

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 (no)

Kun til profesjonelt bruk

Sett for eluering av antistoffer fra røde blodceller



Oppbevares mørkt

Generell informasjon

PeliStrip elution kit brukes for rask syreeluering av antistoffer fra intakte røde blodceller.

For eksempel for å identifisere antistoffer hos pasienter med en positiv DAT (direkte antiglobulin test), eller for å identifisere antistoffer som er isolert fra sera eller plasma ved å dekke utvalgte røde blodceller *in vitro* med dem.

Eluatet kan testes som et serum eller plasma for å oppdage og identifisere antistoffer.

Settets deler

Elution Solution 1: to flasker (hvit kork) på 8 ml. Oppbevares ved 18-25°C.

Neutralisation Solution 2: én flaske (sort kork) på 12 ml. Denne Tris-nøytraliseringsbufferen inneholder BSA og er farget blå for pH-indikasjon og enkel gjenkjenning. Oppbevares mørkt ved 18-25°C.

Forsiktighetsregler

Bare for *in vitro* diagnostisk bruk.

Settet skal lagres ved 18-25°C. Neutralisation Solution 2 skal lagres mørkt. Langvarig lagring i lys kan føre til misfarging av

Neutralisation Solution 2. Hvis fargen på Neutralisation Solution 2 ikke er blå, må løsningen ikke brukes.

Neutralisation Solution 2 inneholder 0,1 % NaN₃ (w/v) som konserveringsmiddel. Må ikke fryses.

Selv om bovint serum albumin har blitt testet for smittsomme sykdommer og er funnet negativt, kan reagensen ikke antas å være fri for smittefarlige stoffer. Man skal være forsiktig ved bruk og avhending av hver beholder og deres innhold.

Må ikke brukes hvis løsninger er uklare, da det kan tyde på mikrobiell kontaminering.

Lekkende eller ødelagte flasker må ikke brukes.

Settet må ikke brukes etter utløpsdatoen som er trykt på etiketten.

Man skal være forsiktig ved bruk og avhending av hver beholder og deres innhold.

Avfallshåndtering, etter gjennomføring av testen, skal utføres i henhold til laboratoriets regulativer.

Prøvetakning

Blodprøver skal tas aseptisk med tilføyelse av antikoagulant, fortrinnsvis EDTA. Hvis testingen av blodprøvene blir forsinket, må prøvene lagres ved 2-8°C, helst ikke over 72 timer.

Testmetode

Sensibiliserte røde blodceller vaskes grundig med kald (2-8°C) PBS (fosfatbufret salin) for å vaske ut alle ubundne proteiner og for å minimalisere dissosiasjonen av cellebundne antistoffer.

De vaskede cellene blandes med Elution Solution 1 for å dissosiere antistoffene. Etter sentrifugeringen må eluatet nøytraliseres med Neutralisation Solution 2.

Testprosedyre

Nødvendige materialer som ikke er levert:

- Nødvendige rør: glassrør med rund bunn; størrelse 75 x 10/12 mm.
- Kald (2-8°C) PBS.

1. Sentrifuger prøven og fjern mest mulig gjenværende væske over bunnfallet.
2. Vask minst 1 ml med pakkelede sensibiliserte røde blodceller 5 ganger i kald (2-8°C) PBS for å fjerne eventuelle ubundne antistoffer. Alikvoten bør være tilstrekkelig til å gi 1 ml pakkelede celler når vaskingen er fullført. Det siste sentrifugeringstrinnet skal ha en hastighet og varighet som resulterer i pakkelede celler, f.eks. 5 minutter ved 3000 g eller i henhold til protokollen ved ditt laboratorium.
Gjem en del av den siste vaskeløsningen for å ha en kontroll.
3. Bruk et 75 x 10/12 mm reagensglass.
For å oppnå optimale resultater er det nødvendig å arbeide UAVBRUTT inntil nøytralisering (trinn 6), for å arbeide kortest mulig tid med lav pH-verdi. Dessuten anbefales det å arbeide ved siden av sentrifugen.
Tilsett 1 ml av pakkelede røde blodceller.
Tilsett 1 ml av Elution Solution 1 (hvit kork).
Merk: hvis det er mindre enn 1 ml av pakkelede røde blodceller tilgjengelig, kan eluatet prepareres ved å tilsette et tilsvarende redusert volum av Elution Solution 1. Det må brukes minimum 500 µl pakkelede røde celler, og et lavere volum kan føre til feil resultater.

