

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-A (IgM) monoclonal	REF K 1188	IVD CE 0344
Pelikloon anti-B (IgM) monoclonal	REF K 1189	IVD CE 0344
Pelikloon anti-A,B (IgM) monoclonal	REF K 1190	IVD CE 0344
001_v04 07/2019 (da)	Kun til professionelt brug	

Blodgruppereagenser til bestemmelse af A- og/eller B-antigener på menneskelige røde celler

Generel information

Pelikloon anti-A, anti-B, og anti-A,B (IgM) monoklonale blodgruppereagenser (klonnumre er nævnt på det tilhørende certifikat i analyse/frigivelsesdokumentet) er forberedt fra subernatanten fra cellkulture af stabile hybridom-cellelinjer som først beskrevet af Köhler og Milstein (Nature 1975). Disse monoklonale reagenser indeholder murin IgM antistoffer og er blevet særligt valgt og udviklet til at give et pålideligt alternativ til polyklonale reagenser. Disse reagenser opfylder kravene for de gældende standarder og retningslinjer. Ydelses karakteristikk er nævnt i frigivelsesdokumentet, der leveres med produktet ved forespørgsel. Testens princip er agglutinationsteknikken, der er baseret på antigen/antistofreaktion. Reagenserne kan anvendes i enten glas- eller mikroplademethoden. Disse reagenser er også egnede til brug i automatiserede testsystemer og bør standardiseres og valideres af brugeren. Det anbefales der medtages positive og negative kontroller med hver serie af blodgruppebestemmelser. Udover at bestemme ABO-blodgruppen af røde celler, bør patientens serum testes for tilstedeværelsen af korresponderende anti- A og/eller anti-B alloantistoffer, vha. røde celler i A₁ og B reagenter (se indlægssedlen i den relevante pakke).

Forholdsregler

Kun til in-vitro-diagnose. Reagenserne bør opbevares ved 2–8°C. Utætte eller beskadigede flasker må ikke bruges. Reagenser (uåbnet eller åbnet) må ikke anvendes efter udløbsdatoen, der er skrevet på flaskens etiket. NaN₃ 0,1% (w/v) anvendes som konserveringsmiddel. Anti-A og anti-B reagenserne er blevet farvet, så de nemt kan genkendes. Det kan ikke antages, at reagenterne er fri for smittefarlige stoffer. Man skal være forsigtig ved brugen og bortskaftelsen af alle beholdere og deres indhold. Uklarhed kan være tegn på kontaminering. For at finde tegn på forringelse af reagenser, anbefales det at teste reagenserne som en del af kontrolprogrammet for laboratorie kvalitet vha. passende kontroller. Bortskaftelsen, efter fuldførelse af testen, skal udføres i henhold til laboratoriums regulativer.

Prøveindsamling og forberedelse

Blodprøver skal udføres aseptisk med eller uden tilføjelsen af antikoagulanter. Hvis testning af blodprøverne forsinkes, skal opbevarelsen være ved 2–8°C.

Prøveforberedelse er beskrevet i de respektive testprocedurer.

Testprocedurer

Glasm metode

glaskrav: glasglas med rund bund; størrelse 75 x 10/12 mm.

1. Forbered en 3–5% cellesuspension af røde celler, den kan fremstilles i isotonisk saltopløsning, i egen plasma eller serum.
2. Tilføj i et glas :
 - 1 dråbe Pelikloon reagent
 - 1 dråbe af 3–5% cellesuspensionog bland godt.
3. Centrifuger i 20 sekunder ved 1000 rcf eller i en tid, der passer til kalibrering af centrifugen.
4. Gensuspender Bland cellerne igen ved let omrøring (rystning) og læs visuelt for agglutination.

Mikropladem metode

Mikropladekrav: polystyrene mikroplader med runde brønde.

1. Forbered en 2–3% cellesuspension af røde celler, den kan fremstilles i isotonisk saltopløsning, i deres egen plasma eller serum.
2. Tilføj i en brønd:
 - 1 dråbe Pelikloon reagent
 - 1 dråbe af 2–3% cellesuspension
3. Bland indholdet grundigt i 5 sekunder vha. en rotationsrystebord ved 600–700 rpm.
4. Lad det stå i 10–15 minutter ved stuetemperatur (18–25°C) uden at ryste.
5. Centrifuger i 10–20 sekunder ved 700 rcf eller i en tid, der passer til kalibrering af centrifugen.
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 det korresponderende antigen. En negativ reaktion (dvs. ingen synlig agglutination) angiver fraværelsen af det korresponderende antigen. ABO-blodgruppen er bestemt ved et reaktionsmønster, der opnås med de forskellige antisera (se tabellen på næste side). Hvis reaktionsmønstret ikke stemmer overens med en af de 4 kombinationer herunder, skal årsagen til de uoverensstemmende resultater fastslås før den givne patient/donor tildeles en ABO-blodgruppe.

Agglutinationreaktioner i rutinemæssig ABO-gruppering

røde celler + blodgruppereagens			serum/plasma + reagens røde celler		
anti-A	anti-B	anti-A,B	A1 celler	B celler	blodgruppe (frekvens)
0	0	0	+	+	O (46,7%) ⁴⁾
+	0	+	0	+	A (41,7%) ⁴⁾
0	+	+	+	0	B (8,6%) ⁴⁾
+	+	+	0	0	AB (3,0%) ⁴⁾

Begrænsninger

Uventet positive resultater grundet: pseudoagglutination, autoagglutination, blandet feltreaktion, brugen af Whartons gele sammen med navlestrengsceller.

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

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.

Referencer

1. Widmann F.K. ed; AABB Technical Manual, 11th ed. 1993, Bethesda (MD).
2. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6th ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
3. Issitt P.D.; Applied Blood Group Serology, 3rd ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985.
4. Daniels G.; Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd. 1995.
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service H.M.S.O. 2nd ed. 1993.
6. Reid M.E., et al. The Blood Group Antigen FactsBook, FactsBook Series, 3rd ed. 2012

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