

CZ NÁVOD K POUŽITÍ

CE 0123

Anti-A (AB01)
Anti-B (AB02)
Anti-A,B (AB01,2)
monoklonální (IgM)

Klony: **Anti-A: F98 7C6**
 Anti-B: F84 3D6; F97 2D6
 Anti-A,B: F98 7C6; F84 3D6; F97 2D6; F125 7B6

Anti-A	REF	6790	1 x 10 ml	REF	6791	10 x 10 ml
Anti-B	REF	6793	1 x 10 ml	REF	6794	10 x 10 ml
Anti-A,B	REF	6796	1 x 10 ml	REF	6797	10 x 10 ml

Elektronický návod k použití na www.bag-diagnostics.com

DIAGNOSTIKA IN VITRO

1. Popis produktu

Anti-A, Anti-B a Anti-A,B se připravují z monoklonálních myších IgM protilátek. Označení klonů je uvedeno na etiketě testovacích reagensí. Uvedené monoklonální reagensie jsou určeny k použití v přímém aglutinačním testu ve zkumavkách a na sklíčkách a poskytují specifický kvalitativní test pro detekci odpovídajících antigenů (aglutinogenů) A a/nebo B na lidských erythrocytech. Ředící roztok použitý pro tyto nízko-proteinové reagensie obsahuje NaCl, BSA, pH pufr a EDTA. Jako konzervační činidlo je použit 0,1% azid sodný NaN₃.

Anti-A obsahuje modré barvivo, Anti-B žluté barvivo a Anti-A,B neobsahuje žádná barviva.

Každá šarže těchto reagensí pro stanovení krevních skupin byla testována podle metod doporučených americkým úřadem pro kontrolu léčiv (US FDA). Reagensie splňují požadavky Obecných technických specifikací (CTS) pro výrobky definované v příloze II seznamu A směrnice 98/79/EC (Annex II, List A, Directive 98/79/EC) pro diagnostické zdravotnické prostředky in vitro. Reagensie byly testovány a bylo zjištěno, že při dodržení Návodů k použití, dochází ke specifické aglutinaci erythrocytů s odpovídajícím antigenem v krvi, pokud je přítomen.

Reaktivita každé šarže byla ověřena pomocí skupiny erythrocytů testovaných v souladu s Návodem k použití.

Anti-A nemusí reagovat s erythrocyty klasifikovanými jako A_x. Erythrocyty klasifikované jako A_x detekuje Anti-A,B. Součástí testování šarže zahrnuje testování každé šarže se 2 vzorky A_x erythrocytů.

Některé podskupiny A a B mohou vykazovat reakce, které jsou slabší než reakce získané u A nebo B buněk většiny náhodných dárců. V závislosti na příslušné podskupině se některé mohou projevit jako slabé nebo nereaktivní v přímých aglutinačních testech ve zkumavce nebo na sklíčku.

Specifická každé šarže byla ověřena doporučenou zkušební metodou zkumavkového testu nebo testu na sklíčku se skupinou buněk negativních pro příslušné A a B antigeny.

Anti-A nereaguje s erytrocyty klasifikovanými jako B (A). Anti-B nereaguje s erytrocyty, které exprimují získaný antigen B.

2. Princip testu

Uvedená testovací metoda je založena na principu přímé hemaglutinace. Po přidání erytrocytů k monoklonálním testovacím reagensům Anti-A, Anti-B nebo Anti-A,B a jejich společné inkubaci nastává specifická reakce antigen-protilátka v případě, že se korespondující antigen (aglutinogen) na erytrocytech vyskytuje. Tato reakce se projeví aglutinací erytrocytů a dobře viditelná okem. Pokud nedojde k aglutinaci, nasvědčuje to negativnímu výsledku a prokazuje s ohledem na vymezení testovací metody nepřítomnost korespondujících antigenů (aglutinogenů).

3. Uchovávání a stabilita

Testovací reagentie je třeba uchovávat při 2...8 °C. Nezmrazujte! Reagentie se před použitím vytemperují na pokojovou teplotu (18...25 °C) a bezprostředně po použití se opět uchovávají při teplotě 2...8 °C. Testovací reagentie jsou při dodržení těchto skladovacích podmínek, a nedochází-li k zákalu nebo kontaminaci, použitelné po prvním otevření až do data uvedeného na etiketě. Po tomto datu je nelze používat. Nepoužívejte kontaminované reagentie.

