

Quik-ID® Class II

ΕΝΔΕΛΞΙΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Quik-ID® Class II είναι μια ποιοτική, στερεάς φάσης ενζυματική ανοσοδεσμευτική μέθοδος ανάλυσης (ELISA) για την ανίχνευση αντισωμάτων IgG επί συνόλου αντισωμάτων (PRA) ως προς τα αντιγόνα της τάξης II HLA.

Για *Εργαστηριακή Διαγνωστική Χρήση*.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ

HLA είναι ένα μείζον σύστημα αντιγόνων για τον προσδιορισμό της βιωσιμότητας των αλλομοσχευμάτων ή μεταγγιζόμενων αιμοπεταλίων σε ευαίσθητοποιημένα άτομα.¹ Τα αντισώματα κατά HLA μπορούν να αποκτηθούν μέσω αλλοανοσοποίησης σαν αποτέλεσμα κύησης, μετάγγισης προϊόντων αίματος, ή προηγούμενων μεταμοσχεύσεων. Εν γένει, η αλλοανοσοποίηση οδηγεί σε παραγωγή αντισωμάτων κατά HLA στο περίπου 33% των εκτιθέμενων ατόμων.²

Το Στερεάς Φάσης Quik-ID® Class II ELISA παρέχει, γλυκοπρωτεΐνες HLA τάξης II, προερχόμενες από EBV μετασχηματισμένες σειρές λεμφοκυττάρων B, κάθε μια από τις οποίες έχουν ακινητοποιηθεί σε διαφορετικά μικροβυθίσματα μέσω ενός μονοκλωνικού αντισώματος. Ο τύπος της Τάξης II HLA της κάθε κυτταρικής σειράς, καθώς και ο αριθμός των βυθισμάτων που περιέχουν κάθε αντιγόνο, βρίσκεται στο Φύλλο Καταγραφής.

Το Στερεάς Φάσης Quik-ID® Class II ELISA έχει σχεδιαστεί να χρησιμοποιείται ως συμπληρωματικό προϊόν του B-SCREEN®. Δείγματα, προηγούμενως χαρακτηρισμένα ως θετικά, στην ανάλυση διαλογής (screening), μπορούν να εξεταστούν περαιτέρω με το Quik-ID® Class II για τον προσδιορισμό της τιμής PRA και /ή ειδικότητας.

ΑΡΧΗ

Ο ορός του ασθενούς προστίθεται στα επιστρωμένα με γλυκοπρωτεΐνες HLA τάξη I μικροβυθίσματα, επιτρέποντας την δέσμευση του αντισώματος, αν αυτό είναι παρόν. Κατόπιν, τα μη δεσμευμένα αντισώματα εκπλένονται. Αντιδραστήριο αλκαλικής φωσφατάσης σημασμένης με αντιανθρώπινη αιμοσφαιρίνη (Κατά-IgG) προστίθεται στα βυθίσματα και επωάζεται. Το μη δεσμευμένο Κατά-IgG 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: 10

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να αποθηκεύονται όπως αναγράφεται στην ετικέτα.

- | | |
|------------|---|
| MS | 1. Μικροβυθίσματα: Ταινίες μικροβυθισμάτων επίπεδου πυθμένα στο οποίο γλυκοπρωτεΐνες HLA τάξης II έχουν έχουν ακινητοποιηθεί. Οι ταινίες μικροβυθισμάτων είναι κωδικοποιημένες βάσει χρώματος και εσωκλείονται σε επανασφραγιζόμενες θήκες αλουμινίου. Έτοιμα προς χρήση. |
| TCW | 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. |
| SD | 3. Διαλύτης Δειγμάτων: Ρυθμιστικό Διάλυμα Φωσφορικών περιέχον Βόιο αλβουμίνη και ορό μύδς. 0.1% νατραζίδιο. Έτοιμο προς χρήση. |
| SB | 4. Ρυθμιστικό Διάλυμα Υποστρώματος: Αυτό το διάλυμα περιέχει διαιθανολαμίνη και χλωριούχο μαγνήσιο. 0.02% νατραζίδιο. Έτοιμο προς χρήση. Προστατέψατε από το Φως. |
| SS | 5. Διάλυμα Διακοπής Αντίδρασης: 3 M Υδροξείδιο του Νατρίου. Έτοιμο προς χρήση. Χρησιμοποιείστε με προσοχή. |
| AG | 6. Σύζευγμα: Σύζευγμα Αλκαλικής φωσφατάσης αιγός με αντίσωμα ανθρώπινης αιμοσφαιρίνης υψηλής κεκαθαρωμένο G (IgG). 0.1% νατραζίδιο. Αραιώστε στον Διαλύτη Δείγματος προ χρήσης. |

- | | |
|-----------|---|
| PN | 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 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.
- Απορρίψατε 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.
- Απορρίψατε όλα τα συστατικά όταν ολοκληρωθεί η ανάλυση σύμφωνα με τους, κατά τόπους, κανονισμούς.

ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Το αίμα πρέπει να συλλέγεται χωρίς αντιπηκτικό 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 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 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. 5 Πλαίσια Μικροβυθισμάτων, έκαστο των οποίων περιέχει 10 – 1 x 8 κωδικοποιημένες με χρώμα ταινίες και κάρτα με την κλείδα χρωμάτων
2. 1 x 125 mL Συμπυκνωμένο Πλυστικό
3. 1 x 50 mL Διαλύτης Δειγμάτων
4. 1 x 60 mL Ρυθμιστικό Διάλυμα Υποστρώματος
5. 1 x 50 mL Διάλυμα Διακοπής Αντίδρασης
6. 1 x 350 μL Σύζευγμα Αντιανθρώπινης IgG
7. 5 x 50 mg PNPP Υπόστρωμα
8. 1 x 0.45 mL Θετικός ορός ελέγχου
9. 1 x 0.7 mL Αρνητικός ορός ελέγχου
10. 10 Ταινίες σφράγισης Πλακών

Πρόσθετα Απαιτούμενα Υλικά:

1. Δοκιμαστικοί σωλήνες για τα δείγματα ασθενών και αραιώσεις ορών ελέγχου και αντιδραστηρίων
2. Πιπέττες μεταφοράς
3. Προσαρμοσμένες 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.

Αντιδραστήρια	1 πλάκα (2 δείγματα)	2 πλάκες 4 (δείγματα)	3 πλάκες 6 (δείγματα)	4 πλάκες 8 (δείγματα)	5 πλάκες 10 (δείγματα)
TCW	25 mL	50 mL	75 mL	100 mL	125 mL
Απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό	225 mL	450 mL	675 mL	900 mL	1,125 mL

3. Προσδιορίστε τον αριθμό των προς εξέταση δειγμάτων, των ασθενών.

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΟΡΩΝ ΕΛΕΓΧΟΥ

4. Αραιώστε ως ακολούθως και αναμείξτε καλά:

Δείγμα Ασθενούς	425 µL
SD	1.275 mL

Αντιδραστήρια	1 πλάκα (2 δείγματα)	2 πλάκες 4 (δείγματα)	3 πλάκες 6 (δείγματα)	4 πλάκες 8 (δείγματα)	5 πλάκες 10 (δείγματα)
NC	120 µL	250 µL	350 µL	450 µL	550 µL
SD	360 µL	750 µL	1,050 µL	1.35 mL	1.65 mL
PC	60 µL	120 µL	180 µL	240 µL	300 µL
SD	180 µL	360 µL	540 µL	720 µL	900 µL

5. Κάθε δείγμα απαιτεί ένα σετ ταινίες κωδικοποιημένες με χρώμα. Αμέσως αφαιρέστε και επανατοποθετήστε τις αχρησιμοποίητες ταινίες στην προστατευτική θήκη.

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.

Βεβαιωθείτε ότι η στρογγυλή άκρη κάθε σειράς βοηθίων είναι στην κάτω πλευρά του πλαισίου. Πριν από κάθε προσθήκη αντιδραστηρίου, βεβαιωθείτε πως το πηγαδάκι A1 βρίσκεται στην άνω αριστερή άκρη του πλαισίου.

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ: Βεβαιωθείτε ότι η σειρά των ταινιών στο πλαίσιο ταιριάζει με την σειρά πάνω στην κάρτα με την κλειδα των χρωμάτων.

6. Προσθέστε 250 µL 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 µL του κατάλληλου ορού ελέγχου ή δείγματος στα βυθίσματα όπως έχει προσδιοριστεί στο σχήμα 1. Προσθέστε τον ορό του ασθενούς σε όλα τα αριθμημένα βυθίσματα και στο βύθισμα NA και MO.

