

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

PeliStrip elution kit

REF **K1398**

IVD **CE**

054_v02 01/2017 (da)

Kun til professionelt brug

Kit til eluering af antistoffer fra erythrocytter



Opbevares mørkt

Generel information

PeliStrip elution kit anvendes til hurtig syreeluering af antistoffer fra intakte erythrocytter.

Hvis man f.eks. ønsker at identificere antistoffer hos patienter med positiv DAT (direkte antiglobulintest) eller identificere antistoffer, som er isoleret fra sera eller plasma ved at coate dem *in vitro* på udvalgte erythrocytter.

Eluatet kan testes som serum eller plasma for at påvise og identificere antistofferne.

Kitkomponenter

Elution Solution 1: to hætteglas (hvid hætte) a 8 ml. Opbevares ved 18-25°C.

Neutralisation Solution 2: et hætteglas (sort hætte) a 12 ml. Denne Tris-neutraliseringsbuffer indeholder BSA og er farvet blå med henblik på pH-indikation og genkendelighed. Opbevares mørkt og ved 18-25°C.

Forholdsregler

Kun til *in vitro*-diagnostisk brug.

Kittet skal opbevares ved 18-25°C. Neutralisation Solution 2 skal opbevares mørkt. Langvarig opbevaring i lys kan medføre misfarvning af Neutralisation Solution 2. Hvis Neutralisation Solution 2 ikke er blå, må opløsningen ikke anvendes.

Neutralisation Solution 2 indeholder 0,1 % NaN₃ (vægt/volumen) som konserveringsmiddel. Må ikke nedfryses.

Det bovine serumalbumin er testet for smitsomme sygdomme og konstateret negativ, men reagentet må ikke antages at være frit for smitstoffer. Der skal udvises forsigtighed ved anvendelse og bortskaffelse af de enkelte beholdere og deres indhold.

Opløsningerne må ikke anvendes, hvis de er uklare, da det kan være tegn på mikrobiel kontaminering.

Utætte eller beskadigede hætteglas må ikke anvendes.

Kittet må ikke anvendes efter udløbsdatoen, som er trykt på etiketten.

Der skal udvises forsigtighed ved anvendelse og bortskaffelse af de enkelte beholdere og deres indhold.

Når testen er udført, skal affaldet bortskaffes i overensstemmelse med laboratoriets regler.

Prøveindsamling

Blodprøver tages aseptisk med tilsætning af antikoagulantia, EDTA foretrækkes. Hvis testningen af blodprøverne forsinkes, skal prøverne opbevares ved 2-8°C i maksimalt 72 timer.

Testmetode

Sensibiliserede erythrocytter vaskes grundigt med kold (2-8°C) PBS (fosfatbufferet saltvand) for at vaske alle ubundne proteiner ud og minimere dissocieringen af de celledannede antistoffer.

De vaskede celler blandes med Elution Solution 1 dissociere antistofferne. Efter centrifugering skal eluatet neutraliseres med Neutralisation Solution 2.

Testprocedure

Nødvendige materialer, som ikke leveres:

- *Krav til prøverør: rundbundede glaserør, størrelse 75 x 10/12 mm.*
- *Kold (2-8°C) PBS.*

1. Centrifuger prøven, og fjern så meget supernatant som muligt.
2. Vask mindst 1 ml pakkede, sensibiliserede erythrocytter 5 gange i kold (2-8°C) PBS for at fjerne eventuelt ubundet antistof. Aliquoten skal være tilstrækkelig til at give 1 ml pakkede celler efter vask. Det sidste centrifugeringstrin skal være med en hastighed og varighed, som resulterer i pakkede celler, f.eks. 5 minutter ved 3000 g, eller som anført i laboratoriets protokol. Gem en del af den sidste vaskeopløsning til brug som kontrol.
3. Brug et 75 x 10/12 mm prøverør af glas.
For at opnå det optimale resultat skal der arbejdes UDEN OPHOLD indtil neutralisering (trin 6), idet perioden, hvor der arbejdes med lav pH, holdes så kort som muligt. Desuden tilrådes det at arbejde ved siden af centrifugen.
Tilsæt 1 ml pakkede erythrocytter.
Tilsæt 1 ml Elution Solution 1 (hvid hætte).
Bemærk: Hvis der er mindre end 1 ml pakkede erythrocytter til rådighed, kan eluatet klargøres ved at tilsætte et tilsvarende mindre volumen Elution Solution 1. Der skal anvendes mindst 500 µl pakkede erythrocytter, da et mindre volumen kan give falske resultater.
4. UMIDDELBART EFTER TILSÆTNING AF Elution Solution 1 blandes røret forsigtigt ved at invertere 5 gange.

