

MACE[®] 1 (Modifizierter Antigen Capture ELISA)

Einsatz

MACE[®] 1 ist ein qualitativer Festphasenzymimmunoassay (ELISA) zum Nachweis von IgG Antikörper gerichtet gegen HLA Klasse I Antigene und gegen Epitope auf dem Thrombozytenglykoprotein IIb/IIIa.

In vitro Diagnostikum

Zusammenfassung und Erläuterungen

Die Existenz von Thrombozyten spezifischen Antigenen auf der Oberfläche verschiedener Thrombozytenglyko-proteine wurde in vielen Untersuchungen beschrieben.^{1,2,3,4,5,6}

Antikörper gegen Thrombozyten spezifische oder HLA Klasse I Antigene, nach Schwangerschaft oder Transfusion gebildet, können zur Zerstörung transfundierter Thrombozyten führen.^{7,8,9} Die Bestätigung der Anwesenheit dieser Antikörper im Patientenserum hilft deshalb bei der Suche nach kompatiblen Blut.

Die Festphase des MACE[®] 1 ist mit spezifischen immobilisierten monoklonalen Antikörpern zum Capture von Thrombozytenglykoproteinen IIb/IIIa und HLA Klasse I Glykoproteinen beschichtet. Der Test dient dem Nachweis und der Differenzierung von HLA Klasse I- und Thrombozyten spezifischen Antikörpern, die gegen Thrombozyten von Spendern und/oder Patienten gerichtet sind.

Testprinzip

Patientenserum oder Plasma wird mit geeigneten intakten Spenderthrombozyten inkubiert. Antikörper im Patientenserum, wenn vorhanden, binden an die Thrombozytenglykoproteine. Anschließend werden die ungebundenen Antikörper durch Waschen entfernt und die Komplexe durch Lyse von den Thrombozytenmembranen gelöst. Das Thrombozytenlysate mit den gelösten sensibilisierten Glykoproteinen wird in die entsprechenden Vertiefungen der Teststreifen pipettiert und inkubiert. Nach Bindung der Thrombozytenglykoproteine und HLA Klasse I Glykoproteine (sensibilisiert oder nicht sensibilisiert mit Antikörpern des Patienten) an die monoklonalen Antikörper (Prinzip des Capture) auf der festen Phase folgt ein Waschschritt, um alle ungebundenen Glykoproteine zu entfernen. Die Kontrollen werden genauso behandelt.

Danach wird ein mit alkalischer Phosphatase markiertes Anti-Human IgG zugefügt und inkubiert. In einem weiteren Waschvorgang wird überschüssiges Konjugat entfernt. Durch Zugabe des chromogenen PNPP Substrats entsteht eine Farbreaktion, die nach 30 Minuten mit einer 3 M NaOH-Lösung abgestoppt und photometrisch ausgewertet wird.

Ein positives Ergebnis weist auf die Anwesenheit von Glykoprotein-spezifischen Antikörpern auf den "gecapturten" GP IIb/IIIa oder HLA-Glykoproteinen hin.

Reagenzien

Maximale Anzahl an Bestimmungen pro Testpackung: 45

Alle Reagenzien sollten entsprechend den Angaben der Etiketten gelagert werden.

- | | |
|------------|---|
| MS | 1. Mikrowells: die Flachbodenvertiefungen der Teststreifen sind beschichtet mit immobilisierten monoklonalen Maus-Antikörpern, die spezifisch gegen Thrombozytenglykoproteine sowie gegen HLA Klasse I Glykoproteine gerichtet sind.
6-1x8 rot markierte Teststreifen spezifisch für GPIIb/IIIa
6-1x8 blau markierte Teststreifen spezifisch für HLA Klasse I
Die Teststreifen sind in einem wieder verschließbaren Beutel eingeschweißt. Gebrauchsfertig. |
| TCW | 2. Waschlösungskonzentrat (10 x konzentriert): TRIS –Aminomethan gepufferte Lösung mit Na-Chlorid und TWEEN 20; enthält 1% Natrium-Azid. Vor Gebrauch mit destilliertem Wasser verdünnen. Diese Waschlösung kann bis zu 48 Stunden bei Raumtemperatur oder bis zu 7 Tagen bei 2-8°C gelagert werden. |
| TSD | 3. Probenverdünnungspuffer: Tris gepufferte saline Lösung; enthält 0,05% Natrium-Azid. Gebrauchsfertig. |

