

Anty-k Linia komórkowa: P3A118OL67
Kod produktu: NZ

Odczynnik monoklonalny IgG pochodzenia ludzkiego do oznaczania grup krwi

Do stosowania w metodzie żelowej, kolumnowej oraz w probówkowym pośrednim teście antyglobulinowym



IVD

PRZEZNACZENIE

BIOSCOT Anty-k to odczynnik monoklonalny IgG pochodzenia ludzkiego do oznaczania grupy krwi (linia komórkowa P3A118OL67) przeznaczony do wykrywania antygeny k w metodzie żelowej, kolumnowej oraz w probówkowym pośrednim teście antyglobulinowym. Odczynnik powinien być stosowany przez personel przeszkolony w zakresie technik serologicznych.

WPROWADZENIE

Grupa krwi układu Kell

Od czasu odkrycia antygeny K (KEL1 lub Kell) przez Coombsa w 1946 r. i jego przeciwstawnego antygeny k (KEL2 lub Cellano) przez Levine'a w 1949 r., klasyfikacja układu Kell była rozszerzana i obejmuje obecnie 22 fenotypy. Antygeny anty-K (anty-KEL1) i anty-k (anty-KEL2) mogą wywoływać poważne reakcje na transfuzję krwi oraz chorobę hemolityczną noworodków.

Częstotliwość występowania antygenów K i k różni się dla różnych populacji:

Rasa biała	Rasa czarna
K 9,0%	K 3,5%
k 99,8%	k >99,9%

ZASADA OZNACZENIA

Po zastosowaniu zalecanych technik analitycznych odczynnik wywołuje aglutynację (zlepianie) erytrocytów wykazujących ekspresję antygeny swoistego (reakcja dodatnia). Brak aglutynacji erytrocytów wskazuje na nieobecność antygeny swoistego (reakcja ujemna).

Odczynnik zoptymalizowano do stosowania w rekomendowanych technikach analitycznych, bez konieczności wykonywania dalszych rozcieńczeń ani dodawania innych substancji.

Produkt jest dostarczany w postaci przefiltrowanej na filtrze 0,22 µm.

MATERIAŁY

W skład odczynnika Anty-k o kodzie produktu NZ wchodzi zawiesina przeciwciał monoklonalnych klasy IgG pochodzenia ludzkiego, z linii komórkowej P3A118OL67, w roztworze buforowym makrocząsteczkowych immunostymulantów chemicznych. Odczynnik zawiera azydek sodu 0,1% (w/v) i materiał pochodzenia wołowego. Zawartość każdej fiołki o pojemności 2 ml wystarcza do wykonania około 40–80 oznaczeń.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Wszystkie produkty krwiopochodne należy traktować jako potencjalnie zakaźne. W badaniach materiału dawcy pochodzenia ludzkiego lub linii komórkowej wykorzystywanych do produkcji odczynnika uzyskano wyniki ujemne testów na obecność ludzkiego wirusa nabytego upośledzenia odporności (HIV) typu 1 i 2, wirusa zapalenia wątroby typu B (HBV) i wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV). Żaden ze znanych testów nie gwarantuje, że produkt krwiopochodny pochodzenia ludzkiego będzie wolny od czynników zakaźnych. Należy zachować ostrożność podczas stosowania odczynników, niszczenia każdego z zużytych opakowań i usuwania ich zawartości.

2. Odczynnik zawiera azydek sodu w stężeniu 0,1% (w/v). Azydek sodu może być trujący po spożyciu. Istnieje również ryzyko powstania silnie wybuchowych soli w reakcji z ołowiem i miedzią, wchodzącymi w skład rur instalacji wodno-kanalizacyjnej. Wylewane odpady należy spłukać dużą ilością wody.
3. Odczynnik powinien być klarowny. Zmętnienie może oznaczać skażenie bakteryjne. Nie należy używać odczynnika, jeżeli doszło do wytrącenia osadu, żelu fibrynowego, lub jeżeli w roztworze widoczne są drobiny.
4. Odczynnik jest przeznaczony wyłącznie do profesjonalnej diagnostyki *in vitro*.
5. Materiały pochodzenia wołowego uzyskano ze źródeł zatwierdzonych przez Departament Rolnictwa USA (USDA) lub innych udokumentowanych źródeł. Badanie zwierząt, od których pobrano materiał, potwierdziło brak zakaźności i niskie ryzyko przenoszenia zakaźnych encefalopatii gąbczastych.
6. Produkt należy unieszkodliwić przez zanurzenie na całą noc w odpowiednio stężonym roztworze środków odkażających lub przez autoklawowanie.

