



MONOKLONÁLNÍ ČINIDLA PRO STANOVENÍ KREVNÍCH SKUPIN NÁVOD K POUŽITÍ

Monoclonal Anti-C^w: Určeno pro testy ve zkumavce, na sklíčku a metody Bio-Rad-ID a Ortho BioVue.

SHRNUTÍ

Levine a Stetson objevili Rh systém krevních skupin v roce 1940. Kromě antigenu D další významné Rh antigeny zahrnují C, E, c a e. Antigen C^w patří mezi vzácnější antigeny, ale anti-C^w je protilátka s poměrně běžným výskytem. Všechny protilátky Rh jsou klinicky významné, protože mohou vyvolávat jak potransfuzní reakce, tak hemolytickou nemoc novorozenců.

Antigen Rh	Bělošská populace ²	Černošská populace ²	Finové ²	Lotyšši ²
C ^w	2%	1%	4%	9%

ÚČEL POUŽITÍ

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

ČINIDLA

Činidlo Lorne Monoclonal Anti-C^w ke stanovení krevních skupin obsahuje lidskou monoklonální protilátku IgM naředěnou ve fosfátovém pufru s obsahem chloridu sodného (0,6 g%), hovězího albuminu (6 g%) a konzervační látky. Činidla neobsahují 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

Nádobý 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 studii 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 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 fosfátovém pufovaném (PBS) nebo izotonickém (Isotonic) fyziologickém roztoku.

UPOZORNĚNÍ

- Činidla jsou určena 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.
- Činidla byla filtrována přes 0,2µm kapsli z důvodu snížení biologické zátěže, ale nejsou dodávána sterilní. Po otevření nádoby zůstává obsah použitelný až do data expirace, pokud není výrazně zkalený, což může být známkou zhoršené kvality nebo kontaminace činidla.
- Činidla obsahují < 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.
- Schválené mikrobiologické testy zdrojových materiálů použitých k výrobě činidel prokázaly, že jsou negativní vůči protilátkám HIV 1+2 a HCV a antigenu HBsAg.
- 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 heterozygotní) a negativní kontroly. Pokud kontroly neukazují očekávané výsledky, považujte testy za neplatné.
- Sklíčková metoda může nedostatečně detekovat slabé antigeny C^w. Slabé antigeny C^w je doporučeno testovat zkumavkovou metodou.
- Při typizaci červených krvinek pacienta, u něhož bylo diagnostikováno onemocnění, které způsobuje navázání protilátky nebo jiných proteinů na membránu červených krvinek (např. HNN, AIHA), je důležité otestovat červené krvinky pacienta negativní kontrolou činidla Lorne (Monoclonal D Negative Control, kat. č. 650010).
- V části **Doporučené metody** představuje jedna objemová jednotka přibližně 50 µl při použití kapátka dodávaného s balením.
- Používat činidlo a interpretovat výsledky smí pouze fádne 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 odstředovat 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 heterozygotní) a negativní kontrolu

Metoda typizace Bio-Rad-ID Micro

- ID karty Bio-Rad (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

Metoda s využitím mikrotitračních destiček

- validované mikrotitrační destičky s „U“ jamkami
- odstředivka určená pro mikrotitrační destičky
- třepačka mikrotitračních destiček

Sklíčková metoda

- mikroskopická sklíčka nebo bílé karty
- aplikační tyčinky
- časovač nebo stopky

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 Monoclonal Anti-Cw a 1 objemovou jednotku suspenze červených krvinek.
- Odstředěte všechny zkumavky po dobu 20 sekund při odstředivé síle 1000 RCF, případně dobu a sílu odstředění vhodně upravte.
- Sedimentované červené krvinky jemně znovu resuspendujte a makroskopicky odečtěte výsledek aglutinace.

B. Metoda typizace Ortho BioVue (Neutrální kazety)

- V 0,8% roztoku Ortho Red Cell Diluent připravte 0,8% suspenzi červených krvinek.
- Z potřebného množství reakčních komůrek na Neutrálních kazetách odstraňte hliníkovou fólii.
- Do příslušné reakční komůrky přidejte: 50 µl suspenze červených krvinek a 40 µl činidla Lorne.
- Odstředěte kazetu/kazety v odstředivce Ortho BioVue.
- Makroskopicky odečtěte výsledek aglutinace.

C. Metoda typizace Bio-Rad-ID Micro

- V roztoku ID-CellStab nebo ID-Diluent 2 připravte 0,8% suspenzi červených krvinek.
- Z potřebného množství mikrozkumavek na ID kartě NaCl, enzymový test a chladové aglutininy odstraňte hliníkovou fólii.

