



## ČINIDLA PRO STANOVENÍ KREVŇNÍCH SKUPIN NA BÁZI LEKTINU NÁVOD K POUŽITÍ

### Anti-N Lectin: Určeno pro testy ve zkumavce a metodu Bio-Rad-ID.

#### SHRNUTÍ

Antigen N objevený v roce 1927 je součástí krevního systému MNS. Anti-N obecně reaguje při pokojové teplotě, a proto se jen vzácně podílí na hemolytické transfuzní reakci a hemolytické nemoci novorozenců.

Anti-M	Anti-N	Fenotyp	Bělošská populace <sup>1</sup>	Afroameričané <sup>1</sup>
+	0	M+N-	28 %	25,5 %
+	+	M+N+	50 %	48,4 %
0	+	M-N+	22 %	26,7 %

#### URČENÉ POUŽITÍ

Činidlo ke stanovení krevních skupin je určeno ke kvalitativnímu stanovení přítomnosti, nebo nepřítomnosti antigenu N (MNS2) 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 glykoproteiny z listů *Vicia unijuga* způsobující u červených krvinek, které nesou antigen N, po odstředění aglutinaci (shlukování). Nepřítomnost aglutinace (nepřítomnost shlukování) obecně indikuje nepřítomnost antigenu N (viz **Omezení**).

#### ČINIDLO

Činidlo Lorne Anti-N Lectin ke stanovení krevních skupin se připravuje z extraktu listů rostliny *Vicia unijuga* naředěného roztokem chloridu sodného s obsahem 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

Nádobky 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 po otevření před použitím a při 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 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 nádobka s činidlem prasklá nebo netěsná, okamžitě obsah zlikvidujte.
- Nepoužívejte činidla 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 známka 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 kovu. 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.
- Bovinní materiál se získává ze zdrojů, u nichž je možné dohledat informace o původu. Dárčovská zvířata, z nichž bovinní materiál pochází, prošla kontrolou, získala osvědčení o absenci onemocnění a riziko TSE (transmisivní spongiformní encefalopatie) se u nich pokládá za nízké.
- Po potřebování činidla prázdnou nádobu vyhodte do žlutého kontejneru, jehož obsah je určen ke spálení.

#### LIKVIDACE ČINIDLA A POSTUP PŘI ROZLÍTÍ

S odpadem nakládejte v souladu s místními a státními předpisy. Podrobnější 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 s využitím heterozygotních buněk) a negativní kontroly. Pokud kontroly neukazují očekávané výsledky, považujte testy za neplatné.

- Před použitím nechte činidlo zahřát na pokojovou teplotu. Po použití vraťte činidlo ihned zpět na úložné místo při teplotě 2–8 °C.
- 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.
- Činidlo je určeno k použití u manuálních testovacích metod. Za posouzení vhodnosti zařízení u jiných metod a/nebo testovacích systémů je odpovědný koncový uživatel.
- V příslušných případech je nutné používat kalibrované nebo ověřené zařízení.
- Pokud dojde k závažnému incidentu (definovanému v příslušných předpisech), který lze přičíst činidlu společnosti Lorne, koncový uživatel činidla musí tuto skutečnost neprodleně oznámit výrobci a kontrolnímu úřadu země, v níž k incidentu došlo.

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

##### Zkumavková metoda

- skleněné zkumavky (10 x 75 mm nebo 12 x 75 mm)
- odstředivka na zkumavky umožňující odstřeďovat při síle 1000 g po dobu 20 sekund
- inkubátor se suchým teplem nebo vodní lázní nastavený na stabilní teplotu 37 °C ± 2 °C
- fosfátem pufovaný fyziologický roztok (PBS) (pH 6,8–7,2) nebo izotonický fyziologický roztok (Isotonic) (pH 6,5–7,5)
- červené krvinky pozitivní (nejlépe M+N+) a negativní (M+M+) kontroly

##### 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
- inkubátor Bio-Rad ID nastavený na stabilní teplotu 37 °C ± 2 °C

#### Všechny metody

- odměrné pipety

#### 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 37 °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 Bio-Rad NaCl, enzymový test a chladové aglutininy odstraňte hliníkovou fólii.
- Do příslušné mikrozkuvky přidejte: 50 µl suspenze červených krvinek a 25 µl činidla Lorne.
- Inkubujte ID kartu/karty při teplotě 37 °C po dobu 15 minut.
- Odstřeďte ID kartu/karty v odstředivce Bio-Rad ID.
- 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 N na červených krvinkách.
- Negativní:** Nepřítomnost aglutinace červených krvinek znamená negativní výsledek a v rámci přijatelných omezení testovací metody indikuje nepřítomnost antigenu N na červených krvinkách.

#### STABILITA REAKCÍ

- Výsledky ve zkumavkách je nutné odečíst ihned po odstředění. Prodlava 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

- Jsou-li výsledky nejednoznačné, doporučuje se promýt červené krvinky alespoň dvakrát.
- Skladovaná krev může vykazovat slabší reakci než krev čerstvá.

3. 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. Činidlo je určeno k použití u vzorků lidské krve.
2. Každá šarže tohoto 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 pokynů pro služby transfuze krve ve Spojeném království („Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom“).
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 **Doporučené metody**, odpovídá uživatel.
2. Jakékoli odchylky od **doporučených metod** 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 190.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3. vydání. Montgomery Scientific, Miami 1985; kapitola 14.
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-N	2 ml	312002	40
Lectin:	1000 ml	312000*	20 000

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

### TABULKA SYMBOLŮ

Symbol	Definice	Symbol	Definice
	Výrobce	<b>REF</b>	Katalogové číslo
	Teplotní omezení		Použijte do RRRR/MM/DD
<b>IVD</b>	Diagnostický zdravotní prostředek in vitro		Seznamte se s návodem k použití
<b>EC REP</b>	Pověřený zástupce	<b>LOT</b>	Číslo šarže
	Nesterilní		



#### 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