



MONOKLONÁLNÍ ČINIDLA PRO STANOVENÍ KREVNÍCH SKUPIN
NÁVOD K POUŽITÍ

Anti-K Monoclonal: Určeno pro testy ve zkumavce, na mikrotitrační destičce, sklíčku a metody Bio-Rad-ID a Ortho BioVue.

SHRNUTÍ

Antigen K byl objeven v roce 1946. Antigen je při narození plně rozvinutý a může být silně imunogenní. Antigen Anti-K se podílí na hemolytické potransfuzní reakci a hemolytické nemoci novorozenců.

Anti-K	Anti-k	Fenotyp	Bělošská populace ¹	Afroameričané ¹
+	0	K+k-	0,2%	vzácně
+	+	K+k+	8,8%	2%
0	+	K-k+	91%	98%
0	0	K _o	velmi vzácně	

URČENÉ POUŽITÍ

Činidlo ke stanovení krevních skupin je určeno ke kvalitativnímu stanovení přítomnosti, nebo nepřítomnosti antigenu Kell (KEL1) 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 K na povrchu lidských červených krvinek a způsobuje přímou aglutinaci (shlukování) lidských červených krvinek, které nesou antigen Kell. Nepřítomnost aglutinace (nepřítomnost shlukování) obecně indikuje nepřítomnost antigenu Kell (viz **Omezení**).

ČINIDLO

Lorne Monoclonal Anti-K je nízkoproteinové činidlo ke stanovení krevních skupin, které obsahuje monoklonální protilátku IgM, klon MS-56, v roztoku fosfátového pufru s obsahem chloridu sodného, hovězího albuminu a makromolekulárních potenciátorů (4,0 g%). 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, citrátů 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. Výsledek testování vzorků krve s příkaznou 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

- 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 0,2µm 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 ková. 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 rozliti, 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.
- Při typizaci červených krvinek pacienta je důležité zahrnout negativní kontrolu činidla (Lorne Mono Rh Control, kat. č. 640010), jelikož makromolekulární potenciátory v činidle mohou způsobit falešně pozitivní reakci s buňkami s navázaným IgG.
- Míra detekce slabých antigenů K metodou s využitím gelové karty, mikrotitrační destičky nebo sklíčka může být nízká. Slabé antigeny K je doporučeno testovat zkumavkovou metodou.
- 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 jsou činidla používána.
- Vhodnost použití činidla při jiných metodách je na posouzení uživatele.

ČINIDLA A POTŘEBNÉ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ BALENÍ

Zkumavková metoda

- skleněné zkumavky (10 × 75 mm nebo 12 × 75 mm)
- odstředivka umožňující odstředovat při 1000 g po dobu 20 sekund
- 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 KK) a negativní (kk) 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

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 a 1 objemovou jednotku suspenze červených krvinek.
- Důkladně promíchejte a odstředte 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.
- Veškeré zkumavky, které vykazují negativní nebo nejednoznačný výsledek, je třeba inkubovat při pokojové teplotě po dobu 15 minut.
- Po inkubaci zopakujte kroky 3 a 4.

B. Metoda Bio-Rad-ID (karty NaCl, enzymové testy a chladové aglutininy)

- V roztoku ID-CellStab nebo ID-Diluent 2 připravte 0,8% suspenzi červených krvinek.
- Z potřebného množství mikrozkumavek na ID kartě NaCl, enzymové testy a chladové aglutininy odstraňte hliníkovou fólii.
- Do příslušné mikrozkumavky přidejte: 25 µl suspenze červených krvinek a 25 µl činidla Lorne.
- Odstředte ID kartu/karty v odstředivce Bio-Rad ID.

5. Makroskopicky odečtete výsledek aglutinace.

C. Metoda Ortho BioVue (Neutrální kazety)

1. V 0,8% roztoku Ortho Red Cell Diluent připravte 0,8% suspenzi červených krvinek.
2. Z potřebného množství reakčních komůrek na Neutrální kazetě/Neutrálních kazetách odstraňte hliníkovou fólii.
3. Do příslušné reakční komůrky přidejte: 50 µl suspenze červených krvinek a 40 µl činidla Lorne.
4. Odstředte kazetu/kazety v odstředivce systému Ortho BioVue.
5. Makroskopicky odečtete výsledek aglutinace.

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

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

E. Sklíčková metoda

1. 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.
2. Na štítkem označené mikroskopické sklíčko nebo kartu přidejte: 1 objemovou jednotku činidla Lorne a 1 objemovou jednotku suspenze červených krvinek.
3. Pomocí čisté aplikační tyčinky smíchejte činidlo a buňky na ploše přibližně 20 x 40 mm.
4. Při pokojové teplotě jemně sklíčkem kývejte dopředu a dozadu po dobu 1 minuty.
5. V rozptýleném světle odečtete po 1 minutě makroskopicky výsledek a nezačínáte fibrinová vlákna za aglutinaci.
6. Slabé reakce je třeba vždy zopakovat s využitím zkumavkové metody.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ TESTU

1. **Pozitivní:** Aglutinace červených krvinek znamená pozitivní výsledek testu a v rámci přijatelných omezení testovací metody indikuje přítomnost antigenu K na červených krvinkách.
2. **Negativní:** Nepřítomnost aglutinace červených krvinek znamená negativní výsledek a v rámci přijatelných omezení testovací metody indikuje nepřítomnost antigenu K na červených krvinkách.
3. **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

1. U všech testů ve zkumavkách a na mikrotitračních destičkách odečítejte výsledky ihned po odstředění.
2. 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.
3. Při interpretaci výsledků testů prováděných při jiných než doporučených teplotách postupujte obezřetně.

OMEZENÍ

1. Skladovaná krev může vykazovat slabší reakci než krev čerstvá.
2. Falešné pozitivní nebo falešné 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 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“) a obecných technických specifikací.
2. Specifita zdrojových monoklonálních protilátek 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 validovat⁵.

BIBLIOGRAFIE

1. Marion E. Reid a Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; strana 186.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3. vydání. Montgomery Scientific, Miami 1985; kapitola 12.
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

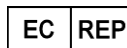
Objem nádoby	Katalogové číslo	Počet testů na nádobu
10 ml	760010	200
1000 ml	760000*	20 000

*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