

## NÁVOD K POUŽITÍ

<b>Anti-Jk<sup>a</sup> (Kidd<sup>a</sup>), Anti-Jk<sup>b</sup> (Kidd<sup>b</sup>)</b>	<b>CE</b>	<b>0123</b>
<b>Anti-N, -S, -P monoclonal (IgM)</b>	<b>CE</b>	
<b>Anti-M monoclonal (IgG)</b>	<b>CE</b>	

### Klony:

<b>Anti-Jk<sup>a</sup> :</b>	<b>MS15</b>	<b>Anti-Jk<sup>b</sup> :</b>	<b>MS8</b>
<b>Anti-N:</b>	<b>1422 C 7</b>	<b>Anti-S:</b>	<b>MS94</b>
<b>Anti-P<sub>1</sub>:</b>	<b>650</b>	<b>Anti-M:</b>	<b>M-11H2</b>

## POUZE PRO POUŽITÍ IN VITRO

### 1. Popis produktu

Anti-Jk<sup>a</sup>, Anti-Jk<sup>b</sup>, Anti-S se připravují z lidských monoklonálních IgM protilátek a Anti-N, Anti-P<sub>1</sub> z monoklonálních myších IgM protilátek. Anti-M jsou vyrobeny z monoklonálních myších IgG protilátek. Číslo klonů jsou vyznačena na etiketách testovacích reagensií. Testovací reagensie slouží k důkazu přítomných korespondujících antigenů na erythrocytech v nepřímém antiglobulinovém testu. Jako konzervační prostředek je použit (< 0,1%) NaN<sub>3</sub> (< 0,1%). Anti-Jk<sup>a</sup>, Anti-Jk<sup>b</sup> obsahují zesilovací činidlo.

### 2. Princip testu

Uvedená testovací metoda spočívá na principu hemaglutinace. Po přidání erythrocytů k monoklonálním testovacím reagensiím dochází ke specifické reakci antigen-protilátka, v případě, že se odpovídající antigen na erythrocytech vyskytuje. Přidá-li se pak k erythrocytům po odstranění nevázaných protilátek několikanásobným promytím antihumáním globulinové sérum, dochází k vazbě anti-IgG protilátek v antihumáním globulinovém séru na specifické IgG protilátky na erythrocytech při čemž anti-IgG protilátky tvoří vazebné můstky mezi erythrocyty. Tato reakce je dobře viditelná aglutinací erythrocytů. Nejsou-li IgG protilátky vázány na erythrocytech nemůže docházet k vazbě anti-IgG protilátek a tudíž ani k aglutinaci. To odpovídá negativnímu výsledku a prokazuje s ohledem na vymezení testovací metody nepřítomnost korespondujících antigenů.

### 3. Uchování a stabilita

Testovací reagensie uchovávejte při 2...8 °C. Chraňte před mrazem. Před použitím vytemperujte reagensie při pokojové teplotě (18...25 °C).a bezprostředně po použití je opět umístěte a 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 antikoagulantů (EDTA, citrát). Nepoužívat hemolytické vzorky a/nebo kontaminované vzorky! Testování by se mělo provádět pokud možno bez časového prodloužení. Pokud to není možné, skladujte vzorky při teplotě 2...8 °C. Síla pozitivní reakce závisí na době skladování vzorků krve. 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  
Reagenční zkumavky (75x12mm)  
Stojánek na zkumavky  
Jednorázové Pasteurovy pipety  
Centrifuga  
Panel erytrocytů

#### **6. Provedení testu**

##### **Zkumavkový test**

1. Vyšetřované erytrocyty nejméně jednou properte a připravte cca 2-3% suspenzi erytrocytů v izotonickém roztoku NaCl.
2. 1 kapku monoklonálního testovacího činidla a 1 kapku suspenze erytrocytů dobře promíchejte (pro Anti-M přidejte 1-2 kapky suspenze erytrocytů) v označené zkumavce.  
Anti-S, Anti-P<sub>1</sub>, Anti-Jk<sup>a</sup>, Anti-Jk<sup>b</sup>: inkubujte 10-15 minut při pokojové teplotě.  
Anti-Jk<sup>a</sup>, Anti-Jk<sup>b</sup> zvlášť při 2...8 °C.  
Anti-M: Inkubujte 5 minut při pokojové teplotě.  
Anti-N: Neinkubujte vůbec, ihned centrifugujte.
3. Centrifugujte Anti-S, Anti-P<sub>1</sub>, Anti-Jk<sup>a</sup>, Anti-Jk<sup>b</sup>, Anti-N 1 minutu při 400 x g (1500 ot./min.) a Anti-M 1 minutu při 180-270 x g (cca 1000 ot./min.) nebo při alternativním počtu otáček a odpovídajícím čase.
4. Resuspendujte buňky opatrným poklepem na zkumavku a makroskopicky odečtěte aglutinaci.

