

GEBRAUCHSINFORMATION

Bromelin, flüssig



IN VITRO DIAGNOSTIKUM

1. Produktbeschreibung

Die Bromelinlösung ist ein stabiles, gebrauchsfertiges Reagenz für den Bromelintest. Das Enzym Bromelin wird aus der Ananas gewonnen. Im Bromelintest können die am häufigsten vorkommenden Immunantikörper, vor allem aber die des Rh-Systems nachgewiesen werden. Nützlich kann der Bromelintest auch beim Nachweis von sehr schwachen Isoagglutininen des AB0- Systems sein.

2. Testprinzip

Die Wirkung des Bromelins beruht einmal auf einer Reduktion der Erythrozytenladung, sowie einer Abspaltung von mehr oder weniger langen Polypeptidketten, die von der Erythrozytenoberfläche herausragen. Dies führt zu einer Annäherung der Erythrozyten und zu einer stärkeren Agglutination mit IgG-Antikörpern.

Die angegebene Testmethode beruht auf dem Prinzip der direkten Haemagglutination. Nach Zugabe von Erythrozyten und Bromelin zum Serum findet eine spezifische Antigen-Antikörper-Reaktion dann statt, wenn ein Antikörper und das korrespondierende Antigen auf den Erythrozyten vorhanden sind. Diese Reaktion ist optisch durch die Agglutination der Erythrozyten erkennbar. Wurden keine Antikörper an den Erythrozyten gebunden, kann somit auch keine Agglutination stattfinden. Dies zeigt ein negatives Ergebnis an.

3. Lagerung und Haltbarkeit

Das Reagenz bei 2...8°C lagern. Nicht einfrieren! Die Bromelinlösung vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18...25°C) erwärmen lassen und unmittelbar nach dem Gebrauch wieder bei 2...8°C lagern.

Das Reagenz ist bei Einhaltung der angegebenen Lagerbedingungen nach dem ersten Öffnen bis zum auf dem Etikett angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. Die Bromelinlösung nicht nach Ablauf des auf dem Etikett angegebenen Haltbarkeitsdatums benutzen.

4. Probenvorbereitung

Für die Bestimmung von Erythrozytenmerkmalen sollten die Blutproben entsprechend den üblichen medizinischen Verfahren entnommen werden. Blutproben mit und ohne Antikoagulanzen (EDTA, Citrat) sind für die Testung geeignet. Für die Bestimmung von Antikörpern wird mit Serum ein besseres Ergebnis erzielt als mit Plasma.

Keine hämolytischen Proben verwenden! Die Testung sollte wenn möglich ohne zeitliche Verzögerung stattfinden.

Durch eine zu lange Lagerung der Erythrozyten vor der Testung können sich die Erythrozytenantigene verändern, was falsch positive bzw. falsch negative Reaktionen zur Folge haben kann (s. 9. Wichtige Hinweise/Grenzen der Methode).

5. Zusätzlich benötigte Materialien

Isotonische NaCl-Lösung
Reagenzgläser (75 x 12 mm)
Einweg-Pasteur-Pipetten
Zentrifuge
Spezifische Antiseren (IgG)

6. Testdurchführung

Röhrchentest

1. Die Erythrozyten einmal waschen und eine ca. 2 - 3%ige Erythrozytensuspension in isotonischer NaCl-Lösung herstellen.
2. 1 Tropfen des zu testenden Probandenserums oder spezifischen Testserums und 1 Tropfen der Erythrozytensuspension in ein beschriftetes Röhrchen geben.
3. 1 Tropfen Bromelinlösung zugeben und mischen.
4. 15 Minuten bei Raumtemperatur (18...25°C) inkubieren.
5. 1 Minute bei 400 x g (1500 UpM) oder bei alternativer Drehzahl mit angepasster Zeit zentrifugieren.
6. Unter vorsichtigem Aufschütteln des Röhrchens makroskopisch auf Agglutination prüfen.

Anmerkungen: Den Test nicht mikroskopisch auswerten.

Es wird empfohlen, die Enzymaktivität bei jeder Testserie mit Bromelin-Kontrollserum zu überprüfen. Bromelin-Kontrollserum reagiert nur positiv, wenn dem Testansatz Bromelin zugefügt wurde und dieses noch eine ausreichende Aktivität besitzt.

