

LOXO data sheet LOXO data sheet LOXO data sheet LOXO

Anti-D blend (monoklonal, human IgG + IgM)

Für den Objektträger- und Röhrchen-Test
NUR ZUR IN-VITRO-DIAGNOSTIC

ZWECKBESTIMMUNG

Monoklonales Anti-D blend - Testserum wird aus Zellkulturüberständen von Hetero-Hybridoma-Zelllinien gewonnen, die Antikörper vom IgG- bzw. IgM-Typus sezernieren. Die Testseren werden zur Bestimmung des Vorhandenseins oder Fehlens des Blutgruppenantigens D auf menschlichen Erythrozyten verwendet. Dieses Testserum reagiert mit dem IgM-Antikörper negativ und mit dem IgG-Antikörper im indirekten Coombs-Test positiv mit Bluten der Kategorie D⁺. Die Anwendung dieses Testserums ist nur für qualifiziertes und geschultes Fachpersonal vorgesehen.

PRINZIP DES VERFAHRENS

Die bei Verwendung dieses Produktes angewendeten Tests beruhen auf dem Prinzip der Agglutination. Normale menschliche Erythrozyten, die das entsprechende Antigen tragen, werden durch den korrespondierenden Antikörper agglutiniert.

TESTSERUM

Das aufgeführte Blutgruppentestserum enthält Antikörper der folgenden Klone:

Anti-D blend (monoklonal, human IgG + IgM, Klone: MS-26; TH-28)

Das Testserum enthält als Konservierungsmittel <0.1% (w/v) Natriumazid. Außer dem aktiven Antikörperbestandteil beinhaltet das Testserum Natriumchlorid, hochmolekulare Verbindungen und Rinderalbumin.

WARNUNG

Dieses Testserum wurde aus Zellkulturüberständen hergestellt. Unabhängig davon sollte dieses Produkt wegen nie völlig auszuschließender Gefährdung durch Krankheitserreger als potentiell infektiös angesehen werden. Das Testserum enthält Natriumazid, das toxisch wirken und mit Blei oder Kupfer explosive Salze bilden kann. Aus diesen Gründen sollte das Testserum mit angemessener Sorgfalt gehandhabt werden.

LAGERUNG

Bei 2 bis 8 °C lagern, kurzzeitig zur Anwendung auch bei Raumtemperatur (15 bis 30 °C). Grundsätzlich nur bis zum angegebenen Verfalldatum lagern und anwenden!

HINWEISE

- Die Stärke der positiven Reaktion ist vom Alter des verwendeten Blutes abhängig.
- Es sollte bei jeder Austestung positive und negative Kontrollen mitgeführt werden.
- Zuschlagmäßige Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit der Produkte.
- Umschlagieren außerhalb des angegebenen Drehzahl-Bereiches kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Das auszutestende Blut sollte möglichst rasch geprüft werden. Nicht sofort getestetes Blut ist bei 2 bis 8 °C zu lagern. Mit EDTA oder Natriumzitrat antikoagulierte Blutproben müssen innerhalb von 14 Tagen getestet werden. Aus der Fingerbeere entnommenes Blut kann sofort in der Objektträgermethode untersucht werden, um jedoch eine Gerinnung zu vermeiden, ist das auf diese Weise gewonnene Blut unverzüglich mit dem Testserum zu vermischen.
- Die beschriebenen Verfahren zur Anwendung gelten ausschließlich für manuelle Methoden. Werden Automaten oder halbautomatische Systeme verwendet, müssen die Laboratorien die Angaben der Gerätehersteller befolgen und Validierungen nach anerkannten Verfahren durchführen.
- Bei der Anwendung der Testseren sind alle gültigen nationalen Gesetze, Verordnungen und Richtlinien zu beachten, in Deutschland insbesondere die „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“ in ihrer gültigen Fassung.

VORBEREITUNG DER TESTSEREN

Eine Vorbereitung der Testseren ist nicht erforderlich. Die Seren werden direkt aus den Fläschchen entnommen und eingesetzt.

