

Instructions for use



Sanquin Reagents B.V.
Plesmanlaan 125
1066 CX Amsterdam
The Netherlands

Phone: +31 20 5123599
Fax: +31 20 5123570
Reagents@sanquin.nl
www.sanquin.org/reagents

Pelikloon anti-D mix (IgG/IgM) monoclonal

REF K1157

IVD CE 0344

006_v04 07/2019 (da)

Kun til professionelt brug

Blodtypereagens til bestemmelse af D-antigenet på humane røde celler

Generel information

Pelikloon anti-D mix (IgG/IgM) monoclonal blodtypereagens (klonnumre er nævnt på det tilhørende certifikat i analyse/frigivelsesdokumentet og på produktetiketten) er tilberedt fra supernatanter fra cellekulturer af stabile hybridom-cellelinjer som først beskrevet af Köhler og Milstein (Nature 1975). Dette monoklonale reagens indeholder humane IgG/IgM-antistoffer og er blevet særligt valgt og udviklet til at udgøre et pålideligt alternativ til polyklonale reagenser. Dette reagens opfylder kravene for de pågældende standarder og retningslinjer. Ydelseskarakteristikker er nævnt i frigivelsesdokumenterne, der leveres med produktet ved forespørgsel. Testens princip er agglutinationsteknikken, der er baseret på antigen/antistofreaktion. Reagenset kan anvendes i enten glas- eller mikroplademethoden. Dette reagens vil detektere alle normale D-antigener og de fleste svage D-antigener. D-variantkategorien VI detekteres kun i testen efter tilsætning af polyspecifikt anti-humant serum. Det anbefales stærkt at medtage positive og negative kontroller med hver serie af blodtypebestemmelser.

Forholdsregler

Kun til in-vitro-diagnose. Reagenserne bør opbevares ved 2-8 °C. Utætte eller beskadigede flasker må ikke bruges. Reagenser (uåbnede eller åbne) må ikke anvendes efter den udløbsdato, der er trykt på flaskens etiket. NaN₃ 0,1% (volumenvægt) anvendes som konserveringsmiddel. Det kan ikke antages, at reagenset er fri for smittefarlige stoffer. Man skal være forsigtig ved brugen og bortskaffelsen af alle beholdere og deres indhold. Uklarhed kan være tegn på mikrobiel kontaminering. For at finde tegn på forringelse af et reagens anbefales det, at man tester reagenset som en del af kvalitetskontrolprogrammet for laboratoriet ved hjælp af passende kontroller. Bortskaffelsen af spild efter fuldførelse af testen skal udføres i henhold til laboratoriets regulativer.

Prøveindsamling og forberedelse

Blodprøver skal tages aseptisk med eller uden tilsætning af antikoagulanter. Hvis testning af blodprøverne er forsinket, skal opbevaringen ske ved 2-8 °C.

Prøveforberedelsen er beskrevet i de respektive testprocedurer.

Testprocedurer

Glasm metode

Glaskrav: glas (af glas) med rund bund; størrelse 75 x 10/12 mm.

1. Forbered en 3-5% celleduspension af røde celler, der kan testes i isotonisk saltopløsning eller i deres egen plasma eller serum.
2. Tilføj i et testglas:
 - 1 dråbe Pelikloon reagens
 - 1 dråbe 3-5% celleduspension og bland godt.
3. Centrifuger i 20 sekunder ved 1000 rcf eller i et tidsrum, der passer til kalibrering af centrifugen.
4. Gensuspendér cellerne under let omrøring (rystning) og læs visuelt for agglutination.

Hvis der ikke er synlig agglutination, skal testen fortsættes således:

5. Bland det godt, og inkubér glassene i vandbad i 15-20 minutter ved 37 °C.
6. Vask cellerne 1 gang i rigelige mængder isotonisk saltvand. Hæld det sidste væske helt ud (én vask er tilstrækkelig; der er ikke nogen ulemper ved at vaske 3-4 gange som ved konventionelle tests).
7. Tilsæt 2 dråber polyspecifikt anti-humant serum, og bland det godt.
8. Centrifuger i 20 sekunder ved 1000 rcf eller i et tidsrum, der passer til kalibrering af centrifugen.
9. Gensuspendér cellerne under let omrøring (rystning) og læs visuelt for agglutination.
10. Hvis der ikke er nogen synlig agglutination, tilsættes 1 dråbe Coombs kontrolceller, og trin 8 og 9 gentages. Reaktionen skal nu være positiv. Hvis testen forbliver negativ, er resultatet ugyldigt, og testen skal gentages.