4. UMIDDELBART ETTER TILSETTING AV Elution Solution 1 blandes rørets innhold forsiktig ved å vende det 5 ganger. SENTRIFUGER UMIDDELBART i 1 minutt ved 1000 g, eller i en tid og hastighet som er nødvendig for å sentrifugere og pelletere cellene og cellerestene.
5. OVERFØR UMIDDELBART den gjenværende væsken til et rent reagensglass ved å bruke en ren pipette (av glass) (pelleten skal kastes, cellene kan ikke brukes lenger).
6. Syreeluatet MÅ NØYTRALISERES UMIDDELBART ved å tilsette Neutralisation Solution 2 (sort kork) dråpevis inntil den blå fargen vedvarer etter at dråpen er tilsatt og blandet. Den blå fargens utseende og varighet indikerer at eluatets pH-verdi er justert til ønsket område (6,6-7,4). Nødvendig volum av Neutralisation Solution 2 kan variere avhengig av flere faktorer; den viktigste faktoren er graden av hemolyse av de røde blodcellene før eluering eller på grunn av en lang periode med lav pH-verdi under eluering. Hvis syreeluatet farges rødt eller brunt på grunn av hemolyse av de røde blodcellene, vil eluatet bli uklart i stedet for blått ved tilsetting av Neutralisation Solution 2.
7. Sentrifuger i minst 1 minutt ved > 1000 g for å fjerne eventuell utfellingsprodukt eller cellerester i en tid og hastighet som er nødvendig for å pelletere eventuelt utfellingsprodukt og cellerester. Overfør eluatet til et rent reagensglass ved å bruke en ren pipette (av glass).

Eluatet er nå klart til antistofftesting i indirekte agglutinasjonsteknikk med PEG. Alternative prosedyrer for antistofftesting skal valideres av brukeren.

Bruk den gjemte delen fra den siste vaskingen til kontroll. Hvis testingen ikke kan utføres umiddelbart, kan eluatet lagres ved 2-8°C, helst ikke lenger enn 72 timer, men maksimalt 7 dager. Uklarhet kan tyde på mikrobiell kontaminering.

Tolkning av resultatene

En positiv reaksjon (f.eks. agglutinasjon) av eluatet indikerer at eluatet inneholder røde celleantistoffer (eluert fra de opprinnelige, røde blodcellene) mot antigenene som befinner seg på testens røde celler.

En negativ reaksjon (f.eks. ingen synlig agglutinasjon) av eluatet indikerer at eluatet ikke inneholder antistoffer mot antigenene som befinner seg på testens røde celler.

Hvis det er mistanke om hemolytisk anemi på grunn av legemiddel, skal eluatet testes mot celler som er sensibilisert med det aktuelle legemiddelet.

Begrensninger

En positiv reaksjon (f.eks. agglutinasjon) av den gjemte vaskeløsningen kan tyde på tilstedeværelse av antistoffer på grunn av utilstrekkelig vasking, som kan forstyrre aktiviteten av antistoffer i eluatet. Derfor må elueringsprosedyren gjentas etter grundigere vasking av cellene med kald (2-8°C) PBS. Imidlertid kan en positiv reaksjon av den gjemte vaskeløsningen også tyde på tilstedeværelse av antistoffer med lav affinitet som er eluert fra cellene under vaskeprosedyren.

Hvis eluatet viser en negativ reaksjon (f.eks. ingen synlig agglutinasjon) mens de kliniske dataene indikerer tilstedeværelse av belagte antistoffer, anbefales det på det sterkeste å bruke en alternativ elueringsmetode.

Blodprøver som er eldre enn 72 timer kan føre til mindre potent eluat enn fra ferske prøver.

Langvarig inkubasjon i Elution Solution 1 kan føre til hemolyse av de røde cellene og denaturering av eluerte antistoffer.

Falske positive eller falske negative reaksjoner kan forekomme på grunn av kontaminering av testmaterialene eller ethvert avvik fra testprosedyrene og andre anbefalte teknikker som beskrives i Brukerveiledningen.

Bytting av Elution Solution 1 og Neutralisation Solution 2 vil føre til svake eller falske negative reaksjoner.

Referanser

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 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.