WSKAZÓWKI DLA UŻYTKOWNIKÓW

Zaleca się równoległe wykonywanie kontroli dodatniej i ujemnej każdej serii odczynnika. Jeżeli wynik kontroli różni się od oczekiwanego, wynik oznaczenia należy uznać za fałszywy.

Stosowanie kontroli odczynnika równoległe ze wszystkimi badaniami z zastosowaniem opisywanego odczynnika nie jest konieczne. Wykorzystanie kontroli odczynnika, takiej jak kontrola z przeciwciałami monoklonalnymi BIOSCOT (kod produktu: TT), jest zalecane tylko podczas typowania erytrocytów u pacjentów z autoprzeciwciałami lub zaburzeniami białkowymi. Kontrolę należy prowadzić równocześnie z oznaczeniem przy użyciu odczynnika.

Przedstawiona charakterystyka odczynnika odnosi się do procedur zawartych w niniejszej instrukcji obsługi. Przydatność do metod innych niż opisane musi zostać określona przez użytkownika.

W przypadku zmian w analitycznym działaniu urządzenia lub uszkodzenia opakowania należy skontaktować się z Działem Kontroli Jakości firmy Millipore (UK) Ltd.

SPOSÓB PRZECHOWYWANIA

Otwarte lub zamknięte odczynniki należy przechowywać w temperaturze 2–8°C do daty ważności podanej na etykiecie produktu.

Przechowywanie produktu w niewłaściwej temperaturze (np. zbyt wysoka temperatura przechowywania lub wielokrotne rozmrażanie i zamrażanie) może przyspieszyć utratę reaktywności odczynników.

POBIERANIE MATERIAŁU DO BADAŃ

Pobieranie próbek do badań nie wymaga specjalnego przygotowania pacjenta. Krew należy pobrać zatwierdzoną metodą. Pobranie krwi można wykonać na antykoagulanty EDTA lub CPD. Badanie próbki należy przeprowadzić jak najszybciej po pobraniu krwi. W razie opóźnienia badania, próbki należy przechowywać w temp. 2–8°C. Odczynnik nie nadaje się do oznaczeń próbek wykazujących silną hemolizę lub zanieczyszczenia mikrobiologiczne. Przechowywanie próbek w niewłaściwej temperaturze może prowadzić do uzyskania fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych wyników oznaczeń.

WYMAGANE MATERIAŁY NIEMCHODZĄCE W SKŁAD ZESTAWU

Pośredni test antyglobulinowy:

- Probówka
- Izotoniczny roztwór soli fizjologicznej lub roztwór soli fizjologicznej buforowany fosforanem (PBS)
- Inkubator 37°C
- Timer
- Wirówka (1000 rcf)
- Odczynnik przeciwciała anty-ludzkiej globuliny
- Uczulone erytrocyty IgG (krwinki kontrolne Coombs)

Metoda z użyciem żelu Bio-Rad:

- Karta ID Bio-Rad Coombs Anti-IgG lub karty LISS/Coombs.
- Izotoniczny roztwór soli fizjologicznej, roztwór soli fizjologicznej buforowany fosforanem (PBS) lub ID-Diluent 2
- Mikropipety o objętości dozowania 10, 25 i 50 µL
- Inkubator 37°C
- Timer
- Wirówka kompatybilna z kartami ID Bio-Rad
- Czytnik (wyposażenie opcjonalne)

Metoda z użyciem żelu Grifols:

