

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 (pl)

*Wyłącznie do użytku
profesjonalnego*

Zestaw do elucji przeciwciał z krwinek czerwonych



Przechowywać w ciemnym miejscu

Informacje ogólne

Zestaw PeliStrip elution kit jest przeznaczony do szybkiej kwaśnej elucji przeciwciał z nienaruszonych krwinek czerwonych. Przykładowo może służyć do identyfikacji przeciwciał u pacjentów, u których wystąpił pozytywny wynik BTA (bezpośredniego testu antyglobulinowego) lub identyfikacji przeciwciał wyizolowanych z surowicy lub osocza krwi poprzez opłaszczanie nimi *in vitro* wybranych krwinek czerwonych.

Aby wykryć i zidentyfikować przeciwciała eluat może być badany w formie surowicy lub osocza.

Elementy zestawu

Roztwór Elution Solution 1: dwie fiołki (biała nakrętka) o pojemności 8 ml. Przechowywać w temperaturze 18-25°C.

Roztwór Neutralisation Solution 2: jedna fiołka (czarna nakrętka) o pojemności 12 ml. Bufor neutralizujący Tris zawierający albuminę surowicy krwi wołowej o niebieskim zabarwieniu wskazującym na pH i umożliwiającym łatwe rozpoznanie. Przechowywać w ciemnym miejscu w temperaturze 18-25°C.

Środki ostrożności

Stosować jedynie w diagnostyce *in vitro*.

Zestaw należy przechowywać w temperaturze 18-25°C. Roztwór Neutralisation Solution 2 należy przechowywać w ciemnym miejscu. Długotrwała ekspozycja na światło słoneczne może spowodować przebarwienie roztworu Neutralisation Solution 2. Jeżeli kolor roztworu Neutralisation Solution 2 zmienia się z niebieskiego na inny, nie należy go używać.

Roztwór Neutralisation Solution 2 zawiera 0,1% NaN₃ (stężenie wagowe) użytego jako środek konserwujący. Nie zamrażać.

Chociaż albumina surowicy krwi wołowej została przebadana w kierunku chorób zakaźnych, a wyniki tych badań są ujemne, odczynnik jest potencjalnie zakaźny. Należy zachować szczególną ostrożność podczas stosowania produktu i usuwania jego pozostałości oraz opakowań po nim.

Nie stosować produktu, jeżeli jest mętny. Zmętnienie roztworu może wskazywać na skażenie bakteryjne.

Nie wolno używać fiołek uszkodzonych ani przeciekających.

Nie wolno używać zestawu po upływie terminu ważności, który jest wydrukowany na etykiecie.

Należy zachować szczególną ostrożność podczas stosowania produktu i usuwania jego pozostałości oraz opakowań po nim.

Po zakończeniu testu wszelkie pozostałości niewykorzystanego produktu należy usunąć w sposób zgodny z przepisami laboratorium, w którym test przeprowadzono.

Pobieranie materiału

Próbki krwi powinny być pobierane w sposób aseptyczny z dodatkiem antykoagulantów, najlepiej EDTA. Jeżeli badanie próbek krwi zostanie wykonane z opóźnieniem, próbki należy przechowywać w temperaturze 2-8°C, najlepiej nie dłużej niż przez 72 godziny.

Metoda testu

Uczulone krwinki czerwone są dokładnie przepłukiwane zimnym (2-8°C) buforowanym fizjologicznym roztworem soli (PBS), aby wypłukać z nich wszystkie niezwiązane białka i zminimalizować oddzielanie się przeciwciał związanych na powierzchni krwinek.

Przepłukane krwinki są mieszane z roztworem Elution Solution 1, aby oddzielić przeciwciała. Po odwirowaniu eluat należy zneutralizować roztworem Neutralisation Solution 2.

Procedura testu

Materiały wymagane, lecz niedostarczane:

- *Wymagania dotyczące próbek: próbki szklane o okrągłym dnie; rozmiar 75 x 10/12 mm.*
- *Zimny (2-8°C) PBS.*

1. Odwirować próbkę i zlać jak najwięcej supernatantu.
2. Przepłukać 5 razy co najmniej 1 ml koncentratu uczulonych krwinek czerwonych zimnym (2-8°C) PBS, aby usunąć wszystkie niezwiązane przeciwciała. Porcje roztworu powinny być wystarczające, aby po zakończeniu płukania pozwolić uzyskać 1 ml koncentratu krwinek. Prędkość i czas ostatniego wirowania należy ustawić tak, uzyskać koncentrat krwinek, np. 5 minut dla 3000 g lub zgodnie z protokołem laboratorium, w którym jest przeprowadzany test.
Zachowaj część ostatniego roztworu do płukania jako roztwór kontrolny.
3. Użyj szklanej próbki testowej o rozmiarze 75 x 10/12 mm.
Aby uzyskać optymalne wyniki konieczne jest wykonanie testu BEZ OPÓŹNIENIA aż do momentu neutralizacji (krok 6), maksymalnie ograniczając czas pracy przy niskim pH. Ponadto zaleca się pracę bezpośrednio przy wirówce.
Dodaj 1 ml koncentratu czerwonych krwinek.

Dodaj 1 ml roztworu Elution Solution 1 (biała nakrętka).

