

MONOKLONÁLNÍ ČINIDLA PRO STANOVENÍ KREVŇÍCH SKUPIN
NÁVOD K POUŽITÍ

Anti-P₁ Monoclonal: Určeno pro testy ve zkumavce a metody Bio-Rad-ID a Ortho BioVue.

SHRUTÍ

Karl Landsteiner objevil antigen P₁ v roce 1927. Anti-P₁ obecně nereaguje při vyšší než pokojové teplotě a při běžném testování zůstává často neodhalen. Anti-P₁ nezpůsobuje hemolytickou nemoc novorozenců a jen zřídka kdy je spojován s hemolytickou potransfúzní reakcí.

Anti-P ₁	Fenotyp	Bělošská populace ²	Afroameričané ²
+	P ₁	79%	94%
0	P ₂	21%	6%

URČENÉ POUŽITÍ

Činidlo ke stanovení krevních skupin je určeno ke kvalitativnímu stanovení přítomnosti, nebo nepřítomnosti antigenů P₁ 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 P₁ na povrchu lidských červených krvinek a způsobuje přímou aglutinaci (shlukování) červených krvinek, které nesou antigen P₁. Nepřítomnost aglutinace (nepřítomnost shlukování) obecně indikuje nepřítomnost antigenu P₁ (viz **Omezení**).

ČINIDLO

Činidlo Lorne Monoclonal IgM Anti-P₁ ke stanovení krevních skupin obsahuje myši monoklonální protilátky IgM připravené z buněčné kultury, klon 650, naředěné v roztoku chloridu sodného a hovězího albuminu. 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 při stabilitě přepravě při teplotě 37 °C a –25 °C, jak uvádí dokument BS EN ISO 23640:2015.

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ

Krev lze odebrat do antikoagulantů EDTA, citrát nebo CPDA, případně ve formě sražených vzorků. Vzorky je třeba testovat co nejdříve po odběru. Pokud dojde při testování ke zpoždění, uchovávejte vzorky při teplotě 2–8 °C. Vzorky, které vykazují výraznou hemolýzu nebo mikrobiální kontaminaci, nelze k testování použít. Výsledky testování vzorků krve s průkaznou lýzou mohou být nespolehlivé. Před testováním je vhodné (nikoli však nezbytné) veškeré krevní vzorky promýt ve fosfátem pufovaném (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 činidlo po datu použitelnosti (viz **štítek na nádobě**).
- Nepoužívejte činidlo, pokud obsahuje 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 oloveným 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 (nejlépe buňky se slabým P₁) a negativní kontroly. Pokud kontroly neukazují očekávané výsledky, považujte testy za neplatné.
- V části **Doporučené metody** 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

Zkumavková metoda

- skleněné zkumavky (10 x 75 mm nebo 12 x 75 mm)
- odstředivka umožňující odstřeďovat při 1000 g po dobu 20 sekund
- fosfátem pufovaný fyziologický roztok (PBS) (pH 6,8–7,2) nebo izotonický fyziologický roztok (Isotonic) (pH 6,5–7,5)
- červené krvinky pro pozitivní (nejlépe buňky se slabým P₁) a negativní kontrolu

Metoda typizace Bio-Rad-ID Micro

- karty Bio-Rad ID (NaCl, enzymový test a chladové aglutininy)
- odstředivka Bio-Rad ID
- roztok Bio-Rad ID-CellStab nebo ID-Diluent 2

Metoda typizace Ortho BioVue

- kazety systému Ortho BioVue (Neutrální)
- odstředivka systému Ortho BioVue
- ředící činidlo Ortho 0,8% Red Cell Diluent

Všechny metody

- odměrné pipety
- chladnička nastavená na teplotu 2–8 °C

DOPORUČENÉ METODY

A. Zkumavková metoda

- Ve fyziologickém roztoku PBS nebo Isotonic připravte 2–3% suspenzi červených krvinek.
- Do štítkem označené zkumavky přidejte: 1 objemovou jednotku činidla Lorne a 1 objemovou jednotku suspenze červených krvinek.
- Důkladně promíchejte a inkubujte při teplotě 2–8 °C po dobu 15 minut.
- Odstřeďte 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.

B. Metoda typizace Bio-Rad-ID Micro

- V roztoku ID-CellStab nebo ID-Diluent 2 připravte 0,8% suspenzi červených krvinek.
- Z potřebného množství mikrozkuvek na gelové kartě NaCl, enzymové testy a chladové aglutininy odstraňte hliníkovou fólii.
- Do příslušné mikrozkuvky přidejte: 50 μl suspenze červených krvinek a 25 μl činidla Lorne.
- Inkubujte ID kartu při teplotě 2–8 °C po dobu 15 minut.
- Odstřeďte ID kartu v odstředivce Bio-Rad ID.
- Makroskopicky odečtěte výsledek aglutinace.

C. Metoda typizace Ortho BioVue

- V 0,8% roztoku Ortho Red Cell Diluent připravte 0,8% suspenzi červených krvinek.
- Z potřebného množství reakčních komůrek odstraňte hliníkovou fólii.
- Do příslušné reakční komůrky přidejte: 50 μl suspenze červených krvinek a 40 μl činidla Lorne.
- Inkubujte kazetu/kazety při teplotě 2–8 °C po dobu 15 minut.
- Odstřeďte kazetu/kazety v odstředivce systému Ortho BioVue.
- Makroskopicky odečtěte výsledek aglutinace.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ TESTU

- Pozitivní:** Aglutinace červených krvinek znamená pozitivní výsledek testu a v rámci přijatelných omezení testovací metody indikuje přítomnost antigenu P₁ na červených krvinkách.
- Negativní:** Nepřítomnost aglutinace červených krvinek znamená negativní výsledek testu a v rámci přijatelných omezení testovací metody indikuje nepřítomnost antigenu P₁ na červených krvinkách.

STABILITA REAKCÍ

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

OMEZENÍ

1. Expresie antigenu P₁ na buňkách novorozenců je slabá.
2. Existují značné rozdíly v množství antigenu P₁ přítomného na různých buňkách pozitivních na P₁. V souladu s tím se bude pravděpodobně u takových buněk lišit i míra pozorované aglutinace.
3. Skladovaná krev může vykazovat slabší reakci než krev čerstvá.
4. 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 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 zdrojová monoklonální protilátka byla prokázána pomocí panelu antigen-negativních buněk.
3. Kontrola kvality činidla 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 **Doporučené metody**, odpovídá uživatel.
2. Jakékoli odchylky od **doporučených metod** je třeba před použitím validovat³.

BIBLIOGRAFIE

1. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3. vydání, Montgomery Scientific, Miami, 1985, kapitola 9.
2. Marion E. Reid a Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; strana 191.
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.

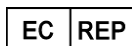
DOSTUPNÉ VELIKOSTI BALENÍ ČINIDEL

Objem nádoby	Katalogové číslo	Počet testů na nádobu
2 ml	315002	40
1000 ml	315000*	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, 2nd Flr.,
 Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta