

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 (lv)

Tikai profesionālai lietošanai

Komplekts antivieliu noskalošanai no eritrocītiem



Glabāt tumšā vietā

Vispārīga informācija

Komplekts PeliStrip elution kit tiek izmantots antivieliu straujai skābai noskalošanai no veselajiem eritrocītiem.

Piemēram, lai noteiktu antivielas pacientiem ar pozitīvu DAT (tiešais antiglobulīna tests) vai lai noteiktu antivielas, kas ir izolētas no seruma vai plazmas, pārklājot tās *in vitro* izvēlētiem eritrocītiem.

Eluātu var pārbaudīt kā serumu vai plazmu, lai noteiktu un identificētu antivielas.

Komplekta daļas

Elution Solution 1: divas 8 ml pudelītes (balts vāciņš). Uzglabāt temperatūrā 18-25°C.

Neutralisation Solution 2: viena 12 ml pudelīte (melns vāciņš). Šis TRIS neitralizācijas buferšķīdums satur BSA un ir iekrāsots zilā krāsā pH indikācijai un vieglai atpazīšanai. Uzglabāt temperatūrā 18-25°C tumšā vietā.

Piesardzības pasākumi

Lietošanai tikai *in vitro* diagnostikā.

Komplekts jāuzglabā temperatūrā 18-25°C. Neutralisation Solution 2 jāglabā tumšā vietā. Ilgstoši glabājot gaismā, Neutralisation Solution 2 var izmainīt krāsu. Ja Neutralisation Solution 2 ir zilā krāsā, šķīdinātāju nedrīkst izmantot.

Neutralisation Solution 2 satur 0,1% NaN₃ (w/v) kā konservantu. Nesasaldēt.

Lai gan vērša seruma albumīnam tiek veikta pārbaude uz infekcijas slimību un tas tiek konstatēts kā negatīvs, nevar uzskatīt, ka reaģents nesatur infekciozas vielas. Jārīkojas uzmanīgi, lietojot un iznīcinot jebkuru iepakojumu un tā saturu.

Nelietot, ja šķīdumi ir duļķaini; tas var norādīt uz mikrobioloģisko piesārņojumu.

Pudelītes, kurām ir noplūde vai kuras ir bojātas, nedrīkst izmantot.

Komplektu nedrīkst izmantot pēc derīguma termiņa beigām, kas uzdrukāts uz etiķetes.

Jārīkojas uzmanīgi, lietojot un iznīcinot jebkuru iepakojumu un tā saturu.

Atkritumu iznīcināšana pēc testa pabeigšanas ir jāveic saskaņā ar laboratorijas noteikumiem.

Paraugu ņemšana

Asins paraugi ir jāievelk aseptiski, pievienojot antikoagulantus, ieteicams EDTA. Ja asins paraugu tests tiek kavēts, paraugi ir jāuzglabā temperatūrā 2-8°C, vēlams ne ilgāk kā uz 72 stundām.

Testa metode

Sensibilizētie eritrocīti tiek pilnībā nomazgāti ar aukstu (temperatūrā 2-8°C) PBS (fosfātu buferēts fizioloģiskais šķīdums), lai nomazgātu visus nesaistītos proteīnus un samazinātu pie šūnām piesaistīto antivieliu disociāciju.

Nomazgātās šūnas tiek sajauktas ar Elution Solution 1, lai disociētu antivielas. Pēc centrifugēšanas eluāts jāneitralizē ar Neutralisation Solution 2.

Testa procedūra

Nepieciešamie materiāli, kas nav iekļauti komplektācijā:

- *Stobriņu prasības: stikla stobriņi ar apaļu pamatni; izmēri 75 x 10/12 mm.*
- *Auksts (2-8°C) PBS.*

1. Centrifugējiet paraugu un noņemiet pēc iespējas vairāk supernatanta.
2. Mazgājiet vismaz 1 ml iepakotu sensibilizētu eritrocītu 5 reizes aukstā (temperatūrā 2-8°C) PBS, lai noņemtu visas nesaistītās antivielas. Alikvotai ir jābūt pietiekamai, lai iegūtu 1 ml iepakotu šūnu, kad mazgāšana ir pabeigta. Pēdējai centrifugēšanas darbībai jābūt ar ātrumu un laiku, kas izveido iepakotas šūnas, piemēram, 5 minūtes pie 3000 g atbilstoši laboratorijas protokolam. Saglabājiet daļu pēdējā mazgātā šķīduma kā kontroles šķīdumu.
3. Izmantojiet 75 x 10/12 mm stikla testa stobriņu. Optimāliem rezultātiem ir jādarbojas BEZ KAVĒŠANĀS līdz neitralizācijai (6. darbība), turpinot darboties pie zemāka pH pēc iespējas īsāku laiku. Papildus ieteicams darboties centrifugēšanas laikā. Pievienojiet 1 ml iepakoto eritrocītu. Pievienojiet 1 ml Elution Solution 1 (balts vāciņš). Piezīme. Ja pieejams mazāk nekā 1 ml iepakoto eritrocītu, eluātu var sagatavot, pievienojot vienādi samazinātu Elution Solution 1 apjomu. Minimāli jāizmanto 500 µl iepakotu eritrocītu; mazāks apjoms var uzrādīt nepatiesus rezultātus.
4. NEKAVĒJOTIES PĒC Elution Solution 1 PIEVIENOŠANAS sajauciet stobriņa saturu, apgrīžot to 5 reizes. NEKAVĒJOTIES CENTRIFUGĒJIET uz 1 minūti pie 1000 g vai laikā un ātrumā, kas atbilst centrifugēšanai, lai nogulsētu šūnas un to detritu.

