

# PAK<sup>®</sup>1

## ΕΝΔΕΛΞΙΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

PAK<sup>®</sup>1 είναι μια ποιοτική, στερεάς φάσης ενζυματική ανοσοδεσμευτική μέθοδος ανάλυσης (ELISA) για την ανίχνευση ειδικών αντιγόνων αιμοπεταλίων αντιδρώντων με επιτόπους πάνω στις γλυκοπρωτεΐνες αιμοπεταλίων IIb/IIIa.

Για *Εργαστηριακή Διαγνωστική Χρήση*.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ

Η ύπαρξη ειδικών αντιγόνων αιμοπεταλίων επάνω σε διάφορες γλυκοπρωτεΐνες αιμοπεταλίων, έχει περιγραφεί από πολλούς ερευνητές.<sup>1,2,3,4,5</sup> Αντισώματα κατά ειδικών αντιγόνων αιμοπεταλίων εξ' αιτίας κύησης ή μετάγγισης, μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την ανοσοκαταστροφή των μεταγγιζόμενων αιμοπεταλίων.<sup>6,7,8</sup> Η επιβεβαίωση της ύπαρξης αυτών των αντισωμάτων στον ορό των ασθενών, μπορεί να είναι βοηθητική στην έρευνα, εν δυνάμει συμβατών, προϊόντων αίματος.

Τα μικροβυθίσματα Στερεάς Φάσης PAK<sup>®</sup>1 ELISA παρέχουν μονοκλωνικά-δεσμευμένη γλυκοπρωτεΐνη IIb/IIIa αιμοπεταλίων προερχόμενη από τρεις δότες ομάδας Ο γνωστού φαινότυπου αιμοπεταλίων. Η εξέταση είναι σχεδιασμένη να ανιχνεύει και να προσδιορίζει αντισώματα σε επιλεγμένους επιτόπους της γλυκοπρωτεΐνης IIb/IIIa αιμοπεταλίων. Η διάταξη των βυθισμάτων βρίσκεται στο Φύλλο Καταγραφής.

## ΑΡΧΗ

Ορός ή πλάσμα του ασθενούς προστίθεται στα επιστρωμένα με γλυκοπρωτεΐνες αιμοπεταλίων μικροβυθίσματα, επιτρέποντας την δέσμευση του αντισώματος, αν αυτό είναι παρόν. Κατόπιν, τα μη δεσμευμένα αντισώματα εκπλένονται. Αντιδραστήριο αλκαλικής φωσφατάσης σημασμένης με αντιανθρώπινη αιμοσφαιρίνη (Αντι-IgG/A/M) προστίθεται στα βυθίσματα και επωάζεται. Το μη δεσμευμένο Αντι-IgG/A/M εκπλένεται και προστίθεται το υπόστρωμα PNPP (p-νιτροφενυλική φωσφατάση). Μετά από περίοδο επώασης 30 λεπτών, η αντίδραση διακόπτεται με διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου. Η οπτική πυκνότητα της αποκτώμενης χρώσης μετράται με φασματοφωτόμετρο.

## ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Ανώτατος αριθμός αναλύσεων ανά διαγνωστικό σύνολο: 5

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να αποθηκεύονται όπως αναγράφεται στην ετικέτα..

