

Gebrauchsinformation

Zum Gebrauch durch Fachpersonal
Tests pro ml: max. 20



Bromelin-Lösung

Verstärkermedium zum Gebrauch im Röhrchentest und auf Mikrotiterplatten.

Das Produkt ist nur für den professionellen Laborgebrauch bestimmt und bei +2 bis +8°C zu lagern.

PRODUKTINFORMATION

Die enzymatische Wirkung von Bromelin steigert die Antigen-Antikörper Reaktion in der Blutgruppenserologie, besonders in den Rhesus-, Kidd-, Lewis-, Vel- und H-Systemen. Es können jedoch durch die Verwendung von Bromelin verschiedene Blutgruppenantigene (z.B. MNSS, Duffy, Xg, Pr und T) zerstört oder in der Reaktivität vermindert sein.

Bromelin ist eine konservierte, stabile Enzymlösung, die aus der Ananas isoliert und entsprechend den Verfahrens- und Arbeitsanweisungen unseres QM-Systems hergestellt wird. Als Konservierungsmittel wird dem Reagenz 0,01%iges Neomycinsulfat beigegeben. Dieses Reagenz sollte ohne Additiva (Albumin, Liss, usw.) oder Verdünnung, sondern wie geliefert eingesetzt werden.

Zur Beachtung: Dieses pflanzliche Produkt sollte mit entsprechender Vorsicht angewandt werden, da Enzyme sowie Konservierungsmittel bei Inkorporation Vergiftungserscheinungen verursachen können. Kontamination des Produktes während des Gebrauchs vermeiden, es beeinflusst die Reaktionsfähigkeit negativ. Leichte Trübung hat keinen Einfluss auf die Leistungsfähigkeit dieses Produktes. Das Reagenz sollte als potentiell infektiös angesehen und behandelt werden.

UNTERSUCHUNGSVORBEREITUNGEN

Die zu untersuchenden roten Blutkörperchen werden so gesammelt, vorbereitet und gelagert wie in den Gebrauchsanweisungen der Test-Reagenzien bzw. der Zellpanels vorgegeben. Für Mikrotiterplattentests werden die Patienten- bzw. Spenderzellen in EDTA (oder anderen Antikoagulanzen außer Heparin) gesammelt. Bestimmte serologische Tests mit Bromelin müssen allerdings mit Spender- oder Patienten-Serum anstelle von Plasma durchgeführt werden, da einige Antikörper ansonsten nicht erkannt werden. Röhrchentests müssen generell mit Serum durchgeführt werden.

ARBEITSMITTEL FÜR TESTUNGEN

Spender- oder Patientenerthrozyten oder Reagenzerythrozyten, Spender- oder Patientenserum oder spezifisches Blutgruppenreagenz, Markierungsstifte, Isotonische NaCl-Lösung, Pipetten, Teströhrchen, Röhrchenständer, kalibrierte Zentrifuge, Kurzzeitmesser.

TESTDURCHFÜHRUNG

Röhrchentest

Zur Verbesserung der Testergebnisse empfiehlt es sich, die Blute mindestens einmal in 0,9% NaCl-Lösung zu waschen.

1. Aus der gewaschenen Blutprobe wird eine 2 - 3%ige Erythrozytensuspension in 0,9% NaCl-Lösung hergestellt.
2. 1 – 2 Tropfen Probandenserum oder spezifisches Testserum in ein beschriftetes Röhrchen pipettieren, gleiche Menge der Erythrozytensuspension hinzugeben und gut mischen.
3. 1 Tropfen Bromelinlösung aus der Pipettenflasche zugeben und mischen.
4. 15 Min. bei RT inkubieren. Falls der Nachweis kältereaktiver Antikörper nicht erwünscht ist, wird eine Inkubation bei 37°C empfohlen.
5. Zentrifugation 1 Min. bei 400g (ca. 1.500 UpM) bzw. bei alternativer Drehzahl mit angepasster Zeit.
6. Anschließend Sediment unter Schräghalten des Röhrchens vorsichtig aufschütteln und sofort auf Agglutination prüfen.
7. Ergebnis und Reaktionsstärke protokollieren. Der Test kann hier beendet werden oder zur Antihumanglobulinphase weiter geführt werden. Die Packungsbeilage des AHG-Reagenz ist für die Anwendung maßgebend.

Mikrotiterplattentest

Zur Verbesserung der Testergebnisse empfiehlt es sich, die Blute mindestens einmal in 0,9% NaCl-Lösung zu waschen.

