způsobeným vyschnutím.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

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

OMEZENÍ

1. Pokud není krev čerstvě odbraná, mohou být vykazovány slabší výsledky reakcí. Doporučuje se krev stará maximálně dva dny.
2. Síla reakce by měla být 2+ až 4+, slabší reakce by se měly znovu zkontrolovat pomocí delší inkubační doby.
3. Falešně pozitivní nebo falešně negativní výsledky mohou být způsobeny:
 - Kontaminací testovaného materiálu
 - Nesprávným skladováním, nesprávnou koncentrací erytrocytů, nesprávnou dobou inkubace, nesprávnou teplotou.
 - Nesprávným odstředováním.
 - Odchylkou od doporučených metod
4. Pacienti s určitými onemocněními mohou vykazovat falešně pozitivní/negativní reakce. Pupečnicková krev s Whartonovým železím může reagovat falešně pozitivními výsledky.
5. Enzymatické ošetření erytrocytů může vést k destrukci S-antigenu.
6. Při pokojové teplotě > +20 °C se doporučuje činidlo předem ochladit na +2 °C až +8 °C.
7. Podle Pokynů pro hemoterapii, kapitola 4.4.8, 2017, se ke stanovení P1-antigenu musí vždy použít dvě různá testovací činidla.

STABILITA REAKCÍ

1. Všechny testy ve zkumavkách a na mikrotitračních destičkách odečtěte ihned po odstředění.
2. Testy na sklíčku by měly být interpretovány do 2 minut, aby byla zajištěna specifita a aby se zabránilo možnosti, že negativní výsledek bude nesprávně interpretován jako pozitivní v důsledku vyschnutí činidla.
3. Zkoušky je třeba považovat za neplatné, pokud byly provedeny při jiných než doporučených teplotách.

SPECIFICKÉ VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

1. Antiséra byla před uvolněním testována metodou, která vychází z pokynů GTS, protože nejsou vyžadovány žádné specifikace.
2. Každá šarže monoklonálních antisér je před vydáním testována proti panelu antigen-pozitivních erytrocytů, aby byla zajištěna dobrá reaktivita.
3. Specifita monoklonálních protilátek je prokázána pomocí panelů s antigen-negativními erytrocyty.
4. Pro kontrolu kvality se používají erytrocyty nebo plná krev dvakrát promytá v 0,9% fyziologickém roztoku.
5. Testováno na více než 500 vzorcích se 100% citlivostí a specifitou.

ZŘEKNUTÍ SE ODPOVĚDNOSTI

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

	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. 002/02-2022		26102 Anti-P1 2 ml 26105 Anti-P1 5 ml

BIBLIOGRAFIE

1. Cutbush M, Mollison PL, Parkin DM. A new human blood group. Nature 1950; 165: 188.
2. Allen FH, Diamond LK, Niedziela B. A new blood group antigen. Nature 1951; 167: 482
3. Race RR, Sanger R. Blood groups in man. 6th ed. Oxford, Blackwell Scientific Publications; 1975:336.
4. Daniels G. Human Blood Groups, 2002, 2nd Edition, Blackwell Science Publications

VYSVĚTLENÍ SYMBOLŮ

	Číslo šarže		In-vitro diagnostikum
	Kód produktu		Uchovávat při + 2 °C až + 8 °C
	Datum expirace		Výrobce
	Informace k použití		

KATALOGOVÁ ČÍSLA

REF čísla klonů	Dodávané balení
26102 Anti-P1 Klon: 650	1 x 1 x 2 ml 5 x 1 x 2 ml 10 x 1 x 2 ml 50 x 1 x 2 ml
26105 Anti-P1 Klon: 650	1 x 1 x 5 ml 5 x 1 x 5 ml 10 x 1 x 5 ml 50 x 1 x 5 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

