

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

Pelikloon anti-D mix (IgG/IgM) monoclonal

REF K1157

IVD CE 0344

006_v02 01/2017 (de)

*Nur für den professionellen
Gebrauch*

Reagenz zur Bestimmung des Blutgruppenantigens D auf menschlichen Erythrozyten

Allgemeine Informationen

Pelikloon anti-D mix (IgG/IgM) monoclonal Reagenz zur Blutgruppenbestimmung (die Kennnummern der Klone sind auf dem entsprechenden Zertifikat des Analyse-/Freigabedokuments aufgeführt) wird aus Kulturüberständen stabiler Hybridomzelllinien gewonnen, wie von Köhler und Milstein erstmals beschrieben (Nature 1975). Diese monoklonale Reagenz enthält menschliche IgG/IgM-Antikörper und wurde als zuverlässige Alternative zu polyklonalen Reagenzien ausgewählt und entwickelt. Diese Reagenz erfüllt die Anforderungen der geltenden Standards und Richtlinien. Die Leistungskennzeichen sind in den Freigabedokumenten aufgeführt, die auf Wunsch mit dem Produkt mitgeliefert werden. Der Test verwendet die Agglutinationstechnik, die auf der Reaktion zwischen Antigen und Antikörper beruht. Die Reagenz eignet sich für Testverfahren im Zentrifugenröhrchen, auf Mikrotiterplatten oder auf Objektträgern. Diese Reagenz weist alle normalen D-Antigene und die meisten schwachen D-Antigene nach. Die D-Variante, Kategorie VI, kann nur im Zentrifugenröhrchenverfahren nach Zugabe von polyspezifischem Anti-Humanserum nachgewiesen werden. Die Sensitivität des Objektträgerverfahrens ist geringer als die Sensitivität des Verfahrens im Zentrifugenröhrchen und auf Mikrotiterplatten. Manche Proben, die schwach positiv für das D-Antigen sind, ergeben daher nur bei Durchführung des Verfahrens im Zentrifugenröhrchen oder auf Mikrotiterplatten ein positives Ergebnis für Rhesus D. Jede Testreihe der Blutgruppenbestimmungen sollte positive und negative Kontrollen enthalten.

Vorsichtsmaßnahmen

Nur zum Gebrauch für die in vitro Diagnostik. Reagenzien sollten bei 2-8 °C aufbewahrt werden. Undichte oder beschädigte Fläschchen dürfen nicht verwendet werden. Reagenzien (sei es ungeöffnet oder geöffnet) sollten nur bis zu dem auf dem Etikett aufgedruckten Verfallsdatum verwendet werden. Als Konservierungsmittel wird 0,1% NaN₃ (w/v) verwendet. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Reagenz infektiöse Erreger enthält. Bei der Verwendung und Entsorgung der Behälter und deren Inhalt sind entsprechende Vorsichtsmaßnahmen zu beachten. Trübung könnte ein Zeichen für mikrobielle Kontamination sein. Um den Zustand der Reagenz zu beurteilen, wird empfohlen, die Reagenz im Rahmen der Routinemaßnahmen zur Gewährleistung der Qualität der Labortests mit geeigneten Kontrollen zu testen. Nach Abschluss des Tests sollte der Abfall entsprechend den örtlichen Regelungen entsorgt werden.

Entnahme und Vorbereitung der Proben

Blutproben aseptisch und mit oder ohne Zugabe von Antikoagulantien abnehmen. Werden die Blutproben nicht sofort getestet, sollten sie bis zur Durchführung des Tests bei 2-8 °C aufbewahrt werden.

Wie die Proben vorbereitet werden müssen, ist in den jeweiligen Testverfahren beschrieben.

Testverfahren

Zentrifugenröhrchenverfahren

Erforderliche Zentrifugenröhrchen: Glasröhrchen mit U-förmigem Boden der Größe 75 x 10/12 mm.

1. Von den zu testenden Erythrozyten eine 3-5%ige Suspension in isotoner Kochsalzlösung oder im eigenen Plasma oder Serum herstellen.
2. In jeweils ein Teströhrchen folgende Reagenzien geben:
 - 1 Tropfen Pelikloon Reagenz
 - 1 Tropfen der 3-5%igen ZellsuspensionGründlich mischen.
3. 20 Sekunden bei 1000 rcf oder je nach Kalibrierung der Zentrifuge zentrifugieren.
4. Die Zellen durch vorsichtiges Schütteln resuspendieren und makroskopisch auf Agglutination untersuchen.

Ist keine Agglutination sichtbar, ist folgenderweise vorzugehen:

5. Gut mischen und die Röhrchen bei 37 °C in einem Wasserbad für 15-20 Minuten inkubieren.
6. Die Zellen einmal mit einem Überschuss an isotoner Kochsalzlösung waschen. Überstand vollständig abgießen (ein einziger Waschschrift ist ausreichend; im Gegensatz zu anderen üblichen Tests ist ein drei- bis viermaliges Waschen nicht mit Nachteilen verbunden).
7. 2 Tropfen polyspezifisches Anti-Humanserum zugeben und gut mischen.
8. 20 Sekunden bei 1000 rcf oder je nach Kalibrierung der Zentrifuge zentrifugieren.
9. Die Zellen durch vorsichtiges Schütteln resuspendieren und makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
10. Ist keine sichtbare Agglutination vorhanden, 1 Tropfen Coombs Kontrollzellen zugeben und die Schritte 8 und 9 wiederholen; die Reaktion sollte nun positiv sein. Bleibt der Test negativ, ist das Ergebnis ungültig und der Test muss wiederholt werden.