4. Příprava vzorků

Před odebráním vzorku se nevyžaduje žádná zvláštní příprava pacienta/dárce. Vzorky krve by měly být odebírány schváleným aseptickým lékařským postupem. Vzorky krve mohou být odebrány s nebo bez antikoagulantu, pokud je test proveden neprodleně poté. Pokud je odložení testu nevyhnutelné, mohou být erytrocyty ze sražených nebo EDTA antikoagulovaných vzorků testovány až do 14 dnů od data odběru. ACD, CPD a CPDA-1 antikoagulované vzorky krve mohou být testovány až do data jejich expirace. Všechny vzorky krve, které nemohou být ihned testovány, je nezbytné uchovávat při teplotě 2...8°C. Pro dlouhodobé uchování erytrocytů může být použit roztok na ochranu erytrocytů.

Nepoužívat hemolytické nebo kontaminované vzorky!

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

5. Dodatečné potřebné materiály

Izotonický fyziologický roztok, pH 6,5 – 7,5
Podložní sklíčka, míchací tyčinky
Zkumavky (75x12mm, sklo nebo plast)
Pasteurovy pipety na jedno použití
Centrifuga (900 – 1000 rcf)
Kontrolní erythrocyty se známými AB0 skupinami

6. Provedení testu

Test na sklíčku

1. Z vyšetřovaných erythrocytů připravte cca 35 - 45% suspenzi v izotonickém fyziologickém roztoku.
2. Na označená místa podložního sklíčka kápněte 1 kapku monoklonálních testovacích diagnostik.
3. Přidejte k nim 1 nebo 2 kapky připravené suspenze erythrocytů a důkladně promíchejte na plochu přibližně 20 x 40 mm pomocí čisté míchací tyčinky.
4. Pomalu naklápějte sklíčko dopředu a dozadu po dobu až 2 minut a makroskopicky odečtěte hemaglutinaci. Aglutinace se může objevit během několika sekund, ale odečtení by nemělo trvat déle než 2 minuty.
5. Po uplynutí 2 minut se testy bez aglutinace interpretují jako negativní. Je třeba dbát na to, aby nebyla aglutinace zaměněna se zasychajícími okraji kapek nebo vznik fibrinu.

Poznámky: Pro smíchání každého reagenčního činidla se suspenzí erythrocytů použijte samostatnou čistou míchací tyčinku.
Neumísťujte sklíčka na vyhřívané plochy.

Upozornění: Metoda testu na sklíčku nemusí být dostatečně citlivá pro spolehlivou detekci oslabené exprese antigenu.

Zkumavkový test

1. Vyšetřované erythrocyty minimálně jednou properte v izotonickém fyziologickém roztoku NaCl a připravte jejich 2 - 4% suspenzi v NaCl.
2. Do označené zkumavky přidejte 1 kapku monoklonální testovací reagensie a 1 kapku suspenze erythrocytů a důkladně promíchejte.
3. Centrifugujte 15 vteřin při 900-1000 rcf nebo při alternativním počtu rcf a odpovídajícím čase.
4. Erythrocyty resuspendujte opatrným poklepem na zkumavku a makroskopicky odečtěte aglutinaci.

Poznámky: Test nehodnoťte mikroskopicky.

Některé slabé reakce mohou být pozorovatelné po inkubaci testu po dobu až 15 minut při pokojové teplotě (18...25°C) a následně centrifugaci jako v krocích 3 až 4 výše.

Kontroly

Erythrocyty, které jsou pozitivní vzhledem k příslušnému antigenu a erythrocyty, které jsou negativní z hlediska příslušného antigenu, musí být jako kontroly také testovány. Pozitivní kontrolní erythrocyty by měly být vybrány tak, aby reprezentovaly slabou expresi specifického antigenu.

Vyšetření antigenů (aglutinogenů) by mělo být provedeno nejméně dvěma různými testovacími reagensy. Při použití dvou monoklonálních testovacích reagensů by měly být zvoleny dva odlišné klony. Anti-A,B by měly být použity jako konfirmační kontrola testů s Anti-A a Anti-B.

Pro vyloučení spontánní agregace erytrocytů mohou být testovány paralelně kontroly obsahující 6 - 8% autologního séra BSA nebo plazmy.

