

Anty-K Linia komórkowa: AEK4 Kod produktu: BK

Odczynnik monoklonalny IgM pochodzenia ludzkiego do oznaczeń grup krwi.

Do stosowania w oznaczeniach na szkiełkach mikroskopowych, w probówkach, mikroplótkach oraz w mikrometodzie kolumnowej i żelowej.



IVD

PRZEZNACZENIE

Odczynnik monoklonalny IgM BIOSCOT Anty-K (linia komórkowa AKE4) pochodzenia ludzkiego do oznaczeń antygenów grupowego K. Odczynnik przeznaczony do stosowania w oznaczeniach na szkiełkach mikroskopowych, w probówkach, mikroplótkach oraz w mikrometodzie kolumnowej i żelowej przez pracowników przeszkolonych w zakresie badań serologicznych.

WPROWADZENIE

Układ grupowy krwi Kell

Antygen grupowy K (KEL1 lub Kell) opisano po raz pierwszy w 1946 r. (Coombs) a antygen k (KEL 2 lub Cellano) w 1949 r. (Levine). Aktualnie znanych jest 25 antygenów układu grupowego Kell. Przeciwciała anty-K (anty-KEL1) lub anty-k (anty-KEL2) mogą wywoływać ciężkie reakcje poprzetoczeniowe oraz chorobę hemolityczną noworodków.

W różnych populacjach obserwuje się odmienną częstość występowania antygenów K i k.

ANTYGEN	Rasa biała		Rasa czarna	
	K	k	K	k
CZĘST. WYST.	9%	99,8%	3,5%	> 99,9%

ZASADA DZIAŁANIA ODCZYNNIKA

Podczas stosowania zgodnie z zaleceniami w przypadku testu dodatniego odczynnik wywołuje aglutynację (zlepianie) krwinek czerwonych wykazujących ekspresję odnośnego antygeny. Ujemny wynik testu w postaci braku aglutynacji erytrocytów oznacza, że dany antygen nie występuje w próbce.

Odczynnik zoptymalizowano do użycia w zalecanych technikach analitycznych bez konieczności dodatkowych rozcieńczeń ani dodawania innych substancji.

Dostarczany jest odczynnik po filtracji (0,22 µm).

MATERIAŁY

Produkt Anty-K (kod BK) zawiera przeciwciała uzyskane z linii komórkowej AEK4. Odczynnik zawiera przeciwciała monoklonalne IgM pochodzenia ludzkiego w roztworze buforu zawierającego wielkocząsteczkowe potencjatory chemiczne, 0,1% (w/v) roztwór azydru sodu oraz materiał pochodzenia bydłowego. Jedna fiołka 5 ml umożliwia przeprowadzenie ok. 125-200 oznaczeń.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Wszystkie produkty krwiopochodne należy traktować jako potencjalnie zakaźne. W badaniach dawców linii komórkowych z których uzyskano opisywany odczynnik potwierdzono ujemne wyniki testów na obecność przeciwciał przeciwko ludzkiemu wirusowi nabytego upośledzenia odporności (HIV), wirusowi zapalenia wątroby typu C (HCV), antygenów powierzchniowych wirusa zapalenia wątroby typu B (HbsAg), wirusa Epstein-Barra (EBV) oraz wirusów obecnych w materiale pochodzenia mysiego (Mouse Antibody Production, MAP). Żaden znany test nie daje całkowitej pewności, że odczynniki wytwarzane z ludzkiej krwi są wolne od czynników zakaźnych. Należy zachować ostrożność podczas stosowania odczynników, niszczenia zużytych opakowań i usuwania ich zawartości.
2. Odczynnik zawiera środek konserwujący — roztwór azydru sodu o stężeniu 0,1% (w/v). Azydki 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. Wylwane odpady należy spłukać dużą ilością wody.
3. Odczynnik powinien być klarowny; zmętnienie może oznaczać skażenie bakteryjne. Nie należy używać odczynnika, jeśli zawiera widoczne drobniny, osad lub żel fibrynowy (osad włóknisty).
4. Odczynnik jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki in vitro.