- |            |   |
|------------|---|
| <b>MS</b>  | 1. Μικροβυθίσματα: Μικροβύθισμα ταινιών επίπεδου πυθμένα στο οποίο γλυκοπρωτεΐνη αιμοπεταλίων IIb/IIIa έχουν ακινητοποιηθεί. Οι ταινίες μικροβυθισμάτων εσωκλείονται σε επανασφραγιζόμενη θήκη αλουμινίου. Έτοιμα προς χρήση.   |
| <b>TCW</b> | 2. Συμπυκνωμένο (10x) Πλυστικό: Αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα τρι (υδροξυμεθυλ) αμινομεθάνιο περιέχον χλωριούχο νάτριο και Tween 20. 1% νατραζίδιο. Αραιώστε με απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό προ χρήσης. Αποθηκεύσατε το Πλυστικό Διάλυμα έως 48 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου ή έως και επτά μέρες σε θερμοκρασία 2-8°C. |
| <b>SD</b>  | 3. Δείγμα Διαλύτη: Αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα Φωσφορικών περιέχον Βόιο αλβουμίνη και ορό μύδος. 0.1% νατραζίδιο. Έτοιμο προς χρήση.   |
| <b>SB</b>  | 4. Ρυθμιστικό Διάλυμα Υποστρώματος: Αυτό το διάλυμα περιέχει διαιθανολαμίνη και χλωριούχο μαγνήσιο. 0.02% νατραζίδιο. Έτοιμο προς χρήση. Προστατέψατε από το Φως.   |
| <b>SS</b>  | 5. Διάλυμα Διακοπής Αντίδρασης: 3 M Υδροξείδιο του Νατρίου. Έτοιμο προς χρήση. Χρησιμοποιείστε με προσοχή.  |
| <b>AH</b>  | 6. Σύζευγμα: Σύζευγμα Αλκαλικής φωσφατάσης αιγός με αντίσωμα ανθρώπινης αιμοσφαιρίνης υψηλώς κεκαθαρισμένο (IgG/A/M). 0.1% νατραζίδιο. Αραιώστε στον Διαλύτη Δείγματος προ χρήσης.  |
| <b>PN</b>  | 7. Υπόστρωμα PNPP (p-νιτροφενυλική φωσφατάση): Κρυσταλλική σκόνη. Ανασυστήστε με απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό και αραιώστε στο Ρυθμιστικό Διάλυμα Υποστρώματος προ χρήσης. Προστατέψατε από το Φως.   |

**PC** 8. Θετικός ορός Ελέγχου. Ανθρώπινος ορός. 0.1% νατραζίδιο. Αραιώστε στον Διαλύτη Δείγματος προ χρήσης.

**NC** 9. Αρνητικός ορός Ελέγχου. Ανθρώπινος ορός. 0.1% νατραζίδιο. Αραιώστε στον Διαλύτη Δείγματος προ χρήσης.

**PS** 10. Μεμβράνες κάλυψης πλακών.

### **ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ**

- Μην χρησιμοποιείτε μολυσμένα ή θολά αντιδραστήρια.
- ΕΠΙΒΑΛΛΕΤΑΙ προσοχή προς αποφυγήν μόλυνσης του Διαλύτη Δείγματος και του Συζεύγματος. Η εξ' αμελείας μόλυνση αυτών των αντιδραστηρίων με ανθρώπινο ορό ή πλάσμα θα έχει ως αποτέλεσμα την ουδετεροποίηση του Συζεύγματος και ως εκ τούτου, την αποτυχία της ανάλυσης.
- Μην χρησιμοποιείτε αντιδραστήρια πέραν της αναγραφόμενης ημ/ίας λήξης.
- Τα, περιεχόμενα στο διαγνωστικό σύνολο, μικροβυθίσματα και αντιδραστήρια δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται με άλλο σύστημα ανάλυσης.
- Υποκατάσταση των συστατικών με άλλα, από τα παρεχόμενα σε αυτό το διαγνωστικό σύνολο, μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένα αποτελέσματα.
- Απορρίψτε όποιες ποσότητες αραιωμένου Συζεύγματος, αραιωμένου Θετικού και Αρνητικού Ορού Ελέγχου, και αραιωμένου ή ανασυσταμένου αντιδραστηρίου PNPP μετά από κάθε ανάλυση.
- Κατά τις αραιώσεις, ακολουθείστε τις οδηγίες του κατασκευαστή των διανεμητών για τις τεχνικές διανομής και έκπλυσης.
- Η κατά την τελευταία επώαση, αντίδραση ενζυματικού υποστρώματος, είναι ευαίσθητη στην θερμοκρασία και πρέπει να διενεργείται σε ελεγχόμενη περιοχή, σε θερμοκρασία 22-25°C.
- Εξ' αιτίας μεταβολών στα όργανα ή υψηλότερων ή χαμηλότερων θερμοκρασιών δωματίου, συνιστάται κάθε εργαστήριο να καθιερώνει συγκεκριμένο χρόνο επώασης, ελάχιστα μεγαλύτερο ή μικρότερο, προκειμένου να έχει συνεπή και αξιόπιστα αποτελέσματα των ορών ελέγχου. Επειδή η θερμοκρασία της τελευταίας επώασης ενδέχεται να επηρεάσει τις τιμές των ορών ελέγχου, είναι σημαντικό να ελέγχεται περιοδικά η, σε θερμοκρασία δωματίου, διαδικασία της επώασης.

