



## MONOKLONÁLNÍ ČINIDLA PRO STANOVENÍ KREVŇÍCH SKUPIN NÁVOD K POUŽITÍ

**Anti-Le<sup>b</sup> Monoclonal:** Určeno pro zkumavkovou metodu.

### SHRNUTÍ

Antigeny Lewis systému nejsou integrální součástí membrány červených krvinek. Jsou produkovány buňkami tkání a vyskytují se primárně v plazmě a vodnatých sekretech. Červené krvinky získávají antigeny Lewis adsorpcí z okolní plazmy. Míra exprese antigenů Lewis na buňce se může lišit podle fenotypu ABO buňky. Anti-Le<sup>a</sup> a Anti-Le<sup>b</sup> nejsou spojovány s hemolytickou nemocí novorozenců.

Anti-Le <sup>a</sup>	Anti-Le <sup>b</sup>	Fenotyp	Bělošská populace <sup>1</sup>	Afroameričané <sup>1</sup>
+	0	Le(a+b-)	22%	23%
0	+	Le(a-b+)	72%	55%
0	0	Le(a-b-)	6%	22%
+	+	Le(a+b+)	vzácně	vzácně

### URČENÉ POUŽITÍ

Toto činidlo ke stanovení krevních skupin je určeno ke kvalitativnímu stanovení přítomnosti, nebo nepřítomnosti antigenů Le<sup>b</sup> (LE2) na povrchu červených krvinek dárců krve nebo pacientů, kteří potřebují krevní transfuzi, za předpokladu, že testy probíhají v souladu s doporučenými postupy stanovenými v tomto návodu k použití.

### PRINCIP

Činidlo obsahuje protilátky proti antigenu Le<sup>b</sup> na povrchu lidských červených krvinek a způsobuje po odstředění přímou aglutinaci (shlukování) červených krvinek, které nesou antigen Le<sup>b</sup>. Nepřítomnost aglutinace (nepřítomnost shlukování) obecně indikuje nepřítomnost antigenů Le<sup>b</sup> (viz **Omezení**).

### ČINIDLA

Činidla Lorne Monoclonal Anti-Le<sup>b</sup> ke stanovení krevních skupin obsahují myši monoklonální protilátky IgM naředěné ve fosfátovém pufru s obsahem chloridu sodného, EDTA, hovězího albuminu a makromolekulárních potenciátorů (10,0 g%). Anti-Le<sup>b</sup> je získávána z klonu LEB2. Činidlo neobsahuje látky karcinogenní, mutagenní nebo toxické pro reprodukci (CMR), látky narušující endokrinní systém ani látky, které by mohly u uživatele vyvolat senzibilizaci nebo alergickou reakci. Činidlo je dodáváno v optimálním ředění vhodném k použití všemi doporučenými postupy uvedenými dále, aniž by bylo nutné další ředění nebo doplnění. Referenční číslo šarže a datum expirace je uvedeno na **štítku na nádobě**.

### SKLADOVÁNÍ

Nádoby s činidlem je třeba po převzetí uchovávat při teplotě 2–8 °C. Dlouhodobé skladování mimo uvedené teplotní rozmezí může urychlit snížení reaktivity činidla. Toto činidlo bylo podrobeno studiím stability při přepravě při teplotě 37 °C a –25 °C, jak uvádí dokument BS EN ISO 23640:2015.

### ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ

Krev lze odebírat do antikoagulantů EDTA, citrát nebo CPDA, případně ve formě sražených vzorků. Vzorky je třeba testovat co nejdříve po odběru. Pokud dojde při testování ke filtrování, uchovávejte vzorky při teplotě 2–8 °C. Vzorky, které vykazují výraznou hemolýzu nebo mikrobiální kontaminaci, nelze k testování použít. Výsledky testování vzorků krve sprůkaznou lýzou mohou být nespolehlivé. Před testováním je nezbytné (viz část „Omezení“) promýt veškeré krevní vzorky ve fosfátovém pufru (PBS) nebo izotonickém (Isotonic) fyziologickém roztoku.