5. Materiał pochodzenia wołowego i wieprzowego wykorzystany w tym produkcie uzyskano ze źródeł zatwierdzonych przez Departament Rolnictwa USA (USDA) lub innych udokumentowanych źródeł. W badaniu bydła od którego pobrano materiał potwierdzono brak zakaźności i niskie ryzyko transmisji zakaźnych encefalopatii gąbczastych (TSE).
6. Produkt należy utylizować przez autoklawowanie lub zanurzenie w odpowiednio stężonym roztworze środków odkażających do rana następnego dnia.

UWAGI DLA UŻYTKOWNIKÓW

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

Nie ma konieczności stosowania kontroli podczas każdego oznaczenia. Stosowanie odczynników kontrolnych (np. BIOSCOT Monoclonal Control (kod produktu: TT) zaleca się jedynie w przypadku oznaczeń grup krwi pacjentów z autoprzeciwciałami lub zaburzeniami białkowymi. W takich przypadkach kontrole należy wykonywać równoległe z każdym oznaczeniem przy użyciu odczynnika.

Przedstawiona charakterystyka odczynnika odnosi się do procedur opisanych w niniejszej instrukcji. Przydatność odczynnika w metodach innych niż opisane użytkownik musi określić samodzielnie.

W przypadku zmian charakterystyki analitycznej lub uszkodzenia opakowania należy się skontaktować z Działem Kontroli Jakości firmy Millipore (UK).

WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Zamknięty lub otwarty odczynnik należy przechowywać w temperaturze 2-8 °C do daty ważności oznaczonej na etykiecie produktu.

Przechowywanie odczynnika w niewłaściwej temperaturze (np. w warunkach podwyższonej temperatury lub wielokrotne rozmrażanie i zamrażanie) może przyspieszyć utratę reaktywności.

POBIERANIE MATERIAŁU DO BADAŃ

Nie ma potrzeby przygotowania pacjenta przed pobraniem próbki. Próbkę krwi żyłnej należy pobierać w typowy sposób a badanie należy wykonać 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 makroskopową hemolizę lub zanieczyszczenia mikrobiologiczne. Przechowywanie próbek w temperaturze innej od zalecanej może skutkować uzyskaniem fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych wyników oznaczeń.

WYMAGANE MATERIAŁY NIEWCHODZĄCE W SKŁAD ZESTAWU

Metoda na szkiełku mikroskopowym

- Szkiełko podstawowe
- Pipeta o objętości dozowania 25 µl
- Minutnik laboratoryjny

Metoda mikroplótkowa

- Mikroplótki ze studzienkami „U”
- Sól fizjologiczna (roztwór izotoniczny)
- Minutnik laboratoryjny
- Wirówka (RCF 100)
- Mieszadło do mikroplótek
- Automatyczny czytnik mikroplótek (wyposażenie opcjonalne)

Mikrometoda kolumnowa

- Kasety systemu Ortho BioVue® Neutral
- Sól fizjologiczna (roztwór izotoniczny), sól fizjologiczna buforowana fosforanem (PBS) lub rozpuszczalnik do erytrocytów Ortho® (0,8%)
- Mikropipety o objętości dozowania 10, 40 i 50 µl
- Minutnik laboratoryjny
- Wirówka kompatybilna z kasetami systemu Ortho BioVue
- Czytnik (opcjonalny)

Metoda probówkowa

- Probówka
- Sól fizjologiczna (roztwór izotoniczny)
- Inkubator (temp. inkubacji 37 °C)
- Minutnik laboratoryjny
- Wirówka (RCF 1000)

Mikrometoda żelowa

- Karta „NaCl, enzyme test and cold agglutinins” DiaMed ID
- Sól fizjologiczna (roztwór izotoniczny), Sól fizjologiczna buforowana fosforanem (PBS) lub rozpuszczalnik Diluent 2 DiaMed ID
- Mikropipety o objętości dozowania 10, 25 i 50 µl
- Minutnik laboratoryjny
- Wirówka kompatybilna z kartami DiaMed ID
- Czytnik (opcjonalny)