7. Interpretation der Ergebnisse

A) Probandenserum (Antikörperbestimmung)

Eine Agglutination mit einer oder mehreren Erythrozytensuspensionen zeigt das Vorhandensein eines oder mehrerer Antikörper im getesteten Serum an. Antikörper können dann anhand eines Erythrozytenpanels mit Hilfe des Antigramms im Ausschlussverfahren identifiziert werden.

B) Probandenerythrozyten (Bestimmung von Erythrozytenmerkmalen)

Eine Agglutination mit einem definierten Antiserum zeigt das Vorhandensein des korrespondierenden Antigens an.

Findet keine Agglutination der Erythrozyten mit dem Antiserum statt, weist dies auf die Abwesenheit des korrespondierenden Antigens hin.

Bei der Interpretation der Ergebnisse müssen die Grenzen der Methode (s. 9. Wichtige Hinweise/Grenzen der Methode) beachtet werden.

8. Stabilität der Reaktionen

Alle Testergebnisse müssen unmittelbar nach Beendigung der Zentrifugation beurteilt werden.

9. Wichtige Hinweise/Grenzen der Methode

1. Durch die proteolytische Aktivität des Bromelins werden Agglutinationsreaktionen des MNSs-, Kell- und Duffy-Systems vermindert, so dass falsch negative Reaktionen auftreten können.
2. Das Reagenz ist nur für den in vitro diagnostischen Gebrauch geeignet und darf nur von geschultem Fachpersonal eingesetzt werden.
3. Falsch positive Ergebnisse können durch bakterielle oder chemische Kontaminationen des Reagenzes, der Proben oder der physiologischen NaCl-Lösung und/oder durch falsche Zentrifugation auftreten.
4. Falsch negative Ergebnisse oder unerwartet schwache Reaktionen können durch ungenügende Zellkonzentration, ungenügende Inkubationstemperatur bzw. -zeit und/oder ungenügende Zentrifugation, aber auch durch zu lange und/oder ungeeignete Lagerbedingungen der Erythrozyten verursacht werden. Eine zu späte Ablesung der Tests, ein zu starkes Aufschütteln des Erythrozytensediments und andere Abweichungen von der angegebenen Testdurchführung können ebenso zu schwächeren oder falsch negativen Ergebnissen führen.
5. Generell können ungeeignete Techniken, falsche Zentrifugation oder Inkubation, unsaubere Röhrchen, falscher pH-Wert der isotonischen NaCl-Lösung und/oder

- kontaminierte Materialien und Proben zu falsch negativen oder falsch positiven Ergebnissen führen.
6. Eine mikrobielle oder chemische Kontamination der Bromelinlösung unbedingt vermeiden, weil dies die Haltbarkeit des Produktes verkürzt und zu falschen Ergebnissen führen kann.
 7. Leichte Trübungen beeinflussen nicht die Reaktivität des Produktes.
 8. Bei der Interpretation der Ergebnisse sollte immer berücksichtigt werden, ob Transfusionen oder Transplantationen stattgefunden haben. Die Transfusions- und/oder Transplantationsanamnese, aber auch die Medikamentenanamnese, sollte zur Interpretation herangezogen werden.

10. Warn- und Entsorgungshinweise

Sämtliche für den Test verwendete Materialien biologischen Ursprungs, insbesondere die zu testenden Erythrozyten und Seren, sollten als potentiell infektiös betrachtet werden. Enzyme und Konservierungsmittel können bei Inkorporation Vergiftungserscheinungen verursachen. Beim Umgang mit biologischen Materialien werden deshalb angemessene Sicherheitsvorkehrungen empfohlen (Nicht mit dem Mund pipettieren; Schutzhandschuhe bei der Testdurchführung tragen; Händedesinfektion nach der Testdurchführung).

Biologische Materialien müssen vor der Entsorgung inaktiviert werden (z.B. durch Autoklavieren). Einwegmaterialien sind nach Gebrauch zu autoklavieren oder zu verbrennen.

Verschüttetes potentiell infektiöses Material sollte unverzüglich mit einem saugfähigen Papiertuch entfernt werden und der kontaminierte Bereich mit einem geeigneten Desinfektionsmittel oder 70%igem Ethanol desinfiziert werden. Material, das für die Entfernung von Verschüttetem benutzt wurde, muss vor der Entsorgung inaktiviert werden (z.B. durch Autoklavieren).

