

 CE-Immundiagnostika GmbH Karl-Landsteiner-Str. 6, D-69151 Neckargemünd Phone: +49 6223-80094 00 Telefax: +49 6223-80094 99 www.ce-immundiagnostika.com		
Návod k použití		
Rev. 002/07/2021		
Description	REF	
Anti Kell AEK4 (monoclonal) 10ml	10210	
Anti Kell AEK4 (monoclonal) 5ml	10205	
Anti Kell MS-56 (monoclonal) 10ml	10110	
Anti Kell MS-56 (monoclonal) 5ml	10105	

DIAGNOSTICKÝ ZDRAVOTNICKÝ PROSTŘEDEK IN VITRO

SHRNUTÍ

Antigen K byl poprvé popsán v roce 1946. Je plně vyvinut již při narození a může být vysoce imunogenní. Protilátky anti K způsobují potransfuzní reakce; jejich přítomnost je spojena s hemolytickým onemocněním plodu a novorozence (HDFN).

Distribuce antigenů v %:

Anti K	Anti k	Fenotyp	Kavkazská populace	Afroameričané
+	0	K+k-	0.2	Vzácné
+	+	K+k+	8.8	2.0
0	+	K-k+	91.0	98.0
0	0	K ₀	Velmi zřídka	

Tabulka 1: Frekvence antigenů

URČENÉ POUŽITÍ

Anti K AEK4 (monoklonální IgM) a Anti K MS-56 (monoklonální IgM) jsou určeny pro specifickou a kvalitativní detekci erytrocytů, které nesou příslušné antigeny, a jsou vhodné pro použití technikou sklíčka, bodové destičky, mikrodestičky 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 příslušného antigenu.

INFORMACE O PRODUKTU

Monoklonální protilátky IgM pro detekci antigenů Kell se získávají z lidských hybridomových buněk.

Protilátky se ředí v pufru obsahujícím 0,9% chlorid sodný, hovězí albumin (6%, bez stabilizátoru), EDTA a činidla, která usnadňují resuspenzi krvinkových pelet po centrifugaci. Konzervační látka: azid sodný.

Tato antiséra byla optimalizována pro použití bez dalšího ředění nebo přidávání aditiv.

Číslo šarže a datum použitelnosti jsou uvedeny na štítku zkumavky.

SKLADOVÁNÍ

Testovací činidla skladujte při teplotě 2 °C až 8 °C do data použitelnosti uvedeného na štítku výrobku. Po prvním otevření lahvičky ji 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 vnitřní použití.
4. Nepoužívejte tato činidla po uplynutí doby použitelnosti.
5. Obsah poškozených lahviček zlikvidujte.
6. Testovací séra obsahují < 0,1 % azidu sodného.
7. Při manipulaci s činidly je třeba nosit ochranný oděv, například jednorázové rukavice a laboratorní plášť.
8. Testovací séra byla filtrována přes 0,2µm membránovou kapsli, aby se snížila biologická zátěž.
9. Po otevření lahvičky by měl obsah zůstat funkční 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.

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 PORADENSTVÍ

1. Pozitivní a negativní kontrolní erytrocyty se testují souběžně s každou šarží testů. Pokud kontroly nevykazují očekávané reakce, musí být testy považovány za neplatné.
2. Protože tato činidla neobsahují makromolekulární potenciátory, je velmi nepravděpodobné, že by u buněk 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.

POTŘEBNÝ MATERIÁL A ČINIDLA

- 0,9% roztok NaCl
- Skleněné zkumavky
- Stojan na zkumavky
- Odstředivka na zkumavky
- Odměrné pipety
- Mikrotitrační deska, třepačka desek
- Bodová deska
- Skleněné mikroskopické sklíčko
- Aplikační tyčinka
- Pozitivní a negativní kontrolní erytrocyty
- Chronometr

Instructions for Use

Rev. 002/07/2021

Anti Kell monoclonal

DOPORUČENÉ TECHNIKY
A. ZKUMAVKOVÁ TECHNIKA

1. Připravte 2-4% suspenzi erytrocytů v 0,9% roztoku NaCl.
2. Do označené zkumavky nakapejte 1 objem testovacího činidla a 1 objem suspenze testovaných erytrocytů.
3. Důkladně promíchejte a ihned odstředte 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.
5. Slabé výsledky inkubujte několik 10 minut při pokojové teplotě a poté opakujte body 3. a 4.

