

 CE-Immundiagnostika GmbH Karl-Landsteiner-Str. 6, D-69151 Neckargemünd Tel.: +49 6223-80094 00 Fax: +49 6223-80094 99 www.ce-immundiagnostika.com		
Informace k použití		
Rev. 001/05-2021		
Popis	REF	
Anti-S Klon: MS-94 2 ml	24102	
Anti-S Klon: MS-94 5 ml	24105	

IN VITRO DIAGNOSTIKUM

SHRNUTÍ

V roce 1947 Walsh a Montgomery objevili Anti-S protilátku a pojmenovali související antigen S. V následujícím období Race a Sanger popsali dědičnost podle Mendelových zákonů a silné spojení se sousedním rodem MN. Protilátky proti krevní skupině S mohou vést k hemolytické nemoci novorozence (MHN) nebo hemolytickým transfúzním reakcím. Účinek dávky je typický pro tento antigen.

URČENÉ POUŽITÍ

Monoklonální anti-S (lidský IgM, klon MS-94) se používá pro specifickou kvalitativní detekci příslušného antigenu na erytrocytech a je vhodný pro sklíčkové testy, testy na bodových destičkách, mikrotitračních destičkách a ve zkumavkách. Uvedené testovací metody jsou založeny na principu hemaglutinace. Po přidání erytrocytů k testovacím činidlům dojde ke specifické reakci antigen-protilátka, pokud je na erytrocytech přítomen odpovídající antigen. Tuto reakci lze vizuálně rozpoznat podle aglutinace erytrocytů. 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-S se získává z lidských hybridomových buněčných linií. Protilátky jsou suspendovány v pufovaném 0,9% roztoku NaCl, který obsahuje hovězí albumin (bez stabilizátoru), EDTA a činidla, která umožňují snadnější resuspenzi 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 testovacích činidel je skladujte těsně uzavřené při teplotě 2 °C - 8 °C.

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ

Vzorky krve by měly být odebrány do zkumavek s EDTA nebo citrátem 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 zkumavky a mikrotitrační destičky. Pro sklíčkový test se používá plná krev (35-45% suspenze erytrocytů), pro test na mikrotitračních destičkách plná krev nebo 10% suspenze erytrocytů 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 k samotestování.
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 ochranný oděv, například jednorázové rukavice a laboratorní plášť.
9. Testovací séra byla filtrována přes 0,2µm kapsli, aby se snížila biologická zátěž.
10. Po otevření by měl být obsah spotřebován do data spotřeby. Pokud by se po otevření zakalil nebo kontaminoval, měl by být obsah 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 rozliti 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. 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
- Nosič na zkumavky
- Odstředivka na zkumavky
- Mikrotitrační deska, třepačka mikrodestiček
- Bodová deska
- Skleněná mikroskopická sklíčka
- Aplikační tyčinka
- Pozitivní a negativní kontrolní erytrocyty
- Stopky

DOPORUČENÉ TECHNIKY

A. METODA: ZKUMAVKOVÝ TEST

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

B. METODA: TECHNIKA NA MIKROTITRAČNÍCH DESTIČKÁCH

	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	
Informace k použití		
Rev. 001/05-2021	24102 Anti-S 2 ml 24105 Anti-S 5 ml	

Předúprava mikrotitračních destiček (MTP):

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

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 a obsah jamek MTP umístěte 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 osušte, 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 - 4% 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. Odstředějte 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 kontroly validovány. Použití dalších vizuálních pomůcek, jako jsou testovací čtecí zrcátka nebo lupy, může čtení usnadnit.

C. METODA: SKLÍČKOVÁ METODA

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 skleněnou 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 při sušení; test musí být vyřazen.

D. METODA: TECHNIKA BODOVÝCH DESTIČEK

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 vysušení artefaktů.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

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

Diskrepance: Pokud výsledky stanovení antigenu na erytrocytech nesouhlasí se stanovením aloprotiátů krevní skupiny, musí být provedeny další testy.

OMEZENÍ

1. Čerstvě neodebraná krev může vést k horším výsledkům. Doporučuje se krev stará maximálně dva dny.
2. Síla reakce by měla být 2+ až 4+, slabší reakce by se měly znovu zkontrolovat s delší inkubační dobou.
3. Falešně pozitivní nebo falešně negativní výsledky mohou být způsobeny:
 - Kontaminace zkoušeného materiálu
 - Nesprávné skladování, nesprávná koncentrace erytrocytů, nesprávná doba inkubace, nesprávná teplota.
 - Nesprávné odstředování
 - Odchylky 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. Enzymové 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 S-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 zaschnutí činidla.
3. Zkoušky je třeba považovat za neplatné, pokud byly provedeny při jiných než doporučených teplotách.

SPECIFICKÉ VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

1. Antiséra byla testována metodou před uvolněním, 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.

VYLOUČENÍ ODPOVĚDNOSTI

1. Uživatel je odpovědný za použití jiných než doporučených metod.

	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	
Informace k použití		
Rev. 001/05-2021		24102 Anti-S 2 ml 24105 Anti-S 5 ml

2. Jakékoli odchylky od doporučených technik by měly být před použitím validovány.

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		Skladování + 2 °C až + 8 °C
	Datum expirace		Výrobce
	Informace k použití		

REFERENČNÍ ČÍSLA

Klon produktu REF	Možné přepravní množství
24102 Anti-S Klon: MS-94	1 x 1 x 2 ml 5 x 1 x 2 ml 10 x 1 x 2 ml 50 x 1 x 2 ml
24105 Anti-S Klon: MS-94	1 x 1 x 5 ml 5 x 1 x 5 ml 10 x 1 x 5 ml 50 x 1 x 5 ml