- | | |
|------------|---|
| SB | 4. Substratpuffer: enthält Diethanolamin, MgCl ₂ und 0,02% Natrium- Azid. Gebrauchsfertig. Dunkel aufbewahren. |
| SS | 5. Stopplösung: 3 M Natrium-Hydroxyd (3M NaOH). Gebrauchsfertig. Mit Vorsicht verwenden! |
| AG | 6. Konjugat: ein mit alkalischer Phosphatase markierter gereinigter Antikörper von der Ziege, gerichtet gegen humanes IgG; enthält 0,1% Natrium-Azid. Vor Gebrauch mit Probenverdünnungspuffer verdünnen. |
| PN | 7. PNPP (p-Nitrophenylphosphat) Substrat, kristallines Pulver. In destilliertem Wasser auflösen und vor Gebrauch mit Substratpuffer verdünnen. Dunkel aufbewahren. |
| PC | 8. Positives Kontrollserum: humanes Serum; enthält 0,1% Natrium-Azid. Gebrauchsfertig. |
| NC | 9. Negatives Kontrollserum: humanes Serum; enthält 0,1% Natrium-Azid. Gebrauchsfertig. |
| CRP | 10. Zell-Resuspensions-/Konservierungslösung: gebrauchsfertige Phosphat gepufferte saline Lösung mit Rinderalbumin und 0,1% Natrium-Azid. |
| CLB | 11. Zell-Lysepuffer (10x konzentriert): TRIS gepufferte saline Lösung mit nicht-ionischer Detergenz und 0,1% Natrium-Azid. Vor Gebrauch mit destilliertem Wasser verdünnen. |
| NCP | 12. Normale Thrombozytenkontrolle: Vakuum getrocknete, gepoolte humane Thrombozyten. Vor Gebrauch in Zell-Resuspensions-/Konservierungslösung rehydrieren. |
| PS | 13. Abklebefolien |

Vorsichtsmaßnahmen

- Verwenden Sie keine trüben oder kontaminierten Reagenzien.
- Vermeiden Sie jede Kontaminationen des Verdünnungspuffers und des Konjugats. Kontamination dieser Reagenzien mit humanem Serum oder Plasma führt zur Neutralisation des Konjugats und damit zum Testausfall.
- Verwenden Sie keine Reagenzien nach ihrem Verfallsdatum.
- Verwenden Sie nur die Reagenzien aus der Testpackung bzw. tauschen Sie keine Reagenzien aus, um falsche Ergebnisse auszuschließen.
- Verwenden Sie weder die Teststreifen noch die Reagenzien aus der Testpackung in Verbindung mit einem anderen Test.
- Verwerfen Sie nach jedem Testansatz die verdünnten Konjugate, Kontrollen und Substrate.
- Verwenden Sie den verdünnten Zell-Lysepuffer nur am Tag seiner Zubereitung, und heben Sie ihn nicht auf.
- Verwenden Sie für die Herstellung der Verdünnungen ausschließlich kalibriertes Material in der entsprechenden Technik.
- Die enzymatische Substratreaktion im letzten Inkubationsschritt ist Temperatur abhängig und sollte bei 22-25°C durchgeführt werden.
- Durch Abweichungen bei den verwendeten Materialien und Geräten und durch Temperaturunterschiede in den Laboratorien kann es sinnvoll sein, die abschließende Inkubationszeit leicht zu erhöhen bzw. zu verringern, um die korrekten Werte für die Kontrollen zu erreichen. Kontrollieren Sie diese Anpassung regelmäßig.

