

# 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 (sv)

*Endast för professionellt bruk*

Sats för eluering av antikroppar från röda blodkroppar



Förvaras mörkt

## Allmän information

PeliStrip elution kit används för snabb syraeluering av antikroppar från intakta röda blodkroppar.

Det kan exempelvis användas för att identifiera antikropparna hos patienter med ett positivt DAT-test (direkt antiglobulin) eller för att identifiera antikroppar som har isolerats från serum eller plasma genom att täcka dem *in vitro* på utvalda röda blodkroppar.

Eluatet kan testas som serum eller plasma för att detektera och identifiera antikropparna.

## Satsens delar

**Elution Solution 1: två kärl (vitt lock) à 8 ml.**Förvaras vid 18-25°C.

**Neutralisation Solution 2: ett kärl (svart lock) à 12 ml.** Denna Tris-neutraliseringsbuffert innehåller BSA och är blåfärgad för pH-indikering och enkel identifiering. Förvaras vid 18-25°C, mörkt.

## Försiktighetsåtgärder

Enbart för diagnoser *in vitro*.

Satsen ska förvaras vid mellan 18-25°C. Neutralisation Solution 2 ska förvaras mörkt. Längre tids förvaring i ljus kan leda till missfärgning av Neutralisation Solution 2. Om färgen på Neutralisation Solution 2 inte är blå bör lösningen inte användas.

Neutralisation Solution 2 innehåller 0,1 % NaN<sub>3</sub> (vikt/volym) som konserveringsmedel. Får ej frysas.

Även om det bovina serumalbuminet har testats för infektionssjukdomar och konstaterats negativt kan reagensen inte förutsättas vara fri från smittsamma ämnen. Försiktighet måste iaktas vid användning och kassering av varje behållare och dess innehåll.

Får ej användas om lösningarna är grumliga, vilket kan indikera mikrobiell kontaminering.

Läckande eller skadade kärl får inte användas.

Satsen bör inte användas efter det sista förbrukningsdatum som finns tryckt på etiketten.

Försiktighet måste iaktas vid användning och kassering av varje behållare och dess innehåll.

Kassering av avfall efter genomfört test ska ske i enlighet med de föreskrifter som gäller för det aktuella laboratoriet.

## Provtagning

Blodproverna ska tas aseptiskt med tillsättning av antikoagulanter, företrädesvis EDTA. Om test av blodproverna fördröjs måste proven förvaras vid 2-8°C, helst inte under längre tid än 72 timmar.

## Testmetod

Sensibiliserade röda blodkroppar tvättas noggrant med en kall (2-8°C) PBS (fosfatbuffrad saltlösning) för att skölja bort alla obundna proteiner och minimera dissociering av de cellbundna antikropparna.

De tvättade cellerna blandas med Elution Solution 1 för att dissociera antikropparna. Efter centrifugeringen måste eluatet neutraliseras med Neutralisation Solution 2.

## Testutförande

Materiel som krävs, men som inte medföljer:

- *Krav på provrör: glasrör med rund botten, storlek 75 × 10/12 mm.*
- *Kall (2-8°C) PBS.*

1. Centrifugera provet och ta bort så mycket supernatant som möjligt.
2. Tvätta minst 1 ml packade sensibiliserade röda blodkroppar 5 gånger i kall (2-8°C) PBS för att avlägsna eventuell obunden antikropp. Dellösningen ska vara tillräcklig för att ge 1 ml packade celler när tvättningen är klar. Det sista centrifugeringssteget ska utföras i en hastighet och under ett tidsintervall som ger packade celler, t.ex. 5 minuter vid 3000 g eller enligt laboratoriets rutiner.  
Spara en del av den sista tvättlösningen som kontroll.
3. Använd ett provrör i glas, 75 × 10/12 mm.  
För bästa möjliga resultat är det nödvändigt att arbeta UTAN DRÖJSMÅL fram till neutraliseringen (steg 6), och hålla tiden för arbete vid lågt pH-värde så kort som möjligt. Dessutom bör man arbeta nära centrifugen.  
Tillsätt 1 ml av de packade röda blodkropparna.  
Tillsätt 1 ml Elution Solution 1 (vitt lock).  
Obs! Om det finns mindre än 1 ml packade röda blodkroppar tillgängligt kan eluatet prepareras genom tillsättning av en likaledes minskad volym Elution Solution 1. Minst 500 µL packade röda blodkroppar ska användas. En lägre volym kan ge missvisande resultat.

