

NÁVOD K POUŽITÍ

Anti-C, -c, -E, -e, -Kell monoklonal (IgM)

CE₀₁₂₃

Anti-C^w monoklonal (IgM)

CE

Klony:

Anti-C	MS24	MS273
Anti-C^w	MS110	
Anti-c	MS33	c1.16C.15A
Anti-E	MS258	E1.16C.10F
Anti-e	MS62/69	MS16/21/63
Anti-Kell	MS56	K1.1.21HM.EF

DIAGNOSTIKA IN VITRO

1. Popis produktu

Anti-C, -C^w, -c, -E, -e, -Kell monoklonal (IgM) se připravují z monoklonálních lidských IgM protilátek. Označení klonů je uvedeno na etiketě testovacích reagensí.

Anti-C, -C^w, -c, -E, -e, -Kell monoklonal (IgM) slouží k průkazu korespondujících antigenů na erytrocytech a jsou vhodné pro zkumavkový i sklíčkový test.

Ke stabilizaci obsahují testovací reagentie hovězí albumin a vysokomolekulární substance. Jako konzervační prostředek je použit < 0,1% NaN₃.

Reaktivita každé šarže je kontrolována zadanými testovacími metodami s rozdílnými suspenzemi erytrocytů, které jsou pro příslušný antigen pozitivní. Titr uvedený na etiketách testovacích reagensí byl vypočten po provedení zkumavkového testu se suspenzemi testovacích erytrocytů a čerstvými suspenzemi erytrocytů, které jsou pozitivní a heterozygotní pro korespondující antigen. Specifita každé dávky je přezkoušena zkumavkovým testem s panelem erytrocytů, které jsou právě korespondující antigen negativní.

2. Princip testu

Uvedené testovací metody jsou založeny na principu hemaglutinace. Po přidání erytrocytů k monoklonálním testovacím reagensím dochází ke specifické reakci antigen-protilátka v tom případě, kdy se korespondující antigen na erytrocytech vyskytuje. Tato reakce je dobře viditelná aglutinací erytrocytů. Nedojde-li k aglutinaci, nasvědčuje to negativnímu výsledku a prokazuje s ohledem na vymezení testovací metody nepřítomnost korespondujících antigenů.

3. Uchovávání a stabilita

Testovací reagentie skladujte při teplotách 2...8 °C. Reagentie před použitím vytemperujte na pokojovou teplotu (18...25 °C) a bezprostředně po použití opět uchovávejte při teplotě 2...8 °C. Testovací reagentie jsou při dodržení těchto skladovacích podmínek použitelné po prvním otevření až do data uvedeného na etiketě. Po tomto datu je nelze používat.

4. Příprava vzorků

Vzorky krve se shromažďují podle obvyklých laboratorních postupů. Pro testování vyhovují vzorky krve s i bez antikoagulačních činidel (EDTA, heparin, citrát). Nepoužívat hemolytické vzorky! Testovat se má pokud možno ihned, bez časového prodloužení. Vzorky krve, které nemohou být ihned testovány je nezbytné uchovávat při teplotě 2...8 °C.

Při dlouhodobém skladování erytrocytů před testováním se mohou antigeny erytrocytů změnit, což může vést k zeslabení reakce (viz bod 9. Důležité odkazy/hranice metody).

5. Dodatečné potřebné materiály

Izotonický fyziologický roztok NaCl

Podložní sklíčka pro určování krevního typu

Reagenční zkumavky (75x12mm)

Jednorázové Pasteurovy pipety

Centrifuga

6. Provedení testu

Test na sklíčku

1. Z vyšetřovaných erytrocytů připravte cca 10% suspenzi v izotonickém roztoku NaCl.
2. Na sklíčku promíchejte 1 kapku činidla a 1 kapku suspenze erytrocytů.
3. Inkubujte 30 minut při pokojové teplotě.
4. Za stálého opatrného kroužení sklíčkem makroskopicky odečtěte případnou aglutinaci.

Zkumavkový test

1. Připravte cca 3-5% suspenzi vyšetřovaných erytrocytů v izotonickém roztoku NaCl.
2. 1 kapku testovacího činidla a 1 kapku suspenze erytrocytů dobře promíchejte v předem označené zkumavce a inkubujte 5 minut při pokojové teplotě.
3. Centrifugujte 1 minutu při 150 x g (1000 ot./min.) nebo 20 sekund při 1000 x g (3000 ot./min.).
4. Při opatrném poklepávání na zkumavku makroskopicky odečtěte aglutinaci.
5. Pokud je výsledek slabý nebo nejasný, inkubujte zkumavku 30 minut při pokojové teplotě.
6. Centrifugujte 1 minutu při 150 x g (1000 ot./min.) nebo 20 sekund při 1000 x g (3000 ot./min.).
7. Při opatrném poklepu na zkumavku znovu makroskopicky odečtěte aglutinaci.

