



## MONOKLONÁLNÍ ČINIDLA PRO STANOVENÍ KREVŇÍCH SKUPIN NÁVOD K POUŽITÍ

**Anti-Le<sup>a</sup> Monoclonal:** Určeno pro testy ve zkumavce a metody Bio-Rad-ID a Ortho BioVue.

### SHRNUTÍ

Antigeny Lewis systému nejsou integrální součástí membrány červených krvinek. Jsou produkovány buňkami tkání a vyskytují se primárně v plazmě a vodnatých sekrecích. Červené krvinky získávají antigeny Lewis adsorpční z okolní plazmy. Míra exprese antigenu Lewis na buňce se může lišit podle fenotypu ABO buňky. Anti-Le<sup>a</sup> není spojován s hemolytickou nemocí novorozenců, jsou však případy Anti-Le<sup>a</sup>, které způsobily hemolytickou potransfuzní reakci.

Anti-Le <sup>a</sup>	Anti-Le <sup>b</sup>	Fenotyp	Caucasians <sup>1</sup>	Afroameričané <sup>1</sup>
+	0	Le(a+b-)	22%	23%
0	+	Le(a-b+)	72%	55%
0	0	Le(a-b)	6%	22%
+	+	Le(a+b+)	vzácně	vzácně

### URČENÉ POUŽITÍ

Toto činidlo ke stanovení krevních skupin je určeno ke kvalitativnímu stanovení přítomnosti, nebo nepřítomnosti antigenů Le<sup>a</sup> (LE1) 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 Le<sup>a</sup> na povrchu lidských červených krvinek a způsobuje po odstředění přímou aglutinaci (shlukování) červených krvinek, které nesou antigen Le<sup>a</sup>. Nepřítomnost aglutinace (nepřítomnost shlukování) obecně indikuje nepřítomnost antigenů Le<sup>a</sup> (viz **Omezení**).

### ČINIDLA

Činidlo Lorne Monoclonal Anti-Le<sup>a</sup> ke stanovení krevních skupin obsahuje lidské monoklonální protilátky IgM naředěné ve fosfátovém pufru s obsahem chloridu sodného, EDTA, hovězího albuminu a makromolekulárního potenciátoru (2,5 g%). Anti-Le<sup>a</sup> je získávána z klonu P3N20V3. 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

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 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 nezbytné (viz část „Omezení“) promýt veškeré krevní vzorky ve fosfátovém pufovaném (PBS) nebo izotonickém (Isotonic) fyziologickém roztoku.

### UPOZORNĚNÍ

- Činidla jsou určena výhradně k diagnostice *in vitro*.
- Je-li nádobu 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 známka 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.
- 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 a negativní kontroly. Pokud kontroly neukazují očekávané výsledky, považujte testy za neplatné.
- 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 Rh Control, kat. č. 640010).
- 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 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
- fosfátém pufovaný fyziologický roztok (PBS) (pH 6,8–7,2) nebo izotonický fyziologický roztok (Isotonic) (pH 6,5–7,5)
- buňky pozitivní Le(a+) a negativní Le(a-) 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

#### 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

### DOPORUČENÉ METODY

#### A. Zkumavková metoda

- Ve fyziologickém roztoku PBS nebo Isotonic připravte 2–3% suspenzi promytých červených krvinek.
- Do štítkem označené zkumavky přidejte: 1 objemovou jednotku činidla Lorne Lewis a 1 objemovou jednotku suspenze červených krvinek.
- Důkladně promíchejte a inkubujte při pokojové teplotě po dobu 15 minut.
- Odstředivkou 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 promytých červených krvinek.
- Z potřebného množství mikrozkuvek na ID kartě NaCl, enzymový test a chladové aglutininy (NaCl/Enzyme/Cold) odstraňte hliníkovou fólii.
- Do příslušné mikrozkuvky přidejte: 50 μl 0,8% suspenze červených krvinek a 25 μl činidla Lorne.
- Inkubujte ID kartu/karty při pokojové teplotě po dobu 15 minut.
- Odstředte ID kartu/karty 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 promytých červených krvinek.
- Z potřebného množství mikrozkuvek na kazetě Neutrální odstraňte hliníkovou fólii.
- Do příslušné reakční komůrky přidejte: 50 μl suspenze červených krvinek a 40 μl činidla Lorne.
- Inkubujte kazetu/kazety při pokojové teplotě po dobu 15 minut.
- Odstředte 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 Le<sup>a</sup> na červených krvinkách.
- Negativní:** Nepřítomnost aglutinace červených krvinek znamená negativní výsledek testu a v rámci přijatelných omezení testovací metody indikuje nepřítomnost antigenu Le<sup>a</sup> 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.



Advena Ltd. Tower Business Centre, 2<sup>nd</sup> Flr.,  
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta

#### STABILITA REAKCÍ

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

- Činidla Lorne Lewis lze používat pouze s promytými červenými krvinkami suspendovanými ve fyziologickém roztoku, protože antigeny Lewis jsou obsaženy v plazmě. Buňky suspendované v plazmě/séru **není možné** použít, protože přítomný rozpustný antigen by mohl neutralizovat testovací činidlo, což by vedlo k falešně negativnímu výsledku.
- Červené krvinky většiny novorozenců budou s monoklonálními nebo lidskými činidly anti-Lewis vykazovat typ Le(a-b-), ačkoli některé vzorky vyvolají slabou pozitivní reakci v rámci přímých antiglobulinových testů s myší monoklonální protilátkou Anti-Le<sup>a</sup>.
- Fenotypy systému Lewis u dětí mladších šesti let nelze přesně stanovit. Antigeny Lewis červených krvinek jsou během těhotenství oslabené.
- Skládovaná krev může vykazovat slabší reakci než krev čerstvá.
- 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 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“).
- Specifická 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 validovat<sup>5</sup>.

#### BIBLIOGRAFIE

- Marion E. Reid a Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; strana 189.
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3. vydání. Montgomery Scientific, Miami 1985; kapitola 7.
- 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-Le <sup>a</sup> Monoclonal	2 ml	632002	40
	1000 ml	632000*	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