VERFAHRENSWEISE

Nicht im Lieferumfang enthaltene, aber benötigte Materialien
bei Objektträgermethode: Objektträger; Pasteurpipette; Rührstäbchen
bei Röhrchenmethode: Teströhrchen, 10 x 75 mm oder 12 x 75 mm; Mikroliterpipette für 100 µL; Zentrifuge; Isotonische Kochsalzlösung (mit 0,85 - 0,9% Natriumchlorid)

Testdurchführung

Objektträgertest

- Nur Erythrozytensediment oder Vollblut verwenden.
- Auf einen Objektträger je einen Tropfen (ca. 50 µL) des entsprechenden Testserums auftropfen.
- Geben Sie zu jedem Tropfen Testserum auf den Objektträgern mit einer Pasteurpipette einen Tropfen (ca. 50 µL Erythrozytensediment oder Vollblut
- Die Erythrozyten-/Reagenzienmischungen mit einem Rührstäbchen gut vermischen und ausbreiten (Kreis von ca. 2 cm Durchmesser).
- Bei leichtem Schwenken des Objektträgers innerhalb einer Minute auf Agglutination prüfen (Reaktionsbeginn nach Sekunden). Unspezifische Reaktionen können beim Eintrocknen des Reaktionsansatzes bzw. Erwärmes des Objektträgers auftreten.

Röhrchen-Zentrifugationstest

- Nur 2-5%ige Erythrozytensuspension in isotonischer Kochsalzlösung (ein- bis dreimal gewaschen mit isotonischer Kochsalzlösung) verwenden.
- In jedes Teströhrchen 100 µL (oder alternativ je einen Tropfen = ca. 50 µL) des entsprechenden Testserums geben.
- Geben Sie zu jedem Teströhrchen 100 µL (oder alternativ je einen Tropfen = ca. 50 µL) der entsprechenden Erythrozytensuspension.
- Die Erythrozyten-/Reagenzienmischungen durch leichtes Schütteln vermischen.
- Teströhrchen 1 - 15 Minuten bei Raumtemperatur (15 bis 30 °C) inkubieren.
- Teströhrchen 1 Minute bei 2.000 U/min (ca. 800-1.000 x g) zentrifugieren.
- Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig resuspendieren und innerhalb 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination untersuchen. Ergebnisse protokollieren.

Indirekter Coombs-Test

- Schritte 1.-4. neu durchführen oder nach dem Ablesen des Ergebnisses direkt fortfahren.
- In Teströhrchen 30 Minuten bei 37 °C inkubieren.
- Die Erythrozyten dreimal mit (kalter) isotonischer Kochsalzlösung waschen.
- Geben Sie zu jedem Teströhrchen 100 µL Anti-Human-Globulin-Serum (Coombs-Serum).
- Teströhrchen 1 Minute bei 1.000 U/min (ca. 180-270 x g) zentrifugieren.
- Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig resuspendieren und innerhalb von 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination untersuchen. Ergebnisse protokollieren.

INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

"Vorsichtiges Schwenken/ Schütteln" beim Objektträger-Schnelltest / Röhrchen-Zentrifugationstest:

Positives Ergebnis (+): Eine Agglutination der Erythrozyten ist als positives Testergebnis zu werten und zeigt die Anwesenheit des entsprechenden Antigens an.

Negatives Ergebnis (-): Das Fehlen einer Agglutination der Erythrozyten ist als negatives Testergebnis zu bewerten, das entsprechende Antigen ist nicht nachweisbar.