**Poznámky:** Test nehodnoťte mikroskopicky.

Je nezbytné provádět kontrolu erytrocytů pozitivních k příslušnému antigenu (zejména u heterozygotních buněk), dále pak kontrolu erytrocytů negativních k příslušnému antigenu, stejně jako i negativní kontrolu pro monoklonální testovací reagentie a kontrolu auto-aglutinace.

Vyšetření antigenů se má provést nejméně dvěma různými testovacími reagentiemi. Pokud jsou použity 2 monoklonální reagentie, je nutné použít 2 odlišné klony, pokud je to možné.

## **7. Interpretace výsledků**

Aglutinace erytrocytů s testovací reagensí dokazuje přítomnost příslušného antigenu.

Nedojde-li k aglutinaci, jedná se o průkaz nepřítomnosti odpovídajícího antigenu.

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

Nastanou-li při průkazu antigenu dvěma rozličnými testovacími činidly opačné výsledky, musí být stanovení zopakováno s použitím jiné testovací metody a/nebo další testovací reagensie.

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

## **8. Stabilita reakcí**

Všechny výsledky testování se musí vyhodnotit bezprostředně po skončení testu.

## **9. Důležité odkazy/hranice metody**

1. Testovací činidla jsou určena pouze k diagnostickému použití in vitro a smí je používat pouze vyškolený odborný personál.

2. Ve vzácných případech může být detekována spontánní nebo nespecifická aglutinace s erytrocyty navázanými na imunoglobuliny in vivo. V těchto případech by se podobný fenomén projevil také při testování ostatních krevních skupin. Proto musí být otestována současně negativní kontrola pro monoklonální testovací reagensie a autologní sérum pacienta jako kontroly. V případě, že tyto kontrolní testy vykazují pozitivní reakci, výsledky testování krevních skupin nemohou být interpretovány.

3. Suspenze nepromytých erytrocytů v plasmě nebo v séru způsobují falešně pozitivní reakce stejně jako jejich asociace do ruló (Roleau) nebo s autoprotilátkami. Použitím dobře promytých erytrocytů lze redukovat projevy výše uvedených falešně pozitivních reakcí.

4. V séru/plasmě pacienta mohou být přítomny rozpustné antigeny, které jsou adsorbovány na povrchu erytrocytů a mohou neutralizovat protilátky cíleně navázané ke korespondujícím antigenům. Také v tomto případě lze zabránit projevům falešně pozitivních reakcí použitím dobře promytých erytrocytů.

5. Nedostatečná koncentrace erytrocytů, příliš pozdě odečítané výsledky, silné třepání sedimentem erytrocytů a další odchylky od doporučeného pracovního postupu mohou vést ke slabým nebo falešně negativním výsledkům.

6. Testovací reagensie by neměly být používány pro testování enzymaticky ošetřených erytrocytů. Zejména antigeny MNS-systému mohou být enzymatickým ošetřením zničeny.

7. Hemolytické a/nebo kontaminované vzorky by neměly být použity.

8. Síla a pozitivita reakce závisí na stáří použitého vzorku krve.

9. Falešně negativní nebo neočekávaně slabé reakce mohou být způsobeny příliš dlouhým skladováním erytrocytů a/nebo jejich nevhodnými skladovacími podmínkami a/nebo nedostatečnou koncentrací buněk.

10. Falešně negativní nebo falešně pozitivní výsledky mohou být způsobeny nevhodnými technikami, nesprávnými podmínkami centrifugace nebo inkubace, špinavými zkumavkami, nesprávným pH fyziologického roztoku NaCl a/nebo kontaminovanými materiály a vzorky.