Warnhinweis

- Alle Kontrollen humanen Ursprungs werden auf die Abwesenheit von HIV/HCV/HB_s-AG mit FDA zugelassenen Testsystemen untersucht. Dennoch sollten alle Materialien als potentiell infektiös behandelt und entsprechend entsorgt werden, da keine Methode eine 100% Sicherheit bietet.
- Einigen Reagenzien ist Natrium-Azid als Konservierungsmittel zugesetzt. **Warnung:** Natrium-Azid reagiert mit Blei- und Kupferverbindungen und es können sich hoch explosive Metallsäuren bilden. Deshalb alle Kontaktflächen wie z.B. Spülbecken mit reichlich Wasser spülen, um diese Bildung zu vermeiden. Natrium-Azid ist ein Gift und wirkt im Körper toxisch.

- Die Stopplösung (NaOH) wirkt korrosiv. Vermeiden Sie deshalb jeden Kontakt mit der Haut und den Augen. Bei Kontakt sofort mit reichlich Wasser abspülen.
- Entsorgen Sie alle restlichen Packungsbestandteile fachgerecht.

Probengewinnung

Serum oder Plasma:

Entnehmen Sie das Blut in ACD (Plasma) oder ohne Zusatz von Antikoagulantien (Serum) unter den üblichen aseptischen Bedingungen und verwenden Sie es möglichst frisch, um falsch positive oder negative Ergebnisse durch zu lange Lagerung oder Kontamination der Probe auszuschließen.

Die Proben können bei 2-8°C bis zu 48 Std. aufbewahrt werden. Bei längerer Lagerung (> 48 Stunden) sollten die Proben aliquotiert und bei -20°C eingefroren werden. So können diese Proben bis zu 3 Jahren aufgehoben werden. Lagern Sie die Proben nicht in "No-Frost Gefrierschränken"!

Trennen Sie das Serum oder Plasma für die Lagerung oder den Versand von den übrigen Blutbestandteilen.

Verwenden Sie ausschließlich humanes Serum oder Plasma für diesen Test. Die Proben dürfen nicht vorverdünnt sein. Dieses führt zu falsch negativen Ergebnissen.

Keine bakteriell verunreinigten, hämolytischen, lipämischen, ikterischen oder Hitze inaktivierten Proben verwenden, um widersprüchliche Ergebnisse zu vermeiden.

Thrombozyten:

- Das plättchenreiche Plasma sollte in CPD oder ACD entnommen und innerhalb von 7 Tagen getestet werden. Thrombozyten, die nicht sofort getestet werden, bei Raumtemperatur (20-25°C) lagern. Thrombozyten von Thrombozytenkonzentraten innerhalb der Laufzeit verwenden.
- Entnehmen sie 2-3 ml plättchenreiches Plasma ($\leq 400.000/\mu\text{l}$) oder 0,25 ml Thrombozytenkonzentrat oder 15 μl einer 50% Suspension gewaschener Thrombozyten für jede zu testende Serumprobe. Plättchenreiches Plasma wird durch Zentrifugation von Vollblut gewonnen (2000 x g für 3 Minuten).
- Zur Herstellung der Thrombozytenpellets werden die Überstände abgenommen und zentrifugiert. Die empfohlenen Zentrifugationszeiten- und geschwindigkeiten sind 20 Minuten bei 580 x g, 10 Minuten bei 2.000 x g oder 6 Minuten bei 5.000 x g. Jedes Labor sollte die optimale Zeit und Geschwindigkeit in Abhängigkeit vom verwendeten Equipment festlegen.

Lagerung der Thrombozyten:

- Stellen Sie das Thrombozytenpellet, wie unter Punkt 5 "Vorbereitung der Proben und Kontrollen" beschrieben, her. Verwerfen Sie den Überstand und resuspendieren Sie das Pellet in 250 μl Zell-Resuspensions-/Konservierungslösung. Diese Suspension kann bis zu 7 Tagen bei 2-8°C gelagert werden.

Durchführung

Mitgelieferte Materialien:

Die Vials enthalten z.T. mehr Reagenz, als auf dem Label angegeben. Entnehmen Sie deshalb immer die benötigten Mengen für die Verdünnungen mit kalibrierten Pipetten.