GRENZEN DER TESTMETHODEN

- Ungenauigkeiten bei der Einhaltung der Anweisungen in den Abschnitten „Testdurchführung“ und „Interpretation der Testergebnisse“ können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Mitgeführte Kontrollen mit nicht eindeutigen oder falschen Ergebnissen führen automatisch zur nicht Verwertbarkeit aller Ergebnisse.
- Enzymbehandelte Erythrozyten können mit diesen Reagenzien unspezifisch reagieren.
- Aufgrund der unterschiedlichen Ausprägung der Antigene kann es bei bestimmten Phänotypen mit diesen Reagenzien zu einer schwächeren Reaktion kommen als mit Kontrollerythrozyten.
- Bei Erythrozyten, die mit Alloantikörpern oder Autoantikörpern derselben oder einer ähnlichen Spezifität wie das Reagenz sensibilisiert sind (z.B. Erythrozyten positiv im direkten Antiglobulintest), kann es zu schwach ausgeprägten Reaktionen kommen. In äußerst seltenen Fällen kann es zu falsch-negativen Resultaten kommen.
- Beim Objektträger-Test werden die meisten schwachen D-Antigene (Dweak) und Kategorien nicht angezeigt.
- Dieses Testserum reagiert negativ mit Bluten der Kategorie DVI im agglutinierenden Ansatz und positiv im indirekten Coombs-Test.
- Die beschriebenen Verfahren zur Anwendung gelten für die Verwendung des Coombs-Serums der LOXO GmbH. Grundsätzlich sind auch Coombs-Seren anderer Hersteller dafür geeignet, die Labore müssen bei deren Einsatz jedoch die Angaben der Hersteller befolgen und Validierungen nach anerkannten Verfahren durchführen.

Anti-D blend (monoclonal, human IgG + IgM)

For Slide and Tube Test

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

INTENDED USE

Monoclonal Anti-D blend - testserum is produced from cell culture supernatants of hetero-hybridoma cell lines. One cell line is secreting an antibody of IgG-type and the other an antibody of IgM-type, that both react specific with the corresponding antigen. The testserum is used to determine whether human red blood cells possess or lack the corresponding blood group antigen D. This testserum reacts negatively with erythrocytes of category D⁺ with the IgM-antibody and positive with the IgG-antibody in indirect Coombs-test. The testserum is intended to be used by qualified and technical personnel only.

PRINCIPLE OF PROCEDURE

The procedures used with this reagent are based on the principle of agglutination. Normal human erythrocytes, possessing the corresponding antigen, will agglutinate in the presence of the specific antibody directed towards the antigen.

REAGENTS

The listed reagent contains antibodies of the following cell clones:

Anti-D blend (monoclonal, human IgG + IgM, clones: MS-26; TH-28)

The reagent contains <0.1% (w/v) sodium azide as preservative. Additionally the reagent is prepared of active antibody, sodium chloride, macromolecules and bovine albumin.

WARNING

This reagent was prepared from supernatants of cell cultures. As a biological product it should be looked upon as potentially infectious because of never complete exclusion of danger through extants of disease. The reagent contains sodium azide, that may be toxic and may react with lead or copper to form highly explosive salts. Because of these reasons this reagent should be handled with proper care.

STORAGE REQUIREMENT

Store at 2 to 8 °C. May be at room temperature (15 to 30 °C) while in use. In principle, store and use the reagents to indicated expiry date only.

REMARKS

- Strength of positive reactions also depends on age of used blood
- With each testing positive and negative controls should be performed.
- Inappropriate storage impairs efficacy of the reagent.
- Centrifugation highly different from appointed relative centrifugal force may lead to false results.
- Blood samples to be tested should be used as soon as possible. If a delay in testing occurs, samples should be stored at 2 to 8 °C. Blood drawn into sodium citrate or EDTA should be tested within 14 days. Blood obtained by finger puncture may be tested directly by the slide method but, to avoid clotting, blood collected in this manner should be mixed quickly with the reagent.
- The procedures identified below are for manual testing only. When using automated or semi-automated instruments, follow the procedures that are contained in the operator's manual provided by the device manufacturer. Laboratories must follow approved validation procedures to demonstrate compatibility of this product on automated systems.
- For usage of this testsera all effective national laws, directives and guidelines have to be observed, in Germany especially the „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“.

REAGENT PREPARATION

There is no preparation of the reagents required. Use reagents directly from the vials.

