



MONOKLONÁLNÍ ČINIDLA PRO STANOVENÍ KREVŇNÍCH SKUPIN NÁVOD K POUŽITÍ

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

SHRNUTÍ

Antigen M objevený v roce 1927 je součástí krevního systému MNS. Expresí antigenu M na červených krvinkách může vykazovat efekt dávky. Anti-M se jen vzácně podílí na hemolytické potransfuzní reakci a hemolytické nemoci novorozenců.

Anti-M	Anti-N	Fenotyp	Bělošská populace ¹	Afroameričané ¹
+	0	M+N-	28%	25,4%
+	+	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 M na povrchu červenýchrvinek 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 M na povrchu lidských červenýchrvinek a způsobuje přímou aglutinaci (shlukování) lidských červenýchrvinek, které nesou antigen M. Nepřítomnost aglutinace (nepřítomnost shlukování) obecně indikuje nepřítomnost antigenu M (viz **Omezení**).

ČINIDLA

Činidlo Lorne Monoclonal Anti-M ke stanovení krevních skupin obsahuje myší monoklonální protilátku IgG (klon č. LM110/140) naředěnou v pufru s obsahem chloridu sodného (0,6 g%), hovězího albuminu (4,0 g%) a konzervační látky. 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 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 v nepufrovaném 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 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.
- 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.
- Při typizaci červenýchrvinek pacienta, u něhož bylo diagnostikováno onemocnění, které způsobuje navázání protilátky nebo jiných proteinů na membránu červenýchrvinek (např. HNN, AIHA), je důležité otestovat červené krvinky pacienta negativní kontrolou Lorne Negative Control (kat. č. 650010). Pokud červené krvinky za užití negativní kontroly Lorne Negative Control aglutinují, testy je nutné považovat 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 jsou činidla používána.
- Vhodnost použití činidla při jiných metodách je na posouzení uživatele.

ČINIDLA A POTŘEBNÉ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ BALENÍ

Zkumavková metoda

- odstředivka umožňující odstředovat při 1000 g po dobu 20 sekund
- skleněné zkumavky (10 x 75 mm nebo 12 x 75 mm)
- červené krvinky pozitivní (nejlépe M+N+) a negativní (N+N+) kontroly

Metoda typizace Bio-Rad-ID Micro

- karty Bio-Rad ID (NaCl, enzymový test a chladové aglutininy)
- odstředivka Bio-Rad ID

Metoda typizace Ortho BioVue

- kazety systému Ortho BioVue (Neutrální)
- odstředivka systému Ortho BioVue

Metoda s využitím mikrotitračních destiček

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

Všechny metody

- odměrné pipety
- nepufrovaný fyziologický roztok

DOPORUČENÉ METODY

A. Zkumavková metoda

- V nepufrovaném fyziologickém roztoku připravte 2–3% suspenzi červenýchrvinek (viz **Omezení**).
- Do štítkem označené zkumavky přidejte: 1 objemovou jednotku činidla Lorne Anti-M Monoclonal a 1 objemovou jednotku suspenze červenýchrvinek.
- Odstředte 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 nepufrovaném fyziologickém roztoku připravte 0,8% suspenzi červenýchrvinek (viz **Omezení**).
- Z potřebného množství reakčních komůrek na Neutrálních kazetách odstraňte hliníkovou fólii.
- Do příslušné reakční komůrky přidejte: 50 μl suspenze červenýchrvinek a 40 μl činidla Lorne.
- Odstředte kazetu/kazety v odstředivce Ortho BioVue.
- Makroskopicky odečtěte výsledek aglutinace.

C. Metoda typizace Bio-Rad-ID Micro

- V nepufrovaném fyziologickém roztoku připravte 0,8% suspenzi červenýchrvinek (viz **Omezení**).
- Z potřebného množství mikrozkuvek na ID kartě NaCl, enzymový test a chladové aglutininy odstraňte hliníkovou fólii.
- Do příslušné mikrozkuvky přidejte: 50 μl suspenze červenýchrvinek 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

1. V nepufrovaném fyziologickém roztoku připravte 2–3% suspenzi červených krvinek (viz **Omezení**).
2. Do příslušné jamky přidejte: 1 objemovou jednotku činidla Lorne a 1 objemovou jednotku suspenze červených krvinek.
3. Důkladně promíchejte, nejlépe na mikrotitrační třepačce, a dbejte, aby nedošlo mezi jamkami ke křížové kontaminaci.
4. Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 15 minut (čas určuje uživatel).
5. Odstředějte mikrotitrační destičku po dobu 1 minuty při odstředivé síle 140 RCF, případně dobu a sílu odstředění vhodně upravte.
6. Řízeným pohybem na mikrotitrační třepačce sedimentované buňky resuspendujte.
7. Makroskopicky nebo pomocí validované automatické čtečky odečtěte výsledek.
8. 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 M na červených krvinkách.
2. **Negativní:** Nepřítomnost aglutinace červených krvinek znamená negativní výsledek a v rámci přijatelných omezení testovací metody indikuje nepřítomnost antigenu M na červených krvinkách.

STABILITA REAKCÍ

1. Výsledky ve zkumavkách je nutné odečíst ihned po odstředění. Prodleva může způsobit rozklad komplexů antigen a protilátka s následným falešně negativním nebo slabě pozitivním výsledkem.
2. Při interpretaci výsledků testů prováděných při jiných než doporučených teplotách postupujte obezřetně.

OMEZENÍ

1. Toto činidlo reaguje optimálně s antigeny M při pH 8,5. I když činidlo obsahuje ideální pufr pro dané pH, je třeba dodržovat následující body:
 - Suspenze červených krvinek v pufovaném médiu (např. Alsevers) je nutné před použitím nejméně třikrát promýt v nepufrovaném fyziologickém roztoku.
 - Je nezbytné vyvarovat se použití pufovaného média k promývání a přípravě suspenze červených krvinek, protože výsledky by mohly být neplatné.
 - K promývání a přípravě suspenze červených krvinek by neměl být používán nepufrovaný fyziologický roztok s pH nižším než 6.
2. Buňky modifikované proteolytickými enzymy nesmí být požívány, protože by mohlo dojít k poškození antigenů MN
3. 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 fenotypy.
4. 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. 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“).
2. Specifická zdrojových monoklonálních protilátek byla prokázána pomocí panelu antigen-negativních buněk.
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 v nepufrovaném fyziologickém roztoku.

VYLOUČENÍ ODPOVĚDNOSTI

1. Za účinnost činidel použitých 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 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.

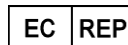
DOSTUPNÉ VELIKOSTI BALENÍ ČINIDEL

	Objem nádoby	Katalogové číslo	Počet testů na nádobu
Anti-M Monoclonal	2 ml	772002	40
	1000 ml	772000*	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