1. 12– 1 x 8 farbig markierte Teststreifen in einem Rahmen
2. 1 x 50 ml Waschlösungskonzentrat
3. 1 x 14 ml Probenverdünnungspuffer
4. 1 x 14 ml Substratpuffer
5. 1 x 14 ml Stopplösung
6. 1 x 80 μl Anti-Human IgG Konjugat
7. 6 x 50 mg PNPP Substrat
8. 2 x 0.7 ml positives Kontrollserum

9. 2 x 0.7 ml negatives Kontrollserum
10. 3 Normale Thrombozytenkontrollen (50µl rehydriert)
11. 1 x 2.5 Zell-Lysepuffer
12. 2 x 50 ml Zell-Resuspensions-/Konservierungslösung
13. 12 Abklebefolien

Zusätzlich benötigte Materialien:

1. Röhrchen für die Verdünnungen der Proben, Kontrollen und Reagenzien.
2. Transferpipetten
3. Variable Pipetten: 10-100 µl und 100-1000 µl und Einwegspitzen
4. Laborwecker
5. ELISA-Reader mit einer Wellenlänge von 405 oder 410 nm und einer Referenzwellenlänge von 490 nm.
6. Destilliertes Wasser
7. Papiertücher
8. ELISA-Washer oder Handwaschgerät
9. Zentrifuge
10. Wasserbad bei 37°C oder Brutschrank
11. Eppendorfgefäße
12. Mikrozentrifuge zur Herstellung der Thrombozytenpellets

Testdurchführung

1. Bringen Sie alle Reagenzien auf Raumtemperatur.
2. Stellen Sie die benötigte Waschlösung her, indem Sie das Waschlösungskonzentrat 1:10 mit destilliertem Wasser verdünnen und gut mischen.
3. Legen Sie die Anzahl der zu testenden Proben fest. Weisen Sie mit Hilfe des Recording Sheet (RS) jeder Probe ihre Positionen (1 Vertiefung pro Teststreifen je Probe) zu. Dokumentieren Sie die Identität jeder Probe auf dem RS.

Vorbereitung der Proben und Kontrollen

4. Vorbereitung der positiven und negativen Kontrollen:
 - a) 400µl der Zell-Resuspensions-/Konservierungslösung zu der mitgelieferten Normal-Thrombozytenkontrolle geben.
 - b) 10-30 Minuten bei Raumtemperatur rehydrieren.
 - c) Anschließend mit der Pipette gut mischen.
 - d) Zentrifugieren Sie die Gefäße, um die Zellen zu pelletieren.
 - e) Den Überstand dekantieren und alle Flüssigkeitsreste auf einem saugfähigem Tuch ausklopfen.
 - f) Geben Sie 50 µl Zell-Resuspensions-/Konservierungslösung zum Pellet.
 - g) Anschließend mit der Pipette gut mischen und je 15 µl der Thrombozytensuspension in 2 Eppendorfgefäße pipettieren.
 - h) Geben Sie 150 µl positives Kontrollserum in ein Eppendorfgefäß und 150 µl negatives Kontrollserum in das andere Gefäß und beschriften Sie die Gefäße. Mit der Pipette gut mischen.

Vorbereitung der zu testenden Thrombozyten:

5. Für jede zu testende Thrombozytenprobe 2-3 ml eines plättchenreichen Spenderplasmas (die Gesamtzahl der Thrombozyten sollte 400.000/µl nicht überschreiten) oder 250 µl Spenderthrombozytenkonzentrat in einem Eppendorfgefäß zur Herstellung eines Thrombozytenpellets zentrifugieren. Verwerfen sie den Plasmaüberstand.
6. Geben Sie 400 µl der Zell-Resuspensions/ Konservierungslösung zu jedem Pellet und mischen Sie mit der Pipette gut durch. Zentrifugieren Sie die Gefäße zur Herstellung eines Pellets.
7. Verwerfen sie den Überstands und klopfen Sie das das Eppendorfgefäß auf einem saugfähigen Tuch vorsichtig aus. Wiederholen Sie 2-3x die Schritte 6 und 7.

