

# 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	
<b>Pelikloon anti-A (IgM) monoclonal</b>	<b>REF K 1188</b>	<b>IVD C € 0344</b>
<b>Pelikloon anti-B (IgM) monoclonal</b>	<b>REF K 1189</b>	<b>IVD C € 0344</b>
<b>Pelikloon anti-A,B (IgM) monoclonal</b>	<b>REF K 1190</b>	<b>IVD C € 0344</b>
001_v04 07/2019 (sv)	Endast för professionellt bruk	

Blodgruppsreagenser för detektion av A- och/eller B-antigener på humana röda blodkroppar

## Allmän information

Pelikloon anti-A, anti-B och anti-A, B (IgM) monoklonala blodgrupperingsreagenser (klonnumren anges på medföljande analyscertifikat) har framställts av supernatant från cellkulturer från stabila hybridoma cellinjer som de första gången beskrevs av Köhler och Milstein (Nature 1975). Dessa monoklonala reagenser innehåller murina IgM-antikroppar och har speciellt valts ut och utvecklats för att utgöra ett tillförlitligt alternativ till polyklonala reagenser. Reagenserna 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/antikropps-reaktion. Reagenserna kan användas för rör- eller mikroplattmetod. Reagenserna är också lämpade för användning i automatiserade system och bör då standardiseras och valideras av användaren. Införlivandet av positiva och negativa kontroller med varje serie av blodgruppsbestämningar rekommenderas. Utöver att bestämma ABO-blodgruppen, bör patientens serum testas på förekomsten av korresponderande anti-A- och/eller anti-B-alloantikroppar genom användning av A1 och B reagerande erythrocyter (se bipacksedeln)

## Säkerhetsföreskrifter

Reagenserna skall endast användas för in-vitro-diagnostik. Reagenserna bör förvaras vid 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. NaNO<sub>2</sub> 0,1% (w/v) används som konserveringsmedel. Anti-A- och anti-B-reagenserna har färgats så att de är lätta att känna igen. Det kan inte uteslutas att reagenserna är fria från smittfarliga ämnen. Laktag 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 vid 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 i en isotonisk saltlösning eller i eget plasma eller serum en 3–5% cellsuspension av de röda celler som ska 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 vagnning och läs av agglutination makroskopiskt

### 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 rpm.
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 rotations-skaken vid 600–700 rpm 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 agglutinat kan sätta sig.
8. Avläs för agglutinat makroskopiskt eller med en automatisk avläsare.

### Tolkning

En positiv reaktion (dvs. agglutination) anger förekomsten av den korresponderande antigenen. En negativ reaktion (dvs. ingen synlig agglutination) anger frånvaron av den korresponderande antigenen. ABO-blodgruppen bestäms genom det reaktionsmönster som uppnås med de olika antisera (se tabellen på nästa sida). Om reaktionsmönstret inte korresponderar med en av de 4 kombinationerna nedan, skall orsaken till de avvikelserna fastslås innan patienten/donatören ifrågasätts tilldelas en ABO-blodgrupp.

### Agglutinationreaktioner i rutinmässig ABO-gruppering

röda celler + blodgrupperingsreagens			serum/plasma + röda celler		
anti-A	anti-B	anti-A,B	A1-celler	B-celler	blodgrupp (frekvens)
0	0	0	+	+	O (46,7%) <sup>4)</sup>
+	0	+	0	+	A (41,7%) <sup>4)</sup>
0	+	+	+	0	B (8,6%) <sup>4)</sup>
+	+	+	0	0	AB (3,0%) <sup>4)</sup>

### Begränsningar

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

Oväntade negativa eller svaga resultat beroende 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.

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

### Referenser

1. Widmann F.K. ed; AABB Technical Manual, 11<sup>th</sup> ed. 1993, Bethesda (MD).
2. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6<sup>th</sup> ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
3. Issitt P.D.; Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> 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. 2<sup>nd</sup> ed. 1993.
6. Reid M.E. et al.; The Blood Group Antigen Facts-Book, Facts-Book Series, 3<sup>rd</sup> ed. 2012.

*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.*