

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_v02 01/2017 (no)

Kun for profesjonell bruk

Blodtypereagens for detektering av D-antigenet på humane røde celler

Generell informasjon

Pelikloon anti-D (IgM) monoklonal blodtypereagens (klonenummeret er nevnt på det tilhørende analyse-/frigivelsesdokumentet og produktmerkingen) er preparert fra kultursupernatant fra stabile hybridomcellelinjer, som først beskrevet av Köhler og Milstein (Nature 1975). Denne monoklonale reagensen inneholder humane IgG-/IgM-antistoffer og er spesielt utvalgt og utviklet for å gi et pålitelig alternativ til polyklonale reagenser. Reagensen oppfyller kravene til de berørte standardene og retningslinjene. Ytelseskarakteristikkene er omtalt i utgivelsesdokumentene, som følger med produktet ved etterspørsel. Testprinsippet er agglutinasjonsteknikken, som er basert på reaksjonen antigen/antistoff. Reagensen kan brukes i sentrifugeringsrør, mikroplate eller med objektglassmetoden. Denne reagensen vil påvise alle normale D- og de fleste svake D-antigener. D variant kategori VI påvises kun i rørtesten etter tilsetning av polyspesifikk anti-humant serum. Følsomheten ved objektglassmetoden er lavere enn med sentrifugeringsrør eller mikroplatemetoden. Noen svake D-prøver vil derfor ikke teste Rhesus D positiv ved bruk av denne metoden, mens de ville ha testet positivt ved bruk av enten sentrifugeringsrør eller mikroplatemetoden. Det anbefales på det sterkeste å inkludere positive og negative kontroller med hver serie av blodtypebestemmelse.

Forsiktighetsregler

Kun til in vitro-diagnostisk bruk. Reagensene bør oppbevares ved 2-8 °C. Hetteglass som lekker eller er skadet må ikke brukes. Reagenser (uåpnede eller åpnete) må ikke brukes etter utløpsdatoen som står på hetteglassets etikett. NaN₃ 0,1% (w/v) brukes som konserveringsmiddel. Reagensen kan ikke antas å være fri for infeksøse agenter. Utvis forsiktighet ved bruk og avhending av hver beholder og innhold. Turbiditet kan indikere mikrobiell kontaminering. For å gjenkjenne reagensforringelse anbefales det å teste reagensen som del av laboratoriets kvalitetskontroll ved å bruke egnede kontroller. Etter at testen er fullført skal avfallet avhendes i samsvar med laboratoriets forskrifter.

Innsamling og preparering av prøver

Bruk aseptisk metode ved blodprøvetaking eller uten tilsetning av antikoagulanter. Dersom testingen av blodprøvene blir forsinket, bør oppbevaringstemperaturen være på 2-8 °C. Prepareringen av prøvene er beskrevet i de respektive testprosedyrene.

Testprosedyrer

Sentrifugering av rør

Krav til rørene: glassrør med rund bunn; størrelse 75 x 10/12 mm.

1. Preparer en 3-5% cellesuspensjon av de røde cellene som skal testes i isotonisk saltløsning eller deres eget egen plasma eller serum.
2. I et reagensrør, tilsett:
 - 1 dråpe Pelikloon reagens
 - 1 dråpe av 3-5% cellesuspensjonog bland godt.
3. Sentrifuger i 20 sekunder ved 1000 rcf (relativ sentrifugalkraft) eller for en tid som egner seg til kalibreringen av sentrifugen.
4. Suspender cellene på nytt ved varsom risting og les av makroskopisk for agglutinasjon.

Dersom det ikke er noe synlig agglutinasjon, skal testen gjennomføres som forklart under:

5. Bland godt og inkuber rørene i vann i 15-20 minutter ved 37 °C.
6. Vask cellene én gang i en stor mengde isotonisk saltløsning. Dekanter fullstendig (én vask er nok; det er ingen ulempe å vaske 3-4 ganger som med konvensjonelle tester).
7. Tilsett 2 dråper polyspesifikt antihumant serum og bland godt.
8. Sentrifuger i 20 sekunder ved 1000 rcf (relativ sentrifugalkraft) eller for den tiden som trengs for kalibreringen av sentrifugen.
9. Suspender cellene på nytt ved varsom risting og les av makroskopisk for agglutinasjon.
10. Dersom det ikke er noen synlig agglutinasjon, tilsett 1 dråpe Coombs Control Cells og gjenta steg 8 og 9. Reaksjonen bør nå være positiv. Dersom testen forblir negativ er resultatet ugyldig og testen må gjentas.

