

 CE-Immundiagnostika GmbH Karl-Landsteiner-Str. 6, D-69151 Neckargemünd Telefon: +49 6223-80094 00 Fax: +49 6223-80094 00 +49 6223-80094 99 www.ce-immundiagnostika.com		
Návod k použití		
Rev. 003/01-2022		
Popis	REF	
Anti-C MS24 10ml	04110	
Anti-C MS24 5ml	04105	
Anti-C MS273 10ml	04210	
Anti-C MS273 5ml	04205	
Anti-c MS33 10ml	05110	
Anti-c MS33 5ml	05105	
Anti-c MS35 10ml	05210	
Anti-c MS35 5ml	05205	
Anti-E MS80/MS258 10ml	08110	
Anti-E MS80/MS258 5ml	08105	
Anti-E MS12/MS260 10ml	08210	
Anti-E MS12/MS260 5ml	08205	
Anti-e MS16/MS21/MS63 10ml	09110	
Anti-e MS16/MS21/MS63 5ml	09105	
Anti-e MS62/MS69 10ml	09210	
Anti-e MS62/MS69 5ml	09205	

DIAGNOSTICKÝ ZDRAVOTNICKÝ PROSTŘEDEK *IN VITRO*

SHRNUTÍ

Systém krevních skupin rhesus byl poprvé popsán v roce 1940. Rhesus pozitivní (D pos.)/rhesus negativní (D neg.) znamená, že na povrchu erytrocytů jedince se nachází/nenalézá antigen D. Dalšími antigeny rhesus systému jsou C, E, c a e. Antigeny C a e jsou méně imunogenní než antigeny E a c. Příslušné protilátky jsou klinicky významné, protože mohou způsobit transfúzní reakce a hemolytickou chorobu plodu a novorozence (HDFN).

Procento antigenů u bělochů:

Rh antigeny			
C	E	c	e
70	30	80	98

Tabulka 1: Frekvence antigenů

Osm genových komplexů pro rhesus a jejich četnost v %:

CDe	cde	cDE	cDe	Cde	cdE	CDE	CdE
42	38	16.7	1.8	0.5	0.3	0.08	-

Tabulka 2: Frekvence genových komplexů podle Metaxase-Bühlera

URČENÉ POUŽITÍ

Anti-C, anti-E anti-c a anti-e (monoklonální IgM) diagnostika jsou určeny pro specifickou a kvalitativní detekci erytrocytů, které nesou příslušné antigeny a jsou vhodné pro použití technikou na sklíčku, bodové destičky, mikrotitrační destičky a zkumavky.

Výše uvedené techniky jsou založeny na principu přímé hemaglutinace. Po přidání erytrocytů k testovacím činidlům dojde ke specifické reakci antigen-protilátka, pokud je na erytrocytech přítomen odpovídající antigen. Tato reakce se projeví snadno viditelnou aglutinací erytrocytů. Absence aglutinace erytrocytů prokazuje - s ohledem na omezení testovacích metod - nepřítomnost příslušných antigenů (negativní výsledek testu).

INFORMACE O PRODUKTU

Monoklonální protilátky používané ke stanovení Rh antigenů C, E, c a e jsou izotypu IgM a jsou získávány z lidských hybridomových buněk. Protilátky se ředí v pufru obsahujícím 0,9% chlorid sodný, hovězí albumin (bez stabilizátoru), EDTA a činidla usnadňující resuspenzi buněčných pelet po odstředění. Konzervační látka: < 0,1 % azidu sodného.

Tato testovací činidla byla optimalizována pro použití bez dalšího ředění nebo přidávání.

Číslo šarže a datum použitelnosti jsou uvedeny na štítku tuby.

SKLADOVÁNÍ

Testovací činidla 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

Krevní vzorky by měly být odebírány asepticky do zkumavek EDTA nebo citrátových zkumavek v souladu se standardními lékařskými postupy. 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 tímto činidlem testovány, protože to může vést k falešně pozitivním nebo falešně negativním výsledkům.

