

 CE-Immundiagnostika GmbH Karl-Landsteiner-Str. 6, D-69151 Neckargemünd Tel: +49 6223-80094 00 Fax: +49 6223-80094 99 www.ce-immundiagnostika.com		
Návod k použití		
Rev. 002/07-2021		
Popis	REF	
Anti-s Klon: P3BER 2 ml	25102	
Anti-s Klon: P3BER 5 ml	25105	

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 genem MN. Frekvence antigenu S je 55 % a antigenu s 89 %. V černošské populaci se vyskytuje 31 % antigenu S a 93 % antigenu s.

Protilátky proti krevní skupině s mohou vést k hemolytickému onemocnění novorozenců (MHN) nebo hemolytickým transfúzním reakcím. Pro tento antigen je typický poměr dávky a účinku.

URČENÉ POUŽITÍ

Monoklonální reagens anti-s (lidský IgM, klon P3BER) se používá ke specifické kvalitativní detekci příslušného antigenu na erytrocytech a je vhodné pro sklíčkové, bodové, mikrotitrační a zkumavkové testy. Uvedené testovací metody jsou založeny na principu hemaglutinace. Po přidání erytrocytů k testovacím reagensům 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 reagens 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 resuspendaci sedimentu krvinek po odstředění. Konzervační látka: Na azid (<0,1 %).

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

SKLADOVÁNÍ

Testovací reagensie lze používat až do data expirace uvedeného na štítku, pokud jsou skladovány při teplotě 2 °C - 8 °C. Po prvním otevření testovacích reagensií je skladujte těsně uzavřené v lahvičce při teplotě +2 °C až +8 °C.

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ

Vzorky krve by měly být odebrány 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 až +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 zkumavkový a mikrotitrační test. 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. Reagensie jsou určeny pouze pro použití v diagnostických laboratořích in vitro.
2. Tyto reagensie jsou určeny pro použití autorizovanými pracovníky vyškolenými v sérologických technikách.
3. Tyto reagensie nejsou určeny pro sebetestování.

4. Nepoužívejte tyto reagensie po uplynutí expirační doby.
5. Obsah poškozených lahviček zlikvidujte.
6. Mírný zákal nemá vliv na reaktivitu produktu.
7. Testovací reagensie obsahují <0,1 % azidu sodného jako konzervační látku.
8. Při manipulaci s reagensiemi je nutno nosit ochranné prostředky, například jednorázové rukavice a laboratorní plášť.

9. Testovací reagensie byly filtrovány přes 0,2µm membránovou kapsli, aby se snížila biologická zátěž.

10. Po otevření by měl být obsah spotřebován do data spotřeby. 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 reagensie 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. Pokud kontroly nevykazují očekávané reakce, musí být testy považovány za neplatné.
2. Protože tyto reagensie neobsahují makromolekulární potenciátory, je velmi nepravděpodobné, že by u krvinek potažených IgG docházelo k falešně pozitivním nebo falešně negativním reakcím.
3. 1 objem obsahuje 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 reagensie používají.
5. Tyto reagensie by se měly 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
- Míchací 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 vloží 1 kapka reagens a 1-2 kapky suspenze erytrocytů.
3. Směs dobře promíchejte a ihned odstředíte 1 minutu při 400 g (nebo při jiné rychlosti s odpovídajícím časem).
4. Okamžitě odečtete výsledek: uvolněte peletku erytrocytů ze dna zkumavky jemným protřepáním a makroskopicky odečtete a zaznamenejte sílu aglutinace.

	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. 002/07-2021	25102 Anti-s 2 ml 25105 Anti-s 5 ml	

B. METODA: TECHNIKA NA MIKROTITRAČNÍCH DESTIČKÁCH

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. BSA z jamek MTP odsajte a odstraňte 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 MTP vysušte.

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

TESTOVACÍ POSTUP:

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

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

C. METODA: SKLÍČKOVÁ TECHNIKA

1. Pro sklíčkový test se používá plná krev (35-45% suspenze erytrocytů).
2. Na sklíčko naneste 1 kapku testovacího reagensu 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. Výsledek odečtěte makroskopicky po maximálně 2 minutách a zaznamenejte jej.
6. V případě nesprávné manipulace nebo při příliš dlouhé inkubační době může dojít k artefaktům způsobeným vysycháním; test musí být vyřazen.

D. METODA: TECHNIKA NA BODOVÝCH DESKÁCH

1. Pro test se používá plná krev (35-45% suspenze erytrocytů) nebo 10% suspenze erytrocytů v 0,9% roztoku NaCl.
 2. Na bodovou desku naneste 1 kapku testovacího reagensu + 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 vysycháním.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

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

OMEZENÍ

1. U krve, která nebyla čtvrtě odebrána, mohou být slabší výsledky. Doporučuje se testovat krev starou maximálně dva dny.
2. Síla reakce by měla být 2+ až 4+, slabší reakce by se měly znovu zkontrolovat s použitím 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.
 - Nesprávnou centrifugací
 - Odchylkami 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 antigenem.
6. Při pokojové teplotě > +20 °C se doporučuje reagens předem ochladit na +2 °C až +8 °C.
7. **Podle Pokynů pro hemoterapii, kapitola 4.4.8, 2017, se ke stanovení s antigenem musí vždy použít dvě různá testovací reagentie.**

STABILITA REAKCÍ

1. Testy ve zkumavkách a na mikrotitračních destičkách odečítejte ihned po odstředění.
2. Testy na sklíčko by měly být odečteny do 2 minut, aby byla zajištěna specifita v případě negativního výsledku, který 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. Reagentie byly před uvolněním testovány metodou, která vychází z pokynů GTS, protože nejsou vyžadovány žádné jiné specifikace.
2. Každá šarže monoklonálních reagentií je před uvolněním testována proti panelu antigen-pozitivních erytrocytů, aby byla zajištěna dobrá reaktivita.
3. Specifita monoklonálních reagentií 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. Testy byly provedeny na více než 500 vzorcích se 100% citlivostí a specifitou.

VYLOUČENÍ ODPOVĚDNOSTI

1. Za použití jiných než doporučených metod je odpovědný uživatel.
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. 002/07-2021		25102 Anti-s 2 ml 25105 Anti-s 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 Diagnosticum
	Kód produktu		Skladování + 2 °C bis + 8 °C
	Datum expirace		Výrobce
	Návod k použití		

ČÍSLA PRODUKTŮ

Klon produktu REF	Balení
25102 Anti- Klon: P3BER	1 x 1 x 2 ml
	5 x 1 x 2 ml
	10 x 1 x 2 ml
	50 x 1 x 2 ml
25105 Anti- Klon: P3BER	1 x 1 x 5 ml
	5 x 1 x 5 ml
	10 x 1 x 5 ml
	50 x 1 x 5 ml