### **ΠΡΟΣΟΧΗ**

- Όλοι οι χρησιμοποιούμενοι στους Θετικούς και Αρνητικούς Ορούς Ελέγχου για αυτό το προϊόν ανθρώπινοι οροί, έχουν εξεταστεί και βρεθεί αρνητικοί για αντισώματα κατά HIV, HCV και HbsAg από τις εγκεκριμένες μεθόδους του FDA. Ωστόσο, καμία μέθοδος ελέγχου δεν μπορεί να εγγυηθεί απόλυτα την απουσία του ιού HIV, Ηπατίτιδας C, Ηπατίτιδας B, ή άλλων μολυσματικών παραγόντων. Ως εκ τούτου ο χειρισμός αυτών των υλικών συνιστάται να είναι τέτοιος ως εάν να επρόκειτο για εν δυνάμει μολυσματικό υλικό.
- Κάποια από τα παρεχόμενα σε αυτό το διαγνωστικό σύνολο αντιδραστήρια περιέχουν νατραζίδιο ως συντηρητικό. **ΠΡΟΣΟΧΗ:** Το νατραζίδιο αντιδρά με τον χαλκό και τον μόλυβδο των υδραυλικών σωληνώσεων και σχηματίζει εκρηκτικά μεταλλικά αζίδια. Όταν απορρίπτετε το αντιδραστήριο, περιχύστε το με άφθονο νερό ούτως ώστε να αποφευχθεί ο σχηματισμός αζιδίων. Το νατραζίδιο είναι δηλητήριο και τοξικό αν έρθει σε επαφή με το δέρμα ή απορροφηθεί από τις βλεννογόνους μεμβράνες.
- Το διάλυμα διακοπής της αντίδρασης (NaOH) είναι διαβρωτικό. Αποφύγετε την επαφή με το δέρμα και τα μάτια. Τυχούσα πτώση του διαλύματος πρέπει να καθαρίζεται αμέσως.
- Απορρίψτε όλα τα συστατικά όταν ολοκληρωθεί η ανάλυση σύμφωνα με τους, κατά τόπους, κανονισμούς.

### **ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ**

Το αίμα πρέπει να συλλέγεται σε ACD ή EDTA (πλάσμα) ή χωρίς αντιπηκτικό (ορός) χρησιμοποιώντας ασηπτική τεχνική και πρέπει να εξετάζεται ενόσω είναι φρέσκο ακόμα, προκειμένου να ελαχιστοποιείται η πιθανότητα ψευδώς θετικών ή ψευδώς αρνητικών αντιδράσεων, εξ' αιτίας είτε ακατάλληλης αποθήκευσης είτε μόλυνσης του δείγματος. Τα δείγματα τα οποία δεν μπορούν να εξεταστούν αμέσως, πρέπει είτε να αποθηκεύονται σε θερμοκρασία 2-8°C επί όχι περισσότερο από 48 ώρες, είτε να καταψύχονται. Τα δείγματα που καταψύχονται σε θερμοκρασία -20°C ή χαμηλότερη, παραμένουν σε καλή κατάσταση για αρκετό καιρό (2-3 χρόνια). Ωστόσο, προκειμένου να αποφευχθούν οι καταστροφικές επιπτώσεις της επαναλαμβανόμενης κατάψυξης-απόψυξης, συνιστάται η τοποθέτηση των δειγμάτων σε ειδικά φιαλίδια κατάψυξης και η αποθήκευσή τους σε μικρές ποσότητες στην κατάψυξη. Αποφύγετε την χρήση καταψυκτών χωρίς πάγο.

Ο ορός ή το πλάσμα θα πρέπει να διαχωρίζεται από τα ερυθρά κύτταρα όταν αποθηκεύεται ή αποστέλλεται.