Das Reagenz enthält <0,01% Neomycinsulfat als Konservierungsmittel.






Die Entsorgung aller Proben und Testmaterialien sollte entsprechend der gesetzlichen Richtlinien erfolgen.

11. Packungsgrößen s. Preisliste

12. Literatur

Blutgruppen und Transfusion, M. Metaxas-Bühler, Verlag Hans Huber, 1994

Gebrauchsinformation	Stand: August 2007
----------------------	--------------------

Erklärung der Symbole auf den Etiketten / <i>Explanation of symbols used on Labelling</i>	
	In-vitro-Diagnostikum / <i>For in vitro diagnostic use</i>
	Lagertemperatur / <i>Storage temperature</i>
	Lot-Nr. / <i>Batch code</i>
	Verwendbar bis / <i>Use by</i>
REF	Bestell-Nr. / <i>Catalogue number</i>
	Gebrauchsinformation beachten / <i>Consult instructions for use</i>
CONT NEOMYCINSULFAT	Enthält Neomycinsulfat / <i>Contains Neomycin sulfates</i>



BAG Health Care GmbH
 Amtsgerichtsstraße 1-5
 35423 Lich/Germany

Tel.: +49 (0) 6404/925-0 www.bag-healthcare.com
 Fax: +49 (0) 6404/925-250 info@bag-healthcare.com

Auftragsannahme/Ordering:
 Tel.: +49 (0) 6404/925-450
 Fax: +49 (0) 6404/925-460
 verkauf@bag-healthcare.com

Customer Service:
 Tel.: +49 (0) 6404/925-125
 Fax: +49 (0) 6404/925-421
 service@bag-healthcare.com

INSTRUCTIONS FOR USE

Bromelin, liquid



FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE

1. Description of product

The bromelin solution is a stable, ready-to-use reagent. The enzyme is obtained from pineapples. The bromelin test can be used to detect the most frequently occurring immune antibodies, but primarily those of the Rh system. The bromelin test can also be useful for detecting very weak isoagglutinins of the ABO system.

2. Principle of the test

The effect of bromelin is based both on a reduction of the erythrocyte charge, as well as an elimination of more or less long polypeptide chains that project from the erythrocyte surface. This causes the erythrocytes to come closer together and produces a stronger agglutination with IgG antibodies. The testing method indicated is based on the principle of direct hemagglutination. Once erythrocytes and bromelin are added to the serum, a specific antigen-antibody reaction takes place if an antibody and the corresponding antigen are present on the erythrocytes. This reaction is visibly recognizable by the agglutination of the erythrocytes. If no antibodies are bound to the erythrocytes, then there can be no agglutination. This indicates a negative result.

3. Storage and stability

Store the reagent at 2...8°C. Do not freeze! Allow the bromelin solution to come to room temperature (18...25°C) before use and store again at 2...8°C immediately after use.

Once it has been opened the first time, the reagent may be used up to the expiration date indicated on the label if the specified storage conditions are observed. Do not use the bromelin solution past the expiration date indicated on the label.

4. Preparation of samples

For the determination of erythrocyte antigens, the blood samples should be collected according to the customary medical procedure. Blood samples with and without anti-coagulants (EDTA, citrate) are suitable for testing. When determining antibodies, a better result is obtained with serum than with plasma.

Do not use hemolytic samples! Testing should take place without delay whenever possible.

If erythrocytes are stored for too long before testing, the erythrocyte antigens may change, which can lead to false positive or false negative reactions (see 9. Important Notes/Limitations of the Method).

5. Additional materials required

Isotonic NaCl solution

Test tubes (75 x 12 mm)

Single-use Pasteur pipettes

Centrifuge

Specific antisera (IgG)

6. Test procedure

Tube test

1. Wash the erythrocytes to be examined once and then make an erythrocyte suspension of 2 - 3% in isotonic NaCl solution.
2. Place 1 drop of the serum to be tested or the specific test serum and 1 drop of the erythrocyte suspension in a labeled test tube.
3. Add 1 drop bromelin solution and mix.
4. Incubate for 15 minutes at room temperature (18...25°C).
5. Centrifuge 1 minute at 400 x g (1500 rpm) or at an alternative rpm with an appropriate time adjustment.
6. Resuspend the cells by gently shaking the tube and examine macroscopically for agglutination.

