

# 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

**Bromelin (lyophilized)**

**REF K1121**

**IVD CE**

039\_v03 01/2017 (de)

*Ausschließlich für berufliche  
Zwecke*

Enzymlösung (0,5%) zur Verwendung in der Blutgruppenserologie

## Allgemeine Informationen

Bromelin ist ein gepuffertes Extrakt aus der Wurzel der Ananaspflanze, der sich für die Verwendung in serologischen Verfahren eignet. Bromelin ist eine proteolytische Enzymlösung, die Peptidbindungen auf Proteinen auf der Membran von Erythrozyten hydrolysieren kann. Dies führt zu einer Verringerung der Oberflächenladung der Membran. Diese Membranmodifikation ist bei serologischen Tests sehr nützlich, da sie manche Antigen-Antikörper-Wechselwirkungen verstärkt und andere eliminiert. Im Allgemeinen werden die Reaktionen von Rhesus-, ABO-, Lewis- und P-System-Antikörpern durch Enzymmodifikation von Erythrozyten verstärkt. Durch Denaturierung von Fy<sup>a</sup>-, Fy<sup>b</sup>-, M-, N-, S-, s- und Xg<sup>b</sup>-Antigenen kann eine Enzymmodifikation die Reaktionen der entsprechenden Antikörper verringern oder eliminieren. 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.

## Vorsichtsmaßnahmen

Nur zum Gebrauch für die in vitro Diagnostik. Bromelin (lyophilized) **REF** K1121 sollte bei 2–8°C aufbewahrt und vor dem Gebrauch in 5 ml destilliertem Wasser rekonstituiert werden. Das rekonstituierte Bromelin sollte innerhalb von 24 Stunden verwendet werden. Zur längeren Aufbewahrung bis zum Verfalldatum sollte das rekonstituierte Bromelin bei <–18°C gelagert werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen vermeiden. Undichte oder beschädigte Behälter dürfen nicht verwendet werden. Die Reagenzien (sei es ungeöffnet oder geöffnet) sollten nur bis zu dem auf dem Etikett aufgedruckten Verfalldatum verwendet werden. Das Bromelin enthält keine Konservierungsmittel. Bei der Verwendung und Entsorgung der Behälter und deren Inhalt sind entsprechende Vorsichtsmaßnahmen zu beachten. 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.

## Gewinnung 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

Enzymbehandlung einer 3%igen Zellsuspension:

1. Die Erythrozyten, die mit dem Enzym behandelt werden sollen, einmal mit einem Überschuss an isotoner Kochsalzlösung waschen und eine 3%ige Zellsuspension in isotoner Kochsalzlösung herstellen.
2. In ein Teströhrchen folgende Reagenzien geben:
  - 1 Volumeneinheit Bromelin (Sanquin)
  - 9 Volumeneinheiten einer 3%igen Zellsuspension.Gründlich mischen.
3. Bei 37°C in einem Wasserbad für 15–20 Minuten inkubieren.
4. Die enzymbehandelten Zellen dreimal in einem Überschuss an isotoner Kochsalzlösung waschen.
5. Nach dem letzten Waschschrift wird eine 3%ige Zellsuspension in isotoner Kochsalzlösung hergestellt.

Test zum Antikörpernachweis:

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

6. In jeweils ein Teströhrchen folgende Reagenzien geben:
  - 2 Tropfen Patientenserum (1:2 verdünnt in isotoner Kochsalzlösung)
  - 1 Tropfen der enzymbehandelten ZellsuspensionGründlich mischen.
7. Bei 37°C in einem Wasserbad für 15–20 Minuten inkubieren.
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.  
Hinweis: Bei Verfahren zum Antikörpernachweis sollte eine Autokontrolle (Patientenserum + enzymbehandelte Patientenzellen) als Negativkontrolle mitgeführt werden.

## Interpretation

Eine positive Reaktion (d.h. eine Agglutination) zeigt das Vorhandensein eines Antikörpers (oder von Antikörpern) in dem Patientenserum an. Eine negative Reaktion (d.h., es ist keine Agglutination zu erkennen) zeigt an, dass das Serum keine Antikörper gegen die auf den enzymbehandelten Zellen vorhandenen Antigene enthält.

**Einschränkungen**

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

**Quellen:**

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. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion In Clinical Medicine, 9<sup>th</sup> 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.*