- DG Gel Anti-IgG lub karty Coombs
- Izotoniczny roztwór soli fizjologicznej, roztwór soli fizjologicznej buforowany fosforanem (PBS) lub roztwór DG Gel Sol
- Mikropipety o objętości dozowania 10, 25 i 50 µL
- Inkubator 37°C
- Timer
- Wirówka (kompatybilna z kartami Grifols Gel)
- Czytnik (wyposażenie opcjonalne)

Metoda kolumnowa BioVue:

- System Ortho BioVue Anti-IgG lub kasety polispecyficzne anti-ludzkie
- Izotoniczny roztwór soli fizjologicznej, roztwór soli fizjologicznej buforowany fosforanem (PBS) lub rozpuszczalnik do erytrocytów Ortho 0,8%
- Mikropipety o objętości dozowania 10, 40 i 50 µL
- Inkubator 37°C
- Timer
- Wirówka kompatybilna z kasetami Ortho BioVue
- Czytnik (wyposażenie opcjonalne)

ZALECANE TECHNIKI OZNACZANIA

1. POŚREDNI TEST ANTYGLOBULINOWY

- 1.1 Przemyć erytrocyty co najmniej jednokrotnie i przygotować 3–5% zawiesinę erytrocytów w izotonicznej soli fizjologicznej lub roztworze soli fizjologicznej buforowanej fosforanem (PBS).
- 1.2 Do odpowiednio oznakowanej probówki dodać 1 kroplę (40 µL) odczynnika Anty-k.
- 1.3 Dodać 1 kroplę (40 µL) zawiesiny badanych erytrocytów.
- 1.4 Roztwór wymieszać i inkubować w temperaturze 37°C przez 15 minut.
- 1.5 Przemyć krwinki jeden raz izotonicznym roztworem soli fizjologicznej, dokładnie dekantując sól fizjologiczną.
- 1.6 Dodać 2 krople (80 µL) odczynnika przeciwciała anti-ludzkiej globuliny, wymieszać i odwirowywać badany materiał z prędkością 1000 rcf przez 20 sekund.
- 1.7 Ostrożnie wstrząsnąć probówką, aby oderwać erytrocyty od ścianek probówki, a następnie makroskopowo ocenić, czy doszło do aglutynacji.
- 1.8 W celu potwierdzenia ujemnego wyniku dodać krwinki czerwone uczulone przeciwciałami IgG (krwinki kontrolne testu Coombsa), powtórzyć odwirowywanie i ocenić czy doszło do aglutynacji. W wypadku braku aglutynacji test należy uznać za nieważny i powtórzyć.

2. METODA Z UŻYCIEM ŻELU BIO-RAD

- 2.1 Przygotować 3–5% zawiesinę badanych erytrocytów w izotonicznej soli fizjologicznej lub roztworze soli fizjologicznej buforowanej fosforanem PBS albo 0,8% zawiesinę w roztworze ID- Diluent 2.
- 2.2 Dodać 10 µL 3–5% lub 50 µL 0,8% zawiesiny badanych erytrocytów do odpowiedniej mikroprobówki karty ID Bio-Rad.
- 2.3 Do odpowiedniej mikroprobówki dodać 25 µL odczynnika Anty-k.
- 2.4 Roztwór ostrożnie wymieszać i inkubować w temperaturze 37°C przez 15 minut.
- 2.5 Odwirować kartę ID, przestrzegając czasu oraz prędkości podanych przez producenta karty.
- 2.6 Odczytać wynik makroskopowo lub za pomocą czytnika. Użytkownik musi zweryfikować wynik uzyskany przy użyciu czytnika.

