LORNE LABORATORIES LTD.
VELKÁ BRITÁNIE

ČINIDLA PRO STANOVENÍ KREVNÍCH SKUPIN NA BÁZI LEKTINU
NÁVOD K POUŽITÍ

Anti-N Lectin: Určeno pro testy ve zkumavce a metodu Bio-Rad-ID.

SHRNUTÍ

Antigen N objevený v roce 1927 je součástí krevního systému MNS. Anti-N obecně reaguje při pokojové teplotě, a proto 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%	25,5%
+	+	**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 N (MNS2) 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 glykoproteiny z listů *Vicia unijuga* způsobující u červených krvinek, které nesou antigen N, po odstředění aglutinaci (shlukování). Nepřítomnost aglutinace (nepřítomnost shlukování) obecně indikuje nepřítomnost antigenu N (viz **Omezení**).

ČINIDLO

Činidlo Lorne Anti-N Lectin ke stanovení krevních skupin se připravuje z extraktu listů rostliny Vicia unijuga naředěného roztokem chloridu sodného s obsahem 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 exspirace 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, 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 fosfátem pufrovaném (PBS) nebo izotonickém (Isotonic) fyziologickém roztoku.

UPOZORNĚNÍ

1. Činidlo je určeno výhradně k diagnostice *in vitro*.
2. Je-li nádoba s činidlem prasklá nebo netěsní, okamžitě obsah zlikvidujte.
3. Nepoužívejte činidlo po datu použitelnosti (viz **štítek na nádobě**).
4. Nepoužívejte činidlo, pokud obsahuje sraženinu.
5. Při manipulaci s činidly je třeba používat ochranný oděv, například jednorázové rukavice a laboratorní plášť.
6. 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 exspirace, pokud není výrazně zkalený, což může být známka zhoršené kvality nebo kontaminace činidla.
7. 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 kovů. Při likvidaci spláchněte velkým množstvím vody.
8. 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 ROZLITÍ

Informace o likvidaci činidla a dekontaminaci místa, kde došlo k jeho rozlití, najdete v **bezpečnostních listech**, které jsou k dispozici na vyžádání.

KONTROLY A POKYNY

1. 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.
2. Před použitím nechte činidlo zahřát na pokojovou teplotu. Po použití vraťte činidlo ihned zpět na úložné místo při teplotě 2–8 °C.
3. V části **Doporučené metody** představuje jedna objemová jednotka přibližně 50 µl při použití kapátka dodávaného s balením.
4. Používat činidlo a interpretovat výsledky smí pouze řádně vyškolený a kvalifikovaný personál v souladu s požadavky země, kde je činidlo používáno.
5. 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 na zkumavky umožňující odstřeďovat při síle 1000 g po dobu 20 sekund
- inkubátor se suchým teplem nebo vodní lázní nastavený na stabilní teplotu 37 °C ±2 °C
- fosfátem pufrovaný fyziologický roztok (PBS) (pH 6,8–7,2) nebo izotonický fyziologický roztok (Isotonic) (pH 6,5–7,5)
- 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
- roztok Bio-Rad ID-CellStab nebo ID-Diluent 2
- inkubátor Bio-Rad ID nastavený na stabilní1 teplotu 37 °C ±2 °C

Všechny metody
- odměrné pipety

DOPORUČENÉ METODY

A. Zkumavková metoda

1. Ve fyziologickém roztoku PBS nebo Isotonic připravte 2–3% suspenzi červených krvinek.
2. Do štítkem označené zkumavky přidejte: 1 objemovou jednotku činidla Lorne Anti-N Lectin a 1 objemovou jednotku suspenze červených krvinek.
3. Důkladně promíchejte a inkubujte při teplotě 37 °C po dobu 15 minut.
4. Odstřeďujte všechny zkumavky po dobu 20 sekund při odstředivé síle 1000 RCF, případně dobu a sílu odstředění vhodně upravte.
5. Sedimentované červené krvinky jemně znovu resuspendujte a makroskopicky odečtěte výsledek aglutinace.

B. Metoda typizace Bio-Rad-ID Micro

1. V roztoku ID-CellStab nebo ID-Diluent 2 připravte 0,8% suspenzi červených krvinek.
2. Z potřebného množství mikrozkumavek na gelové kartě Bio-Rad NaCl, enzymový test a chladové aglutininy odstraňte hliníkovou fólii.
3. Do příslušné mikrozkumavky přidejte: 50 µl suspenze červených krvinek a 25 µl činidla Lorne.
4. Inkubujte ID kartu/karty při teplotě 37 °C po dobu 15 minut.
5. Odstřeďte ID kartu/karty v odstředivce Bio-Rad ID.
6. Makroskopicky odečtěte výsledek aglutinace.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ TESTU

1. **Pozitivní:** Aglutinace červených krvinek znamená pozitivní výsledek testu a v rámci přijatelných omezení testovací metody indikuje přítomnost antigenu N na červených krvinkách.
2. **Negativní:** Nepřítomnost aglutinace červených krvinek znamená negativní výsledek a v rámci přijatelných omezení testovací metody indikuje nepřítomnost antigenu N 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. Skladovaná krev může vykazovat slabší reakci než krev čerstvá.
2. 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 odstřeďování
   - 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 pokynů pro služby transfuze krve ve Spojeném království („Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom").
2. 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

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 validovat[5].

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
2 ml	312002	40
1000 ml	312000*	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

EC REP Advena Ltd. Tower Business Centre, 2nd Flr., Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta