

# 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 enhanced (IgM) monoclonal**

**REF K1151**

**IVD CE 0344**

007\_v02 01/2017 (de)

*Ausschließlich für berufliche Zwecke*

Reagenz zur Bestimmung des Blutgruppenantigens D auf menschlichen Erythrozyten

## Allgemeine Informationen

Pelikloon anti-D enhanced (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 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 kann für Testverfahren im Zentrifugenröhrchen oder in Mikrotiterplatten verwendet werden und weist alle D-Antigene und die meisten D-Varianten der Kategorie VI sowie schwache D-Antigene nach. 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% NaN<sub>3</sub> (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 .
2. In jeweils ein Teströhrchen folgende Reagenzien geben:
  - 1 Tropfen Pelikloon Reagenz
  - 1 Tropfen der 3-5%igen Zellsuspensionden Inhalt gut 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.

### 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 .
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.

## 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**  
D-Antigen

**Kaukasier**  
85%

**Schwarze**  
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 control monoclonal empfohlen.

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, 6<sup>th</sup> ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
2. Issit P.D.; Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> 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, 9<sup>th</sup> ed. Blackwell, Oxford, 1993.
6. Engelfriet C.P. et al.; Immunohaematology. Sanquin Blood Supply Foundation, 2003.

*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.*