ZALECANE METODY

1. METODA SZKIEŁKOWA

- 1.1. Na czyste, oznakowane szkiełko mikroskopowe nanieść 1 kroplę (40 µl) odczynnika Anty-K.
- 1.2. Dodać 25 µl koncentratu badanych krwinek czerwonych.
- 1.3. Wymieszać antysurowicę i krwinki na powierzchni o średnicy około 2 cm. Inkubować przez 30 s w temperaturze pokojowej.
- 1.4. Ostrożnie wahać poruszać szkiełkiem mikroskopowym. Po 2 minutach makroskopowo odczytać wynik testu. Należy zwrócić uwagę, by nie interpretować wysychania mieszaniny jako aglutynacji.

2. METODA PROBÓWKOWA

- 2.1. Przygotować zawiesinę 3-5% roztworu badanych erytrocytów w izotonicznej soli fizjologicznej.
- 2.2. Do oznakowanej próbówki wprowadzić 1 kroplę (40 µl) odczynnika Anty-K.
- 2.3. Dodać 1 kroplę (40 µl) zawiesiny badanych krwinek czerwonych.
- 2.4. Roztwór wymieszać i odwirować z przyspieszeniem 1000 RCF przez 20 sekund.
- 2.5. Ostrożnie wstrząsnąć próbówką, aby oderwać erytrocyty od ścianek próbówki, a następnie makroskopowo skontrolować obecność aglutynacji.
- 2.6. Próbkę z wynikiem ujemnym lub słabo dodatnim należy inkubować w temp. 37 °C przez 5 min, a następnie powtórzyć etapy 2.4 oraz 2.5. Celem inkubacji jest wzmocnienie reakcji w przypadku erytrocytów o słabych lub rzadkich fenotypach.

3. TECHNIKA MIKROPŁYTKOWA

- 3.1. Przygotować zawiesinę 3-5% roztworu badanych erytrocytów w izotonicznej soli fizjologicznej.
- 3.2. Do odpowiednich studzienek mikro płytki wprowadzić 1 kroplę (40 µl) odczynnika Anty-K.
- 3.3. Dodać do odpowiednich studzienek równą objętość (40 µl) zawiesiny erytrocytów.
- 3.4. Wymieszać zawartość studzienek ręcznie lub mieszadłem do mikro płytek.
- 3.5. Inkubować mikro płytkę w temp. pokojowej przez 15-20 minut.
- 3.6. Wirować z przyspieszeniem 100 RCF przez 40 sekund.
- 3.7. Odtworzyć zawiesinę erytrocytów ręcznie lub za pomocą wytrząsarki do mikro płytek. Uwaga. Dodatnie wyniki mogą być bardziej nasilone po odstawieniu próbki na 5 minut przed odczytem.
- 3.8. Odczytać wynik makroskopowo lub za pomocą czytnika. Wynik uzyskany w czytniku mikro płytek wymaga weryfikacji przez użytkownika.

4. MIKROMETODA ŻELOWA

- 4.1. Przygotować 3-5% zawiesinę badanych erytrocytów w izotonicznej soli fizjologicznej lub PBS albo 0,8% zawiesinę w roztworze Diluent 2 DiaMed ID.
- 4.2. Dodać 10 µl zawiesiny 3-5% (lub 50 µl zawiesiny 0,8%) erytrocytów do mikro próbówki lub karty systemu DiaMed ID.
- 4.3. Do odpowiedniej mikro próbówki dodać 25 µl odczynnika Anty-K.
- 4.4. Ostrożnie wymieszać i odwirować kartę systemu ID, przestrzegając czasu oraz prędkości podanych przez producenta karty systemu ID.
- 4.5. Odczytać wynik makroskopowo lub za pomocą czytnika. Wynik uzyskany w czytniku mikro płytek wymaga weryfikacji przez użytkownika.

