

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	
A₁ reagent red cells	REF K 1140	IVD CE 0344
B reagent red cells	REF K 1142	IVD CE 0344
O positive reagent red cells	REF K 1143	IVD CE
O negative reagent red cells	REF K 1144	IVD CE
A₂ reagent red cells	REF K 1141	IVD CE
080_v02 01/2017 (cs)	<i>Pouze pro profesionální použití</i>	

3% Erytrocytární suspenze pro detekci alloprotilátek anti-A a anti-B (diagnostické erytrocyty A₁ a B) a pro použití jak pozitivní nebo negativní kontrola (diagnostické erytrocyty O pozitivní, O negativní a A₂)

Všeobecné informace

Diagnostické erytrocyty jsou suspendovány v konzervačním médiu. Tato diagnostika splňuje požadavky příslušných standardů a doporučení. Parametry diagnostik jsou uvedeny v propouštěcích dokumentech, kterou jsou poskytnuty s produktem na vyžádání. Principem testu je aglutinační technika, která je založena na reakci antigen / protilátka. Diagnostické erytrocyty se používají jak ve zkumavkové metodě a na mikrodestičkách. Diagnostické krvinky jsou rovněž vhodné pro použití v automatizovaných testovacích systémech, ve kterých jejich standardizaci a validaci provádí sám uživatel. S každou sérií krevně skupinových testů se doporučuje se použít pozitivní a negativní kontroly. Stejně jako stanovení přítomnosti nebo nepřítomnosti alloprotilátek anti-A a anti-B v séru nebo plazmě pacienta, erytrocyty pacienta by měly být otestovány na přítomnost příslušných A a/nebo B antigenů s použitím Pelikloon anti- A, anti-B a anti-A,B (IgM) monoclonal diagnostik (viz příslušný příbalový leták).

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 0,025% chloramfenicol, 0,01% neomycin sulfát a 0,005% gentamicin. Přesto, že všechny krevní produkty byly testovány na infekční onemocnění a shledány negativní, nelze u diagnostik zcela vyloučit přítomnost infekčního agens. Pozornost musí být věnována při užití a nakládání s každým obalem a jeho obsahem. V případě kontaminace nebo výrazné hemolýzy se diagnostikum vyřadí. Aby se rozpoznalo poškození diagnostik, doporučuje se je testovat jako součást laboratorního programu kontroly kvality s použitím příslušných kontrol. Odstranění odpadu po provedení testování se provádí v souladu s postupy dané laboratoře.

Odběr a příprava vzorků

Vzorky krve se odebírají asepticky s nebo bez přidání antikoagulancií. 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. Do testovací zkumavky se nakapou:
 - 2 kapky testovaného séra nebo plazmy
 - 1 kapka 3% erytrocytární suspenze a obsah se dobře promíchá.
2. Poté se zkumavka centrifuguje 20 sekund při 1000 rcf nebo při jiném vhodném čase dle kalibrace centrifugy.
3. Sediment se jemně protřepe a aglutinace se odečte makroskopicky.

Mikrodestičková metoda

Požadované mikrodestičky: polystyrenové mikrodestičky s jamkami s kulatým dnem.

1. Do jamky mikrodestičky se kápnou:
 - 2 kapky testovaného séra nebo plazmy
 - 1 kapka 3% suspenze diagnostických erytrocytů.
2. Obsah se promíchá 5 sekund na rotační třepačce při 600–700 ot./min.
3. Destička se inkubuje 10–15 minut při pokojové teplotě (18–25°C) bez míchání.
4. Poté se centrifuguje 10–20 sekund při 700 rcf nebo při jiném vhodném čase dle kalibrace centrifugy.
5. Destička se protřepe 1–4 minuty na rotační třepačce při 600–700 ot./min. nebo při jiném vhodném čase tak, aby bylo dosaženo resuspendace krvinek v případě negativních reakcí.
6. Poté se destička ponechá v klidu po dobu 1 minuty, aby se shlukly malé aglutináty.
7. Reakce se může odečítat jak makroskopicky, tak pomocí automatického readru.

Hodnocení

Pozitivní reakce (tj. aglutinace) indikuje přítomnost odpovídající alloprotilátky. Negativní reakce (tj. bez viditelné aglutinace) indikuje chybění odpovídající alloprotilátky. Krevní skupiny ABO se stanoví na základě charakteru reakcí získaných s rozdílnými antiséry (viz tabulka níže). V případě, že charakter reakce neodpovídá jedné ze 4 níže uvedených kombinací, před tím, než se označí ABO krevní skupina pacienta nebo dárce se musí zjistit příčina odlišného výsledku.

Aglutinační reakce v rutinním ABO typování

Erytrocyty + krevně skupinové diagnostikum			sérum/plazma + diagnostické erytrocyty		
anti-A	anti-B	anti-A,B	A ₁ erytrocyty	B erytrocyty	krevní skupina (frekvence)
0	0	0	+	+	O (46.7%) ⁴⁾
+	0	+	0	+	A (41.7%) ⁴⁾
0	+	+	+	0	B (8.6%) ⁴⁾
+	+	+	0	0	AB (3.0%) ⁴⁾

Omezení

(ABO typování)

Neočekávané pozitivní výsledky mohou být způsobeny: pseudoaglutinací, přítomností jiných než anti-A a/nebo anti-B alloprotilátek.

Neočekávané negativní nebo slabé reakce mohou být způsobeny: vyšetřované sérum nebo plazma pochází od novorozence, od (velmi) starých lidí nebo od pacientů s hypogamaglobulinemií, chimerismem, sníženou aktivitou diagnostických erytrocytů.

References

1. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6th ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
2. Issitt P.D.; Applied Blood Group Serology, 3rd ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985.
3. Daniels G.; Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd. 1995.
4. Reid M.E. and Lomas-Francis C.; The Blood Group Antigen Facts Book. Facts Book Series, 1997.
5. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion In Clinical Medicine, 9th 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.