11. Zcela vyloučena musí být bakteriální kontaminace testovacích činidel, protože zkracuje jejich dobu použitelnosti a vede k falešným výsledkům.
12. Přítomnost vzácných variant antigenů může vést k neočekávaným výsledkům. Např. vzácná varianta M<sup>e</sup> může být detekována některými monoklonálními anti-M séry, která obsahují kromě M- také Henshawův antigen (přítomný u černošské populace v centrální Africe s frekvencí 2,3%).
13. Falešně slabé reakce (+/- nebo 1+) mohou být detekovány Anti-N monoklonálním sérem, klon 1422 C7, při MMS+ antigením složení. Ve většině případů se aglutinace v krátkém čase rozpustí.
14. Vzhledem k použití zesilovacího činidla může docházet ke vzniku nespecifických reakcí při detekci N-antigen. Proto by měly být buňky promyty izotonickým fyziologickým roztokem NaCl podle pokynů výrobce.
15. Mírný zákal neovlivňuje reaktivitu produktu.
16. Žádná jednotná rychlost nebo čas centrifugace nemůže vyhovovat všem centrifugám nebo testovacím postupům. Centrifugy by měly být kalibrovány jednotlivě a měl by být nastaven optimální čas a rychlost pro získání čirého supernatantu a dobře oddělených červených krvinek, které mohou být snadno resuspendovány.
17. Odchylka od doporučeného Návodu k použití může vést k výkonnosti testu, která bude nižší, než je optimální. Uživatelem definované odchylky, jako např. modifikace pracovního postupu, ředění séra pro použití v automatech nebo kartách, mražení sér na mikrotitrační destičky, atd. mohou vyžadovat od uživatele validaci postupu.
18. Při interpretaci výsledků musí být vždy brán v úvahu fakt, zda došlo k transplantaci nebo k transfuzi. Při interpretaci výsledků musí být brána v úvahu léková anamnéza pacienta a také fakt, zda u něho byly provedeny transfuze a/nebo transplantace.

## **10. Varování a opatření k likvidaci odpadu**

Výchozí humánní materiál pro výrobu testovacích reagensů je testován na HBsAg a protilátky proti HIV a HCV. Používá se pouze negativní materiál. Používá se pouze bovinní albumin resp. odpovídající suroviny z kontrolovaných chovů (testovaných a negativních na BSE). Všechny pro test použité materiály mají ale biologický původ a testovací erythrocyty se mají považovat 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. sterilizací v autoklávu), pomůcky k jednomu užití se po upotřebení sterilizují nebo spalují.

Rozlitý potenciálně 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. sterilizací v autoklávu).

Testovací reagensie obsahují jako konzervační prostředek  $\text{NaN}_3$  (< 0,1%), což je látka ohrožující zdraví, je-li inhalována nebo pozřena nebo v kontaktu s kůží a sliznicí. Koncentrace obsažená v testovacích reagensích je < 0,1% a toto množství není považováno za zdraví nebezpečné. Měď a olovo, které jsou v některých potrubích použity, mohou s azidem tvořit explozivní soli. Množství azidu v reagensích jsou

malá, ale přesto se má materiál, který přišel do styku s azidem bohatě opláchnout vodou.

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




## 11. Velikosti balení viz ceník

## 12. Literatura

Applied Blood Group Serology, PD Issitt and DJ Anstee  
4<sup>th</sup> Edition, Montgomery Scientific, Durham SC, 1998

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

Návod k použití | Verze 1/ 2013

<b>Vysvětlení symbolů na etiketách/</b> Erklärung der Symbole auf den Etiketten / <i>Explanation of symbols used on Labelling</i>	
<b>IVD</b>	<b>Diagnostikum in vitro/ In-vitro-Diagnostikum / For in vitro diagnostic use</b>
	<b>Skladovat při teplotě / Lagertemperatur / Storage temperature</b>
<b>LOT</b>	<b>Šarže číslo / Lot-Nr. / Batch code</b>
	<b>Použitelné do / Verwendbar bis / Use by</b>
<b>REF</b>	<b>Katalogové číslo / Bestell-Nr. / Catalogue number</b>
	<b>Nahlédněte do návodu k použití / Gebrauchsinformation beachten / Consult instructions for use</b>
<b>MONOCL   IGM</b>	<b>Monoklonální IgM / Monoklonal IgM / Monoclonal IgM</b>
<b>MONOCL   IGG</b>	<b>Monoklonální IgG / Monoklonal IgG / Monoclonal IgG</b>
<b>CLONE</b>	<b>Klon / Klon / Clone</b>
<b>ORIG   HUM</b>	<b>Původ: humánní / Ursprung: human / Origin: human</b>
<b>ORIG   MURIN</b>	<b>Původ: myší / Ursprung: Maus / Origin: murine</b>
<b>CONT   NaN<sub>3</sub></b>	<b>Obsah azidu sodného / Enthält Natriumazid / Contains Natriumazide</b>
<b>TIT</b>	<b>Titr / Titer / Titer</b>

BAG Health Care GmbH, Na Hlínách 17, 182 00 Praha 8,  
tel.: 286 840 508, fax: 286 840 510  
E-mail : [info@bag-healthcare.cz](mailto:info@bag-healthcare.cz), [www.bag-healthcare.cz](http://www.bag-healthcare.cz)