### UPOZORNĚNÍ

- Činidlo je určeno výhradně k diagnostice *in vitro*.
- Je-li nádoba s činidlem prasklá nebo netěsná, okamžitě obsah zlikvidujte.
- Nepoužívejte činidla po datu použitelnosti (viz **štítek na nádobě**).
- Nepoužívejte činidla, pokud obsahují sraženinu.
- Při manipulaci s činidly je třeba používat ochranný oděv, například jednorázové rukavice a laboratorní plášť.
- Činidlo bylo filtrováno přes 0,2 μm kapsli z důvodu snížení biologické zátěže, ale není dodáváno sterilní. Po otevření nádoby zůstává obsah použitelný až do data expirace, pokud není výrazně zkalený, což může být známkou zhoršené kvality nebo kontaminace činidla.
- Činidlo obsahuje < 0,1 % azidu sodného. Azid sodný může být při požití toxický a může reagovat s olověným a měděným potrubím za vzniku výbušných azidů kovů. Při likvidaci spláchněte velkým množstvím vody.
- Žádné známé testy nemohou zaručit, že produkty získané z lidského nebo živočišného zdroje neobsahují infekční původce. Při používání a likvidaci každé jednotlivé nádoby a jejího obsahu je třeba postupovat opatrně.

### LIKVIDACE ČINIDLA A POSTUP PŘI ROZLÍTÍ

Informace o likvidaci činidla a dekontaminaci místa, kde došlo k jeho rozlítí, najdete v **bezpečnostních listech**, které jsou k dispozici na vyžádání.

### KONTROLY A POKYNY

- V každé sérii testů je doporučeno provádět současně testování pozitivní a negativní kontroly. Pokud kontroly neukazují očekávané výsledky, považujte testy za neplatné.
- Při typizaci červených krvinek pacienta, u něhož bylo diagnostikováno onemocnění, které způsobuje navázání protilátky nebo jiných proteinů na membránu červených krvinek (např. HDN, AIHA), je důležité otestovat červené krvinky pacienta negativní kontrolou činidla Lorne (Monoclonal Rh Control, kat. č. 640010).
- Před použitím nechte činidlo zahřát na pokojovou teplotu. Po použití vraťte činidlo ihned zpět na úložné místo při teplotě 2–8 °C.
- V části **Zkumavková metoda** představuje jedna objemová jednotka přibližně 50 μl při použití kapátka dodávaného s balením.
- Používat činidlo a interpretovat výsledky smí pouze řádně vyškolený a kvalifikovaný personál v souladu s požadavky země, kde je činidlo používáno.
- Vhodnost použití činidla při jiných metodách je na posouzení uživatele.

### ČINIDLA A POTŘEBNÉ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ BALENÍ

- skleněné zkumavky (10 x 75 mm nebo 12 x 75 mm)
- fosfátém pufovaný fyziologický roztok (PBS) (pH 6,8–7,2) nebo izotonický fyziologický roztok (Isotonic) (pH 6,5–7,5)
- červené krvinky pro pozitivní a negativní kontrolu: Le(b+) (pozitivní kontrola) a Le(b-) (negativní kontrola)
- odstředivka vhodná pro zkumavky
- odměrné pipety

### DOPORUČENÁ METODA

#### A. Zkumavková metoda

- Ve fyziologickém roztoku PBS nebo Isotonic připravte 2-5% suspenzi promytých červených krvinek.
- Do štítkem označené zkumavky přidejte: 1 objemovou jednotku činidla Lorne Anti-Le<sup>b</sup> a 1 objemovou jednotku suspenze červených krvinek.
- Důkladně promíchejte a inkubujte při pokojové teplotě po dobu 15 minut.
- Odstředivte všechny zkumavky po dobu 20 sekund při odstředivé síle 1000 RCF, případně dobu a sílu odstředění vhodně upravte.
- Sedimentované červené krvinky jemně resuspendujte a makroskopicky odečtěte výsledek aglutinace.

### INTERPRETACE VÝSLEDKŮ TESTU

- Pozitivní:** Aglutinace červených krvinek znamená pozitivní výsledek testu a v rámci přijatelných omezení testovací metody indikuje přítomnost antigenů Lewis b na červených krvinkách.
- Negativní:** Nepřítomnost aglutinace červených krvinek znamená negativní výsledek testu a v rámci přijatelných omezení testovací metody indikuje nepřítomnost antigenů Lewis b na červených krvinkách.
- Kontrola:** Výsledky testů buněk, u nichž došlo k aglutinaci s využitím negativní kontroly činidla, je třeba vyloučit, jelikož aglutinace je s největší pravděpodobností způsobena reakcí makromolekulárních potenciátorů v činidle se senzibilizovanými buňkami.