8. Stellen Sie eine 50%ige Thrombozytensuspension her, indem Sie das gleiche Volumen Zell-Resuspensions-/Konservierungslösung zum geschätzten Volumen des Thrombozytenpellet geben und mit der Pipette gut vermischen. Pipettieren Sie 15 µl dieser homogenisierten Suspension in ein neues Eppendorfgefäße.
9. Geben Sie 150 µl der zu testenden Patientenprobe (Serum oder Plasma) zu jeder Thrombozytensuspension aus Punkt 8 und mischen Sie mit der Pipette gut durch.
10. Inkubieren Sie die Kontrollen und Proben 40-45 Minuten bei 37 °C im Brutschrank bzw. 30-35 Minuten bei 37°C im Wasserbad.
11. Waschen Sie alle Thrombozytensuspensionen (Kontrollen und Proben) 2x durch Zugabe von je 400 µl Zell-Resuspensionslösung und anschließender Zentrifugation. Verwerfen Sie den Überstand nach jedem Waschen und klopfen Sie die Gefäße auf einem saugfähigen Tuch vorsichtig trocken. Vermeiden Sie die Zerstörung der Pellets!
12. Verdünnen Sie die für die Testdurchführung benötigte Menge Zell-Lysepuffer 1:10 mit destilliertem Wasser. Stellen Sie für je 5 Pellets 1,0 ml verdünnten Lysepuffer her und mischen Sie gut durch.
13. 180 µl des so vorbereiteten verdünnten Lysepuffers zu **jedem** Pellet (Kontrolle und Proben) pipettieren und mit der Pipette gut mischen oder vortexen, um eine homogene Suspension zu erhalten. Zügig weiterarbeiten. Die Thrombozytenlysate sollten so schnell wie möglich getestet werden.

Durchführung

14. Entnehmen Sie die benötigte Anzahl von Teststreifen aus der Verpackung und verschließen Sie den Beutel mit den nicht benötigten Streifen sofort nach Entnahme.

Hinweis: Jede Testpackung enthält nur ein Rahmen. Heben Sie den Rahmen für weitere Tests auf.

Hinweis: Positionieren Sie den Rahmen so, dass die Vertiefung A1 oben links ist. Kontrollieren Sie den richtigen Sitz und das Einrasten der Streifen im Rahmen. Beschriften Sie die Streifen, um Verwechslungen auszuschließen. Behalten Sie diese Positionierung während der Testdurchführung bei.

15. Pipettieren Sie 50 µl der sensibilisierten Thombozytenlysate und der negativen und positiven Kontrolllysate in die entsprechenden Vertiefungen (siehe Protokollbogen/Recording Sheet).

Hinweis: Die positive Kontrolle sollte nur -wie auf dem Protokollbogen angegeben- auf den HLA-Streifen hinzugefügt werden.

Hinweis: Die Blank-Vertiefungen bleiben leer.

Hinweis: Beschriften Sie die Streifen, um Verwechslungen auszuschließen.

16. Versiegeln Sie die Streifen mit Abklebefolie und inkubieren Sie sie für 30-35 Minuten bei 37°C im Wasserbad oder für 40-45 Minuten im Brutschrank bei 37°C.

17. Verdünnen Sie das Konjugat 1:100 mit dem Probenverdünnungspuffer in einem Polypropylenröhrchen, um Aktivitätsverluste des Konjugates auszuschließen.

Teststreifen:	2-1x8	12-1x8
IgG	10 µl	60 µl
TSD	1.0 ml	6.0 ml

Hinweis: Das Konjugat ist sehr viskos. Ziehen Sie es deshalb vorsichtig auf und mischen Sie es im Probenverdünnungspuffer gut durch.

18. Waschschritte:

- a) Verwerfen Sie den Inhalt aller Vertiefungen und klopfen Sie den Rahmen auf einem saugfähigen Papiertuch aus.
- b) Pipettieren Sie 300 µl Waschlösung in jede Vertiefung.

- c) Verwerfen Sie den Inhalt aller Vertiefungen.
- d) Waschen Sie die Vertiefungen 3-4 x wie unter b) und c) beschrieben.
- e) Verwerfen Sie abschließend den Inhalt aller Vertiefungen und klopfen Sie den Rahmen auf einem saugfähigen Papiertuch aus, um alle Flüssigkeitsreste zu entfernen.

Hinweis: Es ist ganz wichtig, daß nach dem letzten Waschschrift alle Flüssigkeitsreste entfernt werden.

- 19. Geben Sie 50µl des verdünnten angesetzten Konjugats in alle Vertiefungen mit Ausnahme der Blanks.
- 20. Versiegeln Sie die Streifen mit Abklebefolie und inkubieren Sie sie für 30-35 Minuten bei 37°C im Wasserbad oder für 40-45 Minuten im Brutschrank bei 37°C.
- 21. Lösen Sie das kristalline PNPP-Substrat durch Zugabe von 500µl destilliertem Wasser auf und mischen Sie gut durch, indem Sie den Verschuß wieder einsetzen und das Vial gut schütteln. Bitte bis zur weiteren Verwendung vor Licht schützen.
- 22. Verdünnen Sie das PNPP 1:100 mit dem Substratpuffer.

Teststreifen:	2-1x8	12-1x8
PN	20 µl	120 µl
SB	2.0 ml	12.0 ml

Gut mischen! Vor Licht schützen

- 23. Waschschritte:
 - a) Verwerfen Sie den Inhalt aller Vertiefungen und klopfen Sie den Rahmen auf einem saugfähigen Papiertuch aus.
 - b) Pipettieren Sie 300 µl Waschlösung in jede Vertiefung.
 - c) Verwerfen Sie den Inhalt aller Vertiefungen.
 - d) Waschen Sie die Vertiefungen 3-4 x wie unter b) und c) beschrieben.
 - e) Verwerfen Sie abschließend den Inhalt aller Vertiefungen und klopfen Sie den Rahmen auf einem saugfähigen Papiertuch aus, um alle Flüssigkeitsreste zu entfernen.

Arbeiten Sie die nächsten 3 Schritte genau ab.

- 24. Geben Sie 100 µl der verdünnten PNPP-Lösung in jede Vertiefung mit Ausnahme der Blanks.
- 25. Die Reaktionsansätze im Dunkeln exakt 30 Minuten bei Raumtemperatur (22-25°C) inkubieren.

Hinweis: die Inkubationszeit bzw. -temperatur nach Zugabe des PNPP ist kritisch. Halten Sie sie genau ein und starten Sie die Zeit mit der Zugabe des PNPP in die erste Vertiefung.

- 26. Geben Sie zum Abstoppen der Reaktion 100µl Stopplösung in alle Vertiefungen. Füllen Sie den Blank mit zusätzlich 100 µl Stopplösung auf.
- 27. Die Reaktionen werden nach dem Stoppen im ELISA-Reader bei 405 oder 410 nm und einer Referenzwellenlänge von 490 nm ausgewertet. Lassen Sie die Streifen im Dunkeln bis zu max. 30 Minuten stehen, wenn die Auswertung nicht sofort nach dem Abstoppen gemacht werden kann.
- 28. Ziehen Sie die Blank-OD Werte von den Proben und Kontrollen ab. Bei vielen ELISA-Readern läßt sich dieses programmieren
- 29. Übertragen Sie Ihre Werte auf den Protokollbogen.

Qualitätskontrolle

Die Qualitätskontrolle des MACE[®] 1 besteht aus dem Einsatz positiver und negativer Kontrollen, die bei jedem Ansatz mitgeführt werden, um die korrekte Durchführung und die Reaktivität der Reagenzien zu bestätigen.

Kriterien für einen validen Test:

	Negative Kontrolle	Positive Kontrolle
OD	≤ 0.150 (HLA-Reihe)	≥ 1.800 (HLA-Reihe)

Interpretation der Ergebnisse

Ein Ergebnis ist positiv, wenn die Extinktion (OD-Werte) der Probe gleich oder größer ist als das Doppelte der negativen Thrombozytenkontrolle.

