

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-A (IgM) monoclonal	REF K 1188	IVD CE 0344
Pelikloon anti-B (IgM) monoclonal	REF K 1189	IVD CE 0344
Pelikloon anti-A,B (IgM) monoclonal	REF K 1190	IVD CE 0344
001_v04 07/2019 (de)	<i>Ausschließlich für berufliche Zwecke</i>	

Reagenzien zur Bestimmung der Blutgruppenantigene A und/oder B auf menschlichen Erythrozyten

Allgemeine Informationen

Pelikloon anti-A, anti-B, und anti-A,B (IgM) monoklonale Reagenzien zur Blutgruppenbestimmung (die Kennnummern der Klone sind auf dem entsprechenden Zertifikat des Analyse-/Freigabedokuments aufgeführt) werden aus Kulturüberständen stabiler Zelllinien gewonnen, wie von Köhler und Milstein erstmals beschrieben (Nature 1975). Diese monoklonalen Reagenzien enthalten IgM-Antikörper der Maus und wurden als zuverlässige Alternative zu polyklonalen Reagenzien ausgewählt und entwickelt. Diese Reagenzien erfüllen 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 Reagenzien eignen sich für Testverfahren im Röhrchen oder auf Mikrotiterplatten. Sie sind ferner für automatisierte Testsysteme geeignet und sollten vom Anwender standardisiert und validiert werden. Jede Testreihe der Blutgruppenbestimmungen sollte positive und negative Kontrollen enthalten. Das Blut des Patienten sollte nicht nur auf Vorhandensein der Blutgruppen ABO auf den Erythrozyten, sondern unter Verwendung der A(1)- und B-Erythrozytenreagenz (siehe entsprechende Packungsbeilagen) auch auf Vorhandensein von korrespondierenden Anti-A und/oder Anti-B-Alloantikörpern untersucht werden.

Vorsichtsmaßnahmen

Nur zum Gebrauch für die *in vitro* Diagnostik. Die Reagenzien sollten bei einer Temperatur von 2–8°C aufbewahrt werden. Undichte oder beschädigte Behälter dürfen nicht verwendet werden. Die Reagenzien (sei es ungeöffnet oder geöffnet) sollten nur bis zu dem auf dem Etikett aufgedruckten Verfallsdatum verwendet werden. Die Reagenzien enthalten 0,1% NaN₃ (w/v) als Konservierungsmittel. Zur einfachen Erkennung wurde den Anti-A- und Anti-B-Reagenzien ein Farbstoff zugesetzt. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Reagenzien infektiöse Erreger enthalten. 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 Reagenzien zu beurteilen, wird empfohlen, die Reagenzien 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.

Gewinnung und Vorbereitung der Proben

Blutproben aseptisch und mit oder ohne Zugabe von Antikoagulantien abnehmen. Werden die Proben 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 jeder zu testenden Blutprobe eine 3–5%ige Suspension der Erythrozyten 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 Zellsuspension Gründlich 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 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.

Interpretation

Eine positive Reaktion (d.h. eine Agglutination) zeigt das Vorhandensein des entsprechenden Antigens an. Eine negative Reaktion (d.h. keine sichtbare Agglutination) zeigt das Nichtvorhandensein des entsprechenden Antigens an. Die ABO-Blutgruppe wird aus dem mit den verschiedenen Antiseren erhaltenen Reaktionsmuster ermittelt (siehe umseitige Tabelle). Entspricht das Reaktionsmuster keiner der unten angegebenen 4 Kombinationen, sollte zuerst der Grund für das abweichende Ergebnis ermittelt werden, bevor dem Patienten/Spender eine bestimmte Blutgruppe zugeordnet wird.

Agglutinationsreaktionen bei der routinemäßigen ABO-Blutgruppenbestimmung

Erythrozyten + Blutgruppenreagenz			Serum/Plasma + Erythrozytenreagenz		
anti-A	anti-B	anti-A,B	A1 Zellen	B Zellen	Blutgruppe (Häufigkeit)
0	0	0	+	+	O (46,7%) ⁴⁾
+	0	+	0	+	A (41,7%) ⁴⁾
0	+	+	+	0	B (8,6%) ⁴⁾
+	+	+	0	0	AB (3,0%) ⁴⁾

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. Zellen mit Antigenvarianten können unerwartete positive oder negative Reaktionen bei Proben liefern, die zuvor mit Reagenzien zur Blutgruppenbestimmung typisiert wurden, die aus polyklonalen oder von anderen Zelllinien abgeleiteten monoklonalen Quellen stammen. Falsch positive bzw. falsch negative Ergebnisse können die Folge einer Verunreinigung von Testmaterialien oder einer etwaigen Abweichung von der empfohlenen Technik sein.

Quellen

1. Widmann F.K. ed; AABB Technical Manual, 11th ed. 1993, Bethesda (MD).
2. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6th ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
3. Issitt P.D.; Applied Blood Group Serology, 3rd ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985.
4. Daniels G.; Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd. 1995.
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service H.M.S.O. 2nd ed. 1993.
6. Reid M.E., et al. The Blood Group Antigen FactsBook, FactsBook Series, 3rd ed. 2012

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.