### STABILITA REAKCÍ

- Výsledky testů je nutné odečíst ihned po odstředění. Prodloužení může způsobit rozklad komplexů antigen a protilátka s následným falešně negativním nebo slabě pozitivním výsledkem.
- Při interpretaci výsledků testů prováděných při jiných než doporučených teplotách postupujte obezřetně.

### OMEZENÍ

- Činidlo Lorne Anti-Le<sup>b</sup> lze používat pouze s promytými červenými krvinkami suspendovanými ve fyziologickém roztoku PBS nebo Isotonic, protože antigeny Lewis jsou obsaženy v plazmě. Buňky suspendované v plazmě/séru **není možné** použít, protože přítomný rozpustný antigen by mohl neutralizovat testovací činidlo, což by vedlo k falešně negativnímu výsledku.
- Testy Anti-Le<sup>b</sup> s červenými krvinkami A<sub>1</sub> nebo A<sub>1</sub>B Le(b+) mohou vykazovat slabší reakci, protože míra exprese antigenů Lewis na červených krvinkách se může lišit podle fenotypu ABO buněk.
- Červené krvinky většiny novorozenců budou s monoklonálními nebo lidskými činidly anti-Lewis vykazovat typ Le(a-b-).
- Fenotypy systému Lewis u dětí mladších šesti let nelze přesně stanovit. Antigeny Lewis červených krvinek jsou během těhotenství oslabené a některé ženy s červenými krvinkami fenotypu Le(a-b+) mohou v těhotenství vykazovat typ Le(a-b-).
- Skládovaná krev může vykazovat slabší reakci než krev čerstvá.
- Falešně pozitivní nebo falešně negativní výsledky mohou vzniknout v důsledku následujících faktorů:

- kontaminace testovaného materiálu
- nevhodné skladování, koncentrace buněk, inkubační doba či teplota
- nevhodné nebo nadměrné odstředování
- nedodržení doporučených metod

## SPECIFICKÁ CHARAKTERISTIKA TESTU

1. Každá šarže činidla byla před uvedením na trh testována za použití doporučených testovacích metod uvedených v tomto návodu k použití. Testy splnily testovací požadavky, které jsou obsahem aktuální verze či vydání pokynů pro služby transfuze krve ve Spojeném království („Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom“).
2. Specifická zdrojových monoklonálních protilátek byla prokázána pomocí panelu antigen-negativních buněk.
3. Kontrola kvality činidel byla provedena s využitím červených krvinek s fenotypy, které ověřila transfuzní stanice ve Spojeném království a které byly před použitím promyty ve fyziologickém roztoku PBS nebo Isotonic.

## VYLOUČENÍ ODPOVĚDNOSTI

1. Za účinnost činidla použitého jinými technikami, než které jsou uvedeny v části **Doporučená metoda**, odpovídá uživatel.
2. Jakékoli odchylky od **doporučené metody** je třeba před použitím validovat<sup>5</sup>.

## BIBLIOGRAFIE

1. Marion E. Reid a Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; strana 189.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3. vydání. Montgomery Scientific, Miami 1985; kapitola 7.
3. AABB Technical Manual, 16. vydání, AABB 2008.
4. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6. vydání 2002. The Stationary Office.
5. British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. Transfusion Medicine, 1995, **5**, 145-150.

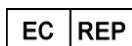
## DOSTUPNÉ VELIKOSTI BALENÍ ČINIDEL

	Objem nádoby	Katalogové číslo	Počet testů na nádobu
Anti-Le <sup>b</sup> Monoclonal	2 ml	631002	40
	1000 ml	631000*	20 000

\*Tato velikost je určena pouze pro další výrobní účely (For Further Manufacturing Use; FFMU), a proto nemá označení CE.



**Lorne Laboratories Limited**  
Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate  
Danehill  
Lower Earley  
Berkshire, RG6 4UT  
Spojené království  
Tel: +44 (0) 118 921 2264  
Fax: +44 (0) 118 986 4518  
E-mail: info@lornelabs.com



Advena Ltd. Tower Business Centre, 2<sup>nd</sup> Flr.,  
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta