

rBGA

Version 23_DE_RUO, 2023-07

	Nur für Forschungszwecke
	VE 300 µl: 75 – 150 VE 50 µl: 12 – 25
	2...8°C
	Siehe Packungsaufdruck

1. Einleitung

1.1. Beschreibung

Diese Gebrauchsanweisung beschreibt die Anwendung der imusyn rekombinanten Blutgruppenantigene (rBGA)

zur Spezifizierung von irregulären anti-Erythrozyten-Antikörpern.

Der Nachweis von Antikörpern gegen erythrozytäre Blutgruppenantigene ist ein zentraler diagnostischer Schritt in der Untersuchung prä- und posttransfusioneller Blutproben. Laut Richtlinien ist in Deutschland vor jeder Transfusion zur Vermeidung möglicher Unverträglichkeitsreaktionen ein Test auf das Vorhandensein von anti-Erythrozyten-Antikörpern vorgeschrieben¹. In Deutschland benötigen ca. 10 % der stationären Patienten pro Jahr eine Bluttransfusion und bis zu 4 % der Transfusionsempfänger weisen irreguläre anti-Erythrozyten-Antikörper auf.

In einigen Fällen (z.B. bei Antikörpergemischen, bei Autoantikörpern oder bei Antikörpern gegen hochfrequente Erythrozytenantigene) kann jedoch eine klare Identifikation der Antikörper schwierig, eventuell unmöglich sein². Klinisch irrelevante können klinisch relevante Antikörper maskieren und die prätransfusionelle Diagnostik stören. rBGA sind in der Lage, anti-Erythrozyten-Antikörper spezifisch zu hemmen³. Mit rekombinanten Blutgruppenantigenen kann daher in solchen Fällen das Risiko der Bereitstellung unverträglicher Blutprodukte minimiert werden.

1.2. Testprinzip

Die rBGA nutzen das Prinzip des Hemmtests. Die Probe wird vor einem indirekten Antiglobulintest (IAT) mit rBGA inkubiert, um spezifische Antikörper gegen Blutgruppenantigene zu neutralisieren. Sie kann anschließend ohne weitere Behandlung im indirekten Antiglobulintest untersucht werden.

1.3. Verwendungszweck

Nur für Forschungszwecke.

Identifikation und Bestätigung von irregulären anti-Erythrozyten-Antikörpern. rBGA sind zum Einsatz mit Gelkartensystemen (Grifols DG Gel, Bio-Rad ID-System, ORTHO BioVue, ORTHO MTS oder Cellbind Screen) oder im Röhrchentest vorgesehen.

2. Materialien und Ausrüstung

2.1. Definition der Zeichen

	Phosphatpuffer pH 7,4
	rekombinantes Blutgruppenantigen
	Negativkontrolle
	0,9 % Natriumchlorid-Lösung

2.2. Komponenten

Rekombinantes Blutgruppenantigen , 300 µl/50 µl Gesamtvolumen, Konzentration 0,5 mg/ml. Konserviert mit 0,1% ProClin® 300



Kann allergische Hautreaktionen verursachen (H317). Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung (H412). Schutzhandschuhe tragen (P280). Bei Hautreizung oder -ausschlag: ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen (P333+P313). Inhalt/Behälter der Entsorgung gemäß den örtlichen/nationalen/internationalen Vorschriften zuführen (P501).

ACHTUNG!

REF	Antigen
R_Ch(a)	C4B*3
R_CR1_2	Kn(a), McC(a), Sl(a), Sl3+, KCAM+, Yk(a), DACY
R_CROM	Cr(a+), Tc(a), Dr(a+) , Es(a+), IFC+, WES(b), UMC+, GUTI+, SERF+, CROZ+, CROV+, ZENA+, CRAM+, CROK+, CORS+, CRUE+, CRAG+
R_Do(a)	Do(a) , Hy+, Jo(a+), DOLG+, DOYA+, DOMR+, DOLC+, DODE+
R_Do(b)	Do(b) , Hy+, Jo(a+), DOLG+, DOYA+, DOMR+, DOLC+, DODE+
R_Fy(a)	Fy(a) , Fy6
R_Fy(b)	Fy(b) , Fy6
R_grKba	Js(a), K12+, Ul(a-), K19+, TOU+, K23-, K13+, K22+, K11, Kp(b) , RAZ+, VLAN+, K , K14/24, K18+, KASH+, KELP+, KYO-, KHUL+, KTIM+, KUCI+, KANT+, KETI+, KALT+, VONG+
R_In(b)	In(b) , INFI+, INJA+, INRA+, INSL+
R_JMH	JMH1 , JMH2, JMH3, JMH4, JMH5, JMH6, JMH7, JMH8
R_klkba	Js(a), K12+, Ul(a-), K19+, TOU+, K23-, K13+, K22+, K11, Kp(b) , RAZ+, VLAN+, k , K14/24, K18+, KASH+, KELP+, KYO-, KHUL+, KTIM+, KUCI+, KANT+, KETI+, KALT+, VONG+
R_Lu(a)_2	Lu(a) , Lu4+, Lu5+, Lu6, Lu8, Lu12+, Lu13+, Lu16+, Lu17+, Lu20+, Lu21+, LURC+, Lu7+, Lu23, Lu24, Lu25, Lu27, Lu18, LU28, LU29
R_Lu(b)_2	Lu(b) , Lu4+, Lu5+, Lu6, Lu8, Lu12+, Lu13+, Lu16+, Lu17+, Lu20+, Lu21+, LURC+, Lu7+, Lu23, Lu24, Lu25, Lu27, Lu19 , LU28, LU29
R_LW(a)	LW(a), LW6, LW8
R_Rg(a)	C4A*3
R_Sc1	Sc1 , Rd-, STAR+, SCER+, SCAN+, SCAR+, SCAC+
R_Xg(a)	Xg(a)
R_YCAD	YCAD
R_Yt(a)	Yt(a) , YTEG+, YTLI+, YTOT+, YTGT+

Tabelle 1) Liste der entsprechenden Antigene der rBGA. Fettgedruckte Antigene wurden serologisch auf Ihre Funktionalität überprüft.

2.3. Lagerung und Haltbarkeit

Bei 2...8°C lagern. Das Verfallsdatum ist auf der Primärverpackung angegeben. Wenn die Lagerbedingungen eingehalten werden, können die Proteine bis zum auf der Primärverpackung und dem Analysenzertifikat angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendet werden.



auf keinen Fall einfrieren! Die Funktionalität von einmal gefrorenen kann nicht garantiert werden. Entsprechende ACHTUNG! Proteine müssen unmittelbar entsorgt werden!

2.4. Vom Anwender bereitzustellende Materialien und Geräte

Die folgenden Materialien und Geräte sind vom Anwender bereitzustellen:

2.4.1. Material

Material	Anbieter
Gelkarten: DG Gel Coombs, ID-Card LISS/Coombs, ORTHO BioVue, ORTHO MTS oder Cellbind Screen	Grifols, Bio-Rad, Ortho Diagnostics, Sanquin
Testerythrozytenpräparationen passend zum Gelkarten-System	Grifols, Bio-Rad, Ortho Diagnostics, Sanquin
Alternativ: Material und Testerythrozyten für den Röhrchentest	verschiedene Hersteller
Reagiergefäß aus Polypropylen z. B. Eppendorfgefäß	verschiedene Hersteller
Phosphatpuffer, pH 7,4 oder 0,9 % Natriumchlorid-Lösung	verschiedene Hersteller
Pipettenspitzen	verschiedene Hersteller

2.4.2. Geräte

Gerät	Anbieter
Gelkartenzentrifuge bzw. Arbeitsstation, passend zum verwendeten Gelkartensystem	Grifols, Bio-Rad, Ortho Diagnostics, Sanquin
Alternativ: Zentrifuge für den Röhrchentest	verschiedene Hersteller
Inkubator, 37°C	verschiedene Hersteller
Pipette	verschiedene Hersteller
Tischzentrifuge	verschiedene Hersteller

Hinweis: Die mit spezifischen Hersteller angegebenen Materialien und Geräte wurden für die Verwendung mit rBGA validiert. Falls andere Materialien oder Reagenzien eingesetzt werden, müssen diese vor ihrer Verwendung vom Anwender selbst validiert werden.

3. Vorbereitung und Durchführung

Bei allen Tätigkeiten ist auf kontaminationsvermeidendes Arbeiten zu achten.



Nur rBGA mit unbeschädigten Primärverpackungen verwenden! Beschädigte rBGA müssen fachgerecht entsprechend lokaler ACHTUNG! Richtlinien entsorgt werden.

3.1. Probenvorbereitung

Nur frische, nicht hämolytische oder lipämische Serum- oder Plasmaproben verwenden. Vorzugsweise sollte die Probengewinnung in den Antikoagulantien Citrat, EDTA oder CPD-A erfolgen. Partikel, Aggregate oder Fibrinreste müssen vor der Testdurchführung zur Vermeidung von unspezifischen Ergebnissen entfernt werden. Die Proben sollten bei 2...8°C nicht länger als 48 h gelagert werden. Die Einschränkungen des Gelkartenherstellers zum Probenmaterial müssen ebenfalls beachtet werden.



Humane Proben sind potentiell infektiös. Mit den Proben ist gemäß den lokalen Richtlinien umzugehen, und die entsprechenden ACHTUNG! Schutzmaßnahmen sind zu ergreifen.

3.2. Testdurchführung

Vorinkubation von rBGA und Proben im Reagiergefäß

Testsystem	Proben-rBGA-Gemisch	NK
Röhrchentest	4 µl rBGA + 50 µl Probe	4 µl PBS oder NaCl + 50 µl Probe
Ortho BioVue	3,5 µl rBGA + 40 µl Probe	3,5 µl PBS o. NaCl + 40 µl Probe
andere	2 µl rBGA + 25 µl Probe	2 µl PBS oder NaCl + 25 µl Probe

Je nach Testsystem Proben-rBGA-Gemisch und NK nach oben stehender Tabelle erstellen. Beide Ansätze kurz durchmischen (5 sec vortexen) und für 5 sec bei 8000 x g abzentrifugieren.

Die Ansätze für 30 min bei Raumtemperatur (19-25°C) inkubieren.

Indirekter Antiglobulintest (IAT)

Das Proben-rBGA-Gemisch und die NK in einem passenden Testsystem analysieren (s. entsprechende Gebrauchsanleitungen).

4. Auswertung und Fehlerbehandlung

4.1. Auswertung

Für die Auswertung sollten alle verfügbaren Daten einbezogen werden. Das Testergebnis sollte nicht als alleinige Grundlage für einen Befund genutzt werden.

Positiv:

Eine Probe ist als positiv für Antikörper gegen das verwendete rBGA zu bewerten, wenn die Reaktivität von Antikörpern gegen antigenpositive Testerythrozyten (Agglutinationsstärke) im Vergleich zur NK durch rBGA vollständig aufgehoben wird.

Negativ:

Eine Probe ist als negativ für Antikörper gegen das verwendete rBGA zu bewerten, wenn die Reaktivität von Antikörpern gegen antigenpositive Testerythrozyten im Vergleich zur NK durch rBGA nicht reduziert wird.

Wird die Reaktionsstärke reduziert, aber die Agglutination nicht vollständig aufgehoben, kann das ein Hinweis auf einen weiteren Antikörper sein. Weist die NK keine Agglutination auf, ist der Test nicht auswertbar.

Das Reaktionsstärke-Muster ist der Arbeitsanleitung des Gelkartenherstellers zu entnehmen.

4.2. Fehlerbehandlung

Problem	Mögliche Ursache	Lösungsansatz
Unvollständige Hemmung der Probe.	Sehr hoher Antikörpertiter. Hohe Avidität des Antikörpers.	Test wiederholen und Proteinmenge stufenweise erhöhen, oder Probe verdünnen (zusätzliche Antikörper könnten hierdurch unter die Nachweisgrenze fallen)
	Das Proben-rBGA-Gemisch wurde nicht ausreichend durchmischt.	Test wiederholen und Ansätze nach Gebrauchsanleitung mischen.

Die Funktionalität der rBGA muss mit Hilfe einer Referenzprobe überprüft werden. Bitte auch die Hinweise des Gelkartenherstellers zur Fehlerbehandlung und zu den Grenzen des Verfahrens beachten. Es wird empfohlen, alle Proben zu titrieren, um Proben mit hohem Antikörpertiter zu identifizieren.

5. Grenzen des Verfahrens und spezifische Leistungsmerkmale

5.1. Grenzen des Verfahrens

Nicht-Befolgen der Anweisung kann zu falschen Ergebnissen führen. Insbesondere falsche Inkubationszeiten und -temperaturen und mangelhafte Durchmischung der Ansätze können falsch negative Ergebnisse verursachen.

Die Kontamination von Reagenzien oder Proben, der Gebrauch von Reagenzien über ihrem Verfallsdatum, sowie die Verwendung von nicht empfohlenen Reagenzien und Geräten kann zu falschen Ergebnissen führen.

Im Zweifel sollten andere validierte Methoden zur diagnostischen Bestimmung von anti-Erythrozyten-Antikörpern herangezogen werden.

5.2. Spezifische Leistungsmerkmale

REF	Diagn. Sensitivität [%]	n=	Diagn. Spezifität [%]	n=
R_Ch(a)	100	22	100	10
R_CR1_2	100	21	100	17
R_CROM	100	8	100	15
R_Do(a)	100	9	100	8
R_Do(b)	100	9	100	12
R_Fy(a)	100	13	100	9
R_Fy(b)	100	3	100	11
R_grKba	100	15	100	10
R_In(b)	100	3	100	7
R_JMH	100	33	100	78
R_klka	100	5	100	6
R_Lu(a)_2	100	6	100	28
R_Lu(b)_2	100	6	100	21
R_LW(a)	100	3	100	5
R_Rg(a)	100	15	100	12
R_Sc1	100	5	100	51
R_Xg(a)	100	3	100	7
R_YCAD	100	4	100	22
R_Yt(a)	100	6	100	6

6. Referenzen

- Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) gemäß §§ 12a und 18 des Transfusionsgesetzes (TFG) (Gesamtnovelle 2017 vom 17.02.2017). Bundesministerium der Justiz ISSN 0720-6100 Jahrgang 62.
- Seltsam A., Blasczyk R. (2009). Curr Opin Hematol. 2009 Nov;16(6):473-9. doi: 10.1097/MOH.0b013e3283319a06.
- Seltsam A., et al. (2014). Transfusion. Jul;54(7):1823-30. doi: 10.1111/trf.12553.



HINWEIS!

Bitte überprüfen Sie regelmäßig auf imusyn.de/IFU, ob es Aktualisierungen zu dieser Gebrauchsanweisung gibt.

Änderungen zur Vorversion sind farblich hervorgehoben