Mikrotiterplattenverfahren

Erforderliche Mikrotiterplatten: Mikrotiterplatten aus Polystyren mit U-förmigem Boden.

1. Von jeder zu testenden Blutprobe eine 2-3%ige Suspension der Erythrozyten in isotoner Kochsalzlösung oder im eigenen Plasma oder Serum herstellen.
2. In jeweils eine Vertiefung folgende Reagenzien geben:
 - 1 Tropfen Pelikloon Reagenz
 - 1 Tropfen der 2-3%igen Zellsuspension

3. Den Inhalt 5 Sekunden lang mit Hilfe eines Rotationsschüttlers bei 600-700 rpm gründlich mischen.
4. 10-15 Minuten bei Raumtemperatur (18-25 °C) ohne Schütteln inkubieren.
5. 10-20 Sekunden bei 700 rcf oder je nach Kalibrierung der Zentrifuge zentrifugieren.
6. Die Mikrotiterplatte nochmals 1-4 Minuten lang auf dem Rotationsschüttler bei 600-700 rpm schütteln, oder so lange, bis die Zellen in der Vertiefung mit der Negativkontrolle vollständig resuspendiert sind.
7. Die Mikrotiterplatte 1 Minute stehen lassen, damit sich kleinere Agglutinate absetzen können.
8. Die Reaktionen können nun entweder makroskopisch oder mit einem automatischen Analysegerät ausgewertet werden.

Objektträgerverfahren

1. 1 Tropfen der Pelikloon Reagenz auf einen sauberen, warmen (37-45 °C) Objektträger aus Glas geben, der sich auf einem Leuchtkasten befindet.
2. 2 Tropfen einer 35-45%igen Lösung der zu testenden Erythrozyten in isotoner Kochsalzlösung oder im eigenen Plasma oder Serum zugeben.
3. Mit einem Applikatorstäbchen innerhalb eines kreisförmigen Bereichs von ca. 20 mm Durchmesser gründlich mischen.
4. Den Objektträger langsam hin und her bewegen; nicht länger als 2 Minuten auf eventuell auftretende Agglutinationen warten.
5. Makroskopisch hinsichtlich einer Agglutination auswerten.

Auswertung

Eine positive Reaktion (d.h. eine Agglutination) zeigt das Vorhandensein des Rh D-Antigens an. Eine positive Reaktion, die bei Anwendung anderer Techniken entweder schwach oder negativ ist, zeigt das Vorhandensein eines schwachen oder partiellen D-Antigens an und es werden weitere Untersuchungen empfohlen, um den Rh-D-Status zu klären. Eine negative Reaktion (d.h. keine sichtbare Agglutination) zeigt das Nichtvorhandensein des Rh D-Antigens an.

Auftreten	Kaukasier	Schwarze
D-Antigen	85%	92%

Einschränkungen

Unerwartet positive Ergebnisse durch: Pseudoagglutination, Autoagglutination, Vermischung der Felder, gemeinsame Verwendung von Wharton-Sulze und Nabelschnurzellen.

Unerwartet negative oder schwache Ergebnisse durch: Schwache Antigene, Vermischung der Felder, verringerte Aktivität der Reagenz.

Falsch positive bzw. falsch negative Ergebnisse können die Folge einer Verunreinigung von Testmaterialien oder einer etwaigen Abweichung von der empfohlenen Technik sein.

Erythrozyten, die im direkten Antiglobulintest (DAT) ein positives Ergebnis liefern, können zu falsch positiven Testergebnissen führen. Zum Nachweis solcher ungültigen Testergebnisse wird die Verwendung der Pelikloon Kontrolle Monoklonal empfohlen.

Ungenügendes Waschen der Erythrozyten kann zu falsch negativen Ergebnissen führen, was auf eine Neutralisation des polyspezifischen Anti-Humanserums durch Proteine (IgG) zurückzuführen ist, die sich noch im Röhrchen befinden.

Die Pelikloon monoklonalen Reagenzien zur Blutgruppenbestimmung wurden für die in dieser Packungsbeilage empfohlenen Techniken optimiert. Sofern nicht anders angegeben, muss die Eignung des Produktes für andere Techniken vom Benutzer selbst ermittelt werden.

Literatur

1. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6th ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
2. Issitt P.D.; Applied Blood Group Serology, 3rd ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985.
3. Daniels G.; Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd. 1995.
4. Reid M.E. and Lomas-Francis C.; The Blood Group Antigen Facts Book. Facts Book Series, 1997.
5. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion In Clinical Medicine, 9th ed. Blackwell, Oxford, 1993.

Sanquin garantiert, dass die Funktionsweise seiner Produkte der Beschreibung in der Originalgebrauchsanweisung des Herstellers entspricht. Die strikte Einhaltung der Verfahren und Testanordnungen sowie die Verwendung der empfohlenen Reagenzien und Gerätschaften ist unerlässlich. Falls der Anwender von diesen Maßgaben abweicht, lehnt Sanquin jegliche Verantwortung ab.