1. Herstellung einer 2 – 3%igen Erythrozytensuspension in isotoner NaCl-Lösung.
2. Zugabe von 1 Tropfen Probandenserum oder spezifischem Testserum in die MTP-Vertiefungen.
3. Zugabe von 1 Tropfen Erythrozytensuspension auf die MTP sowie Zugabe von 1 Tropfen Bromelin.
4. MTP manuell oder auf einem Schüttler 3 – 5 Min. bewegen.
5. Reaktionszeit: 15 – 20 Min. bei Raumtemperatur.
6. MTP bei 1.000 UpM 40 Sek. zentrifugieren bzw. bei alternativer Drehzahl mit angepasster Zeit.
7. MTP kurz aufschütteln, ggf. mit Schüttler.
8. Ergebnis und Reaktionsstärke protokollieren, positive und negative Kontrollen sind mitzuführen. Beim Einsatz von Lesegeräten müssen diese zuvor kundenseitig validiert werden.

Zur Beachtung: Erythrozytensuspension in (*)NaCl-Bromelin-Gemisch verstärkt die Reaktion, z.B. Titerstärke.

(*) Ansatz: 50µl Erythro.Sediment + 50-100µl (1-2 Tropfen) Bromelin + 3,5ml isotoner NaCl-Lösung gut mischen. (Bei diesem Ansatz wird mit 1 Tropfen Serum und 2 Tropfen Erythro.-Suspension gearbeitet, ansonsten gleicher Ablauf).

→ Diese Suspension mit Bromelin muss zeitnah eingesetzt werden, da Bromelin Hämolyse verursacht!

HINWEIS

Bei jedem Test, bei dem Patienten- oder Spenderzellen und –Serum verwendet werden, sollte eine Eigenkontrolle durchgeführt werden. Bei jeder Testserie sollte ein Kontrollreagenz mit einer Mischung von schwachen Rhesusantikörpern (die mit allen Erythrozyten positiv reagieren) mitgetestet werden, um die Enzymaktivität zu prüfen.

Vom Alter des verwendeten Blutes ist die Stärke der Positivreaktion abhängig.

Als Kontrolle für jede Untersuchung sollte jeweils ein Ansatz von bekanntem negativem und positivem Blut mitgeführt werden.

Leicht Trübungen beeinflussen nicht die Reaktivität des Präparates.

SH-Verbindungen aktivieren die Enzymaktivität (s. Konservierung), durch SH-blockierende Agenzien wird die Enzymaktivität irreversibel gehemmt.

Das Präparat ist ohne Zusätze zu verwenden.

Haltbarkeit bis zum Verfalldatum bei +2 bis +8°C Lagertemperatur.

Manuelle Techniken sind nach den Vorgaben des Herstellers anzuwenden. Für den Einsatz des Serums in Automaten kann eine Verdünnung erforderlich sein. Die Anwendung ist dann vom Anwender und in Verantwortung des Anwenders zu validieren. Die Verantwortung des Anwenders gilt auch für jede sonstige Veränderung des Fertigserums, wie z.B. Einfrieren auf Mikrotiterplatten u.ä.

GRENZEN DER METHODE

Mikrotiter- und Röhrchentests sollten sofort nach Beendigung der Zentrifugation abgelesen werden.

Falsch positive oder negative Testresultate können durch bakterielle oder chemische Kontamination des Testmaterials, inadäquate Inkubationszeit oder –Temperatur, falsche Zentrifugation, falsche Lagerung der Materialien, fehlende Zugabe der Testreagenzien oder durch andere Abweichungen von der Testmethode auftreten. Auch Autoagglutinine in den Testproben können zu falschen Reaktionen führen.

Eine zu niedrige oder zu hohe Enzymkonzentration im Verhältnis zur Antigen-Antikörper Mischung wird zu falsch negativen Ergebnissen führen. Erythrozyten, die mit Allo- oder Autoantikörpern beladen sind (positiver DAT) können falsche Reaktionen verursachen. Aufgrund der Variabilität der Antigenexpression können die Zellen einiger Phänotypen schwächer als die für den Test eingesetzte positive Kontrolle reagieren.

SD-nostik Diagnostik - Herstellung und Vertrieb
Bastian Schneider &
Anne-Christin Schneider GbR
Am Hohenstein 31 / 74889 Sinsheim / Germany
☎ +49 (0) 7261-9134-80 📠 +49 (0) 7261-9134-81
✉ info@sd-nostik.de
🌐 www.sd-nostik.de
CE