

# **DE** GEBRAUCHSINFORMATION

## **Chloroquin-Diphosphat**



**für die Absprengung Erythrozyten-gebundener Antikörper**

Elektronische Gebrauchsinformation siehe [www.bag-diagnostics.com](http://www.bag-diagnostics.com)

### **IN VITRO DIAGNOSTIKUM**

#### **1. Produktbeschreibung**

Chloroquin-Diphosphat wird eingesetzt, um an Erythrozyten gebundene IgG-Antikörper abzusprengen, z.B. wenn bei Erythrozyten mit einem positiven direkten Coombstest mit Anti-IgG eine direkte Antigenbestimmung nicht möglich ist, weil sie in vivo IgG-Antikörper gebunden haben. Da Chloroquin-Diphosphat unter kontrollierten Bedingungen die Erythrozytenantigene nicht oder nur geringfügig schädigt, können bei den Erythrozyten dann die wieder freiliegenden Antigene nachgewiesen werden. Eine Identifizierung der abgesprengten Antikörper ist nach Behandlung mit Chloroquin-Diphosphat nicht möglich.

#### **2. Testprinzip**

Die mit IgG-Antikörpern beladenen Erythrozyten werden mit Chloroquin-Diphosphat bei Raumtemperatur inkubiert. Durch Chloroquin-Diphosphat kommt es zu einer Absprengung der Antikörper von den Erythrozyten. Anschließend werden die Erythrozyten mit Alsever-Lösung gewaschen, um die abgesprengten Antikörper zu entfernen. Die Erythrozyten können dann für eine Antigenbestimmung eingesetzt werden.

#### **3. Lagerung und Haltbarkeit**

Chloroquin-Diphosphat bei 2...25°C lagern. Chloroquin-Diphosphat ist bei Einhaltung der angegebenen Lagerbedingungen nach dem ersten Öffnen bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar, wenn es keine Trübungen oder andere Anzeichen für eine Kontamination aufweist. Chloroquin-Diphosphat nicht nach Ablauf des auf dem Etikett angegebenen Haltbarkeitsdatums benutzen. Kontaminierte Reagenzien nicht mehr benutzen!

#### **4. Proben**

Die Blutproben sollten entsprechend den üblichen medizinischen Verfahren entnommen sein. Keine hämolytischen oder kontaminierten Blutproben verwenden! Die Proben sollten, wenn möglich, ohne zeitliche Verzögerung untersucht werden. Eine zu lange Lagerung von mehr als 5 Tagen kann die Absprengung der Antikörper erschweren bzw. es kann zu starker Hämolyse der Erythrozyten und einer Schädigung der Erythrozyten durch die Behandlung mit Chloroquin-Diphosphat kommen (s. 7. Wichtige Hinweise/Grenzen der Methode).

## **5. Zusätzlich benötigte Materialien**

Alsever-Lösung  
Anti-Human-Globulin (Anti-IgG)  
Erythrozyten mit bekanntem Phänotyp  
IgG-beladene Testzellen  
Teströhrchen für den Einmalgebrauch (75 x 12 mm)  
Einweg-Pasteur-Pipetten  
Zentrifuge  
Reagenzien für die Antigenbestimmung

## **6. Durchführung**

Mit der mit Antikörpern beladenen Erythrozyten-Probe einen direkten Coombstest mit Anti-Human-Globulin (Anti-IgG) durchführen und das Ergebnis notieren.

### **6.1 Abspregung der IgG-Antikörper mit Chloroquin-Diphosphat**

1. Die Probe mit den beladenen Erythrozyten in einem sauberen beschrifteten Röhrchen dreimal mit Alsever-Lösung waschen (jeweils 5 Minuten bei 400 x g (1500 UpM) zentrifugieren) und den Überstand verwerfen.
2. 10 Tropfen des gewaschenen Erythrozytensediments in ein beschriftetes Röhrchen geben.
3. 40 Tropfen Chloroquin-Diphosphat zugeben und gut mischen.
4. 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
5. Die Erythrozyten dreimal mit Alsever-Lösung waschen (jeweils 5 Minuten bei 400 x g (1500 UpM) zentrifugieren) und den Überstand verwerfen.

Anmerkung: Eine dabei auftretende leichte Hämolyse kann vernachlässigt werden.

### **6.2 Überprüfung der Antikörper-Abspregung im direkten Coombstest**

Nach dem letzten Waschschrift mit einem Teil der Erythrozyten einen direkten Coombstest mit Anti-Human-Globulin (Anti-IgG) durchführen (entsprechend den Angaben in der Gebrauchsinformation des verwendeten Anti-Humanglobulins).

Der direkte Coombstest sollte negativ ausfallen. Wenn die Erythrozyten jedoch sehr stark mit Antikörpern beladen sind, kann es vorkommen, dass sie im direkten Coombstest noch immer eine positive Reaktion zeigen. In diesem Fall kann die Abspregung der Antikörper mit Chloroquin-Diphosphat (entsprechend der Schritte 2 – 5) wiederholt werden. Danach sollte die Abspregung der Antikörper im direkten Coombstest noch einmal überprüft werden. Fällt der direkte Coombstest dann immer noch positiv aus, konnten die Antikörper nicht oder nur unvollständig abgesprengt werden. Eine Bestimmung der Erythrozytenantigene ist dann nicht möglich bzw. es kann zu einer falschen Phänotypisierung kommen.

Eine dritte Behandlung der Erythrozyten mit Chloroquin-Diphosphat wird nicht empfohlen, weil es dann zu starker Hämolyse und einer Schädigung der Erythrozytenantigene kommen kann.

### **6.3 Bestimmung der Erythrozytenantigene**

Nach erfolgreicher Absprengung der Antikörper können die Erythrozyten für eine Antigenbestimmung mit monoklonalen und/oder humanen Antikörpern eingesetzt werden. Die Testdurchführung sollte entsprechend den Angaben in den Gebrauchsinformationen der eingesetzten Testreagenzien erfolgen.

### **6.4 Kontrollen**

Zur Kontrolle wird empfohlen, Erythrozyten, die bekannt positiv für die Antigene sind, die bei der zu untersuchenden Probe bestimmt werden sollen, ebenfalls mit Chloroquin-Diphosphat zu behandeln und dann bei ihnen eine Antigenbestimmung durchzuführen. Zeigen diese Erythrozyten nicht die zu erwartenden Reaktionen bei der Antigenbestimmung, kann das Ergebnis der Antigenbestimmung mit der Chloroquin-Diphosphat behandelten Patientenprobe nicht gewertet werden (für mögliche Fehlerquellen s. 7. Wichtige Hinweise/Grenzen der Methode).

Ein negativer direkter Coombstest sollte immer durch Zugabe von IgG-beladenen Testzellen überprüft werden (für die Durchführung s. Angaben in der Gebrauchsinformation des Herstellers der eingesetzten IgG-beladenen Testzellen). Findet nach Zugabe von IgG-beladenen Testzellen zu einem negativen Coombstestansatz keine Agglutination statt, kann das Testergebnis nicht gewertet werden.

## **7. Wichtige Hinweise/Grenzen der Methode**

1. Chloroquin-Diphosphat ist nur für den in vitro diagnostischen Gebrauch geeignet und darf nur von geschultem Fachpersonal eingesetzt werden.
2. Chloroquin-Diphosphat entfernt keine Komplement-Komponenten von den Erythrozyten. Wenn die Erythrozyten in vivo mit IgG-Antikörpern und Komplementfaktoren beladen sind, sollte für die Testungen nach der Behandlung mit Chloroquin-Diphosphat nur Anti-IgG-spezifisches Anti-Human-Globulin eingesetzt werden.
3. Antikörper, die durch Chloroquin-Diphosphat von Erythrozyten abgesprengt wurden, sind nicht für eine Antikörperidentifizierung geeignet.
4. Die für die Zentrifugationen angegebene g-Zahl ist immer das Minimum, das benötigt wird, um einen klaren Überstand und ein abgegrenztes Erythrozytensediment, das sich leicht resuspendieren lässt, zu erhalten. Es ist nicht möglich, für alle verfügbaren Zentrifugentypen eine allgemein verbindliche Zentrifugationsgeschwindigkeit oder –zeit anzugeben. Zentrifugen müssen individuell kalibriert werden, um die optimale Zeit und Geschwindigkeit für die gewünschten Ergebnisse zu ermitteln.
5. Eine zu lange Lagerung der Erythrozyten von mehr als 5 Tagen kann die Absprengung der Antikörper erschweren bzw. es kann zu starker Hämolyse und einer Schädigung der Erythrozytenantigene durch die Behandlung mit Chloroquin-Diphosphat kommen
6. Bei Einhaltung der vorgegebenen Verfahrensweise werden die Erythrozytenantigene durch die Behandlung mit Chloroquin-Diphosphat nicht oder nur geringfügig geschädigt. Abweichungen von der vorgegebenen Verfahrensweise, wie zu lange Inkubationszeiten, zu hohe Inkubationstemperaturen oder mehr als zwei Behandlungen mit Chloroquin-Diphosphat oder der Einsatz von vorgeschädigten Erythrozyten können zu einer starken Hämolyse und Zerstörung der Erythrozytenantigene führen, sodass eine zuverlässige Antigenbestimmung bei den Erythrozyten nicht mehr möglich ist.

