

MONOKLONÁLNÍ ČINIDLA PRO STANOVENÍ KREVŇÍCH SKUPIN NÁVOD K POUŽITÍ

Anti-Fy^a Monoclonal: Určeno pro nepřímé antiglobulinové metody.

SHRNUTÍ

Antigen Fy^a byl objeven v roce 1950, antigen Fy^b pak v roce 1951. Antigeny Anti-Fy^a a anti-Fy^b se oba podílí na akutní i opožděné hemolytické potransfuzní reakci a hemolytické nemoci novorozenců.

Anti-Fy ^a	Anti-Fy ^b	Fenotyp	Bělošská populace %	Afroameričané %
+	0	Fy(a+b-)	17	9
0	+	Fy(a-b+)	34	22
+	+	Fy(a+b+)	49	1
0	0	Fy(a-b-)	velmi vzácně	68

URČENÉ POUŽITÍ

Činidlo ke stanovení krevních skupin je určeno ke kvalitativnímu stanovení přítomnosti, nebo nepřítomnosti antigenu Fy(a) (FY001) 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 způsobuje v antiglobulinové fázi testování aglutinaci (shlukování) červených krvinek, které nesou antigen Fy(a). Nepřítomnost aglutinace obecně indikuje nepřítomnost antigenu Fy(a) (viz část **Omezení**).

ČINIDLA

Toto monoklonální činidlo IgG ke stanovení krevních skupin obsahuje lidské monoklonální protilátky nařazené ve fosfátovém pufru s obsahem 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**.

Produkt	Buněčná kultura / klon
Anti-Fy ^a	DG-FYA-02

SKLADOVÁNÍ

Chraňte před mrazem. Nádobu 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 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 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 0,2 μm 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 kovu. 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 činidel a dekontaminaci místa, kde došlo k jejich 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.
- Antiglobulinové metody lze považovat za platné, pouze pokud všechny negativní testy mají s červenými krvinkami senzibilizovanými IgG pozitivní reakci.
- 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 jsou činidla používána.
- Vhodnost použití činidla při jiných metodách je na posouzení uživatele.

ČINIDLA A POTŘEBNÝ MATERIÁL

- antiglobulinové sérum, tj. Lorne AHG Elite (kat. č. 435010 nebo 415010) nebo činidlo proti lidskému IgG, tj. Lorne Anti-Human IgG (kat. č. 402010 nebo 401010)
- promyvačka buněk na bázi Coombsovy metody
- karty Bio-Rad ID (LISS/Coombs nebo Coombs Anti-IgG)
- 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
- skleněné zkumavky (10 × 75 mm nebo 12 × 75 mm)
- červené krvinky senzibilizované IgG, tj. Lorne Coombs Control Cells (kat. č. 970010)
- kazety systému Ortho BioVue (AHG Polyspecific nebo AHG Anti-IgG)
- odstředivka systému Ortho BioVue
- topný box Ortho BioVue System Heat Block nastavený na stabilní teplotu 37 °C ±2 °C
- ředicí činidlo Ortho 0,8% Red Cell Diluent
- fosfátém 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
- odměrné pipety
- inkubátor se suchým teplem nebo vodní lázní nastavený na stabilní teplotu 37 °C ±2 °C

DOPORUČENÉ METODY

A. Nepřímá antiglobulinová metoda (Indirect Antiglobulin Technique; IAT)

- 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.
- Promyjte červené krvinky jednou ve fyziologickém roztoku PBS nebo Isotonic. Po promytí fyziologický roztok dekantujte.
- Ke každému suchému buněčnému sedimentu přidejte 2 objemové jednotky antiglobulinového séra nebo anti-IgG.
- Důkladně promíchejte a odstředíte všechny zkumavky po dobu 20 sekund při odstředivé síle 1000 RCF, případně dobu a sílu odstředění vhodné upravit.
- Sedimentované červené krvinky jemně resuspendujte a makroskopicky odečtěte výsledek aglutinace.
- Pomocí červených krvinek senzibilizovaných IgG potvrďte validitu všech negativních reakcí.

B. Metoda Bio-Rad-ID (karty LISS/Coombs)

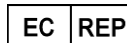
- V roztoku ID-CellStab nebo ID-Diluent 2 připravte 0,8% suspenzi červených krvinek.
- Z potřebného množství mikrozkuvek na ID kartách LISS/Coombs nebo Coombs Anti-IgG odstraňte hliníkovou fólii.
- Do příslušné mikrozkuvky přidejte: 50 μl suspenze červených krvinek a 25 μl činidla Lorne.
- Inkubujte ID kartu/karty LISS/Coombs při teplotě 37 °C po dobu 15 minut.
- Odstředte ID kartu/karty LISS/Coombs v odstředivce určené pro ID karty Bio-Rad.
- Makroskopicky odečtěte výsledek aglutinace.

C. Metoda Ortho BioVue (kazety AHG)

- V 0,8% roztoku Ortho Red Cell Diluent připravte 0,8% suspenzi červených krvinek.

- Z potřebného množství reakčních komurek na kazetách AHG Polyspecific nebo AHG Anti-IgG odstraňte hliníkovou fólii.
- Do příslušné reakční komůrky přidejte: 50 µl suspenze červených krvinek a 40 µl činidla Lorne.
- Inkubujte kazetu/kazety při teplotě 37 °C po dobu 15 minut.
- Odstředte kazetu/kazety v odstředivce systému Ortho BioVue.
- Makroskopicky odečtěte výsledek aglutinace.

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

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ TESTU

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

STABILITA REAKCÍ

- Promývání vzorků je třeba provést bez přerušení a po přidání činidla je nezbytné vzorky ihned odstředít a odečíst výsledky. Prodleva 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

- Červené krvinky, které mají pozitivní přímý antiglobulinový test v důsledku vazby s IgG, nelze **nepřímou antiglobulinovou metodou** typizovat.
- 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 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“).
- Specifická zdrojových monoklonálních protilátek byla prokázána pomocí panelu antigen-specifických 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 validovat⁶.

BIBLIOGRAFIE

- Widman FK. Technical Manual, 9. vydání. American Association of Blood Banks, Arlington, VA, 1985; kapitola 8
- Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, 6. vydání. Blackwell Scientific, Oxford 1975; kapitola 2
- Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8. vydání. Blackwell Scientific, Oxford 1987; kapitola 7
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3. vydání. Montgomery Scientific, Miami 1985; kapitola 6.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. aktuální vydání.
- 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-Fy ^a	2 ml	774002	40
Monoclonal	1000 ml	774000*	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