3. METODA Z UŻYCIEM ŻELU GRIFOLS

- 3.1 Przygotować 3–5% lub 1% zawiesinę badanych erytrocytów w izotonicznej soli fizjologicznej lub roztworze soli fizjologicznej buforowanej fosforanem PBS albo 1% zawiesinę w roztworze DG Gel Sol.
- 3.2 Dodać 10 µL 3–5% lub 50 µL 1% zawiesiny badanych erytrocytów do odpowiedniej mikroprobówki karty Grifols DG Gel.
- 3.3 Dodać 25 µL odczynnika Anty-k do mikroprobówki kart Grifols DG IgG/Coombs.
- 3.4 Roztwór ostrożnie wymieszać i inkubować w temperaturze 37°C przez 15 minut.
- 3.5 Odwirować kartę, przestrzegając czasu oraz prędkości podanych przez producenta karty.
- 3.6 Po odwirowaniu odczytać makroskopowo wynik testu. Użytkownik musi zweryfikować wynik uzyskany przy użyciu czytnika.

4. METODA KOLUMNOWA BIOVUE

- 4.1 Przygotować 3–5% lub 0,8% zawiesinę badanych erytrocytów w izotonicznej soli fizjologicznej lub roztworze soli fizjologicznej buforowanej fosforanem PBS albo 0,8% zawiesinę w rozpuszczalniku do erytrocytów Ortho 0,8%.
- 4.2 Dodać 10 µL 3–5% lub 50 µL 0,8% zawiesiny badanych erytrocytów do odpowiedniej komory reakcyjnej kasety Ortho BioVue.
- 4.3 Do odpowiedniej komory reakcyjnej dodać 40 µL odczynnika Anty-k.
- 4.4 Roztwór ostrożnie wymieszać i inkubować w temperaturze 37°C przez 15 minut.
- 4.5 Odwirować kasetę, przestrzegając czasu oraz prędkości podanych przez producenta kasety.
- 4.6 Odczytać wynik makroskopowo lub za pomocą czytnika. Użytkownik musi zweryfikować wynik uzyskany przy użyciu czytnika.

OGRANICZENIA METODY

Uzyskanie wyników fałszywie dodatnich jest możliwe przy oznaczaniu próbki z zastosowaniem bezpośredniego testu antyglobulinowego DAT. W przypadku podejrzenia takich okoliczności zaleca się zastosowanie autotestu.

Zanieczyszczenie badanego materiału lub odchylenia od zalecanych technik oznaczania mogą prowadzić do uzyskania wyników fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych.

CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW

Odczynnik monoklonalny IgG Anty-k pochodzenia ludzkiego (linia komórkowa P3A118OL67) do oznaczania grup krwi (kod produktu NZ) badano przy użyciu każdej z zalecanych technik, wykonując oznaczenia próbek pobranych na antykoagulant EDTA od dawców, pacjentów oraz noworodków. Zestaw próbek był reprezentatywny dla wszystkich głównych fenotypów. Całkowitą liczbę testów (n) oraz czułość i swoistość obliczoną dla każdej z metod przedstawiono w tabeli poniżej:

METODA	Anty-k Kod produktu NZ			
	Czułość		Swoistość	
	n	%	n	%
IAT	290	100	22	100
Metoda żelowa Bio-Rad	114	100	7	100
Metoda żelowa Grifols	111	100	10	100
Metoda kolumnowa	109	100	10	100

Definicje pochodzą ze wspólnych specyfikacji technicznych (WST):

Czułość diagnostyczna: Prawdopodobieństwo, że wyrób daje wynik pozytywny w obecności diagnozowanego markera.

Specyficzność diagnostyczna: Prawdopodobieństwo, że wyrób daje wynik negatywny przy braku diagnozowanego markera.

PIŚMIENNICTWO

1. Issitt, P.D. and Anstee, D.J. Applied Blood Group Serology 4th ed., Montgomery Scientific Publications; 1998.
2. Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom, 5th ed. The Stationary Office. 2001.
3. Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. and Race, R.R. Lancet. 1946: 264-266.
4. Levine, P., Backer, M., Wigod, M. and Ponder, R.A. Science. 1949; 109: 464-466.



Millipore (UK) Ltd
Fleming Road
Kirkton Campus
Livingston, EH54 7BN
Wielka Brytania

Tel.: +44 (0)1506 404000
Faks: +44 (0)1506 404001

PI201/a
2013-02