PROCEDURE

Not provided material, additionally needed

at Slide Method:

Glass slide; Pasteur pipette; Mixing stick

at Tube Centrifugation Method:

Test tubes, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm; Pipettes designed to deliver approximately 100 µL; Centrifuge; Isotonic saline (with 0,85 - 0,9% sodium chloride)

Test procedure

Slide Method

- Use erythrocyte sediment or whole blood only.
- Place one drop (approximately 50 µL) of appropriate reagent on a glass slide.
- Using a Pasteur pipette add one drop erythrocyte sediment or whole blood (approximately 50 µL) to the glass slide.
- Mix the erythrocytes with reagent well with a stick and spread to a circle (diameter 2 cm)
- By slightly rotating the slide, check for agglutination within 1 minute (reaction starts within seconds). Unspecific reactions might appear due to drying of the reaction-formation or if the slide is heated.

Tube Centrifugation Method

- Use a 2% to 5% suspension of red blood cells in isotonic saline (cells washed one time or up to three times with isotonic saline) only.
- Add 100 µL (alternative: one drop = approximately 50 µL) of appropriate reagent to each tube.
- Add 100 µL (alternative: one drop = approximately 50 µL) of appropriate cell suspension to each tube.
- Mix well by slightly shaking.
- Incubate tube at room temperature (15 to 30 °C) for 1 - 15 min.
- Centrifugation of tube for 1 minute at 2.000 rpm (approximately 800-1.000 x g).
- Enzyme treated red cells and check macroscopically for agglutination within 3 minutes. Document the result.

Indirect Coombs-test

- Repeat step 1.-4. with fresh material or continue after reading of result directly.
- Incubate tube at 37 °C for 30 min.
- Wash red cells 3 times with (cold) isotonic saline.
- Add 100 µL Anti-Human-Globulin-serum (Coombs-serum) to each tube
- Centrifugation of tube for 1 min at 1.000 rpm (approximately 180-270 x g).
- Gently resuspend the red cells and check macroscopically for agglutination within 3 minutes. Document the result.

INTERPRETATION OF RESULTS

" Slightly rotating / shaking " at Slide Method / at Tube Centrifugation Method

Positive results (+): visible agglutination of erythrocytes is a positive result and indicates the presence of the corresponding antigen.

Negative results (-): No visible agglutination of erythrocytes is a negative result and indicates the absence of the corresponding antigen.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- Inaccuracy at compliance with instructions written under section "Procedures" and "Interpretation of results" may lead to incorrect results.
- No valid conclusion concerning the test result can be reached, if controls with uncertain or false results occur.
- Enzyme treated erythrocytes may react unspecific.
- Due to variability of antigen expression, reactivity of these reagents against certain phenotypes may give weaker reactivity compared to control cells.
- Red blood cells coated with alloantibodies or autoantibodies of the same or similar specificity as the reagent (i.e., cells that are positive in the direct antiglobulin-test (DAT)) may give weak reactions. In extreme cases, false-negative results may occur.
- With slide method most of weak D-antigens (Dweak) and categories are not recognized.
- This testserum reacts negatively with erythrocytes of category DVI in an agglutinating test and positively in an indirect Coombs-test.
- The described procedures for testing are for usage with Coombs-serum produced by LOXO GmbH. On principle Coombs-sera of other manufacturers can be used, but laboratories have to follow the procedures of this manufacturer. Also laboratories must follow approved validation procedures to demonstrate compatibility of this product.
- If products are taken out of 1 L flasks, the material of this bottle has to be used within 6 month.

LOXO

G
M
B
H

69221 Dossenheim
Gerhart-Hauptmann-Str. 48
E-Mail: info@loxo.de
Internet: www.loxo.de
TEL: (0 62 21) 86 80 23
FAX: (0 62 21) 86 80 255

IMMUNBIOLOGIE · BIOCHEMIE
PRODUKTE UND SYSTEME



MONOKLONALES HUMAN "IgG/IgM" REAGENZ
ZUR BLUTGRUPPENBESTIMMUNG

Für Röhren- und Objektträgermethode

Anti-D blend

Konservierungsstoff: <math><0,1\% \text{NaN}_3</math>

REF

700 080, -081

IVD



CE 0483