Mikroplatemetode

Krav til mikroplate: mikroplater i polystyren med runde bunnbrønner.

1. Preparer en 3-5% cellesuspensjon av røde celler som skal testes i isotonisk saltløsning eller eget plasma eller serum.
2. I en brønn, tilsett:
 - 1 dråpe Pelikloon reagens
 - 1 dråpe 2-3% cellesuspensjon.
3. Bland innholdet godt i 5 sekunder ved bruk av en rotasjonsrister ved 600-700 rpm.
4. Inkuber i 10-15 minutter ved romtemperatur (18-25 °C) uten å riste.

5. Sentrifuger i 10-20 sekunder ved 700 rcf (relativ sentrifugalkraft) eller så lenge som er nødvendig utfra kalibreringen av sentrifugen.
6. Rist mikroplaten i 1-4 minutter på rotasjonsristeren ved 600-700 rpm eller så lenge som nødvendig for å suspendere cellene i brønnene med negative reaksjoner på nytt.
7. La mikroplaten hvile i 1 minutt for at mindre agglutinasjoner skal sette seg.
8. Reaksjonene kan nå leses av enten makroskopisk eller ved bruk av en automatisk avleser.

Objektglassmetode

1. Plasser 1 dråpe Pelikloon reagens på et varmt (37-45 °C) objektglass på en tent visningsboks.
2. Tilsett 2 dråper 35-45% cellesuspensjon av de røde cellene for å teste dem i isotonisk saltløsning eller i eget plasma eller serum.
3. Bland godt med en ren applikatorpinne over et rundt område på omtrent 20 mm i diameter.
4. Flytt objektglasset sakte og se etter agglutinasjon av de røde blodcellene i høyst 2 minutter.
5. Les av makroskopisk for agglutinasjon.

Fortolkning

En positiv reaksjon (dvs. agglutinasjon) indikerer tilstedeværelse av Rh D-antigen. En positiv reaksjon, som er svak eller negativ med andre teknikker, indikerer tilstedeværelse av et svakt eller partielt D-antigen, og det anbefales å undersøke videre for å belyse Rh D-status. En negativ reaksjon (dvs. ingen synlig agglutinasjon) indikerer fravær av Rh D-antigen.

Forekomst	Kauasiere	Negroide
D antigen	85%	92%

Begrensninger

Uventede positive resultater på grunn av: pseudoagglutinasjon, autoagglutinasjon, blandet feltreaksjon, tilstedeværelse av Whartons jelly sammen med navlestrengceller.

Uventede negative eller svake resultater på grunn av: svake antigener, blandet feltreaksjon, redusert reagensaktivitet.

Uventede negative eller svake resultater kan oppstå på grunn av kontaminering av testmaterialet eller avvik fra anbefalt teknikk.

Røde celler som har en positiv direkte antiglobulintest (DAT) produserer falske positive testresultater. Bruk av Pelikloon kontroll av monoklonal anbefales for påvisning av slike ugyldige testresultater.

Ineffektiv vasking av de røde cellene som testes kan resultere i falske negative resultater på grunn av neutraliseringen av det polyspesifikke antihumane serumet av proteiner (IgG) som fremdeles finnes i røret.

Pelikloon monoklonale blodtypereagenser er optimaliserte for bruk med teknikken(e) som anbefales i dette pakningsvedlegget. Med mindre annet er oppgitt må egnetheten deres for bruk med andre teknikker fastsettes av brukeren.

Referanser

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. and Lomas-Francis C.; The Blood Group Antigen Facts Book. Facts Book Series, 1997.
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 produsentens originale bruksanvisning. Det er meget viktig at prosedyrer, testoppstillinger og anbefalte reagenser og utstyr benyttes. Sanquin fraskriver seg ett hvert ansvar som måtte oppstå fra avvik fra dette.