

FÜR DIE RÖHRCHENMETHODE

NUR ZUR IN-VITRO-DIAGNOSTIK

ZWECKBESTIMMUNG

Bromelin ist ein konserviertes, stabiles Enzymreagenz, dessen Wirksubstanz aus der Ananas hergestellt wird. Nach entsprechender Verarbeitung des Enzymproteins entsteht die gebrauchsfertige Bromelin solution. Die Anwendung dieses Reagenzes ist nur für qualifiziertes und geschultes Fachpersonal vorgesehen.

PRINZIP DES VERFAHRENS

In der Blutgruppenserologie wird Bromelin solution zur Bestimmung von sehr schwachen Isoagglutinaten, für den Kompatibilitätstest, sowie zur Verstärkung der Reaktion von Immuntikörpern verwendet. Das Reagenz wird daher auf der Routinesuche nach Antikörpern in Seren von Probanden und Patienten verwendet. Die Wirkung beruht auf ihre Fähigkeit als proteolytisches Enzym die Oberfläche von Erythrozyten so zu verändern, dass eine bessere Zugänglichkeit einiger Antigene für die entsprechenden Immunglobuline erreicht wird. Eine Reihe von Blutgruppenantigenen werden dagegen aber durch Bromelin zerstört, wie z. B. MNSs, Duffy, Xg, Pr und T.

TESTSEREN

Das aufgeführte Reagenz wird in der folgenden Form angeboten:

OptiBrom Bromelin solution ready for use (1-drop-technique)

Das Reagenz enthält als Konservierungsmittel 0.01% (w/v) Neomycinsulfat. Außer dem aktiven Enzym-Bestandteil beinhaltet das Reagenz Natriumchlorid, hochmolekulare Verbindungen und Pufferlösungen.

WARNUNG

Das Reagenz wurde aus dem Pflanzenextrakt der Ananas hergestellt. Dieses biologische Produkt sollte wegen nie völlig auszuschließender Gefährdung durch Krankheitserreger als potentiell infektiös angesehen werden. Das Reagenz enthält Neomycinsulfat, das toxisch wirken kann. Bei der Entsorgung mit reichlich Wasser nachspülen. Aus den oben genannten Gründen sollte das Reagenz mit angemessener Sorgfalt gehandhabt werden.

LAGERUNG

Ungeöffnet und nach dem erstmaligen Öffnen gut verschlossen bei +2 bis +8 °C lagern, kurzzeitig zur Anwendung auch bei Raumtemperatur. Grundsätzlich nur bis zum angegebenen Verfallsdatum lagern und anwenden.

HINWEISE

- Es sollten bei jeder Austestung positive und negative Kontrollen mitgeführt werden.
- Unschlagmäßige Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit des Reagenzes.
- Die Reaktionsfähigkeit des Reagenzes wird durch eine leichte Trübung nicht beeinträchtigt. Bakterielle und chemische Kontamination des Reagenzes ist zu vermeiden. Wenn eine sichtbare Veränderung des Reagenzes festgestellt wird sollte es nicht mehr eingesetzt werden, die Veränderung kann auf eine mikrobielle Kontamination hinweisen.
- Die Stärke der positiven Reaktion ist vom Alter des verwendeten Blutes abhängig.
- Zentrifugieren außerhalb des angegebenen Drehzahl-Bereiches kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Die beschriebene Testmethode zur Anwendung gilt ausschließlich für manuelle Methoden. Werden Automaten oder halbautomatische Systeme verwendet, müssen die Laboratorien die Angaben der Gerätehersteller befolgen und Validierungen nach anerkannten Verfahren durchführen.
- Bei der Anwendung dieses Reagenzes sind alle gültigen nationalen Gesetze, Verordnungen und Richtlinien in ihrer gültigen Fassung zu beachten, in Deutschland insbesondere die „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“¹.

PROBENVORBEREITUNG

- Blutproben sollten mit einer der üblichen Entnahmetechnik gewonnen werden.
- Das auszutestende Blut sollte so bald wie möglich nach der Blutentnahme geprüf werden, um die Gefahr falsch positiver bzw. falsch negativer Reaktionen durch unsachgemäße Lagerung oder Kontamination der Probe zu minimieren. Nicht sofort getestetes Blut ist bei +2 bis +8 °C zu lagern. Mit EDTA antikoagulierte Blutproben müssen innerhalb von 7 Tagen und mit Natriumzitrat behandelte Proben innerhalb von 14 Tagen nach der Entnahme getestet werden. Konserven/Spenderblute können bis zum Verfallsdatum ausgetestet werden.

VORBEREITUNG DER TESTSEREN

Eine Vorbereitung des Reagenzes ist nicht erforderlich. Das Reagenz wird direkt aus dem Fläschchen entnommen und eingesetzt.