Mikropladem metode

Mikropladekrav: polystyren-mikroplader med runde bundbrønde.

1. Forbered en 2-3% celleduspension af røde celler, der kan testes i isotonisk saltopløsning eller i deres egen plasma eller serum.
2. Tilsæt i en brønd:
 - 1 dråbe Pelikloon reagens
 - 1 dråbe 2-3% celleduspension
3. Bland indholdet grundigt i 5 sekunder vha. et rotationsrystebord ved 600-700 rpm.
4. Inkubér i 10-15 minutter ved stuetemperatur (18-25 °C) uden at ryste det.

5. Centrifuger i 10-20 sekunder ved 700 rcf eller i et tidsrum, der passer til centrifugens kalibrering.
6. Ryst mikropladen igen i 1-4 minutter på rotationsrystebordet ved 600-700 rpm eller i så lang tid det er passende for helt at opblande cellerne i brønden med negative reaktioner.
7. Lad mikropladen ligge i 1 minut, så de mindre agglutiner kan aflejre.
8. Reaktionerne kan nu aflæses enten visuelt eller vha. en automatisk læser.

Tydning

En positiv reaktion (dvs. agglutination) angiver tilstedeværelsen af Rh D-antigenet. En positiv reaktion angiver, selvom den er svag eller negativ med andre teknikker, tilstedeværelse af et svagt eller partielt D-antigen, og yderligere undersøgelser anbefales for at belyse Rh D-status. En negativ reaktion (dvs. ingen synlig agglutination) angiver fraværelsen af Rh D-antigenet.

Forekomst	Kaukasere (den europide race)	Negre
D-antigen	85%	92%

Begrænsninger

Uventede positive resultater grundet: pseudoagglutination, autoagglutination, blandet feltreaktion, tilstedeværelsen af Whartons gelé sammen med navlestrengsceller.

Uventet negative eller svage resultater grundet: svage antigener, blandet feltreaktion, nedsat aktivitet i reagenset.

Antigenvariantceller kan frembringe uventet positive eller negative resultater med prøver, der tidligere er typebestemt med blodgruppereagenser fra polyklonale eller monoklonale kilder fra andre cellelinjer.

Falske positive eller falske negative resultater kan forekomme på grund af kontaminering af testmaterialerne, eller hvis der afviges fra den anbefalede teknik.

Røde celler, der har en positiv direkte antiglobulintest (DAT), giver falske positive testresultater. Til bestemmelsen af sådanne ugyldige testresultater anbefales det at bruge Pelikloon monoklonal kontrollen.

Ineffektiv vask af de røde blodlegemer, der testes, kan resultere i falske negative resultater på grund af neutraliseringen af det polyspecifikke anti-humane serum af proteiner (IgG), der stadig er til stede i glasset.

Pelikloon monoklonale blodtypereagenser er blevet optimeret til brug med de(n) teknik(ker), der er anbefalet i denne indlægsseddel.

Medmindre andet er angivet, skal brugeren afgøre, om reagenset er egnet til brug med andre teknikker.

Referencer

1. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6th ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
2. Issit P.D.; Applied Blood Group Serology, 3rd ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985.
3. Daniels G.; Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd. 1995.
4. Reid M.E. et al.; The Blood Group Antigen Facts-Book. Facts Book-Series, 3rd ed. 2012.
5. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion In Clinical Medicine, 9th ed. Blackwell, Oxford, 1993.

Det garanteres, at produkter fra Sanquin virker som beskrevet i producentens originale brugsanvisning. Det er af afgørende betydning, at procedurerne, testlayouts samt anbefalede reagenser og udstyr overholdes nøje. Sanquin fraskriver sig ethvert ansvar, som opstår som følge af nogen afvigelse heraf.