Všechny vzorky krve by měly být před testováním zkumavkovou nebo mikrotitrační technikou dvakrát promyty 0,9% roztokem NaCl. Při použití sklíčkové techniky připravte 35-45% suspenzi testovaných erytrocytů (plnou krev); při použití techniky bodové destičky použijte buď plnou krev, nebo připravte 10% suspenzi testovaných erytrocytů v 0,9% roztoku NaCl.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Tato činidla jsou určena 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. Testovací séra obsahují < 0,1 % azidu sodného.
7. Při používání těchto výrobků noste ochranný oděv, například plášť a jednorázové rukavice.
8. Reagencie byly filtrovány přes 0,2µm kapsli, aby se snížila biologická zátěž.
9. Po otevření lahvičky by měl obsah zůstat použitelný až do data expirace. Pokud se po otevření objeví zákal nebo kontaminace, obsah zlikvidujte.
10. Společnost CE-Immundiagnostika GmbH nemůže zaručit, že produkty pocházející z lidských nebo zvířecích zdrojů neobsahují infekční agens. Při používání a likvidaci každé lahvičky a jejího obsahu je třeba postupovat opatrně.

LIKVIDACE ČINIDLA A ODSTRAŇOVÁNÍ ROZLITÝCH LÁTEK.



CE-Immundiagnostika GmbH

Karl-Landsteiner-Str. 6, D-69151 Neckargemünd

Telefon: Telefon: +49 6223-80094 00 Fax: +49 6223-80094 00 +49 6223-80094 99

www.ce-immundiagnostika.com



Návod k použití

Rev. 003/01-2022

Anti C, anti c, anti E, anti e

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

KONTROLY A DOPORUČENÍ

1. S každou šarží testů se souběžně testují pozitivní a negativní kontrolní erytrocyty. 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. Slabé antigeny nemusí být identifikovány.
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.

POTŘEBNÝ MATERIÁL A ČINIDLA

- 0,9% roztok NaCl
- Skleněné zkumavky
- Stojan na zkumavky
- Odstředivka na zkumavky
- Mikrotitrační desky, třepačka na destičky
- Bodová deska
- Skleněné mikroskopické sklíčko
- Aplikační tyčinka
- Pozitivní a negativní kontrolní erytrocyty
- Stopky

DOPORUČENÉ METODY

A. ZKUMAVKOVÁ METODA

1. Připravte 2-4% suspenzi erytrocytů v 0,9% roztoku NaCl.
2. Do označené zkumavky vložte 1 objem testovacího činidla a 1 objem testované suspenze erytrocytů.
3. Důkladně promíchejte a ihned odstředte při 400 g po dobu 1 minuty (při 1500 otáčkách za minutu nebo po vhodné alternativní dobu a silou).
4. Ihned odečtěte výsledek: Výsledek: Jemně promíchejte zkumavku, aby se peleta erytrocytů uvolnila ze dna zkumavky, a makroskopicky odečtěte aglutinaci; výsledek zaznamenejte.

B. METODA MIKROTIČNÍCH DESTIČEK

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 snížilo hromadění 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, jemně 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 a obsah vyhodte 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. Do označených jamek mikrotitrační destičky umístěte pomocí kapátka 30 µl příslušného testovacího činidla.
3. Přidejte 30 µl předem připravené suspenze testovaných erytrocytů na mikrotitrační destičku.
4. Míchejte 30 sekund ručně nebo pomocí třepačky.
5. Odstředte mikrodestičku 1 minutu při 400 g (při 1500 otáčkách za minutu nebo při vhodném jiném čase a síle). V případě potřeby mikrodestičku krátce promíchejte 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 umístěte 1 objem testovacího činidla a 1 objem plné krve nebo připravené suspenze.
3. Pomocí čisté aplikační 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 vysycháním a test musí být považován za neplatný.