Pokyny: Test nehodnoťte mikroskopicky.

Kontroly, tj. erytrocyty, které jsou pozitivní k příslušnému antigenu (zejména heterozygotní buňky), a erytrocyty, které jsou k příslušnému antigenu negativní, stejně jako Rh kontrola pro monoklonální testovací reagentie a vlastní kontrola pro vyšetření autoaglutinace, musí být postaveny vždy jako paralelní vyšetření. Určení antigenů se má provést nejméně dvěma různými testovacími reagentiemi. Při použití dvou monoklonálních testovacích reagentií se mají zvolit dva rozličné klony.

7. Interpretace výsledků

Aglutinace erytrocytů s testovacími reagensii dokazuje přítomnost příslušného korespondujícího antigenu (viz bod 9. Důležité odkazy/hranice metody). Nedojde-li k aglutinaci, je to důkazem nepřítomnosti korespondujícího antigenu (viz bod 9. Důležité odkazy/hranice metody).

Nedojde-li k aglutinaci známé pozitivní suspenze erytrocytů nebo dojde-li k aglutinaci známé negativní suspenze erytrocytů nebo Rh-kontroly monoklonálních testovacích reagensii nebo vlastní kontroly, nemůže být výsledek testu hodnocen.

Získáme-li při detekci antigenu dvěma rozličnými testovacími reagensii opačné výsledky, musí se vyšetření opakovat s použitím jiné testovací metody a/nebo další testovací reagensie. Při interpretaci výsledků musí být brány v úvahu omezení metody (viz bod 9. Důležité odkazy/omezení metody).

8. Stabilita reakcí

Všechny výsledky testování se musí vyhodnotit bezprostředně po skončení testu.

9. Důležité odkazy/omezení metody

1. Testovací činidla jsou určena pouze k diagnostickému použití in vitro a smí je používat pouze vyškolený odborný personál.
2. Zřídka může dojít in vivo ke spontánním a nespecifickým aglutinacím erytrocytů s imunoglobuliny. Ke stejnému fenoménu může docházet také při vyšetřování krevních skupin systému AB0 a jiných systémů krevních skupin. Jako kontrola se proto má vždy použít Rh kontrola monoklonálních testovacích reagensii a autologní sérum pacienta. Pokud jsou výsledky kontrolních testů také pozitivní, nelze výsledek interpretovat a uzavřít vyšetření krevních skupin.
3. Použití suspenze nepropraných erytrocytů v plasmě nebo v séru může přispívat k falešně pozitivním reakcím. Jde o nespecifickou aglutinaci, kterou mohou způsobit autoprotilátky, nespecifické chladové protilátky, dysproteinemie projevující se tvorbou rouleaux. Použitím dobře propraných erytrocytů lze takovéto falešně pozitivním reakcím zabránit.
4. Pozdní odečtení testu, silné třepání sedimentem erytrocytů a jiné odchylky od zadaného provedení testu mohou vést k slabším nebo falešně negativním výsledkům.
5. Testovací činidla se nemají používat k testování enzymy ošetřených erytrocytů.
6. Hemolytické vzorky se nemají používat.
7. K vyloučení falešně pozitivních výsledků nemá být činidlo při testování příliš chladné. Reagensie i vyšetřované erytrocyty stejně jako kontrolní materiály mají být před provedením testu vytemperovány na pokojovou teplotu.
8. Falešně negativní nebo neočekávaně slabé reakce mohou být také způsobeny dlouhým skladováním a/nebo nevhodnými skladovacími podmínkami erytrocytů.
9. Nevhodné techniky, nesprávná centrifugace nebo inkubace, nečisté zkumavky nebo sklíčka, nesprávná hodnota pH izotonického roztoku NaCl a/nebo kontaminované materiály a vzorky mohou vést k falešně negativním nebo falešně pozitivním výsledkům.
10. Bezpodmínečně nutné je zabránit mikrobiální kontaminaci testovacích reagensii, která může zkrátit použitelnost produktů a vést k falešným výsledkům. Zakalené nebo jinak viditelně změněné testovací reagensie, což může nasvědčovat mikrobiální kontaminaci, nelze použít.
11. Při interpretaci výsledků se má vždy zohlednit provedení transfuzí nebo transplantací, rovněž se má vzít v úvahu léková anamnéza.