Pro stanovení a potvrzení krevní skupiny v systému AB0 je třeba provést reverzní skupinu testů, tj. reakce séra se známými erytrocyty A₁, A₂, B a 0 (viz místní zákonné předpisy a nařízení).

Důrazně doporučujeme provádět v pravidelných intervalech kontrolu účinnosti a specifity reagensů pomocí negativních a pozitivních erytrocytů se známými antigeny (viz místní zákonné předpisy a nařízení).

7. Interpretace výsledků

V souladu s limity testovací metody, **aglutinace erytrocytů** s testovacím činidlem Anti-A nebo Anti-B dokazuje přítomnost korespondujícího antigenu (aglutinogenu). Podobně aglutinace testovaných erytrocytů pomocí Anti-A,B znamená přítomnost antigenu A a/nebo B.

V souladu s limity testovací metody, naopak pokud **nedojde k aglutinaci** pomocí Anti-A nebo Anti-B, znamená to, korespondující antigen (aglutinogen) zřejmě není přítomen. Podobně žádná aglutinace testovaných erytrocytů s anti-A,B znamená nepřítomnost antigenu A a B.

Nedojde-li k aglutinaci se známými pozitivními erytrocyty nebo naopak dojde-li k aglutinaci se známými negativními erytrocyty nebo s kontrolou 6-8% BSA nebo s autologním sérem/plazmou, nelze výsledek testu hodnotit a uzavřít vyšetření krevní skupiny.

Nastanou-li při detekci antigenu dvěma odlišnými testovacími reagensy nebo mezi stanovením antigenu a detekcí isoaglutininu opačné výsledky, musí se stanovení krevní skupiny opakovat s použitím jiné testovací metody a/nebo další testovací reagentie.

Při interpretaci výsledků musí být brány v úvahu limity metody (viz bod 9. Důležité odkazy/limity metody).

Zjištění krevní skupiny v systému AB0 reakcí erytrocytů s testovacím činidlem			Krevní skupina	Zjištění krevní skupiny v systému AB0 reakcí isoaglutininů s testovacími erytrocyty			
Vyšetření aglutinogenů				Vyšetření isoaglutininů			
Anti-A	Anti-B	Anti-AB		A1	A2	B	0
+	-	+	A	-	-	+	-
-	+	+	B	+	+	-	-
-	-	-	0	+	+	+	-
+	+	+	AB	-	-	-	-

8. Stabilita reakcí

Všechny výsledky testování musí být vyhodnoceny bezprostředně po skončení testu.

9. Důležité odkazy/limity metody

1. Testovací činidla jsou určena pouze k diagnostickému použití in vitro a smí je používat pouze vyškolený odborný personál.
2. Hemolytické vzorky se nesmí používat.
3. U některých erytrocytů, na které se navázaly in vivo imunoglobuliny, může zřídka docházet ke spontánním a nespecifickým aglutinacím s některými reagensy. Tento jev je obvykle spojen s reagensy obsahujícími velké množství bílkovin a makromolekulárních aditiv. Reagencie Anti-A, Anti-B a Anti-A,B jsou vyrobeny s nízkým obsahem bílkovin, který nepodporuje spontánní aglutinaci. Přesto se velmi zřídka mohou vyskytnout případy erytrocytů silně potažených imunoglobulinem, které mohou nespecificky aglutinovat i v prostředí s nízkým obsahem bílkovin. V takových případech je podobné chování pravděpodobně pozorováno i u testů na ostatní krevní skupiny. Pokud testované erytrocyty reagují s Anti-A, Anti-B a Anti-D, může být žádoucí další kontrola. V těchto případech je vhodné provést test obsahující 6-8% BSA nebo autologní sérum/plazmu pacienta. Pokud jsou kontrolní testy také pozitivní, nelze výsledky interpretovat a uzavřít vyšetření krevní skupiny.
4. Při vyšetření aglutinogenů ze suspenze nepropraných erytrocytů, nebo ze suspenze v plasmě nebo ve vlastním séru může docházet k falešně pozitivním reakcím. Jedná se o nespecifickou aglutinaci, kterou mohou způsobit autoprotilátky, nespecifické chladové protilátky, dysproteinemie projevující se tvorbou rouleaux. Použitím dobře propraných erytrocytů lze takovémuto falešně pozitivním reakcím zabránit.
5. Erytrocyty se slabými podskupinami A a/nebo B a erytrocyty novorozenců nebo buňky pupečnickové krve, které nemají plnou expresi antigenů A a B, mohou vykazovat pouze slabé nebo žádné reakce. Zvláště postup testu na sklíčku nemusí být dostatečně citlivý pro spolehlivou detekci oslabené exprese antigenu.
6. Anti-A nemusí reagovat s erytrocyty klasifikovanými jako A_x. Erytrocyty klasifikované jako A_x detekuje Anti-A,B.
7. Při suspektní variantě A nebo B a při nejednoznačných výsledcích jsou doporučeny molekulárně-genetické testy, např. s použitím diagnostik BAGene (soupravy BAG-SSP pro stanovení atributů AB0 na molekulárně genetickém základě). Pomocí této metody je možné detekovat slabé antigeny. Je důležité tyto slabé antigeny detekovat v dárcových krevních jednotkách, aby tato krev nebyla transfuzována na příjemce skupiny 0.
8. Některá onemocnění mohou při zjišťování krevních skupin v systému AB0 vyvolat falešně pozitivní nebo falešně negativní výsledky (např. oslabení A-antigenu při akutní leukémii, získaný B-antigen u starších pacientů krevní skupiny A a karcinom tlustého střeva). Anti-A neprokázala reaktivitu s erytrocyty klasifikovanými jako B (A) a Anti-B neprokázala reaktivitu s erytrocyty, které exprimují získaný antigen B.
9. Pro zjištění krevní skupiny v systému AB0 se musí vždy provést vyšetření isoaglutininů. Mohou se objevit sérologické anomálie, které mohou vést k neočekávaným reakcím nebo nesrovnalostem mezi stanovením antigenu a isoaglutininem. Zejména séra od novorozenců nebo buňky pupečnickové krve nemusí nutně obsahovat očekávané Anti-A a/nebo Anti-B. Ve skutečnosti může být přítomna pasivně získaná Anti-A a/nebo Anti-B z mateřského oběhu,