D. METODA BODOVÝCH DESTIČEK

1. Z plné krve připravte 35-45% suspenzi testovaných erytrocytů nebo 10% suspenzi testovaných erytrocytů v 0,9% roztoku NaCl.
2. Na bodovou destičku umístěte 1 objem testovacího činidla + 1 objem suspenze testovaných erytrocytů.
3. Pomocí čisté aplikační tyčinky důkladně promíchejte oba objemy.
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 sušením.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ TESTŮ

1. **Pozitivní:** Aglutinace testovaných erytrocytů ukazuje v rámci přijatých omezení testovacího postupu (viz níže) na přítomnost příslušného antigenu na testovaných erytrocytech.
2. **Negativní:** Žádná aglutinace testovaných erytrocytů znamená v rámci přijatých omezení testovacího postupu (viz níže) nepřítomnost příslušného antigenu na testovaných erytrocytech.

Diskrepance: Pokud výsledky získané pro antigeny na testovaných erytrocytech nekorelují se zjištěnými aloprotilátkami krevních skupin, je nutné provést další vyšetření.

Návod k použití

Rev. 003/01-2022

Anti C, anti c, anti E, anti e

OMEZENÍ

1. Skladovaná krev může vyvolat slabší reakce než čerstvá krev.
2. Falešně pozitivní nebo falešně negativní výsledky se mohou vyskytnout také v důsledku:
 - kontaminace zkušebních materiálů
 - nesprávné skladování, koncentrace erytrocytů, doba inkubace nebo teplota
 - nesprávné nebo nadměrné odstředování
 - odchylky od doporučených technik
3. Vzorky vykazující hemolýzu nebo mikrobiální kontaminaci se nesmí testovat.
4. Při použití techniky bodových destiček a vzorků plné krve může občas dojít k tvorbě rouleaux, které se podobá slabé aglutinaci a může být interpretována jako falešně pozitivní reakce. Tento jev je způsoben neimunologickými příčinami. Tvorbu rouleaux lze očekávat u krve s heparinem a u pacientů léčených expandéry plazmy (např. dextranem), jakož i u pacientů s plasmocytomem (vysoký obsah bílkovin, změněné složení bílkovin), onkologickými poruchami (abnormální hemogram) a poruchou koagulace. Vzorky krve těchto pacientů musí být vždy vyšetřeny zkuševkou technikou, protože při použití suspenze erytrocytů nelze tento jev obecně ověřit. Neobvykle slabá reakce nebo žádná reakce může být případně způsobena přítomností podskupin C^w a C^x nebo vzácných a slabých variant E. Klon MS-24 může případně aglutinovat C^w nebo C^x, pokud se použije zkuševkový test. Vzorky od pacientů trpících určitými poruchami mohou vykazovat falešně pozitivní/falešně negativní reakce. Vzorky pupečnickové krve kontaminované Whartonovým želem mohou vykazovat falešně pozitivní reakce.
5. **Pro stanovení antigenů AB0 a Rh používejte vždy dva různé klony v souladu s Pokyny pro hemoterapii, 4.4.8, 2017.**

STABILITA REAKCÍ

1. Všechny testy ve zkuševkách a na mikrotitračních destičkách odečítejte 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 zaschnutí činidla.
3. Zkoušky je třeba považovat za neplatné, pokud byly provedeny při jiných než doporučených teplotách.

SPECIFICKÉ VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

Výkonnost se posuzuje v souladu se společnými technickými specifikacemi (CTS: rozhodnutí Komise EU ze dne 3. 2. 2009).

1. Antiséra byla testována všemi doporučenými postupy.
2. Každá šarže monoklonálního anti-C, anti-c, anti-E a anti-e je testována v souladu s požadavky Společné technické specifikace diagnostických zdravotnických prostředků *in vitro* a splňuje požadavky.
3. Specifita monoklonálních protilátek je prokázána pomocí panelu antigen-negativních erytrocytů.
4. Kontrola kvality činidel byla provedena s použitím erytrocytů nebo plné krve, která byla dvakrát promyta 0,9% fyziologickým roztokem.
5. Testy s více než 1 000 vzorky s citlivostí a specifikitou > 99 %.