12. Některé erythrocyty mohou mít jen slabé antigeny nebo Rh-varianty, které s testovacími reagensy poskytují slabší reakci a nebo na sklíčkovém testu nemusí dojít k žádné reakci. Podrobnější výsledky a jejich confirmaci lze získat použitím **BAGene** (SSP-soupravy k detekci Rh-vlastností založené na molekulárně-genetické bazi).
13. Klon MS62/69 nereaguje s některými vzácnými e-variantami. Na rozdíl od něj klon MS 16/21/63 vykazuje slabší, ale jasně pozitivní reakce s těmito e-antigeny. Je tudíž doporučeno používat oba klony při určování antigenů e. Negativní výsledek s klonem MS26/69 a pozitivní výsledek s klonem MS 16/21/63 ukazuje na přítomnost vzácných e-variant.
14. Klon MS24 a klon MS237 reaguje s C^w a C^x a může poskytovat slabší reakce s C-antigeny jedinců typu R_2R_z . Bylo hlášeno, že klon MS24 neaglutinuje s červenými krvinkami velmi vzácného typu rG, ačkoliv klon MS237 s erythrocyty typu rG aglutinuje.
15. Klon E1.16C.10F nereaguje s E^w , E^{weak} a jinými řídce se vyskytujícími-variantami. Klon MS258 reaguje s E^w -antigenem. Doporučuje se proto k určení antigenu E použít oba klony. Negativní reakce klonu E1.16.120F a pozitivní reakce klonu MS258 nasvědčují přítomnosti E^w nebo jiné vzácné E-varianty.

10. Výsledky provedených testů

Anti-C klon MS24, a Anti-C, klon MS237

Zkumavkovým a sklíčkovým testem bylo testováno 285 vzorků dárců a příjemců krve a krve novorozenců oběma BAG-Anti-C-testovacími reagensy, klon MS24 a monoklonální Anti-C-testovací reagensy jiného výrobce (viz tabulka 1). Všechny testy prokázaly 100% shodu mezi testovacími činidly BAG a srovnávaným činidlem.

374 vzorků od dárců krve, příjemců krve a novorozenců bylo testováno sklíčkovým i zkumavkovým testem pomocí BAG-Anti-C klon MS237 a také Bag-Anti-C klon MS24 (viz tabulka 1). Všechny testy prokázaly 100% shodu mezi testovacími činidly BAG a srovnávaným činidlem.

Klon MS24 a klon MS237 reagují s C^w a C^x a může poskytovat slabší reakce s C-antigeny jedinců typu R_2R_z . Bylo pozorováno, že klon MS24 neaglutinuje červené krvinky velmi vzácného typu rG, ačkoliv klon MS273 s velmi vzácnými krvinkami typu rG aglutinuje.

Anti- C^w , klon MS110

Zkumavkovým a sklíčkovým testem bylo testováno 105 vzorků dárců a příjemců krve a krve novorozenců testovacím činidlem BAG-Anti- C^w , klon MS110 a monoklonální Anti- C^w -testovací reagensy jiného výrobce (viz tabulka 1). Všechny testy prokázaly 100% shodu mezi testovacím činidlem BAG a srovnávaným činidlem.

Anti-c, klon MS33, a Anti-c, klon c1.16C.15A

Zkumavkovým a sklíčkovým testem bylo testováno 304 vzorků dárců a příjemců krve a krve novorozenců oběma BAG-Anti-c-testovacími reagensy, klon MS33 a klon c1.16C.15A a monoklonální Anti-c-testovací reagensy jiného výrobce (viz tabulka 2). Všechny testy prokázaly 100% shodu mezi testovacími činidly BAG a srovnávaným činidlem.

Anti-E, klon E1.16C.10F, a Anti-E, klon MS258

Zkumavkovým a sklíčkovým testem bylo testováno 294 vzorků dárců a příjemců krve a krve novorozenců testovacím činidlem BAG-Anti-E, klon MS258 a monoklonální Anti-E-testovací reagensy jiného výrobce (viz tabulka 2). Všechny testy prokázaly 100% shodu mezi testovacím činidlem BAG a srovnávaným činidlem.

Zkumavkovým a sklíčkovým testem bylo testováno 299 vzorků dárců a příjemců krve a krve novorozenců testovacím činidlem BAG-Anti-E, klon E1.16C.10F a monoklonální Anti-E-testovací reagensí jiného výrobce (viz tabulka 2). 5 vzorků, charakterizovaných jako E^w, E^{weak} a E-varianty reagovalo s BAG testovacím činidlem negativně, srovnávací činidlo reagovalo s E^{weak} buňkami rovněž negativně. Ve všech ostatních vzorcích byly výsledky s BAG testovacím činidlem a srovnávacím činidlem identické.