- Do příslušné mikrozkušavky přidejte: 50 µl suspenze červených krvinek a 25 µl činidla Lorne.
- Odstředte ID kartu/karty v odstředivce Bio-Rad ID.
- Makroskopicky odečtěte výsledek aglutinace.

D. Metoda s využitím mikrotitračních destiček s „U“ jamkami

- Ve fyziologickém roztoku PBS nebo Isotonic připravte 2–3% suspenzi červených krvinek.
- Do příslušné jamky přidejte: 1 objemovou jednotku činidla Lorne a 1 objemovou jednotku suspenze červených krvinek.
- Důkladně promíchejte, nejlépe na mikrotitrační třepače, a dbejte, aby nedošlo mezi jamkami ke křížové kontaminaci.
- Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 15 minut (čas určuje uživatel).
- Odstředte mikrotitrační destičku po dobu 1 minuty při odstředivé síle 140 RCF, případně dobu a sílu odstředění vhodně upravte.
- Řízeným pohybem na mikrotitrační třepače sedimentované buňky resuspendujte.
- Makroskopicky nebo pomocí validované automatické čtečky odečtěte výsledek.
- Slabé reakce je třeba vždy zopakovat s využitím zkumavkové metody.

E. Sklíčková metoda

- V séru, plazmě nebo fyziologickém roztoku PBS či Isotonic připravte 35–45% suspenzi červených krvinek. Pokud to není možné, lze rovněž použít jako vzorek plnou krev s antikoagulantem.
- Na štítkem označené mikroskopické sklíčko nebo kartu přidejte: 1 objemovou jednotku činidla Lorne a 1 objemovou jednotku suspenze červených krvinek.
- Pomocí čisté aplikační tyčinky smíchejte činidlo a buňky na ploše přibližně 20 x 40 mm.
- Pomalou sklíčkovou kývejte dopředu a dozadu po dobu 1 minuty.
- V rozptýleném světle odečtěte po 1 minutě makroskopicky výsledek a nezaměňujte fibrinová vlákna za aglutinaci.
- Slabé reakce je třeba vždy zopakovat s využitím zkumavkové metody.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ TESTU

- Pozitivní:** Aglutinace červených krvinek znamená pozitivní výsledek testu a v rámci přijatelných omezení testovací metody indikuje přítomnost antigenu C^w na červených krvinkách.
- Negativní:** Nepřítomnost aglutinace červených krvinek znamená negativní výsledek a v rámci přijatelných omezení testovací metody indikuje nepřítomnost antigenu C^w 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 ve zkumavkách je nutné odečíst ihned po odstředění. Prodleva může způsobit rozklad komplexů antigen-protilátka s následným falešně negativním nebo slabě pozitivním výsledkem.
- Sklíčkové testy je nezbytné interpretovat do jedné minuty, aby byla zajištěna specifita a vyloučena možnost, že negativní výsledek bude mylně interpretován jako pozitivní v důsledku zasychání činidla.
- Při interpretaci výsledků testů prováděných při jiných než doporučených teplotách postupujte obezřetně.

OMEZENÍ

- U řady monoklonálních lidských protilátek IgM Rhesus bylo prokázáno, že vyvíjejí anti-I/i chladovou aglutinativní aktivitu, zejména s buňkami pupečnickové krve a buňkami ošetřenými enzymy. Tato aktivita se může projevit, pokud jsou testované vzorky inkubovány při nižší než doporučené teplotě.
- Potlačená nebo snížená exprese antigenů některých krevních typů může naopak vést k falešně negativní reakci, proto je třeba vždy postupovat obezřetně, když na základě výsledků testů stanovujete genotypy.
- 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

- 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 aktuální verze či vydání pokynů pro služby transfuze krve ve Spojeném království („Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom“).
- Specifita zdrojových monoklonálních protilátek byla prokázána pomocí panelu antigen-negativních buněk.
- 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

- Za účinnost činidel použitých jinými technikami, než které jsou uvedeny v části **Doporučené metody**, odpovídá uživatel.
- Jakékoli odchylky od **doporučených metod** je třeba před použitím validovat⁵.

BIBLIOGRAFIE

- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3. vydání, Montgomery Scientific, Miami, 1985, kapitola 10.
- Marion E. Reid a Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; strana 31.
- AABB Technical Manual, 16. vydání, AABB 2008.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6. vydání 2002. The Stationary Office.
- 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

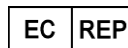
	Objem nádoby	Katalogové číslo	Počet testů na nádobu
Anti-C ^w Monoclonal	2 ml	750002	40
	1000 ml	750000*	20 000

*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