Σωματίδια ή συσσωματώματα στο δείγμα ενδέχεται να προκαλέσουν ψευδώς θετικά αποτελέσματα ή λανθασμένες τιμές στις επαναληπτικές εξετάσεις. Τα περιέχοντα σωματίδια δείγματα πρέπει να καθαρίζονται με φυγοκέντριση προ της ανάλυσης.

Μόνο ολικός ο ανθρώπινος ορός ή πλάσμα είναι κατάλληλος για αυτή την ανάλυση. Προηγούμενη αραιώση των δειγμάτων με οτιδήποτε άλλο από φυσιολογικό αρνητικό ανθρώπινο ορό ELISA, θα μπορούσε να επηρεάσει τα αποτελέσματα.

Αποφύγετε την χρήση μικροβιακά μολυσμένων, λιπαιμικών, ικτερικών, ή αδρανοποιημένων με θέρμανση δειγμάτων, διότι μπορεί να προκύψουν μη συνεπή αποτελέσματα.

## **ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ**

### **Παρεχόμενα Υλικά:**

Τα φιαλίδια ενδεχομένως να περιέχουν περισσότερο αντιδραστήριο από το περιγραφόμενο στις ετικέτες. Βεβαιωθείτε ότι μετράτε το αντιδραστήριο με μια κατάλληλη συσκευή κατά την αραιώση.

1. 3 – 2 x 8 Ταινίες Μικροβυθισμάτων με βάση στήριξης
2. 1 x 50 mL Συμπυκνωμένο Πλυστικό
3. 1 x 14 mL Διαλύτης Δείγματος
4. 1 x 14 mL Ρυθμιστικό Διάλυμα Υποστρώματος
5. 1 x 14 mL Διάλυμα Διακοπής Αντίδρασης
6. 1 x 80 µL Σύζευγμα Αντιανθρώπινης IgG/A/M
7. 3 x 50 mg PNPP Υπόστρωμα
8. 1 x 0.3 mL Θετικός ορός ελέγχου
9. 1 x 0.7 mL Αρνητικός ορός ελέγχου
10. 6 Ταινίες σφράγισης Πλακών

### **Πρόσθετα Απαιτούμενα Υλικά:**

1. Δοκιμαστικοί σωλήνες για τα δείγματα ασθενών και αραιώσεις ορών ελέγχου και αντιδραστηρίων
2. Πιπέττες μεταφοράς
3. Προσαρμόσιμες μικροπιπέττες διανομής 10 – 100 µL και 100 – 1,000 µL και ρύγχη μιας χρήσης
4. Χρονόμετρο
5. Συσκευή ανάγνωσης μικροπλάκας ικανή να μετρά ΟΠ σε 405 ή 410 και 490 nm
6. Απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό
7. Απορροφητικές πετσέτες χαρτιού
8. Συσκευή πλύσης μικροπλάκας
9. Συσκευή φυγοκέντρισης για τον διαχωρισμό του ορού ή του πλάσματος των δειγμάτων των ασθενών
10. Συσκευή επώασης ή υδατόλουτρο 37°C

### **Διαδικασία Ανάλυσης**

1. Αφήστε όλα τα αντιδραστήρια να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου
2. Φτιάξτε το διάλυμα Πλυστικού, αραιώνοντας το. Προσθέστε 1 όγκο Συμπυκνωμένου Πλυστικού σε 9 Όγκους απιονισμένου ή αποσταγμένου νερού. Αναμείξτε καλά.
3. Προσδιορίστε τον αριθμό των προς εξέταση δειγμάτων, των ασθενών. Χρησιμοποιώντας το Φύλλο Καταγραφής, ορίστε κάθε δείγμα σε μια τοποθεσία αποτελούμενη από μια στήλη. Καταγράψτε την ταυτότητα κάθε δείγματος στο Φύλλο Καταγραφής.

### **ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΟΡΩΝ ΕΛΕΓΧΟΥ**

4. Αραιώστε ως ακολούθως και αναμείξτε καλά:

	Όγκο Διαλύτη Δείγματος	Όγκο Δείγματος
PC	150 µL	50 µL
NC	300 µL	100 µL
Δείγμα Ασθενούς	300 µL	100 µL

5. Αφαιρέστε το πλαίσιο με τα μικροβυθίσματα από τη θήκη. Αμέσως αφαιρέστε και επανασφραγίστε τις ταινίες που δεν χρειάζονται, στην προστατευτική θήκη.