VERFAHRENSWEISE

Nicht im Lieferumfang enthaltene, aber benötigte Materialien:

- Röhrchenmethode:
1. Teströhrchen (10 x 75 mm oder 12 x 75 mm)
 2. Mikroliterpipette
 3. Zentrifuge
 4. Kurzzeitwecker
 5. isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)

Testdurchführung

Röhrchen-Zentrifugationsmethode

- a) 2-5%ige Erythrozytensuspensionen in isotonischer Kochsalzlösung vorbereiten. (Erythrozyten können vorab 1-3 Mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden) oder
b) Testerythrozyten eines kommerziell erworbenen Zellpanels verwenden.
- In ein beschriftete Teströhrchen
a) 100 µL eines entsprechenden Testserums geben oder
b) 100 µL eines zu testenden Patienten/Probanden Serums/Plasmas geben.
- In das Teströhrchen 100 µL
a) der entsprechenden Erythrozytensuspension zugeben
b) Testerythrozyten eines kommerziell erworbenen Zellpanels zugeben.
- Anschließend einen Tropfen Bromelin solution zugeben.
- Die Erythrozyten-/Reagenzmischung durch leichtes Schütteln mischen.
- Teströhrchen 5-15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
- Teströhrchen 1 Minute bei 1.000 U/min (ca. 180-270 x g) zentrifugieren.
- Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig vom Röhrchenboden lösen und innerhalb 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
- Ergebnis protokollieren.

INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

"Vorsichtiges Schütteln" bei der Röhrchen-Zentrifugationsmethode:


- Positives Ergebnis (+): Eine Agglutination der Erythrozyten ist als positives Testergebnis zu werten und zeigt
a) die Anwesenheit des entsprechenden Antigens an.
b) die Anwesenheit eines oder mehrerer Antikörper an, die mit Hilfe des Antigramms des Zellpanel identifiziert werden können
- Negatives Ergebnis (-): Das Fehlen einer Agglutination der Erythrozyten ist als negatives Testergebnis zu bewerten und zeigt
a) das entsprechende Antigen ist nicht nachweisbar.
b) ein irregulärer 'Antikörper liegt nicht vor.

GRENZEN DER TESTMETHODEN

- Ungenauigkeiten bei der Einhaltung der Anweisungen in den Abschnitten „Testdurchführung“ und „Interpretation der Testergebnisse“ können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Mitgeführte Kontrollen mit nicht eindeutigen oder falschen Ergebnissen führen automatisch zur nicht Verwertbarkeit aller Ergebnisse.
- Hämolytierte, trübe, kontaminierte oder geronnene Blutproben dürfen nicht im Test eingesetzt werden.
- Kein einzelnes Testserum oder eine einzelne Methode können garantieren alle seltenen oder schwachen Antigene und alle Varianten der Antigene zu detektieren.²
- Erythrozyten, die mit Alloantikörpern oder Autoantikörpern sensibilisiert sind (z.B. Erythrozyten positiv im direkten Antiglobulintest), sind für die Austestung ungeeignet.
- Manche Antigene wie z.B. MNSs, Duffy, Xg, Pr und T werden durch Bromelin zerstört!
- Die Konzentration, die Aktivität und das eingesetzte Volumen des verwendeten Enzyms sind sehr wichtig. Durch falsche oder zu lange Lagerung des Enzyms (Inaktivierung des Enzyms), aber auch die Verwendung von zu viel Enzym-Lösung (Zerstörung der Antigene) kann es zu falsch negativen Ergebnissen führen. Bei einem negativen Testergebnis wird empfohlen die Enzymaktivität mit „Bromelin-Kontrolllösung“ zu überprüfen. Der Bromelin-Kontrolllösungs-Ansatz reagiert nur positiv wenn Bromelin mit einer ausreichenden Aktivität zugesetzt wurde.

LITERATUR

- Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)
- Peter D. Issit, David J. Anstee Applied Blood Group Serology, 4. Edition, Montgomery Scientific Publications 1998
- Brecher ME. ed. Technical manual 14th ed. Bethesda MD: American Association of Blood Banks, 2002
- Christian Mueller-Eckhardt, Volker Kiefel Transfusionsmedizin, 3. Auflage, Springer-Verlag 2004.

 Artikel-Nummer	 Charge
 Lagerung von - bis	 Verfallsdatum
 In-Vitro Diagnostikum	 EG CE Symbol
 Hersteller nach 98/79/EG	 Gebrauchsinformation beachten
 Unique Device Identification	 Vertreiber

REF

877410	Opti Brom	Bromelin solution ready for use	10 ml
877450	Opti Brom	Bromelin solution ready for use	50 ml

730-13-1907 Version 007 / 15. April 2022



 ANTITOXIN GmbH Industriestraße 88 69245 Bammatal Deutschland
 +49 (0) 6223/ 8661-0  +49 (0) 6223/ 8661-13  gara@antitoxin-gmbh.de

OPTIMA TESTSEREN

Industriestraße 88
69245 Bammatal, Deutschland
☎ 06223-97 22 59 / 0800 23 24 536