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.

BIBLIOGRAFIE

1. Kohler C. & Milstein C. (1975), Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature, 256, 495-497.
2. Lee H.H., Rouger P., Germain C., Muller A. & Salmon C. (1983). The production and standardisation of monoclonal antibodies as AB blood group typing reagents. Symposium of International Association of Biological Standardisation on monoclonal antibodies.
3. Human Blood Groups, by Geoff Daniels, 1st Ed., Blackwell Science, Oxford 1995.
4. HMSO, Guidelines for Blood Transfusion Services., 2nd Ed., 1994.
5. Metaxas-Bühler M., Blutgruppen und Transfusion, 2. durchgesehene Auflage, Verlag Hans Huber, 1994.

INDEX SYMBOLŮ

	Číslo šarže		Pouze pro diagnostiku <i>in vitro</i>
	Katalogové číslo		Skladování mezi +2°C až +8°C
	Datum expirace		Výrobce
	Přečtěte si návod k použití		

KATALOGOVÁ ČÍSLA

REF	Balení
04110 Anti-C MS-24	1 x 1 x 10 ml 5 x 1 x 10 ml 10 x 1 x 10 ml 50 x 1 x 10 ml
04105 Anti-C MS-24	1 x 1 x 5 ml 5 x 1 x 5 ml 10 x 1 x 5 ml 50 x 1 x 5 ml
04210 Anti-C MS-273	1 x 1 x 10 ml 5 x 1 x 10 ml 10 x 1 x 10 ml 50 x 1 x 10 ml
04205 Anti-C MS-273	1 x 1 x 5 ml 5 x 1 x 5 ml 10 x 1 x 5 ml 50 x 1 x 5 ml
05110 Anti-c MS-33	1 x 1 x 10 ml 5 x 1 x 10 ml 10 x 1 x 10 ml 50 x 1 x 10 ml
05105 Anti-c MS-33	1 x 1 x 5 ml 5 x 1 x 5 ml 10 x 1 x 5 ml 50 x 1 x 5 ml
05210 Anti-c MS-35	1 x 1 x 10 ml 5 x 1 x 10 ml 10 x 1 x 10 ml 50 x 1 x 10 ml
05205 Anti-c MS-35	1 x 1 x 5 ml 5 x 1 x 5 ml 10 x 1 x 5 ml 50 x 1 x 5 ml
08110 Anti-E MS-80; MS-258	1 x 1 x 10 ml 5 x 1 x 10 ml 10 x 1 x 10 ml 50 x 1 x 10 ml
08105	1 x 1 x 5 ml

**CE-Immundiagnostika GmbH**

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

**Návod k použití****Rev. 003/01-2022**

Anti C, anti c, anti E, anti e

REF	Balení
Anti-E MS-80; MS-258	5 x 1 x 5 ml 10 x 1 x 5 ml 50 x 1 x 5 ml
08210 Anti-E MS-12; MS-260	1 x 1 x 10 ml 5 x 1 x 10 ml 10 x 1 x 10 ml 50 x 1 x 10 ml
08205 Anti-E MS-12; MS-260	1 x 1 x 5 ml 5 x 1 x 5 ml 10 x 1 x 5 ml 50 x 1 x 5 ml
09110 Anti-e MS-16; MS-21; MS-63	1 x 1 x 10 ml 5 x 1 x 10 ml 10 x 1 x 10 ml 50 x 1 x 10 ml
09105 Anti-e MS-16; MS-21; MS-63	1 x 1 x 5 ml 5 x 1 x 5 ml 10 x 1 x 5 ml 50 x 1 x 5 ml
09210 Anti-e MS-63; MS-69	1 x 1 x 10 ml 5 x 1 x 10 ml 10 x 1 x 10 ml 50 x 1 x 10 ml
09210 Anti-e MS-63; MS-69	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