7. Keine hämolytischen oder kontaminierten Blutproben verwenden!
8. Ungenügendes Waschen der Erythrozyten kann zu falschen und/oder nicht zufriedenstellenden Testergebnissen führen.
9. Generell können Abweichungen von der vorgegebenen Testdurchführung wie falsche Zentrifugation oder Inkubation, unsaubere Röhrchen und/oder kontaminierte Materialien und Proben das Ergebnis negativ beeinflussen.
10. Fällt der direkte Coombstest auch nach der zweiten Behandlung der Erythrozyten mit Chloroquin-Diphosphat positiv aus, konnten die Antikörper nicht oder nur unvollständig abgesprengt werden. Eine Bestimmung der Erythrozytenantigene ist dann nicht möglich bzw. es kann zu einer falschen Phänotypisierung kommen.
11. Chloroquin-Diphosphat enthält keine Konservierungsstoffe. Eine Trübung der Reagenzien kann auf eine mikrobielle Kontamination oder Qualitätsminderung der Reagenzien hinweisen. Eine mikrobielle Kontamination von Chloroquin-Diphosphat unbedingt vermeiden, weil dies die Haltbarkeit des Produktes verkürzt und zu falschen Ergebnissen führen kann. Kontaminierte Reagenzien nicht mehr benutzen!

## **8. Leistungsdaten**

Für die Leistungsstudie wurden insgesamt 100 Erythrozytensuspensionen mit Chloroquin-Diphosphat behandelt. 10 Erythrozytensuspensionen hatten im direkten Coombstest eine positive Reaktion gezeigt, die anderen 90 Erythrozytensuspensionen wurden in vitro mit verschiedenen IgG-Antikörpern beladen (Anti-D, -C, -c, -C<sup>w</sup>, -E, -e, -K, -k, -Jk<sup>a</sup>, -Jk<sup>b</sup>, -Fy<sup>a</sup>, -Fy<sup>b</sup>, -S, -s). Bei allen 100 Proben konnten die Antikörper vollständig abgesprengt werden. Bei sechs Proben war dafür eine zweite Absprengung mit Chloroquin-Diphosphat notwendig. Durch eine anschließende umfangreiche Blutgruppenbestimmung bei den Erythrozyten konnte gezeigt werden, dass die Antigene des AB0-, Rhesus-, Kell-, Duffy-, Kidd- und MNSS-Systems nach Behandlung mit Chloroquin-Diphosphat noch nachweisbar sind und nicht zerstört wurden.

## **9. Warn- und Entsorgungshinweise**

Sämtliche für den Test verwendete Materialien biologischen Ursprungs, insbesondere die zu testenden Proben, sollten als potentiell infektiös betrachtet werden. 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).








Die Entsorgung aller Proben, ungebrauchter Reagenzien und Abfälle sollte entsprechend der Gesetzgebung des jeweiligen Landes und der regionalen Behörden erfolgen.

Das Sicherheitsdatenblatt kann unter [www.bag-diagnostics.com](http://www.bag-diagnostics.com) heruntergeladen werden.

**10. Literatur**

Edwards, JM, Moulds, JJ, and Judd, WJ: Chloroquine dissociation of antigen-antibody complexes: A new technique for typing red blood cells with a positive direct antiglobulin test. Transfusion 22:59, 1982

Modern Blood Banking and Transfusion Practices, Denise M. Harmening,  
F. A. Davis Company Philadelphia, 3. Auflage, 1994

Erklärung der Symbole auf den Etiketten	
	In-vitro-Diagnostikum
	Lagertemperatur / Temperaturbegrenzung
	Lot-Nr.
	Verwendbar bis
	Bestell-Nr.
	Gebrauchsinformation beachten
	Hersteller

Gebrauchsinformation	Version: 3/2019 / Stand: 2019-06
----------------------	----------------------------------