Uwaga: jeżeli dostępna objętość koncentratu czerwonych krwinek jest mniejsza niż 1 ml, eluat można przygotować, dodając roztwór Elution Solution 1 o odpowiednio mniejszej objętości. Należy użyć minimum 500 µl koncentratu czerwonych krwinek. Zastosowanie mniejszej objętości może prowadzić do błędnych wyników.

4. **BEZPOŚREDNIO PO DODANIU** roztworu Elution Solution 1 delikatnie zamieszaj probówkę, odwracając ją pięciokrotnie. Wiruj natychmiast przez 1 minutę dla 1000 g lub przez odpowiedni czas i z odpowiednią prędkością dla wirówki, aby utworzyć osad z krwinek i martwych komórek i ich fragmentów.
5. **PRZENIEŚ** supernatant **BEZPOŚREDNIO** za pomocą czystej (szklanej) pipety do czystej szklanej próbki testowej (należy odrzucić osad, te komórki nie dają się już do użycia).
6. Kwaśny eluat **NALEŻY NATYCHMIAST ZNEUTRALIZOWAĆ**, dodając po kropli roztworu Neutralisation Solution 2 (czarna nakrętka) aż do momentu, gdy po dodaniu roztworu kolor eluatu pozostanie niebieski i wymieszać. Widoczne trwale niebieskie zabarwienia wskazuje, że pH eluatu znajduje się w pożądanym zakresie (6,6-7,4). Wymagana objętość roztworu Neutralisation Solution 2 może się różnić w zależności od kilku czynników; najważniejszym z nich jest stopień hemolizy czerwonych krwinek przed elucją lub w wyniku wydłużonego czasu przy niskim pH podczas elucji. Jeżeli eluat jest zabarwiony na czerwono lub brązowo w wyniku hemolizy krwinek czerwonych, po dodaniu roztworu Neutralisation Solution stanie się mętny zamiast niebieski.
7. Wiruj przynajmniej przez 1 minutę dla masy > 1000 g, aby usunąć opad lub martwe komórki i ich fragmenty lub przez odpowiedni czas i z odpowiednią prędkością dla danej wirówki, aby utworzyć osad z opadu i martwych komórek i ich fragmentów. Przenieś eluat za pomocą czystej (szklanej) pipety do czystej szklanej próbki testowej.

Eluat jest już gotowy do badania pod kątem obecności przeciwciał za pomocą pośredniej techniki aglutynacji z PEG. Alternatywne procedury badania przeciwciał powinny zostać zatwierdzone przez użytkownika.

Użyj zachowanego supernatantu z ostatniego płukania do kontroli. Jeżeli badanie nie może zostać przeprowadzone od razu, eluat można przechowywać w temperaturze 2-8°C najlepiej do 72 godzin, ale nie dłużej niż przez 7 dni. Zmętnienie może wskazywać na skażenie bakteryjne.

Interpretacja wyników

Wynik dodatni (tj. aglutynacja) eluatu wskazuje na występowanie w eluacie przeciwciał czerwonych krwinek (wyplukanych z krwinek czerwonych) skierowanych przeciwko antygenom obecnym na badanych krwinkach czerwonych.

Wynik negatywny (tj. brak widocznej aglutynacji) eluatu wskazuje na brak w eluacie przeciwciał czerwonych krwinek (wyplukanych z krwinek czerwonych) skierowanych przeciwko antygenom obecnym na badanych krwinkach czerwonych.

W przypadku podejrzenia niedokrwistości hemolitycznej wywołanej lekami eluat należy zbadać pod kątem występowania komórek uczulonych na dany lek.

Ograniczenia

Wynik dodatni (tj. aglutynacja) dla zachowanego roztworu do płukania wskazuje na obecność przeciwciał, wynikającą z niedostatecznego płukania, co może zakłócać aktywność przeciwciał w eluacie. Z tego względu należy powtórzyć elucję po dokładniejszym płukaniu krwinek zimnym (2-8°C) PBS. Wynik dodatni może jednak wskazywać także na niskie powinowactwo przeciwciał wyplukanych z komórek podczas płukania.

Jeżeli wynik dla eluatu jest ujemny (tj. brak widocznej aglutynacji) a dane kliniczne wskazują na obecność opłaszczonych przeciwciał, zaleca się zastosowanie alternatywnej metody elucji.

Próbki krwi starsze niż 72 godziny mogą skutkować słabszymi eluatami niż te ze świeżo pobranych próbek.

Wydłużona inkubacja roztworu Elution Solution 1 może powodować hemolizę czerwonych krwinek i denaturację wymytych przeciwciał. Wyniki fałszywie dodatnie lub fałszywie ujemne mogą mieć miejsce w rezultacie skażenia badanych materiałów lub innych odchyień od procedury testu i innych zalecanych technik opisanych w Instrukcji użytkownika.

Wymiana roztworów Elution Solution 1 i Neutralisation Solution 2 spowoduje słabo lub fałszywie negatywne wyniki.

Literatura

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. Blackwell, Oxford. 1993.
4. Rekvig O.P., Hannestad K., Vox Sang. 33: 280-285, 1977.
5. Leger R.M. et al.; Transfusion 38:565-572, 1998.

Gwarantujemy działanie produktów Sanquin w sposób opisany w oryginalnej instrukcji obsługi dostarczonej przez producenta. Istotne znaczenie ma ściśle przestrzeganie procedur, układów testowych i używanie zalecanych odczynników oraz sprzętu. Fundacja Sanquin nie przyjmuje żadnej odpowiedzialności za jakiegokolwiek odchylenia od powyższych wymagań.