	P	F	W	V	B
A	1	9	17	25	N
B	2	10	18	26	N
C	3	11	19	27	N
D	4	12	20	28	N
E	5	13	21	29	P
F	6	14	22	30	P
G	7	15	23	MO	B
H	8	16	24	NA	B

σχήμα 1

N = Αρνητ.ορός ελέγχου

P = Θετ.ορός ελέγχου

B = Τυφλό

NA = Χωρίς Αντιγόνο

MO = Μόνο Μονοκλωνικό

Γράμματα για τα χρώματα:

P = ροζ

F = φούξια

W = Λευκό

V = βιολετί

B = μαύρο

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ: Μην προσθέτετε δείγματα ή αντιδραστήρια σε τυφλά βυθίσματα.

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ: Αν εξετάζονται πολλαπλά δείγματα ασθενών ταυτόχρονα 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 Δειγμάτων με αναλογία 1 προς 100. Χρησιμοποιείστε το δοχείο πολυπροπυλενίου.

Αντιδραστήρια	1 πλάκα (2 δείγματα)	2 πλάκες 4 (δείγματα)	3 πλάκες 6 (δείγματα)	4 πλάκες 8 (δείγματα)	5 πλάκες 10 (δείγματα)
AG	45 μL	90 μL	135 μL	180 μL	225 μL
SD	4.5 mL	9 mL	13.5 mL	18 mL	22.5 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 250 μL , 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.

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

- Προσθέσατε 50 μL αραιωμένου Σύζευγματος (όπως αυτή έγινε σε προηγούμενο στάδιο) σε όλα τα βυθίσματα ΕΚΤΟΣ από αυτά που έχουν χαρακτηριστεί ως ΤΥΦΛΑ.
- Σφραγίστε τα μικροβυθίσματα με ταινία σφράγισης πλάκας και επώαστε επί 30-35 λεπτά σε μπάνιο 37°C. Αν χρησιμοποιείται ξηρό επωαστήριο, αυξήστε τον χρόνο κατά 10 λεπτά.
- 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.
- Αραιώστε το PNPP με το Ρυθμιστικό Διάλυμα Υποστρώματος σε αναλογία 1 προς 100.

Αντιδραστήρια	1 πλάκα (2 δείγματα)	2 πλάκες 4 (δείγματα)	3 πλάκες 6 (δείγματα)	4 πλάκες 8 (δείγματα)	5 πλάκες 10 (δείγματα)
PN	90 μL	180 μL	270 μL	360 μL	450 μL
SB	9 mL	18 mL	27 mL	36 mL	45 mL

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

16. ΠΛΥΣΙΜΟ:

- Αναρροφήσατε τα περιεχόμενα κάθε βυθίσματος και αφυγράνετε σε απορροφητικό χαρτί.
- Προσθέστε 250 μL , 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.

- Προσθέστε 100 μL του αραιωμένου διαλύματος PNPP σε όλα τα βυθίσματα ΕΚΤΟΣ αυτών που έχουν χαρακτηριστεί ως ΤΥΦΛΑ.
- 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.

- Διακόψτε την αντίδραση προσθέτοντας 100 μL Διαλύματος Διακοπής της Αντίδρασης σε κάθε βύθισμα με την ίδια σειρά με την οποία προσετέθη το υπόστρωμα. Προσθέστε 200 μL 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 Quik-ID[®] Class II είναι ενσωματωμένος στο σύστημα ανάλυσης με την συμπερίληψη των Αρνητικού και Θετικού Ορών Ελέγχου. Αυτοί οι οροί ελέγχου πρέπει να συμπεριλαμβάνονται σε κάθε τεστ δείγμα προκειμένου να προσδιορίζονται τυχόν τεχνικά λάθη και λάθη αντιδραστηρίων.

Κριτήρια αξιόπιστης εξέτασης:

	Αρνητικό ορό Ελέγχου	Θετικό ορό Ελέγχου
Μέσος όρος OD (ΟΠ= Οπτική Πυκνότητα)	≤ 0.225	≥ 1.000

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Υπολογίστε το όριο θετικότητας για κάθε άτομο ως ακολούθως:

$$\begin{matrix} \text{Μέσος όρος των βυθισμάτων των} \\ \text{αρνητικών ορών ελέγχου} \\ \text{(Βυθίσματα A, B, C, \& D μαύρης ταινία)} \end{matrix} \times 2 \times \begin{matrix} \text{Υπόβαθρο Παράγοντα ρύθμισης} \\ \text{(Βλέπε το Φύλλο Καταγραφής)} \end{matrix} = \begin{matrix} \text{Όριο Θετικότητας Για το} \\ \text{βύθισμα} \end{matrix}$$

Αποτελέσματα εξετάσεων με τιμές ΟΠ (OD) ίσες ή μεγαλύτερες από το όριο θετικότητας, θεωρούνται θετικά.