což vede k neočekávaným reakcím. Nesrovnalosti musí být vyřešeny před přiřazením krevní skupiny.

10. Anti-A, Anti-B a Anti-A,B se nesmějí používat k testování erytrocytů ošetřovaných enzymem.
11. Odečtení výsledků testu po příliš dlouhé době, silné třepání sedimentem erytrocytů a nedodržení zadaného pracovního postupu při provedení testu může vést ke slabším nebo falešně negativním výsledkům.
12. Falešně pozitivní výsledky může vyvolat také zasychání kapek na sklíčku nebo vznik fibrinu způsobené příliš dlouhou dobou inkubace.
13. Falešně negativní nebo neočekávaně slabé reakce mohou být také způsobeny dlouhým skladováním a/nebo nevhodnými skladovacími podmínkami erytrocytů a/nebo nedostatečnou koncentrací buněk.
14. Nevhodné techniky, nesprávná centrifugace nebo inkubace, nečisté zkumavky, nesprávná hodnota pH izotonického fyziologického roztoku NaCl a/nebo kontaminované materiály a vzorky mohou vést k falešně negativním nebo falešně pozitivním výsledkům.
15. Hemolýza pozorovaná v testech skupiny ABO by neměla být nutně interpretována jako pozitivní výsledek. Hemolýza může být způsobena bakteriální kontaminací. Platnost výsledků testů a jejich správná interpretace závisí na prokázání očekávaných výsledků kontroly získaných s pozitivními a negativními kontrolními buňkami. Pokud se kontrola pacienta provádí současně s testem a vykazuje aglutinaci, nelze dosáhnout platného závěru týkajícího se výsledku testu.
16. Znatelný zákal může znamenat mikrobiální kontaminaci. Je bezpodmínečně nutné zabránit mikrobiální kontaminaci testovacích reagensů, která může zkrátit použitelnost produktů a vést k falešným výsledkům. Nepoužívejte kontaminované reagensy.
17. Při interpretaci výsledků se má vždy zohlednit provedení transfúze nebo transplantace, rovněž by měla být brána v úvahu léková anamnéza pacienta.
18. Aplikovaná síla centrifugy by měla být nastavena na minimum potřebné k vytvoření čistého supernatantu a měla by mít jasně vymezené tlačítko pro erytrocyty, které lze snadno pozastavit. Nelze doporučit jednotnou rychlost nebo čas centrifugace pro veškeré dostupné typy centrifug nebo testovacích aplikací. Centrifugy by měly být kalibrovány individuálně, aby se určila optimální doba a rychlost potřebná k dosažení požadovaných výsledků.
19. Používejte monoklonální Anti-A, Anti-B a Anti-A,B jak je uvedeno v tomto návodu k použití. Odchylka od doporučeného návodu k použití může mít za následek nižší než optimální výkonnost produktu. Jakákoli odchylka (např. ředění, jiné zkušební metody) musí být ověřena uživatelem.