Einschränkungen

Kontaminationen der Reagenzien, falsche Inkubationszeiten bzw. -temperaturen, unzureichendes Waschen und Ausklopfen der Vertiefungen, falsche Volumina, Streulicht bei der Substratinkubation, Auslassung von Schritten bei der Abarbeitung, unzureichende oder zu hohe Anzahl von Thrombozyten oder ABO-Inkompatibilitäten können zu falschen Ergebnissen führen.

Alle Ergebnisse sollten immer mit weiteren serologischen Tests und dem klinischen Bild abgesichert werden.

Schwache Titer oder Antikörper geringer Avidität oder seltener Ausprägung werden u.U. nicht erfaßt und können zu falsch negativen Ergebnissen führen.

IgM oder IgA Antikörper oder andere als gegen GP IIb/IIIa und HLA Klasse I gerichtete Antikörper werden in diesem Test nicht erfaßt.

In-vivo sensibilisierte Thrombozyten wurden mit diesem Test nicht getestet.

Spezifische Charakteristika der Durchführung

Bei korrekter Lagerung und Anwendung wie oben beschrieben dient dieser Test dem Nachweis von IgG Antikörpern, die mit HLA Klasse I und/oder Thrombozytenglykoproteine GPIIb/IIIa reagieren.

Um die Reaktivität und Spezifität zu garantieren, wird jede Charge des MACE[®]1 mit bekannten Seren, die Antikörper gegen die verwendeten Glykoproteine (siehe Protokollbogen) enthalten wie auch mit bekannten Seren ohne diese Antikörper, getestet.

Evaluation

		Vergleichende Methode		
		Positiv	Negativ	Gesamt
MACE [®] 1	Positiv	45	1	46
	Negativ	1	64	65
	Gesamt	46	65	111

Übereinstimmung: 98.2%

Spezifität/Co-Positivität: 97.9% Sensitivität/Co-Negativität: 98.4%

Vergleichende Methode: GTI-PAK[®]2

Referenzliteratur

1. Kunicki TJ, Aster RH: Isolation and immunologic characterization of the human platelet isoantigen PI(A1). Mol Immunol 1979; **16**: 353
2. Friedman JM, Aster RH: Neonatal alloimmune thrombocytopenic purpura and congenital porencephaly in two siblings associated with a new maternal antiplatelet antibody. Blood 1985; **65**: 1412
3. Furihata K, Nugent DJ, Aster RH, Kunicki TJ: Anti-Pen(a) binds specifically to an epitope on platelet glycoprotein IIIa. Blood 1986; **68**: 107, (suppl 1) (abstr).

4. Simon T, Collins J, Kunicki T, Furihata K, Smith K, Aster RH: Post-transfusion purpura with antiplatelet antibody specific for the platelet antigen Pen^a. Blood 1986; **68**: 117 (abstract)
5. Woods VL, Oh EH, Mason D, McMillan R: Autoantibodies against the platelet glycoprotein IIb/IIIa complex in patients with chronic ITP. Blood 1984; **63**: 368
6. McMillan R, et al. Blood 1987; **70**: 1040-1045
7. Howard JE, Perkins HA. The natural history of alloimmunization to platelets. Transfusion 1978; **18**: 496
8. Dutcher JP, Schiffer CA, Aisner J, Wiemik PH. Alloimmunization following platelet transfusion: the absence of dose-responce relationship. Blood 1981; **57**: 395
9. Schiffer CA. Clinical importance of antiplatelet antibody testing for the blood bank. In: A seminar on antigens on blood cells and body fluids. Washington DC: American Association of Blood Banks; 1980: 189-208



GTi DIAGNOSTICS®

Good science starts with people.®

20925 Crossroads Circle, Suite 200
Waukesha, WI 53186-4054 USA
(262) 754-1000 OR 1-800-233-1843

Cat. NO. MACE1
Rev. 2008-03-18 (G)



Qarad b.v.b.a.
Volmolenheide 13
B-2400 Mol
Belgium

www.gtidiagnostics.com

MACE® 1

- In vitro Diagnostikum
- Lagerung bei 2-8°C