Klon E1.16C.10F nereagoval s E^w, E^{weak} ani s vzácnými E-variantami. Klon MS258 reagoval s E^w-antigenem.

Anti-e, klon MS16/21/63, a Anti-e, klon MS62/69

Zkumavkovým a sklíčkovým testem bylo testováno 263 vzorků dárců a příjemců krve a krve novorozenců oběma BAG-Anti-e-testovacími reagensími, klon MS16/21/63 a klon MS62/69 a monoklonální Anti-e-testovací reagensí jiného výrobce (viz tabulka 2). Jeden vzorek ve zkumavce reagoval se srovnávacím činidlem negativně, s oběma BAG testovacími činidly jednoznačně pozitivně. O dárci tohoto vzorku bylo známo základě dřívějších vyšetření různými činidly, že má pozitivní e-antigen. Ve všech ostatních vzorcích byly výsledky s BAG testovacím činidlem a srovnávacím činidlem identické.

Klon MS26/69 nereaguje s některými vzácnými e-variantami. Oproti tomu ukazuje klon MS16/21/63 ukazuje sice slabší, ale jasně pozitivní reakci s těmito e-variantami.

Anti-Kell, klon MS56, a Anti-Kell, klon K1.1:21.HMEF

Zkumavkovým a sklíčkovým testem bylo testováno 267 vzorků dárců a příjemců krve a krve novorozenců oběma BAG-Anti-Kell-testovacími reagensími, klon MS56 a klon K1.1.21HMEF a monoklonální Anti-Kell-testovací reagensí jiného výrobce (viz tabulka 1). 6 vzorků reagovalo na sklíčku s BAG reagensími pozitivně (1+ až 2+), se srovnávacím činidlem negativně. Ve zkumavkovém testu se mohlo všech 6 vzorků jak s BAG reagensími tak se srovnávacím činidlem hodnotit jednoznačně jako Kell pozitivní. Všechny ostatní vzorky prokázaly identické výsledky s BAG testovacími i srovnávacím činidlem.

Tabulka 1	Anti-C		Anti-C ^w	Anti-Kell	
	MS24	MS237	MS110	MS56	K1.1.21.HM.EF
Testované vzorky	285	374	105	267	267
Z toho:					
Pozitivní pro korespondující antigen	208	242	5	18	18
Negativní pro korespondující antigen	77	132	100	249	249
Krve s EDTA	76	14	20	76	76
Krve s heparinem	58	270	0	58	58
Krve s citrátem	123	79	83	102	102
Krve krevních skupin A, B a AB	123	194	57	123	123
Dárci krve	217	302	236	199	199
Klinické vzorky	50	39	20	50	50
Novorozenci	14	22	6	18	18

Tabulka 2	Anti-c		Anti-E		Anti-e	
	MS33	c1.16C.15A	MS258	E1.16C.10F	MS62/69	MS16/21/63
Testované vzorky	304	304	294	299	263	263
Z toho						
Pozitivní pro korespondující antigen	251	251	87	87	256	256
Negativní pro korespondující antigen	53	53	207	212	7	7
Krve s EDTA	76	76	86	86	76	76
Krve s EDTA	67	67	58	58	58	58
Krve s heparinem	93	93	82	82	101	101
Krve s citrátem	151	151	143	143	121	121
Krve krevních skupin A, B a AB	236	236	226	226	195	195
Dárci krve	50	50	50	50	50	50

Klinické vzorky	18	18	18	18	18	18
Novorozenci						

Reagencie BAG v systému OrthoBioVue™

Vzorky dárců a příjemců krve a krve novorozenců byly testovány v systému Ortho BioVue™ testovacími činidly BAG. Testovací reagencie byly pipetovány do BioVue™ Reverse Diluent kazety pomocí automatu AutoVue™ a byly testovány ve srovnání s monoklonálními reagencemi v BioVue™ Rh sub-groups/Kell kazetě. Výsledky testů ukázaly 100% shodu mezi BAG reagencemi a reagencemi v BioVue™ Rh sub-groups/Kell kazetě. (testované reagencie a počty vzorků viz tab. 3)

241 vzorků dárců a příjemců krve a krve novorozenců bylo testováno v systému Ortho BioVue™ testovacím činidlem BAG-Anti-Kell, klon K1.1.21HMEF v Ortho BioVue systému.. Pro srovnání se vzorky testovaly gelovou technologií jiného výrobce. Jeden vzorek reagoval s BAG testovacím činidlem v Ortho BioVue systému nezřetelně. Vyšetření se nemohlo opakovat pro nedostatečné množství vzorku. Všechny ostatní vzorky prokázaly identické výsledky s BAG testovacím činidlem v Ortho BioVue systému se srovnávacím systémem.

