

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 (sv)

Endast för professionellt bruk

Blodgrupperingsreagens för detektion av D-antigener på humana erythrocyter

Allmän information

Pelikloon anti-D mix (IgG/IgM) monoclonal blodgrupperingsreagens (klonnumret anges på medföljande analyscertifikat och på produktetiketten) har framställts av supernatant från cellkulturer från stabila hybridoma cellinjer som de första gången beskrevs av Köhler och Milstein (Nature 1975). Denna monoklonala reagens innehåller humana IgG/IgM-antikroppar och har speciellt valts ut och utvecklets för att utgöra ett tillförlitligt alternativ till polyklonala reagenser. Reagensen uppfyller kraven för gällande standarder och riktlinjer. Produktens egenskaper finns specificerade i de analyscertifikat som medföljer produkten på begäran. Testprincipen bygger på agglutinationsteknik, vilken baseras på antigen-/antikroppsreaktion. Reagensen kan användas för rör- eller mikroplattmetod. Reagensen kommer att detektera alla normala D och de flesta svaga D-antigener. D-varianten kategori VI detekteras endast i rörprovet efter att polyspecifikt anti-humant serum har tillsatts. Införlivandet av positiva och negativa kontroller med varje serie av blodgruppsbestämningar rekommenderas starkt.

Försiktighetsåtgärder

Reagenserna skall endast användas för in-vitro-diagnostik. Reagenserna bör förvaras i 2-8 °C. Läckande eller skadade reagensflaskor får ej användas. Reagenser (oöppnade eller öppnade) bör inte användas efter det utgångsdatum som är tryckt på flaskans etikett. Na₂S₂O₃ 0,1% (w/v) används som konserveringsmedel. Det kan inte uteslutas att reagensen innehåller några smittfarliga ämnen. Lakttag försiktighet vid användning och hantering av behållare och deras innehåll. Grumlighet kan vara tecken på bakteriell kontamination. För att upptäcka tecken på nedbrytning av reagens rekommenderas att reagenserna testas som en del av laboratoriets interna kontrollprogram, genom användning av lämpliga kontroller. Bortförskaffande av avfall, efter testets slutförande, ska ske i enlighet med laboratoriets egna föreskrifter.

Provtagning och förberedelser

Blodprov ska tas aseptiskt med eller utan tillsats av antikoagulanter. Om test av blodprov försenas, skall proverna förvaras i 2-8 °C. Preparation av prover beskrivs i respektive bruksanvisning.

Testutförande

Rörmetod

Krav på rör: glasrör med rund botten; storlek 75 x 10/12 mm.

1. Förbered med isotonisk saltlösning eller i eget plasma eller serum en 3-5% cellsuspension av de röda celler som skall testas.
2. Tillsätt i ett rör:
 - 1 droppe Pelikloon-reagens
 - 1 droppe av den 3-5% cellsuspensionenoch blanda väl.
3. Centrifugera i 20 sekunder vid 1000 rcf eller så lång tid som är lämpligt för kalibrering av centrifugen.
4. Omsuspendera cellerna under lätt vaggning och läs av agglutination makroskopiskt.

Om ingen agglutination är synlig ska testet fortsättas på följande sätt:

5. Blanda väl och inkubera rören i ett vattenbad i 15-20 minuter i 37 °C.
6. Tvätta cellerna en gång i mer isotonisk saltlösning. Dekantera helt och hållet (En tvättning är tillräcklig. Det är inte någon nackdel att tvätta 3-4 gånger som med de konventionella testerna).
7. Lägg till 2 droppar av polyspecifikt anti-humant serum och blanda väl.
8. Centrifugera i 20 sekunder vid 1000 rcf eller så lång tid som är lämpligt för kalibrering av centrifugen.
9. Omsuspendera cellerna under lätt vaggning och läs av agglutination makroskopiskt.
10. Om det inte finns tecken på synlig agglutination, lägg till 1 droppe av Coombs Control Cells och upprepa steg 8 och 9. Reaktionen bör nu bli positiv. Om testet förblir negativt är resultatet ogiltigt och testet bör göras om.

Mikroplattmetod

Krav på mikroplattor: mikroplattor av polystyren med rund botten.

1. Förbered med isotonisk saltlösning eller i eget plasma eller serum en 2-3% cellsuspension av de röda celler som skall testas.
2. Tillsätt i en brunn:
 - 1 droppe Pelikloon-reagens
 - 1 droppe av den 2-3% cellsuspensionen
3. Blanda innehållet grundligt i 5 sekunder med hjälp av en roterande skak vid 600-700 vpm.
4. Inkubera i 10-15 minuter i rumstemperatur (18-25 °C) utan att skaka materialet.
5. Centrifugera i 10-20 sekunder vid 700 rcf eller så lång tid som är lämpligt för kalibrering av centrifugen.

6. Skaka mikroplattan i 1-4 minuter på rotationskaken vid 600-700 vpm eller under så lång tid som är nödvändig för att resuspendera cellerna helt i brunnen med negativa reaktioner.
7. Låt mikroplattan vila i en minut, så att de mindre agglutinatn kan sätta sig.
8. Avläs för agglutinat makroskopiskt eller med en automatisk avläsare.

Tolkning

En positiv reaktion (dvs. agglutination) anger förekomsten av Rh D-antigenen. En positiv reaktion som är svag eller negativ med andra tekniker indikerar förekomst av en svag eller partiell D-antigen. Ytterligare tester för att klargöra Rh D-statusen rekommenderas. En negativ reaktion (dvs. ingen synlig agglutination) anger frånvaron av Rh D-antigenen.

Förekomst	Vita	Svarta
D-antigen	85%	92%

Begränsningar

Oväntade positiva reaktioner kan bero på: pseudoagglutination, autoagglutination, mixed field-reaktion, användning av Whartons gelé tillsammans med navelsträngsblod.

Oväntade negativa eller svaga resultat kan bero på: svaga antigener, mixed field-reaktion, minskad reagensaktivitet Celler med antigenvarianter kan ge oväntade positiva eller negativa reaktioner med prover som tidigare typbestämts med blodgrupperingsreagenser från polyklonala eller andra monoklonala cellinjekällor.

Falsa positiva eller falska negativa resultat kan uppstå genom kontamination av testmaterial eller vid avvikelser från rekommenderad teknik.

Röda celler som har ett positivt direkt antiglobulintest (DAT) ger falska positiva testresultat. Användningen av Pelikloon kontrollmonoklonal rekommenderas för att kunna spåra sådana ogiltiga testresultat.

Ineffektiv tvättning av erythrocyter som testas kan resultera i falska negativa resultat på grund av neutraliseringen av det polyspecifika anti-humana serumet av proteiner (IgG) som fortfarande förekommer i röret.

Pelikloon monoklonala blodgruppsreagenser har optimerats för användning med de(n) teknik(er) som rekommenderas i denna bipacksedel. Om inget annat anges måste lämpligheten för användning med andra tekniker fastställas av användaren.

Referenser

1. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6th ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
2. Issitt 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.

Sanquin produkter ger garanterat de prestanda som beskrivs i originaltillverkarens bruksanvisning. Det är mycket viktigt att strängt följa beskrivna procedurer, testupställningar och rekommenderade reagensmedel och apparatur. Sanquin fransäger sig allt ansvar till följd av att detta försummas.