Comments: Do not examine the test microscopically.
It is recommended that the enzyme activity of every test series be checked using bromelin control serum. Bromelin control serum only reacts positively if bromelin was added to the test batch and it still exhibits sufficient activity.

7. Interpretation of the results

A) Serum (antibody determination)

Agglutination with one or several erythrocyte suspensions indicates the presence of one or several antibodies in the serum tested. Antibodies can then be identified by means of an erythrocyte panel with the help of the antigram in an exclusion procedure.

B) Erythrocytes (determination of erythrocyte antigens)

Agglutination with a defined antiserum indicates the presence of the corresponding antigen. If there is no agglutination of the erythrocytes with the antiserum, this indicates the absence of the corresponding antigen.

The limitations of the method must be considered when interpreting the results (see 9. Important Notes/Limitations of the Method).

8. Stability of reactions

All test results must be interpreted immediately once centrifugation is complete.

9. Important notes/limitations of the method

1. The proteolytic activity of the bromelin reduces the agglutination reactions of the MNSs, Kell, and Duffy systems, so that false negative reactions may occur.
2. The reagent is suitable for in vitro diagnostic use only and may only be used by trained, qualified personnel.
3. False positive results may occur because of bacterial or chemical contamination of the reagent, the samples or the physiological NaCl solution and/or because of incorrect centrifuging.
4. False negative results or unexpected weak reactions may be caused by an insufficient cell concentration, insufficient incubation temperature or time and/or insufficient centrifugation, but also by storing the erythrocytes for too long and/or under inappropriate conditions. Reading the results of the test too late, agitating the erythrocyte sediment too strongly, and other deviations from the indicated testing procedure can also lead to weaker or false negative results.
5. In general, false negative or false positive results can result from inappropriate techniques, incorrect centrifugation or incubation, dirty tubes, incorrect pH of the isotonic NaCl solution and/or contaminated materials and samples.
6. Microbial or chemical contamination of the bromelin solution must be absolutely avoided because this shortens the shelf life of the product and can lead to false results.
7. Light cloudiness does not influence the reactivity of the product.

8. Whether transfusions or transplantation have taken place should always be taken into consideration when interpreting the results. Any history of transfusions and/or transplantation, as well as the patient's medication history, should be taken into consideration when interpreting results.

10. Warnings and instructions for disposal

All materials of biological origin used for the test, especially the erythrocytes and sera to be tested, should be regarded as potentially infectious. Enzymes and preservatives can cause symptoms of poisoning if ingested. Therefore, appropriate safety precautions are recommended when handling biological materials (do not pipette using the mouth; wear protective gloves when performing the test; disinfect hands after testing).

Biological materials must be deactivated before disposal (e.g., by autoclaving). Single-use materials must be autoclaved or incinerated after use.

Spills of potentially infectious material should be removed without delay with an absorbent paper towel and the contaminated area disinfected with an appropriate disinfectant or 70% ethanol. Materials used for the removal of spills must be deactivated before disposal (e.g., by autoclaving).

The reagent contains < 0.01% neomycin sulfate as a preservative.

The disposal of all samples and test materials should be carried out according to legal directives.







11. Package Sizes See price list.

12. Bibliography

Applied Blood Group Serology, PD Issitt and DJ Anstee
4th Edition, Montgomery Scientific, Durham SC, 1998

Technical manual of the American Association of Blood Banks, 15th ed., 2005

Instructions for use	Issue: August 2007
----------------------	--------------------

Erklärung der Symbole auf den Etiketten / <i>Explanation of symbols used on Labelling</i>	
	In-vitro-Diagnostikum / <i>For in vitro diagnostic use</i>
	Lagertemperatur / <i>Storage temperature</i>
	Lot-Nr. / <i>Batch code</i>
	Verwendbar bis / <i>Use by</i>
REF	Bestell-Nr. / <i>Catalogue number</i>
	Gebrauchsinformation beachten / <i>Consult instructions for use</i>
	Enthält Neomycinsulfat / <i>Contains Neomycin sulfate</i>