Tabulka 3	Anti-C		Anti-c		Anti-E		Anti-e		Anti-kell	
	MS 24	MS 237	MS 33	c1. 16C. 15A	E1. 16C. 10F	MS 258	MS 16 21 63	MS 62 69	K1.1 21 HM EF	MS 56
Testované vzorky:	135	146	135	122	135	122	135	122	135	122
Z toho:										
Pozitivní pro korespondující antigen	80	104	111	99	40	34	130	117	11	10
Negativní pro korespondující antigen	55	42	24	23	95	88	5	5	124	112
Krve s EDTA	135	146	135	122	135	122	135	122	135	122
Krve krevních skupin A, B a AB	56	70	56	53	56	53	56	53	56	53
Dárci krve	106	99	106	95	106	95	106	95	106	95
Klinické vzorky	16	40	19	19	19	19	19	19	19	19
Novorozenci	10	7	10	8	10	8	10	8	10	8

11. Varování a opatření k likvidaci odpadu

Výchozí lidský materiál pro výrobu testovacích reagentů je testován na HBsAg a protilátky proti HIV a HCV. Používá se pouze negativní materiál. Všechny pro test použité materiály

mají ale biologický původ, zejména k testování určené erythrocyty jsou tedy považovány za potenciálně infekční, neboť žádná testovací metoda nemůže prokázat všechny původce infekčních nemocí. Proto se při práci s biologickým materiálem doporučuje dodržovat přiměřená bezpečnostní opatření. (nepipetovat ústy, nosit ochranné rukavice při provádění testu; dezinfekce rukou po provedení testu).

Biologické materiály se musí před odstraněním inaktivovat (např. autoklávováním), pomůcky k jednomu užití se po upotřebení autoklávují nebo spalují.

Rozlitý potenciálně infekční materiál se má neprodleně odstranit nasákovou papírovou rouškou a kontaminovaná plocha se dezinfikuje stanoveným dezinfekčním prostředkem nebo 70% etanolem. Použitá papírová rouška se musí před likvidací inaktivovat (např. autoklávováním).

Testovací reagentie obsahují jako konzervační prostředek NaN_3 , což je látka ohrožující zdraví je-li inhalována nebo požitá nebo v kontaktu s kůží a sliznicí. Koncentrace obsažená v testovacích reagentiích od $< 0,1\%$ NaN_3 není zdraví nebezpečná. Měď a olovo, které jsou v některých potrubích použity, mohou s azidem tvořit explozivní sole. Množství azidu v reagenti jsou malá, přesto se má materiál, který přišel do styku s azidem bohatě opláchnout vodou.

Odstranění všech vzorků a testovacích materiálů se má provést podle předepsaných směrnic.

12. Velikosti balení

viz ceník




13. Literatura

Applied Blood Group Serology, PD Issitt and DJ Anstee

4th edition, Montgomery Scientific, Durham SC, 1998

Technical manual of the American Association of Blood Banks, 15th ed., 2005

Návod k použití	Platný od : srpen 2008
-----------------	------------------------

Vysvětlení symbolů na etiketách/ Erklärung der Symbole auf den Etiketten / <i>Explanation of symbols used on Labelling</i>	
IVD	Diagnostikum in vitro/ In-vitro-Diagnostikum / <i>For in vitro diagnostic use</i>
	Skladovat při teplotě / Lagertemperatur / <i>Storage temperature</i>
LOT	Šarže číslo / Lot-Nr. / <i>Batch code</i>
	Použitelné do / Verwendbar bis / <i>Use by</i>
REF	Katalogové číslo / Bestell-Nr. / <i>Catalogue number</i>
	Nahlédněte do návodu k použití / Gebrauchsinformation beachten / <i>Consult instructions for use</i>
MONOCL IGM	Monoklonální IgM / Monoklonal IgM / <i>Monoclonal IgM</i>
CLONE	Klon / Klon / <i>Clone</i>
ORIG HUM	Původ: humánní / Ursprung: human / <i>Origin: human</i>
CONT NaN₃	Obsah azidu sodného / Enthält Natriumazid / <i>Contains Natriumazide</i>
TIT	Titr / Titer / <i>Titer</i>

BAG Health Care GmbH,
Na Hlinách 17, 182 00 Praha 8
tel.: 286 840 508, fax: 286 840 510
E-mail : info@bag-healthcare.cz
www.bag-healthcare.cz