10. Varování a opatření k likvidaci odpadu

Všechny pro test použité materiály biologického původu zejména k testování určené erytrocyty jsou považovány za potencionálně infekční. Nepřítomnost myšího viru nebyla stanovena. Veškeré suroviny ze skotu používané při výrobě těchto produktů pocházejí z dárcovských zvířat, které byly kontrolovány a certifikovány inspektory veterinární péče jako prosté nákazy. Tento produkt na bázi přežvýkavců má nízké riziko TSE (přenosné spongiformní encefalopatie).

Při práci s biologickým materiálem se 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 potencionálně infekční materiál se má neprodleně odstranit nasávkovou papírovou rouškou a kontaminovaná plocha se dezinfikuje stanoveným dezinfekčním prostředkem nebo 70% etanolem. Použitá papírová rouška se musí před likvidací inaktivovat (např. autoklávováním).

Baňky pipet těchto produktů obsahují latex z přírodního kaučuku, o kterém je známo, že u některých jedinců způsobuje alergické reakce.

Testovací reagentie obsahují jako konzervační prostředek 0,1% NaN_3 , což je látka ohrožující zdraví je-li inhalována nebo pozřena nebo v kontaktu s kůží a sliznicí. Koncentrace obsažená v reagentiích od < 0,1% 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.

Likvidace všech vzorků, nepoužitých reagentií a odpadu by měla být v souladu s předepsanými směrnici.

Bezpečnostní listy (MSDS) jsou k dispozici ke stažení na adrese www.bag-diagnostics.com.

11. Literatura

Landsteiner K. Zur Kenntnis der antifermentativen, lytischen und agglutinierenden Wirkungen des Blutserums und der Lymphe. Zbl Bakt. 27; 357-362, 1900

von Castello A, Sturli A. Über die Isoagglutinine im Serum gesunder und kranker Menschen. München Med. Wochenschr. 1090-1095, 1902

Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man. 6th Edition, Blackwell Scientific, Oxford, 1975

Pittiglio DH, Baldwin AJ, Sohmer PR. Modern Blood Banking and Transfusion Practices. Davis, Philadelphia. 1987.c.1983













Technical manual of the American Association of Blood Banks, 17th ed., 2011

Köhler, Milstein C. Continuous Cultures of Fused Cells Secreting Antibody of Predefined Specificity, Nature, 256:295, 1975

Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine. 6th Edition, Blackwell Science, Oxford, 1979

Moore BPL. Serological and Immunological Methods of the Canadian Red Cross Blood Transfusion Service, 8th Edition. Hunter Rose. Toronto, 1980

Westhoff CM, Siphred BD, Toalson ID. Red cell antigen stability in K_3EDTA . Immunoematol 1993; 9:109-111

Vysvětlení symbolů na etiketách	
	pro použití in vitro
	teplota skladování/ nejnižší teplotní limit
	číslo šarže
	použitelné do
REF	katalogové číslo
	nahlédněte do návodu k použití
	výrobce
	monoklonální IgM
	klon
	původ: myši
	obsahuje azid sodný
	titr
	<p>Varování</p> <p>H302 Škodlivý při požití P301 + P312 Při požití: Pokud se necítíte dobře, zavolejte toxikologické středisko nebo lékaře</p> <p>P264 Po manipulaci důkladně omyjte ruce P270 Při používání tohoto výrobku nejezte, nepijte ani nekuřte</p> <p>P281 Používejte osobní ochranné pomůcky podle potřeby</p>

Návod k použití

Verze: 5/2019 / Vydání: 2019-06

Návody k použití v jiných jazycích hledejte na:

<http://www.bag-diagnostics.com>

nebo volejte: +49 (0)6404-925-125

BAG Diagnostics GmbH
Na Hlinách 17, 182 00 Praha 8
tel.: 286 840 508, fax: 286 840 510
e-mail : info@bag-diagnostics.cz
www.bag-diagnostics.cz