Υπολογίστε το ποσοστό PRA (Σύνολο Αντιδρώντων Αντισωμάτων) ως ακολούθως:

$$\% \text{ PRA} = \frac{\# \text{ Θετικών Αποτελεσμάτων}}{\# \text{ βυθισμάτων περιέχοντα HLA αντιγόνα τάξης II}} \times 100$$

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 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.

Το Βύθισμα Χωρίς Αντιγόνο (βύθισμα H του βιολετί ταινία) δεν περιέχει μονοκλωνικό αυτοασυντίσωμα ή HLA γλυκοπρωτεΐνες και χρησιμοποιείται για την ανίχνευση μη-ειδικής δέσμευσης. Τα δείγματα ασθενών τα οποία δίνουν υψηλότερες τιμές στο και /ή "Βύθισμα Μόνο Μονοκλωνικό" από την τιμή ορίου θετικότητας του αρνητικού ορού ελέγχου, θα πρέπει να εξετάζονται με άλλη μέθοδο.

Αντισώματα HLA που δεν είναι λεμφοκυτταροτοξικά δεν θα ανιχνευθούν με αυτή τη μέθοδο.

Αυτό το προϊόν δεν ανιχνεύει IgM, IgA, ή HLA τάξης I αντισώματα.

Μερικά μη-κυτταροτοξικά HLA αντισώματα που δεν αντιδρούν στην λεμφοκυτταροτοξική ανάλυση (LCA) μπορεί να ανιχνευθούν με αυτή την τεχνική.

Αυτό το προϊόν αναμένεται να ανιχνεύει HLA αντισώματα έναντι των αντιγόνων που αντιπροσωπεύονται στην ομάδα αντιγόνων (δείτε το ειδικό για κάθε παρτίδα Φύλλο Καταγραφής). Αντισώματα έναντι αντιγόνων που δεν αντιπροσωπεύονται μπορεί να μην ανιχνευθούν.

Το βύθισμα “Μόνο Μονοκλωνικό” (το βύθισμα G της βιολετί ταινίας) περιέχει μόνο μυϊκό μονοκλωνικό αντίσωμα. Η αντιδραστικότητα σε αυτό το βύθισμα μπορεί να οφείλεται σε αντιδραστικότητα με το αντίσωμα δέσμευσης του συστήματος εξέτασης, στη παρουσία αντισωμάτων IgG μυός, ή σε ανοσοσυμπλέγματα.

ΕΙΔΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Αυτό το προϊόν, με την κατάλληλη αποθήκευση και χρήση σύμφωνα με τις άνω διαδικασίες, μπορεί να ανιχνεύσει αντισώματα έναντι των αντιγόνων HLA τάξης II, τα οποία ταυτοποιούνται στο εσωκλειόμενο Φύλλο Καταγραφής.

Προκειμένου να διασφαλιστεί η αντιδραστικότητα και η ειδικότητα, κάθε παρτίδα του Quik-ID Class II εξετάζεται πριν κυκλοφορήσει, έναντι δειγμάτων με αντισώματα έναντι των αντιγόνων HLA τάξης II καθώς επίσης και έναντι δειγμάτων ελεύθερων από τέτοια αντισώματα.

Αξιολόγηση Απόδοσης

		Συγκριτική μέθοδος		
		Θετικό	Αρνητικό	Σύνολο
Quik-ID® Class II	Θετικό	45	3	48
	Αρνητικό	3	36	39
	Σύνολο	48	39	87

Συμφωνία: 93.1%

Συν-θετικότητα: 92.3% Συν-αρνητικότητα: 93.7%

Συγκριτική μέθοδος: Κυτταρομετρία Ροής βασισμένη σε σφαιρίδια

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Marsh SGE, Parham P, Barber LD, The HLA Facts Book. Academic Press 2000: 84-91.
2. Rodey Glenn E. HLA Beyond Tears. De Novo, Inc. 2000; 213.

U.S. Patent #6,046,013



GTI® DIAGNOSTICS

Good science starts with people.™

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

REF C2ID

Αναθεωρήθηκε: 2007-08-07 (Gr)



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

www.gtidiagnostics.com