5. MIKROMETODA KOLUMNOWA

- 5.1. Przygotować 3-5% zawiesinę badanych erytrocytów w izotonicznej soli fizjologicznej lub PBS albo 0,8% zawiesinę w roztworze Ortho 0.8% Red Cell Diluent.
- 5.2. Dodać 10 µl zawiesiny 3-5% (lub 50 µl zawiesiny 0,8%) erytrocytów do komory reakcyjnej kasyety Ortho BioVue.
- 5.3. Do odpowiedniej komory reakcyjnej dodać 40 µl odczynnika Anty-K.
- 5.4. Ostrożnie wymieszać i odwirować kartę, przestrzegając czasu oraz prędkości podanych przez producenta kasyety.
- 5.5. Odczytać wynik makroskopowo lub za pomocą czytnika. Wynik uzyskany w czytniku mikro płytek wymaga weryfikacji przez użytkownika.

OGRANICZENIA METODY

Wyniki oznaczenia mogą być fałszywie dodatnie w przypadku krwinek z dodatnim wynikiem bezpośredniego testu antyglobulinowego (DAT). W celu wykrycia wyników fałszywie dodatnich zaleca się wykonywanie kontroli z użyciem odczynnika BIOSCOT Monoclonal Control (kod produktu: TT); nie zaleca się prowadzenia tego rodzaju oznaczeń metodą szkiełkową.

Opisano rzadkie warianty antygeny KEL1 dające zmienne wyniki reakcji z odczynnikami zawierającymi monoklonalne przeciwciała anty-K. W badaniu jedynego dostępnego wariantu antygeny metodą próbówkową stwierdzono reaktywność odczynnika Anty-K (kod produktu BK). Nie można zagwarantować reaktywności tego antygeny w innych metodach.

Stosowanie twardych mikro płytek polistyrenowych jest korzystniejsze niż stosowanie płytek z PCV. Przydatność każdej partii mikro płytek należy zweryfikować w warunkach stosowanych przez użytkownika.

Nieprawidłowe przechowywanie lub użytkowanie kart DiaMed ID lub kaset Ortho BioVue może być przyczyną błędnych wyników oznaczenia. Karty i kasety należy przechowywać i użytkować zgodnie z zalecanymi instrukcjami producentów.

Kontaminacja badanego materiału lub nieprzestrzeganie zalecanych zasad oznaczenia mogą prowadzić do uzyskania wyników fałszywie dodatnich lub ujemnych.

CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA

Stosując zalecane techniki przeprowadzono badania próbek (pobranych na EDTA lub cytrynian bądź bez użycia antykoagulantu) od zdrowych dawców, pacjentów leczonych w warunkach klinicznych oraz noworodków z odczynnikiem Anty-K (linia komórkowa: AEK4). 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 BK)			
	CZUŁOŚĆ		SWOISTOŚĆ	
	n	%	n	%
Probówkowa	26	100	247	100
Mikropłytkowa	21	100	152	99,3
Na szkiełku mikrosk.	76	100	415	95,7
Żelowa	18	100	82	100
Kolumnowa	16	100	84	100

Definicje zgodnie z Common Technical Specifications (CTS):

Czułość diagnostyczna: Prawdopodobieństwo uzyskania dodatniego wyniku badania próbki zawierającej substancję docelową.

Swoistość diagnostyczna: Prawdopodobieństwo uzyskania ujemnego wyniku badania próbki niezawierającej substancji docelowej.

PIŚMIENNICTWO

1. Issitt, P.D. and Anstee, D.J. Applied Blood Group Serology, 4th Edition. Montgomery Publication, 1998.
2. Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom, 5th Edition. 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.
5. Poole, J., Warke, N., Hustinx, H., Taleghani, B.M., et al. A KEL gene encoding serine at position 193 of the Kell glycoprotein results in expression of KEL 1 antigen. Transfusion. 2006 Nov; 46(11): 1879-85.
6. Daniels, G. Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd, 1995

PRODUCENT

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

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

PI187b
2011-10