B. TECHNIKA NA MIKROTITRAČNÍCH 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 snížilo hromadění červených krvinek na minimum. Doporučujeme používat jamky tvaru "U" z plastového materiálu.

1. Do příslušných jamek nakapejte 1 objem 22% roztoku 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. Obsah jamek s BSA vyhoďte 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 nakapejte 30 µl příslušného antiséra.
3. Přidejte 30 µl předem připravené suspenze testovaných erytrocytů.
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).
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 TECHNIKA

1. Z plné krve připravte 35-45% suspenzi testovaných erytrocytů.

2. Na sklíčko nakapejte 1 objem antiséra a jeden objem suspenze testovaných erytrocytů.
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. TECHNIKA NA BODOVÝCH DESTIČKÁCH

1. Z plné krve připravte 35-45% suspenzi testovaných erytrocytů nebo 10% suspenzi testovaných erytrocytů v 0,9% roztoku NaCl.
2. Na bodovou destičku nakapejte 1 objem antiséra + 1 objem suspenze testovaných erytrocytů.
3. Pomocí čisté aplikační tyčinky obsah 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 vysycháním.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ TESTŮ

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

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

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
 - Odchyly od doporučených technik
5. Při použití techniky bodových destiček a vzorků plné krve může občas dojít k tvorbě rouleaux, která 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 plazmocytomem (vysoký obsah bílkovin, změněné složení bílkovin), onkologickými poruchami (abnormální hemogram) a poruchou koagulace. Vzorky krve těchto pacientů musí být vždy vyšetřeny zkumavkovou technikou. Vzorky od pacientů trpících určitými onemocněními mohou vykazovat falešně pozitivní/falešně negativní výsledky. Vzorky pupečnickové krve kontaminované Whartonovým železím mohou vykazovat falešně pozitivní reakce. Monoklonální činidla připravená z lidských hybridomových buněk nepoužívejte se séry AGH určenými pro nepřímý Coombsův test
6. **Pro stanovení antigenu Kell používejte vždy dvě různá testovací činidla v souladu s Pokyny pro hemoterapii, 4.4.8, 2017.**



Instructions for Use

Rev. 002/07/2021

Anti Kell monoclonal

STABILITA REAKCÍ

1. Všechny testy ve zkumavkách 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
- 4.

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 diagnostika anti K 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 specifitou : > 99 %.

VYHLÁŠENÍ

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

BIBLIOGRAFIE

1. Coombs, R.R.A, Mourant A, E, Race, R.R. Lancet, 1946: 264-266.
2. Levine P, Backer M, Ponder R. A new human hereditary blood property (Cellano) present in 99.8% of all bloods. Science 1949; 109:464.
3. Brecher ME, ed. Technical manual, 14th ed. Bethesda MD: American Association of Blood Banks, 2002.
4. Crawford MN, Gottman FE, Gottmann CA, Microplate system for routine use in blood bank laboratories. Transfusion 1970; 10:258

INDEX SYMBOLŮ

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

KATALOGOVÁ ČÍSLA

REF	Quantity
10210 Anti- Kell AEK-4	1 x 1 x 10 ml 5 x 1 x 10 ml 10 x 1 x 10 ml 50 x 1 x 10 ml
10205 Anti- Kell AEK-4	1 x 1 x 5ml 5 x 1 x 5 ml 10 x 1 x 5 ml 50 x 1 x 5 ml
10110 Anti-Kell MS-56	1 x 1 x 10 ml 5 x 1 x 10 ml 10 x 1 x 10 ml 50 x 1 x 10 ml
10105 Anti-Kell MS-56	1 x 1 x 5ml 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