Centrifuger STRAKS i 1 minut ved 1000 g eller i en periode og med en hastighed, som er hensigtsmæssig, for at centrifugen kan samle cellemassen og celledbris.

5. OVERFØR supernatanten DIREKTE med en ren pipette (af glas) til et rent prøverør af glas (cellemassen skal kasseres, cellerne kan ikke bruges mere).
6. Syreeluatet SKAL STRAKS NEUTRALISERES ved at tilsætte Neutralisation Solution 2 (sort hætte) dråbevis, indtil den blå farve er permanent efter tilsætning og blanding af dråben. Når den blå farve fremkommer og bliver permanent, angiver det, at eluatets pH-værdi er justeret til det ønskede interval (6,6-7,4). Det kan være nødvendigt at variere volumen af Neutralisation Solution 2 afhængigt af flere faktorer; den væsentligste faktor er graden af hæmolyse af erythrocytterne før eluering eller på grund af længere tid ved lav pH under eluering. Hvis syreeluatet farves rødt eller brunt på grund af hæmolyse af erythrocytterne, bliver eluatet grumset i stedet for blåt ved tilsætning af Neutralisation Solution 2.
7. Centrifuger mindst 1 minut ved > 1000 g for at fjerne eventuelt bundfald eller celledbris eller i en periode og ved en hastighed, som er hensigtsmæssig, for at centrifugen kan samle eventuelt bundfald og celledbris. Overfør eluatet med en ren pipette (af glas) til et rent prøverør af glas.

Eluatet er nu klar til antistoftest i indirekte agglutinerings teknik med PEG. Alternative procedurer til antistoftest skal valideres af brugeren.

Brug det gemte supernatant fra den sidste vask som kontrol. Hvis testen ikke kan udføres med det samme, kan eluatet opbevares ved 2-8°C, helst i højst 72 timer, men højst i 7 dage. Grums kan angive mikrobiel kontaminering.

Tolkning af resultater

En positiv reaktion (f.eks. agglutinerings) af eluatet angiver, at eluatet indeholder erythrocytantistoffer (eluert fra de oprindelige erythrocytter) mod antigenerne på testerythrocytterne.

En negativ reaktion (f.eks. ingen synlig agglutinerings) af eluatet angiver, at eluatet ikke indeholder antistoffer mod antigenerne på testerythrocytterne.

Hvis der er mistanke om en lægemiddelfremkaldt hæmolytisk anæmi, skal eluatet testes mod celler, som er sensibiliseret med det pågældende lægemiddel.

Begrænsninger

En positiv reaktion (f.eks. agglutinerings) af den gemte vaskeopløsning kan angive tilstedeværelse af antistoffer på grund af utilstrækkelig vask, hvilket kan interferere med eluatets antistofaktivitet. Derfor skal elueringsproceduren gentages efter mere grundig vask af cellerne med kold (2-8°C) PBS. En positiv reaktion af den gemte vaskeopløsning kan også angive tilstedeværelse af antistoffer med lav affinitet, som er elueret fra cellerne under vaskeproceduren.

Hvis eluatet udviser en negativ reaktion (f.eks. ingen synlig agglutinerings), mens de kliniske data angiver tilstedeværelse af coatede antistoffer, tilrådes det på det kraftigste at anvende en alternativ elueringsmetode.

Blodprøver, som er ældre end 72 timer, kan resultere i mindre potente eluater end eluater fra friske prøver.

Længerevarende inkubation i Elution Solution 1 kan forårsage hæmolysering af erythrocytterne og denaturering af de eluerede antistoffer. Falske positive eller falske negative reaktioner kan forekomme ved kontaminering af testmaterialer eller afvigelse fra testproceduren og andre anbefalede teknikker, som er beskrevet i brugsanvisningen.

Ombytning af Elution Solution 1 og Neutralisation Solution 2 vil resultere i svage eller falske negative reaktioner.

Referencer

1. Engelfriet C.P. et al.; Immunohaematology, Sanquin Blood Supply Foundation, 2003.
2. Issitt P.D.; Applied Blood Group Serology, 4th ed. Montgomery Scientific Publications, 1998.
3. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion in Clinical Medicine, 9th ed. 1993.
4. Rekvig O.P., Hannestad K., Vox Sang. 33: 280-285, 1977.
5. Leger R.M. et al.; Transfusion 38:565-572, 1998.

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.