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ: Στο διαγνωστικό σύνολο παρέχεται μόνο ένα πλαίσιο. Μην το πετάτε έως ότου, έχουν χρησιμοποιηθεί όλες οι ταινίες.

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ: Προσανατολίστε τα βοηθία με το A1 στην άνω αριστερή γωνία. Βεβαιωθείτε πως όλα τα βοηθία είναι σωστά τοποθετημένα και βαθιά στις εγκοπές τους. Αριθμείστε κάθε σειρά για να αποφύγετε λάθη. Διατηρείστε την ίδια κατεύθυνση στην μικροπλάκα σε όλη την διάρκεια της εξέτασης.

6. Προσθέσατε 300  $\mu\text{L}$  του Πλυστικού διαλύματος στα προκαθορισμένα βυθίσματα. και αφήστε τα σε θερμοκρασία δωματίου επί 5-10 λεπτά.

7. Αναρροφείστε το υγρό δυνατά και αναποδογυρίστε σε απορροφητικό χαρτί προς αποφυγή αφύγρανσης.

8. Προσθέστε 50 $\mu\text{L}$  του κατάλληλου ορού ελέγχου ή δείγματος στα βυθίσματα όπως έχει στο Φύλλο Καταγραφής.

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ: Μην προσθέτετε δείγματα ή αντιδραστήρια σε τυφλά βυθίσματα.

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ: Εάν εξετάζονται πολλαπλά δείγματα ασθενών ταυτόχρονα, απαιτείται μόνο ένα σετ ορών ελέγχου. ΒΑΛΤΕ ΕΤΙΚΕΤΕΣ ΣΕ ΚΑΘΕ ΤΑΙΝΙΑ ΠΡΟΣ ΑΠΟΦΥΓΗ ΛΑΘΩΝ.

9. Σφραγίστε τα μικροβυθίσματα με ταινία κάλυψης πλακών και επώαστε για 30-35 λεπτά σε υδατόλουτρο 37°C. Εάν χρησιμοποιηθεί ξηρό επωαστικό, αυξήσατε τον χρόνο επώασης κατά 10 λεπτά.

10. Αραιώστε το Σύζευγμα με τον Διαλύτη Δείγματος με αναλογία 1 προς 100. Χρησιμοποιείστε το δοχείο πολυπροπυλενίου.

Ταινίες:	1 – 2 x 8	3 – 2 x 8
AH	10 $\mu\text{L}$	30 $\mu\text{L}$
SD	1.0 mL	3.0 mL

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ: Το Σύζευγμα είναι ιξώδες. Εμβαπτίστε το ρύγχος στο Σύζευγμα πριν την διανομή και ξεβγάλατε μετά την πρόσθεση στον Διαλύτη Δείγματος. Ανακατέψτε καλά.

#### 11. ΠΛΥΣΙΜΟ:

- Αναρροφήσατε τα περιεχόμενα κάθε βυθίσματος και αφυγράνετε σε απορροφητικό χαρτί.
- Προσθέστε 300  $\mu\text{L}$ , Πλυστικού Διαλύματος.
- Αναρροφήσατε ή αφαιρέσατε το υγρό.
- Επαναλάβετε τα βήματα b + c επί συνολικά 3 ή 4 πλυσίματα.
- Αφαιρέστε απότομα το υγρό για να αφαιρεθούν τα υπολείμματα του πλυστικού διαλύματος. Αναστρέψατε σε απορροφητικό χαρτί για να εμποδίσετε την αφύγρανση.

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ: Είναι σημαντικό να αφαιρέσετε τελείως όλο το πλυστικό διάλυμα μετά την τελευταία πλύση.

12. Προσθέσατε 50  $\mu\text{L}$  αραιωμένου Συζεύγματος (όπως αυτή έγινε σε προηγούμενο στάδιο) σε όλα τα βυθίσματα ΕΚΤΟΣ από αυτά που έχουν χαρακτηριστεί ως ΤΥΦΛΑ.