4. OMEDELBART EFTER TILLSÄTTNING AV Elution Solution 1 ska röret blandas försiktigt genom att man vänder det upp och ned 5 gånger.  
Centrifugera OMEDELBART under 1 minut vid 1000 g eller under en tid och vid en hastighet som är lämplig för centrifugen för att pelletera cellerna och cellrestmaterialet.
5. ÖVERFÖR DIREKT supernatanten med hjälp av en ren (glas)pipett till ett rent glasprovör (pelleten ska kasseras; cellerna kan inte användas längre).
6. Syraeluatet MÅSTE NEUTRALISERAS OMEDELBART genom tillsättning av Neutralisation Solution 2 (svart lock) droppvis tills den blå färgen blir kvar efter tillsättning och utblandning av droppen. Utseendet och beständigheten hos den blå färgen indikerar att pH-värdet hos eluatet har justerats till det önskade intervallet (6,6–7,4). Den volym Neutralisation Solution 2 som krävs kan variera beroende på flera faktorer. Den viktigaste är graden av hemolys hos de röda blodkropparna före eluering eller på grund av lång tid vid lågt pH under eluering. Om syraeluatet färgas rött eller brunt på grund av hemolys av de röda blodkropparna blir eluatet grumligt i stället för blått vid tillsättning av Neutralisation Solution 2.
7. Centrifugera i minst 1 minut vid > 1000 g för att avlägsna eventuell pellet eller restmaterial eller under en tid och vid en hastighet som är lämplig för att centrifugen ska pelletera eventuell utfällning och eventuellt restmaterial.  
Överför eluatet till ett rent glasprovör med hjälp av en ren (glas)pipett.

Eluatet är nu redo för antikroppstestet med indirekt agglutinerings teknik med PEG. Alternativa procedurer för antikroppstestning ska valideras av användaren.

Använd den sparade supernatanten från den sista tvättningen som kontroll. Om testet inte kan genomföras omedelbart kan eluatet förvaras vid 2-8°C helst i upp till 72 timmar, men inte under längre tid än 7 dagar. Grumlighet kan indikera mikrobiell kontaminering.

#### Tolkning av resultaten

En positiv reaktion (t.ex. agglutinerings) av eluatet indikerar att eluatet innehåller antikroppar mot röda blodkroppar (eluerat från de ursprungliga röda blodkropparna) mot de antigener som finns på de testade röda blodkropparna.

En negativ reaktion (t.ex. ingen synlig agglutinerings) av eluatet indikerar att eluatet inte innehåller antikroppar mot de antigener som finns på de testade röda blodkropparna. Vid misstanke om läkemedelsinducerad hemolytisk anemi bör eluatet testas mot celler som sensibiliserats med läkemedlet i fråga.

#### Begränsningar

En positiv reaktion (t.ex. agglutinerings) av den sparade tvättlösningen kan indikera närvaro av antikroppar på grund av otillräcklig tvättning, vilket kan interferera med eluatets antikropsaktivitet. Därför bör elueringsproceduren upprepas efter mer noggrann tvätt av cellerna med kall (2-8°C) PBS. En positiv reaktion hos den sparade tvättlösningen kan dock även indikera närvaro av lågaffinitetsantikroppar som eluerats från cellerna under tvättproceduren.

Om eluatet visar en negativ reaktion (t.ex. ingen synlig agglutinerings) medan kliniska data indikerar närvaron av täckta antikroppar, rekommenderas starkt användning av en alternativ elueringsmetod.

Blodprov som är äldre än 72 timmar kan ge mindre potenta eluat än sådana som kommer från färsk prov. Örlängd inkubation i Elution Solution 1 kan orsaka hemolys av de röda blodkropparna och denaturering av de eluerade antikropparna.

Falska positiva eller negativa resultat kan uppstå om vid kontaminering av testmaterialen eller eventuell avvikelse från testproceduren och andra rekommenderade tekniker som beskrivs i användningsanvisningarna. Om Elution Solution 1 byts ut mot Neutralisation Solution 2 kommer öljden att bli svaga eller alska negativa reaktioner.

#### Referenser

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, 9<sup>th</sup> 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.

*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.*