5. TIEŠI PĀRNESIET supernatantu, izmantojot tīru (stikla) pipeti, tīrā stikla testa stobriņā (nogulsnes ir jālikvidē; šūnas vairs nevar izmantot).
6. Skābais eluāts IR JĀNEITRALIZĒ NEKAVĒJOTIES, pievienojot Neutralisation Solution 2 (melns vāciņš) pilienus, līdz zilā krāsa saglabājas pēc pilienu pievienošanas un sajaukšanas. Zilās krāsas esamība un noturība liecina, ka eluāta pH ir pielāgots vēlamajam diapazonam (6,6-7,4). Nepieciešamais Neutralisation Solution 2 apjoms ir ļoti atkarīgs no vairākiem aspektiem; galvenais aspekts ir eritrocītu hemolīzes pakāpe pirms noskalošanas vai ilgstošā laika dēļ pie zema pH noskalošanas laikā. Ja skābais eluāts ir sarkans vai brūns eritrocītu hemolīzes dēļ, pēc Neutralisation Solution 2 pievienošanas eluāts kļūst duļķains, nevis zils.
7. Centrifugējiet vismaz 1 minūti pie > 1000 g, lai noņemtu visas nogulsnes vai šūnu detritu, vai laikā un ātrumā, kas atbilst centrifugēšanai, lai nogulsnētu šūnas un to detritu.
Pārnēsiet eluātu, izmantojot tīru (stikla) pipeti, uz tīru stikla testa stobriņu.

Eluāts tagad ir gatavs antivielu testēšanai netiešā sarecēšanas metodē ar PEG. Citas antivielu testa procedūras ir jāapstiprina lietotājam. Pēdējās mazgāšanas saglabāto supernatantu izmantojiet kā kontroles šķīdumu. Ja testu nevar veikt nekavējoties, eluātu var uzglabāt temperatūrā 2-8°C, vēlams līdz 72 stundām, bet ne ilgāk kā 7 dienas. Duļķainums var norādīt uz mikrobioloģisko piesārņojumu.

Rezultātu interpretēšana

Eluāta pozitīva reakcija (piem., sarecēšana) norāda, ka eluāts satur eritrocītu antivielas (kas noskalotas no sākotnējiem eritrocītiem) pret antigēniem, kas atrodami testa eritrocītos.

Eluāta negatīva reakcija (piem., nav redzamas sarecēšanas) norāda, ka eluātā nav antivielu pret antigēniem, kas atrodami testa eritrocītos.

Ja ir aizdomas par zāļu izraisītu hemolītisko anēmiju, eluāts ir jāpārbauda pret šūnām, kas sensibilizētas ar atbilstošām zālēm.

Ierobežojumi

Saglabātā mazgātā šķīduma pozitīvā reakcija (piem., sarecēšana) var norādīt uz antivielu klātbūtni nepietiekamas mazgāšanas dēļ, kas var traucēt eluāta antivielu aktivitātei. Tāpēc noskalošanas procedūra ir jāatkārto pēc rūpīgākas šūnu mazgāšanas ar aukstu (temperatūrā 2-8°C) PBS. Tomēr saglabātā mazgātā šķīduma pozitīvā reakcija var arī norādīt uz mazas līdzības antivielu klātbūtni, kas noskalotas no šūnām mazgāšanas procedūras laikā.

Ja eluāts uzrāda negatīvu reakciju (piem., nav redzamas sarecēšanas), kamēr klīniskie dati uzrāda pārklāto antivielu klātbūtni, stingri ieteicams izmantot alternatīvu noskalošanas metodi.

No asins paraugiem, kas vecāki par 72 stundām, var iegūt mazāk iedarbīgus eluātus nekā no svaigiem paraugiem.

Ilgstoša inkubācija šķīdumā Elution Solution 1 var radīt eritrocītu hemolīzi un noskaloto antivielu dabisko īpašību maiņu.

Kļūdaini pozitīvas vai kļūdaini negatīvas reakcijas var rasties ar testa materiālu piesārņošanu vai jebkādu novirzi no testa procedūras un citām ieteicamajām metodēm, kas aprakstītas lietošanas instrukcijā.

Elution Solution 1 un Neutralisation Solution 2 maiņa rada vājas vai kļūdaini negatīvas reakcijas.

Atsauces

1. Engelfriet C.P. et al.; Immunohaematology, Sanquin Blood Supply Foundation, 2003.
2. Issit 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.

Tiek garantēts, ka Sanguin izstrādājumi darbosies atbilstoši oriģinālajās ražotāja instrukcijās aprakstītajam. Ir svarīga stingra procedūru, testa izkārtojumu ievērošana, ieteikto reaģentu un aprīkojuma izmantošana. Sanguin neuzņemas atbildību gadījumos, kad šie noteikumi netiek ievēroti.