13. Σφραγίστε τα μικροβυθίσματα με ταινία σφράγισης πλάκας και επώαστε επί 30-35 λεπτά σε υδατόλουτρο 37°C. Αν χρησιμοποιείται ξηρό επωαστήριο, αυξήστε τον χρόνο κατά 10 λεπτά.

14. Αραιώστε το Υπόστρωμα PNPP προσθέτοντας 0.5 mL αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό στο φιαλίδιο. Επανατοποθετείστε το Διάλυμα Διακοπής της Αντίδρασης (stopper), και ανακατέψτε καλά. Προστατέψτε από το φως, έως την χρήση.

15. Αραιώστε το PNPP με το Ρυθμιστικό Διάλυμα Υποστρώματος σε αναλογία 1 προς 100.

Ταινίες:	1 – 2 x 8	3 – 2 x 8
PN	20 $\mu\text{L}$	60 $\mu\text{L}$
SB	2.0 mL	6.0 mL

Αναμείξτε καλά. Προστατέψτε από το φως, έως την χρήση.

## 16. ΠΛΥΣΙΜΟ:

- Αναρροφήσατε τα περιεχόμενα κάθε βυθίσματος και αφυγράνετε σε απορροφητικό χαρτί.
- Προσθέστε 300  $\mu\text{L}$ , Πλυστικού Διαλύματος.
- Αναρροφήσατε ή αφαιρέστε το υγρό.
- Επαναλάβετε τα βήματα b + c επί συνολικά 3 ή 4 πλυσίματα.
- Αφαιρέστε απότομα το υγρό για να αφαιρεθούν τα υπολείμματα του πλυστικού διαλύματος. Αναστρέψατε σε απορροφητικό χαρτί για να εμποδίσετε την αφύγρανση.

Προχωρήστε άμεσα στα επόμενα τρία στάδια.

17. Προσθέτετε 100  $\mu\text{L}$  του αραιωμένου διαλύματος PNPP σε όλα τα βυθίσματα ΕΚΤΟΣ αυτών που έχουν χαρακτηριστεί ως ΤΥΦΛΑ.

18. Αφήστε τα μικροβυθίσματα να σταθούν στο σκοτάδι επί 30 λεπτά σε ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΔΩΜΑΤΙΟΥ (22-25°C).

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ: Ο χρόνος επώασης και η θερμοκρασία μετά την πρόσθεση του PNPP είναι κρίσιμα. ΜΗΝ τροποποιήσετε τους προκαθορισμένους χρόνους επώασης και την θερμοκρασία. Για λόγους διατήρησης σταθερότητας, ξεκινήστε την χρονομέτρηση αμέσως μετά την πρόσθεση του αντιδραστηρίου στο πρώτο βύθισμα.

19. Διακόψτε την αντίδραση προσθέτοντας 100  $\mu\text{L}$  Διαλύματος Διακοπής της Αντίδρασης σε κάθε βύθισμα με την ίδια σειρά με την οποία προσετέθη το υπόστρωμα. Προσθέστε 200  $\mu\text{L}$  Διαλύματος Διακοπής της Αντίδρασης στα τυφλά βυθίσματα.

20. Διαβάστε την απορρόφηση (ΟΠ) κάθε βυθίσματος στα 405 ή 410 nm χρησιμοποιώντας φίλτρο αναφοράς 490 nm. Εάν τα αποτελέσματα δεν μπορούν να διαβαστούν αμέσως επιστρέψτε τα βυθίσματα σε σκοτεινό μέρος και αφήστε τα να μείνουν έως και 30 λεπτά.

21. Αφαιρέστε τις αποκτηθείσες τιμές από τα τυφλά βυθίσματα από όλα τα βυθίσματα δειγμάτων και ορών ελέγχου. Πολλές συσκευές ELISA είναι προγραμματισμένες να διεκπεραιώνουν αυτό το στάδιο αυτόματα.

22. Καταγράψτε τα αποτελέσματα στο Φύλλο Καταγραφής Αποτελεσμάτων.

## ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Ο ποιοτικός έλεγχος του PAK<sup>®</sup>1 είναι ενσωματωμένος στο σύστημα ανάλυσης με την συμπερίληψη των Αρνητικού και Θετικού Ορών Ελέγχου. Αυτοί οι οροί ελέγχου πρέπει να συμπεριλαμβάνονται σε κάθε τεστ εξέταση προκειμένου να προσδιορίζονται τυχόν τεχνικά λάθη και λάθη αντιδραστηρίων.

Κριτήρια αξιόπιστης εξέτασης:

	Αρνητικό ορό Ελέγχου	Θετικό ορό Ελέγχου
Μέσος όρος OD (ΟΠ= Οπτική Πυκνότητα)	$\leq 0.175$	$\geq 1.000$

Οι αποκτηθείσες, από διπλές αναλύσεις, τιμές ΟΠ θα πρέπει να εμπίπτουν μέσα στο 20% του μέσου όρου των δύο τιμών. Τα δείγματα, των οποίων τα αποτελέσματα βρίσκονται έξω από αυτό το όριο, πρέπει να επανεξετασθούν.

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ: Η κακή επαναληψιμότητα των διπλών μπορεί να είναι αποτέλεσμα παράλειψης του αντιδραστηρίου ή του δείγματος, άниση πρόσθεση αντιδραστηρίων, άниσες θερμοκρασίες κατά την επώαση, απ' ευθείας έκθεση στο φως κατά την τελευταία επώαση ή διασταυρούμενη επιμόλυνση. Η αποτυχία να γίνει η εξέταση εις διπλούν, ενδεχομένως να οδηγήσει στην αποδοχή λανθασμένων αποτελεσμάτων.

## ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Αποτελέσματα που δείχνουν τιμές Οπτικής Πυκνότητας (OD) ίσες ή μεγαλύτερες από 2X την αποκτηθείσα τιμή του μέσου όρου των αρνητικών ορών ελέγχου των αντιστοιχούντων γλυκοπρωτεϊνών (2 τιμές αρνητικού ορού για κάθε γλυκοπρωτεΐνη) Θεωρούνται θετικά αποτελέσματα.

## ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

Τα λανθασμένα αποτελέσματα μπορεί να προκύψουν από βακτηριακή μόλυνση των υλικών της εξέτασης, ανεπαρκείς χρόνους επώασης, ανεπαρκείς ή πλημμελείς πλύσεις των υπό εξέταση βυθισμάτων, έκθεση του υποστρώματος σε απ' ευθείας φως, έκθεση σε υψηλότερες ή χαμηλότερες από τις συνιστώμενες θερμοκρασίες, ή παράλειψη κάποιου σταδίου.

Η παρουσία ανοσοσυμπλεγμάτων ή συσσωματωμάτων ανοσοσφαιρίνης στο δείγμα του ασθενούς, ενδέχεται να προκαλέσει αυξημένη μη-ειδική δέσμευση και να παράξει ψευδώς θετικά στην ανάλυση.

Τα αποτελέσματα που δεν ανταποκρίνονται σε συγκεκριμένη ειδικότητα αλλο-αντισώματος θεωρούνται απροσδιόριστα. Αυτά τα δείγματα μπορούν να συλλεχθούν ξανά και/η να επανελεχθούν, η να ελεγχθούν με άλλη μέθοδο όπως το MACE<sup>®</sup> GTI, ή MAIPA.

Τα αποτελέσματα αυτής της ανάλυσης δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ως η μόνη βάση μιας κλινικής απόφασης.

Κάποιοι χαμηλοί τίτλοι, χαμηλής ζωτικότητας αντισώματα μπορεί να μην είναι ανιχνεύσιμα με την χρήση αυτής της ανάλυσης.

Τα αντισώματα κατά ειδικών αντιγόνων των αιμοπεταλίων, τα οποία δεν αντιπροσωπεύονται στο Φύλλο Καταγραφής, δεν μπορούν να ανιχνευθούν.

Η παρουσία άλλων ειδικών αντιγόνων που βρίσκονται στο GPIIb/IIIa όπως HPA-4b (Pen<sup>b</sup>), HPA-6a (Ca<sup>b</sup>), HPA-6b (Ca<sup>a</sup>), HPA-7a (Mo<sup>b</sup>), HPA-7b (Mo<sup>a</sup>), HPA-8a (SR<sup>b</sup>) και HPA-8b (Sr<sup>a</sup>) δεν έχει προσδιοριστεί για τα αιχμαλωτισθέντα αιμοπετάλια, στα βυθίσματα GPIIb/IIIa. Είναι πιθανό να αντιδράσουν τα αλλοαντισώματα ως προς αυτά τα συστήματα με αυτή την ανάλυση.

Αυτό το προϊόν δεν ανιχνεύει αντισώματα κατά αντιγόνων τάξης I HLA.

## ΕΙΔΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Όταν αποθηκεύεται και χρησιμοποιείται σύμφωνα με τις ως άνω οδηγίες, αυτό το προϊόν μπορεί να ανιχνεύσει αντισώματα κατά αντιγόνων ειδικών των αιμοπεταλίων, όπως αυτά περιγράφονται στο εσωκλειόμενο Φύλλο Καταγραφής.

Προκειμένου να διασφαλιστεί η κατάλληλη αντιδραστικότητα και ειδικότητα, κάθε παρτίδα PAK<sup>®</sup> 1 εξετάζεται πριν κυκλοφορήσει με δείγματα περιέχοντα αντισώματα αντιδρώντα με τις γλυκοπρωτεΐνες τις περιγραφόμενες στο Φύλλο Καταγραφής. Καθώς και δείγματα για τα οποία ξέρουμε ότι είναι ελεύθερα τέτοιων αντισωμάτων.

## Αξιολόγηση Απόδοσης

		Συγκριτική μέθοδος		
		Θετικό	Αρνητικό	Σύνολο
PAK <sup>®</sup> 1	Θετικό	13	1	14
	Αρνητικό	1	195	196
	Σύνολο	14	196	210

Συμφωνία: 99%

Συν-θετικότητα: 92.9% Συν-αρνητικότητα: 99.5%

Συγκριτική μέθοδος: Ανάλυση Ανάστροφης Παθητικής Αιμοσυγκόλλησης

## ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Kunicki TJ, Aster RH. Isolation and immunologic characterization of the human platelet isoantigen PI(A1). Mol Immunol 1979; 16:353.
2. Friedman JM, Aster RH. Neonatal alloimmune thrombocytopenic purpura and congenital porencephaly in two siblings associated with a "new" maternal antiplatelet antibody. Blood 1985; 65:1412.
3. Furihata, K, Nugent DJ, Aster RH, Kunicki TJ. Anti-Pen(a) binds specifically to an epitope on platelet glycoprotein IIIa. Blood 1986; 68:107, (Suppl 1) (abstr.).
4. Simon T, Collins J, Kunicki T, Furihata K, Smith K, Aster RH. Post-transfusion pupura with antiplatelet antibody specific for the platelet antigen Pen<sup>a</sup>. Blood 1986; 68:117 (abstract).
5. Woods VL, Oh EH, Mason D, McMillan R. Autoantibodies against the platelet glycoprotein IIb/IIIa complex in patients with chronic ITP. Blood 1984; 63:368.
6. Howard JE, Perkins HA. The natural history of alloimmunization to platelets. Transfusion 1978; 18:496.
7. Dutcher JP, Schiffer CA, Aisner J, Wiernik PH. Alloimmunization following platelet transfusion: the absence of a dose-response relationship. Blood 1981; 57:395.
8. Schiffer CA. Clinical importance of antiplatelet antibody testing for the blood bank. In: A seminar on antigens on blood cells and body fluids. Washington DC: American Association of Blood Banks, 1980; 189-208.

**U.S. Patent #5,514,557**



**GTi®DIAGNOSTICS**

Good science starts with people.™

**PAK<sup>®</sup>1**

- ΓΙΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ
- ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΣΕ 2-8°C

20925 Crossroads Circle, Suite 200  
Waukesha, WI 53186-4054 USA  
(262) 754-1000 ή 1-800-233-1843



REF PAK1

Αναθεωρήθηκε 2007-07-10 (Gr)



Qarad b.v.b.a.  
Volmolenheide 13  
B-2400 Mol  
Belgium

[www.gtidiagnostics.com](http://www.gtidiagnostics.com)